



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ATIVIDADE
FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA

EUCILENE KÉLITA DE LIMA BATISTA

EFEITO DO NOVO COMPOSTO À BASE DE VANÁDIO (IV)(VO-dt) NA
RESISTÊNCIA À INSULINA INDUZIDA POR DEXAMETASONA EM
CAMUNDONGOS

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ATIVIDADE
FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA

EUCILENE KÉLITA DE LIMA BATISTA

EFEITO DO NOVO COMPOSTO À BASE DE VANÁDIO (IV)(VO-dt) NA
RESISTÊNCIA À INSULINA INDUZIDA POR DEXAMETASONA EM
CAMUNDONGOS

Dissertação apresentado ao Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica para obtenção de qualificação.

Orientador: Prof^o Dr. Eduardo Carvalho Lira

Coorientadora: Prof^o Dr. Mariane Cajubá de Brito Lira

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2021

Catálogo na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Lígia F. dos Santos, CRB4/2005

B333e Batista, Eucilene Kélita de Lima.
Efeito do novo composto à base de vanádio (IV)(VO-dt) na resistência à insulina induzida por dexametasona em camundongos/ Eucilene Kélita de Lima Batista. - Vitória de Santo Antão, 2021.
142 folhas; il.

Orientador: Eduardo Carvalho Lira.

Co orientadora: Mariane Cajubá de Brito Lira.

Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2021.

Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Diabetes Mellitus. 2. Vanádio. 3. Dexametasona. 4. Glicocorticoides. I. Lira, Eduardo Carvalho (Orientador). II. Lira, Mariane Cajubá de Brito (Coorientador). III. Título.

616.462 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE - 073/2021

Eucilene Kélita de Lima Batista

**EFEITO DO NOVO COMPOSTO À BASE DE VANÁDIO (IV) NA RESISTÊNCIA À
INSULINA INDUZIDA POR DEXAMETASONA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentado ao Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica para obtenção de qualificação.

Aprovado em: 31/05/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Flávia Aparecida Graça (Examinadora Externa)
St Jude Children's Research Hospital

Prof.^a Dr.^a Mônica Freire Belian (Examinadora Externa)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Lígia Cristina Monteiro Galindo (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus pais, irmã, tias e prima, os quais sempre acreditaram em mim e torceram cada dia pela minha vitória e pela compreensão nos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS e a nossa senhora por ter fortalecido e alimentado minhas forças e fé a cada dia ajudando a passar através das tempestades da vida, mantendo firme meu barco no amanhecer de cada aurora.

Aos meus pais, irmã, tias e prima pelo apoio sem medidas para que esse sonho tornasse possível, mesmo sem entender ao certo o que eu estava fazendo, sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado em todas as dificuldades, por compreender minha ausência, a distância, os momentos de desânimo e cansaço. Todos seguiram junto a minha jornada trazendo palavras de conforto e motivação para seguir rumo a concretização deste sonho.

Agradeço de forma especial, em memória, aos meus avós maternos os quais ajudaram a construir tijolinho por tijolinho do meu caráter e me ensinaram a guerilhar sem medidas por cada oportunidade, sem julgar ou diminuir ninguém. Mas sim, estender a mão com olhar de compaixão e coração aberto sem esperar nada em trocar, me fazendo uma fortaleza (de força, carinho) enquanto pessoa e profissional.

Ao meu orientador professor Eduardo Lira pela confiança em mim depositada, pela sua paciência, ensinamentos, incentivo à pesquisa e por me contagiar pela sua paixão pela fisiologia. Esse tempo sob sua orientação me proporcionaram experiências fundamentais que contribuíram para a busca da independência e no crescimento no laboratório.

Agradeço ao grupo que compõem o laboratório de neuroendocrinologia e metabolismo (LNEM), Alanne Lucena de Brito, Carla Tabosa, Elifrances Galdino de Oliveira, José Carlos da Silva Júnior, Mariana de Melo Barbosa que se tornaram amigos maravilhosos os quais sorrimos juntos, choramos e nos motivamos de forma mútua, cada momento onde escutávamos cada problema ou ajudava em alguma técnica ou na busca de soluções para os erros e os conselhos. Meu muito obrigado a todos os profissionais que atuam trabalhando em diversas áreas do departamento de fisiologia e aos professores Dayane Aparecida Gomes, Mônica Freire Belian, Wagner Eduardo da Silva pelas contribuições no desenvolvimento da pesquisa.

E agradeço de forma especial a Lidiane que me presenteou e contagiou com a paixão mais bela pelo vanádio, além de uma amizade para uma vida e não podia faltar Amanda obrigado pelo carinho, por me ouvir e torcer pelas minhas conquistas. Todas nós (Carla, Amanda, Lidiane e Alanny) passamos por muitas coisas juntas, foi tenso, mas valeu muito apenas pois estava ao lado de pessoas maravilhosas cada qual com sua personalidade

particular, obrigado por compartilhar vários momentos (engraçados, tristes, bons e ruins) comigo.

Apesar dos mares revoltos da vida, o senhor meu Deus soprou ventos de graças, o qual edificou-me em cada batalha, fazendo de cada pequena conquista uma vitória sobre as dificuldades. Graças e louvores sejam elevadas ao senhor meu Deus por cada lágrima e por cada batalha não vencida, pois foi através das tribulações que houve a renovação das forças cobrindo toda a armadura danificada de fé e da certeza que Deus é comigo. Hoje conquisto mais um troféu após um longo combate, com riquezas de benções de Deus e intercessão de nossa senhora, pois eu aprendi que aqui é meu lugar.

Batista (2021).

RESUMO

A diabetes *mellitus* (DM) é um dos principais distúrbios metabólicos que afeta, 415 milhões de pessoas no mundo, com perspectiva deste número atingir cerca de 700 milhões em 2040. É uma doença complexa causada por diferentes mecanismos, dentre eles a resistência à insulina (RI), relacionada ao sedentarismo, dietas ricas em gorduras e uso prolongado de glicocorticoides (GC) sintéticos. Infelizmente, a farmacoterapia empregada é limitada pelos efeitos adversos, o que motiva o desenvolvimento de novos agentes hipoglicemiantes. Neste contexto, o desenvolvimento de novos tratamentos adjuvantes, como o uso de suplementos alimentares pode representar uma alternativa na prevenção e/ou no combate à DM2. Dentre estes, os efeitos benéficos de metais como vanádio são demonstrados no controle glicêmico. Avaliar os possíveis efeitos do novo composto à base de vanádio (VO-dt) na resistência à insulina induzida pela dexametasona em camundongos. Foram utilizados camundongos fêmeas tratados durante 14^o dias com dexametasona (Dexa, 1mg/kg, i.p.) e por 7 dias com o composto à base de vanádio (IV)(VO-dt) (DexaV, 50mg/Kg, v.o.) para avaliação dos seguintes parâmetros: (a) glicemia e trigliciridemia de jejum; (b) ganho de massa ponderal; (c) ingestão hídrica e alimentar; (d) perfil bioquímico plasmático; (d) resistência à insulina; (e) marcadores do estresse oxidativo. No 7^o dia de tratamento com a dexametasona induziu a intolerância oral à glicose (50%, $p < 0,05$) resistência à insulina (TyG, 30%, $p < 0,05$), com elevação da glicemia (86%, $p < 0,05$) e trigliciridemia (~2,6 X, $p < 0,05$) de jejum. Todos estes parâmetros se mantiveram elevados até o 14^o dia de tratamento. Além disso, a dexametasona aumentou nos níveis séricos de colesterol total (CT, ~80%, $p < 0,05$), triglicérides (TG, ~2,6X, $p < 0,05$), VLDL (2X%, $p < 0,05$), glicerol (85%, $p < 0,05$), glicogênio muscular (~10X, $p < 0,05$) e hepático (~16X, $p < 0,05$) no jejum, com redução do HDL (50%, $p < 0,05$). Assim como também induziu o aumento dos níveis séricos das transaminases hepáticas ALT (80%, $p < 0,05$) e AST (90%, $p < 0,05$), lipídios hepáticos totais (100%, $p < 0,05$), malondialdeído (65%, $p < 0,05$), nitrito (40%, $p < 0,05$), superóxido dismutase (40%, $p < 0,05$) e catalase (45%, $p < 0,05$). O tratamento com o VO-dt atenuou a intolerância oral à glicose (22%, $p < 0,05$), a RI (~10%, $p < 0,05$), além de normalizou a glicemia (52%, $p < 0,05$), reduziu a hipertrigliciridemia (~51%, $p < 0,05$), índice aterogênico (~4,5X, $p < 0,05$) e o glicogênio muscular e hepático em 3 e 10 vezes respectivamente de jejum. Além disso, o VO-dt atenuou a disfunção e a esteatose hepática, assim como o estresse oxidativo. Os dados sugerem que a resistência à insulina induzida pela dexametasona tem parâmetros metabólicos semelhantes ao DM2, assim como o VO-dt atenua alterações metabólicas importantes deste quadro, o que o torna promissor para o tratamento adjuvante para o DM2 ou condições em que seja necessário o uso clínico de GC.

Palavras-chave: diabetes *mellitus*; vanádio; dexametasona; glicocorticoides.

ABSTRACT

Diabetes *mellitus* (DM) is one of the main metabolic disorders affecting 415 million people worldwide, with the prospect of this number reaching about 700 million by 2040. It is a complex disease caused by different mechanisms, including insulin resistance (IR), related to sedentary lifestyle, high-fat diets and prolonged use of synthetic glucocorticoids (GC). Unfortunately, the pharmacotherapy used is limited by adverse effects, which motivates the development of new hypoglycemic agents. In this context, the development of new adjuvant treatments, such as the use of dietary supplements may represent an alternative in the prevention and/or combating of DM2. Among these, the beneficial effects of metals such as vanadium are demonstrated in glycemic control. Evaluate the possible effects of the new vanadium-based compound (VO-dt) on dithasone-induced insulin resistance in mice. Female mice treated for 14 th days with dithasone (Dexa, 1mg/kg, i.p.) and for 7 days with the vanadium-based compound (IV)(VO-dt) (DexaV, 50mg/Kg, v.o.) were used to evaluate the following parameters: (a) glycemia and fasting triglyceridemia of fasting; (b) weight mass gain; (c) water and food intake; (d) plasma biochemical profile; (d) insulin resistance; (e) markers of oxidative stress. On the 7th day of dhasone treatment induced oral glucose intolerance (50%, $p < 0.05$) insulin resistance (TyG, 30%, $p < 0.05$), with increased blood glucose (86%, $p < 0.05$) and triglyceridemia (~2.6 X, $p < 0.05$) fasting. All these parameters remained elevated until the 14th day of treatment. In addition, dexamethasone increased in serum levels of total cholesterol (TC, ~80%, $p < 0.05$), triglycerides (TG, ~2.6X, $p < 0.05$), VLDL (2X %, $p < 0.05$), glycerol (85%, $p < 0.05$), muscle glycogen (~10X, $p < 0.05$) and hepatic (~16X, $p < 0.05$) at fasting, with reduction of HDL (50%, $p < 0.05$). As well as induced the increase in serum levels of liver transaminases ALT (80%, $p < 0.05$) and AST (90%, $p < 0.05$), total hepatic lipids (100%, $p < 0.05$), malondialdehyde (65%, $p < 0.05$), nitrite (40%, $p < 0.05$), superoxide dismutase (40%, $p < 0.05$) and catalase (45%, $p < 0.05$). Treatment with VO-dt attenuated oral glucose intolerance (22%, $p < 0.05$), IR (~10%, $p < 0.05$), and normalized blood glucose (52%, $p < 0.05$), reduced hypertriglyceridemia (~51%, $p < 0.05$), atherogenic index (~4.5X, $p < 0.05$) and muscle and hepatic glycogen in 3 and 10 times respectively of fasting. In addition, VO-dt attenuated dysfunction and hepatic steatosis, as well as oxidative stress. The data suggest that dexamethasone-induced insulin resistance has metabolic parameters similar to DM2, as well as VO-dt attenuates important metabolic changes in this condition, which makes it promising for adjuvant treatment for DM2 or conditions where clinical use of GC is necessary.

Keywords: diabetes *mellitus*; vanadium; dexamethasone; glucocorticoids.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADA-** Associação Americana de Diabetes
- ACTH-** Hormônio adrenocorticotrófico
- AGE-** Produtos de glicação avançada
- ALB-** Albumina
- ALT** – alanina aminotransferase
- AMPc-** Adenosina monofosfato cíclico
- AMPK-** Proteína cinase dependente do AMP
- ATP-** Adenosina trifosfato
- AST** – aspartato aminotransferase
- AVP-** Argenina vasopressina
- BCR-** Receptor de célula B
- CBG-** Globulina ligadora de corticoides
- CAT** – Catalase
- CT-** Colesterol total
- CRF-** Fator de liberação da corticotropina
- DAG** – Diacilglicerol
- DC-** Células dendríticas
- DEXA** - Dexametasona
- DM** - Diabetes *mellitus*
- DM1-** Diabetes *mellitus* tipo 1
- DM2-** Diabetes *mellitus* tipo 2
- DMG** - Diabetes *mellitus* gestacional
- DPP4-** Dipeptidil peptidase-1
- EDL-** Extensor digital longo dos dedos
- EDTA-** Ácido etilenodiamino tetra-acético
- EM** - Eminência mediana
- EO-** Estresse oxidativo
- ERN-** Espécies reativas de nitrogênio
- ERO-** Espécies reativas de oxigênio
- GC-** Glicocorticoides
- GLUT4-** Transportador de glicose isoforma 4

GLP-1-Análogo peptídeo 1
GLP-1RA-Receptor agonista do peptídeo 1
GR – Receptor de glicocorticoide;
GRE – Elemento responsivo ao glicocorticoide
GPX-Glutationa peroxidase
GSH- Glutationa reduzida
GSSG- Glutationa oxidada
HDL - Lipoproteína de alta densidade
HHA - Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HbA1C- Hemoglobina glicada 1C
HLA- Antígeno leucocitário humano
HPL-Hormônio lactogênico placentário
HO •-Radical hidroxila
H₂O₂- peróxido de hidrogênio
HSP- Proteína de choque térmico
IDF- *Federação Internacional de Diabetes*
IR-Receptor de insulina
IRS1- Receptor de insulina substrato 1
KOH- Hidróxido de potássio
LDL- Lipoproteína de baixa densidade
LHS-Lipase hormônio sensível
MDA - Malondialdeído
MAPK -Proteínas mitógenas quinase
MHC- Complexo imunohistocompatibilidade
NANO₂-Nitrito de sódio
NAPDH- Fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido
NFκB- Fator nuclear kappa B
NO • - Óxido nítrico
OGTT - Teste de tolerância à glicose oral
ONOO•-Peroxido nitrito
OMS - Organização Mundial de Saúde
O₂ • - ânion superóxido reativo
PDK1-Proteína quinase-1
PHG-Produção hepática de glicose

PMSF- Fluoreto de fenilmetilsulfonil
PKB/Akt-Proteína cinase B
PKC-Proteína cinase C
PI3K - Proteína fosfatidilinositol quinase 3
PT-Proteínas totais
PTP - Proteínas tirosina fosfatases
POMC- Pró-opiomelanocortina
PVN- Dorsomedial do núcleo paracentricular
RAS- Proteína GTPase
RE- Retículo endoplasmático
RER- Retículo endoplasmático rugoso
RETRO- Tecido retroperitoneal
RI - Resistência à insulina
RIns - Subunidade do receptor para insulina
RNA- Ácido ribonucleico
RNA_m- Ácido ribonucleico mensageiro
SOD- Superóxido dismutase
TA-Musculo tibial anterior
TAB -Tecido adiposo branco
TBARS-Ácido tiobarbitúrico
TG –Triglicérides
TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa
TZD - Tiazolidinedionas
VLDL - lipoproteínas de muito baixa densidade
VO-dt- Novo composto à base de vanádio IV

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios diagnósticos para o diabetes mellitus	30
Tabela 2 – Efeito do VO-dt na massa relativa do coração, glândula adrenal, tecido adiposo branco retroperitoneal e abdominal, músculo tibial anterior, extensor longo dos dedos (EDL) e soleo de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.....	65
Tabela 3 – Efeito do VO-dt nos níveis de glicerol, glicogênio hepático e glicogênio muscular em camundongos tratados com dexametasona durante 14 dias.	66
Tabela 4 - Efeito do VO- dt nos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos, colesterol HDL, colesterol-VLDL, índice aterogênico e frutossamina de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.	67
Tabela 5 - Efeito do VO- dt nos níveis séricos de albumina, proteína total, globulina e ureia de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.....	68
Tabela 6 – Ação do VO-dt nos níveis de lipídios hepáticos totais, triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Estimativa do número total de diabéticos diagnosticados entre 20 e 79 anos de idade em 2019 no mundo	22
Figura 2 - Patogênese do DM1	24
Figura 3 – Fisiopatologia do DM2	26
Figura 4 - Relação entre a disfunção das células β , resistência à insulina e DMG	28
Figura 5 – Síntese da insulina nas células β -pancreáticas	31
Figura 6 - Sinalização de insulina e seus principais efeitos nos tecidos-alvo	32
Figura 7 – Regulação da síntese e secreção dos glicocorticoides pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal	35
Figura 8 – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA)	36
Figura 9 - Biossíntese dos hormônios esteroides adrenais.	37
Figura 10 – Esquema dos mecanismos gênicos dos glicocorticoides	38
Figura 11 – Ações não genômicas dos GC.....	39
Figura 12 - Estrutura química de glicocorticoides sintéticos (prednisona, metilprednisona e betametasona) mais prescritos na prática clínica.....	40
Figura 13 - Efeitos dos glicocorticóides na homeostase da glicose.	41
Figura 14 – Resistência à insulina induzida por GC no musculo esquelético.....	42
Figura 15 – Efeito dos glicocorticoides na gliceroneogênese no tecido adiposo e no fígado.....	42
Figura 16 – Geração das espécies reativas de oxigênio (ERO).....	43
Figura 17 – Efeito das ERO/ERN nas funções celulares e no desenvolvimento das doenças.	45
Figura 18 – Mecanismos de ação das principais classes de fármacos antidiabético e seus respectivos órgãos e tecidos-alvo	46
Figura 19 - Exemplo de compostos à base de Vánadio que demonstraram propriedades miméticas de insulina	51

Figura 20 – Desenho experimental para avaliar o efeito do VO-dt na resistência à insulina induzida por GC em camundongos	56
Figura 21 - Efeito do VO-dt nos níveis de glicemia e triglicerídeos de jejum e índice TyG de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.....	63
Figura 22 - Efeito do VO-dt no ganho de massa corporal, ingestão alimentar e hídrica de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.....	64
Figura 23 - Efeito do VO-dt no teste de tolerância oral a glicose em camundongos tratados com dexametasona durante 14 dias.	66
Figura 24 - Efeito do VO-dt nos níveis hepáticos de TBAR, nitrito e na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.....	70
Figura 25 - Efeito do VO-dt na atividade da glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e relação GSH/GSSG de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.	71

SUMÁRIO

1 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 Diabetes Mellitus (DM)	21
2.1.2 Principais Subtipo da Diabetes Mellitus	22
2.1.2.1 Diabetes mellitus tipo 1 (DM1).....	23
2.1.2.2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2).....	24
2.1.2.3. Diabetes gestacional (DMG)	26
2.1.3 Diagnostico de Diabetes Mellitus.....	29
2.2 Hormônio Insulina	30
2.3 Resistencia à Insulina (RI)	33
2.3.1 Resistência à insulina induzida por glicocorticoide (GC)	34
2.4 RI por GC e estresse oxidativo	43
2.5. Terapia farmacológica no tratamento do DM/RI	45
2.6 Vanádio	50
2.6.1 Vanádio e suas aplicações clinicas	51
3 HIPÓTESE	53
4 OBJETIVOS	54
4.1 Geral	54
4.2 Específicos	54
5 MATERIAIS E MÉTODOS	55
5.1 Preparo do VO-dt	55
5.2 Modelo Experimental	55
5.2.1 Animais	55
5.2.2 Resistência à insulina induzida por dexametasona em camundongos.....	56
5.3 Análises Bioquímicas	56
5.4 Massa de órgãos e tecidos	57
5.5 Análise de lipídios hepáticos totais	57
5.6 Teste de Tolerância oral à glicose (OGTT)	58
5.7 Dosagem de Glicogênio Muscular e Hepático	58

5.8 Análise dos marcadores de estresse oxidativo.....	58
5.8.1 <i>Determinação da Concentração de malonaldeído (MDA).....</i>	59
5.8.2 <i>Determinação da Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)</i>	59
5.8.3 <i>Determinação da Atividade da Catalase (CAT).....</i>	59
5.8.4 <i>Níveis de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e Razão glutathiona reduzida (GSH)/ glutathiona oxidada (GSSG).....</i>	60
5.8.5 <i>Determinação dos níveis de nitrito.....</i>	60
6 PRÁTICAS DE REDUÇÃO E CONFORTO A DOR E AO ESTRESSE	61
7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	62
8 RESULTADOS	63
8.1 Efeito do VO-dt nos níveis de glicemia e trigliciridemia de jejum e cálculo do índice TyG	63
8.2 Efeito do VO-dt no ganho de massa corporal, e ingestão alimentar e hídrica, massa de órgãos e tecidos	64
8.3 Teste de tolerância oral a glicose (OGTT).....	65
8.4 Efeito do VO-dt nos níveis de glicerol plasmático e no conteúdo de glicogênio hepático e muscular	66
8.5 Perfil bioquímico sérico	67
8.6 Efeito do VO-dt no perfil lipídico hepático	68
8.7 Efeito do VO-dt no estresse oxidativo.....	69
9 DISCUSSÃO	72
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS	80
APÊNDICE A – MENÇÃO HONROSA NO II SIMPÓSIO NORDESTINO DE INTEGRAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS	102
APÊNDICE B - MENÇÃO HONROSA NO III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA	103
APÊNDICE C - ARTIGO PUBLICADO EM COLABORAÇÃO	104
APÊNDICE D - ARTIGO QUE SERÁ SUBMETIDO	105
ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	121

1 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

O diabetes *mellitus* (DM) representa um dos maiores desafios à medicina no século 21 por representar um grave problema de saúde pública com grande impacto social e econômico. Com gastos de mais de 670 bilhões de dólares no último ano para o a prevenção e o tratamento do DM e suas comorbidades refletidas na alta mortalidade da população economicamente ativa (GUARIGUATA *et al.*, 2014; IDF, 2019). No início da década de 1980, 108 milhões de pessoas viviam com diabetes; em 2014 este número alcançava 422 milhões e em 2019 são 463 milhões de pessoas no mundo vivendo com DM (IDF, 2019). As projeções para as próximas décadas mostram, claramente, uma pandemia de DM no mundo, com 700 milhões de pacientes em 2045, o que se torna uma preocupação importante, sobretudo em países em desenvolvimento, em relação ao impacto socioeconômico desta doença.

O Brasil está entre os países com maior prevalência de DM, com cerca de 16,8 milhões de pessoas portadoras da doença, o que corresponde a aproximadamente 8,0% da população entre 20 e 79 anos de idade. A expectativa é que se alcance a marca de 26 milhões de diabético no Brasil em 2045 (IDF, 2019). Diante disso, os esforços na prevenção e no tratamento do DM são globais, sobretudo no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que previnam as comorbidades diabéticas, melhore a expectativa e a qualidade de vida do paciente diabético.

É bem compreendido que a resistência à insulina (RI) está diretamente envolvida no desenvolvimento de diferentes doenças metabólicas, sobretudo no DM tipo 2. É definida pela redução na resposta de tecidos sensíveis à ação da insulina nas concentrações fisiológicas deste hormônio, o que compromete a homeostase energética corporal e a atividade de tecidos metabolicamente importantes como músculo esquelético, tecido adiposo branco e fígado (CARDOSO *et al.*, 2018; INÁCIO *et al.*, 2018). A hiperglicemia decorrente da RI representa alterações tecido-específicas importantes, como a redução na captação e utilização de glicose pelo tecido adiposo branco e muscular, maior produção hepática de glicose, além da maior produção de insulina pelas células β -pancreáticas e dislipidemia (ZHOU *et al.*, 2016).

A RI embora não tenha seus mecanismos completamente esclarecidos, tem relação direta com o envelhecimento, dietas ricas em gorduras e carboidratos, assim como hábitos de vida como o sedentarismo. Além destes fatores, o uso de medicamentos pode gerar quadros transitórios de RI (JAIN *et al.*, 2017). A RI induzida por medicamentos é uma questão clinicamente relevante que tem correlação com o tipo e o tempo de uso do medicamento,

aspectos genéticos do paciente, fatores de riscos para DM2 e idade. Deste modo, o uso clínico de glicocorticoides, análogos da somatostatina, anti-andrógenos e anti-psicóticos, inibidores de mTOR e retrovirais deve ser cuidadoso e monitorado, sobretudo pela IR e o surgimento do DM2 nestes pacientes (FATHALLAH *et al.*, 2015; JAIN *et al.*, 2017).

Os efeitos anti-insulínicos dos glicocorticoides (GC) são amplamente conhecidos, especialmente na redução da utilização de glicose por tecidos periféricos como músculo esquelético, fígado e adiposo branco (PROTZEK *et al.*, 2014), aumento na síntese e secreção de hormônios catabólicos como o glucagon, aumento da mobilização de lipídios e proteínas (GHAISAS *et al.*, 2009; CARDOSO *et al.*, 2018). É indiscutivelmente necessário o uso clínico dos GC no tratamento de doenças crônicas inflamatórias (artrite reumatoide, doença inflamatória intestinal entre outras), alergias e na imunossupressão em pacientes submetidos a transplantes de órgãos (LANKATILLAKE; HUYNH; DIAS, 2019; INÁCIO *et al.*, 2018 BOSE; HUTSON; HARRIS, 2016; PROTZEK *et al.*, 2016). Entretanto, a redução dos efeitos colaterais induzidos pelos GC é fundamental. Neste sentido, a investigação de terapias adjuvantes que possam bloquear os efeitos hiperglicemiantes e preservar os efeitos terapêuticos dos GC é essencial.

Neste sentido, o uso de compostos inorgânicos (metais) com atividade biológica reconhecida parece representar uma possibilidade positiva na terapia de diversas doenças, incluindo DM, obesidade e câncer (MJOS *et al.*, 2014). O vanádio, um metal de transição amplamente distribuído na natureza, apresenta efeitos insulínomiméticos, como a redução da hiperglicemia, assim como da atividade antioxidante em diferentes tecidos (GRUZEWSKA *et al.*, 2014; NIELSEN, 1995; FRENCH; JONES, 1993). Além disso, os compostos à base de vanádio são inibidores das proteínas tirosina fosfatases (PTP), o que os torna uma alternativa viável para o desenvolvimento de novos fármacos com ação antihiperglicêmica (DOMINGO; GÓMEZ, 2016).

Neste sentido, foi desenvolvido e sintetizado um protótipo a base de vanádio, que se mostrou anti-hiperglicemiante em ensaios pré-clínicos utilizado modelo de DM tipo 1 em ratos (depósito de patente no BR 10 2020 010025-4). Naturalmente, a avaliação deste protótipo em outros modelos de DM se torna bastante atraente. Ainda mais porque os possíveis efeitos na resistência à insulina induzida por GC são completamente desconhecidos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Diabetes *Mellitus* (DM)

A diabetes *mellitus* (DM) é uma das mais antigas doenças conhecidas pela humanidade. Algumas descrições, pouco precisas dos sintomas que hoje são característicos como do paciente diabético surgem na história da antiguidade. Por exemplo, a descrição da doença poliúrica (urina excessiva) surge a mais de 3.500 a.C (RAMÍREZ-DOMÍNGUEZ, 2016). Por volta de 1.500 a.C., no papiro de Ebers, é descrita a associação entre a sede constante (polidipsia) e a poliúria uma condição de “esvaziamento excessivo da urina” que poderiam ser tratadas com extrato de plantas (KARAMANOU *et al.*, 2016).

Embora, sabia-se que esses registros não demonstravam a compreensão exata da diabetes no antigo Egito, é no século V a.C. que Sushruta, um famoso cirurgião indiano, descreveu a diabetes, denominada de *madhumeha* (urina de mel). Na obra de Sushruta, relata-se que a urina dos portadores da doença atraía formigas e moscas, por apresentar sabor doce e textura pegajosa semelhante ao mel (KARAMANOU *et al.*, 2016; SAPRA *et al.*, 2020).

Há registros de médicos gregos como Rufos de Efésios e Galeno descreveram essa condição associada a poliúria, polidipsia e emagrecimento era grave e potencialmente mortal (KARAMANOU *et al.*, 2016). Entretanto, foi Arataeus Capadocian, um dos mais famosos médicos greco-romanos, depois de Hipócrates, quem cunhou o termo diabetes, palavra derivada do verbo *diabainein*, cujo significado é “passar através” e era associado a um sifão, o que descrevia a poliúria intensa do paciente (LEADER, 2019).

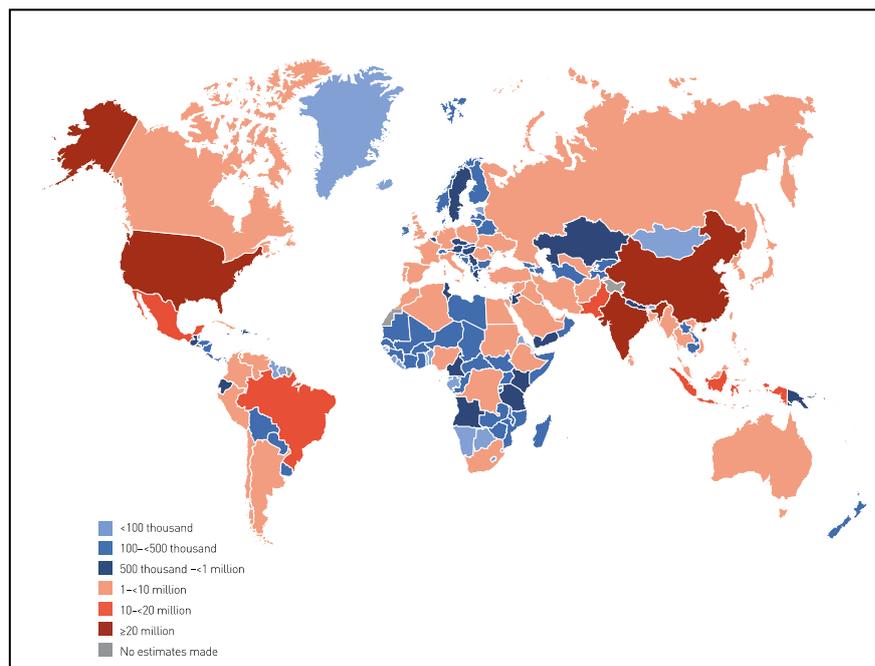
Embora já houvesse relatos do sabor doce da urina de diabéticos desde o século V, foi apenas em 1675, que o anatomista e médico inglês Thomas Willis (LEADER, 2019) incorporou o termo *mellitus*, vocábulo latino que significa doce como mel, a diabetes. Um século depois, 1775, que o médico inglês Matthew Dobson identificou o que o excesso de glicose no sangue (hiperglicemia) estava diretamente associado ao excesso glicose na urina (glicosúria) e, portanto, a urina doce, do paciente diabético (LEADER, 2019; RAMÍREZ-DOMÍNGUEZ, 2016).

Ainda que seja uma das mais antigas doenças conhecidas pela humanidade, a DM representa um dos maiores desafios à medicina no século XXI. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), na década de 1980, 108 milhões de pessoas vivam com diabetes; 20 anos após, eram 150 milhões de diabéticos no mundo. Estimou-se que em 2030 os números de diabéticos chegassem a 366 milhões (GUARIGUATA *et al.*, 2014; WILD *et al.*,

2004), entretanto esta previsão foi morbidamente alcançada já em 2011. As novas projeções mostram que serão 578 milhões de diabéticos em 2030, o que pode chegar a 700 milhões em 2045, ou seja 10,9% da população mundial vivendo com diabetes (IDF, 2019).

O Brasil está entre os países com maior prevalência de diabetes, com cerca de 16,8 milhões (figura 01) de pessoas portadoras da doença, o que corresponde a aproximadamente 8,0% da população entre 20 e 79 anos de idade (IDF, 2019). O DM já representa a 3ª causa de morte e a 8ª causa de incapacidade produtiva no país (SBD, 2017). Diante disso, os esforços na prevenção e no tratamento do DM são globais, sobretudo no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que previnam as comorbidades diabéticas, a melhora da expectativa e da qualidade de vida do paciente diabético.

Figura 1– Estimativa do número total de diabéticos diagnosticados entre 20 e 79 anos de idade em 2019 no mundo



Fonte: Federação Internacional de Diabetes (IDF, 2019).

2.1.2 Principais Subtipo da Diabetes Mellitus

A DM é definida como uma doença endócrina, congênita ou adquirida, caracterizada pela hiperglicemia crônica decorrente de distúrbios no metabolismo de lipídios, carboidratos e proteínas decorrente de prejuízos na secreção e/ou na ação da insulina produzida pelas células

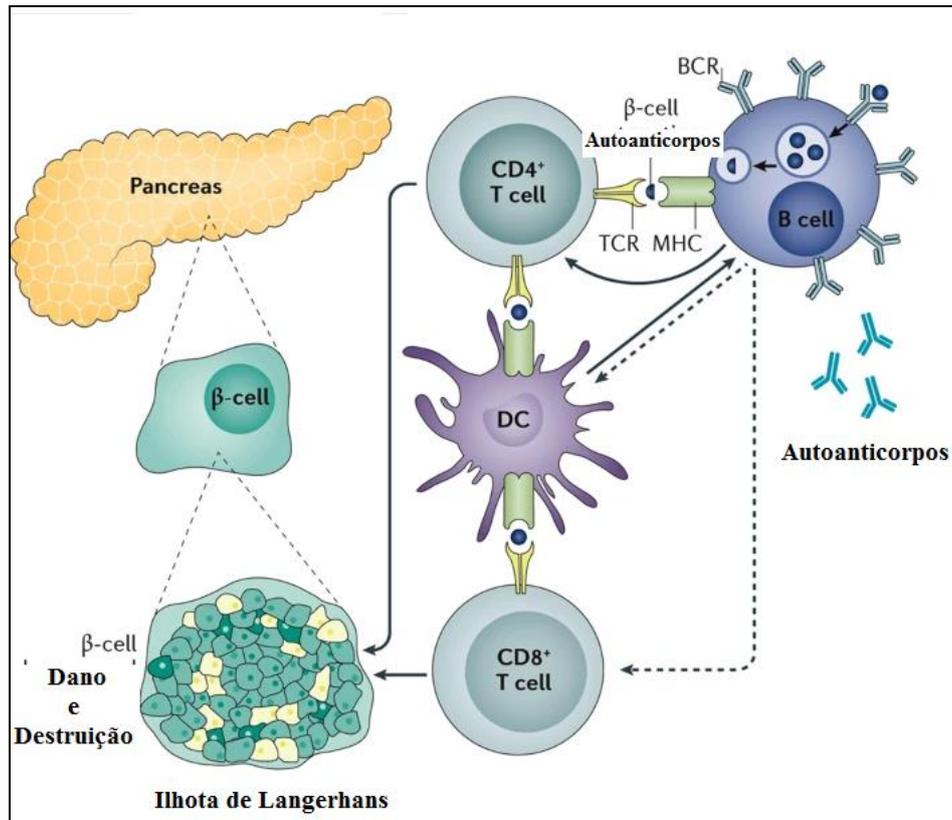
β -pancreáticas em tecidos periféricos (SAPRA *et al.*, 2020; GUARIGUATA *et al.*, 2014; IDF, 2019). A DM é dividido em diferentes subtipos, incluindo o tipo 1 (DM1), tipo 2 (DM2), gestacional (DMG), neonatal (DMN) e diabetes secundário a diferentes endocrinopatias como a síndrome de Cushing e ao uso de drogas, como retrovirais, quimioterápicos e corticoides sintéticos (SAPRA *et al.*, 2020). Além da hiperglicemia, são sinais e sintomas clássicos da DM a poliúria, polidipsia, polifagia, perda de peso, visão turva e suscetibilidade a infecções (SAPRA *et al.*, 2020; FERREIRA; SAVIOLLI; ABREU, 2010).

As comorbidades associadas ao DM comprometem não somente a expectativa, mas também a qualidade de vida do paciente. A duração e a severidade da hiperglicemia estão diretamente associada às doenças microvasculares (retinopatia, neuropatia, nefropatia), assim como doenças macrovasculares (infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e sistêmico), dislipidemia (hipertrigliciridemia, redução dos níveis de colesterol carregado por lipoproteína de alta densidade, HDL), obesidade central e doença hepática não alcoólica (LANKATILLAKE; HUYNH; DIAS, 2019; DE FRONZO *et al.*, 2015).

2.1.2.1 Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)

O DM1 é uma doença autoimune, poligênica, decorrente de destruição das células β pancreáticas, resultando na ausência da produção de insulina (SAPRA *et al.*, 2020; OLIVEIRA; JÚNIOR; VENCIO, 2018). De 5 a 10% dos casos de DM são do subtipo DM1, destes, a maior parte é associada à atividade imunomediada de células T citotóxicas (figura 02) que causam a completa destruição das células β pancreáticas, enquanto 10% ocorre de forma idiopática (MAAHS *et al.*, 2010). Normalmente, o DM1 ocorre em indivíduos antes da terceira década de vida e com fatores de riscos como dieta, massa corporal, sazonalidade do nascimento, vírus, condições geográficas, autoimunidade e predisposições genéticas (VEHIK *et al.*, 2011). Sabe-se que os polimorfismos influenciam o surgimento do DM1, especialmente do complexo de imunohistocompatibilidade maior (MHC) e o antígeno leucocitário humano (HLA) (RAJAEI *et al.*, 2019).

Figura 2 - Patogênese do DM1



BCR-receptor de células B; TCR- receptor de células T; DC- células dendríticas; MHC- complexo principal de imunohistocompatibilidade.

Fonte: Adaptado de KATSAROU *et al.* (2017).

A estimativa global indica que cerca 1,1 milhão de crianças e adolescentes com menos de 20 anos vivem com DM 1. O Brasil ocupa o terceiro lugar em prevalência de DM1 no mundo, segundo o IDF, estima-se que mais de 95 mil brasileiros são portadores de DM1. (OLIVEIRA; JÚNIOR; VENCIO, 2018; IDF, 2019). Os sintomas mais comuns são a poliúria, polidipsia, polifagia, emagrecimento rápido, sudorese e cansaço (IDF, 2019). A cetoacidose é um dos eventos mais comuns nestes pacientes e, normalmente, coincide com o diagnóstico (MAAHS *et al.*, 2010). Embora, as doenças cardiovasculares estejam entre as comorbidades mais frequentes do DM1, os episódios de hipoglicemia decorrente do uso de insulina exógena regularmente é um fator preocupante no manejo destes pacientes (SAPRA *et al.*, 2020).

2.1.2.2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

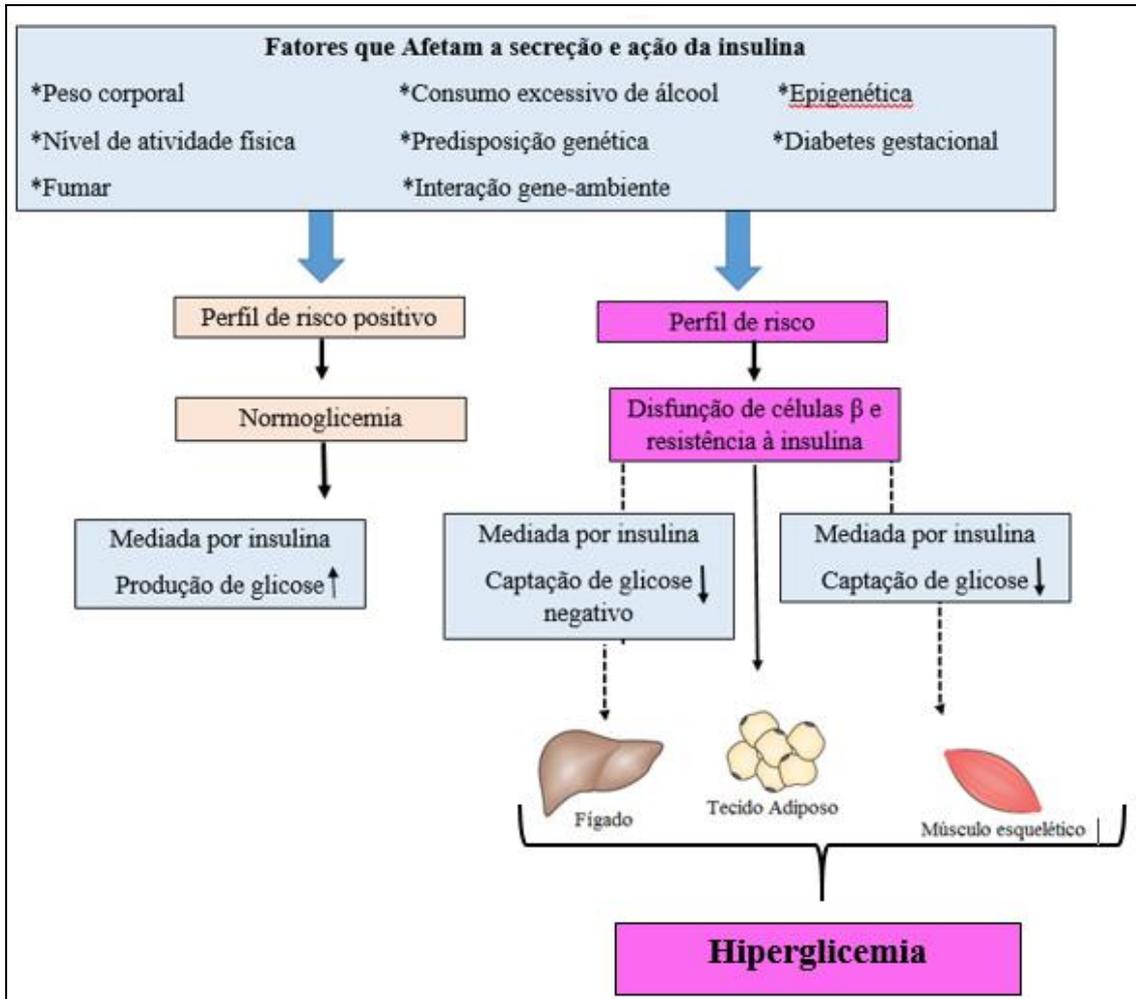
A diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é caracterizada pela alteração do metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos em função da resistência periférica à ação da insulina em

tecidos metabolicamente importantes, como músculo esquelético, tecido adiposo branco e hepático associado à disfunção das células β -pancreáticas (OLIVEIRA; JÚNIOR; VENCIO, 2018; DEFRONZO *et al.*, 2015). É uma desordem poligênica que corresponde a 90% dos casos de DM e envolve interações entre fatores genéticos e ambientais (figura 03) que determinam a resistência à insulina (RI) responsável pelo aumento da produção hepática de glicose (PHG), menor captação e utilização de glicose pelo músculo e tecido adiposo branco, assim como a disfunção progressiva das células β pancreáticas, o que naturalmente resulta em elevação gradual da glicemia (LANKATILLAKE; HUYNH; DIAS, 2019; PEARSON, 2019; WARS, 2016;PEARSON, 2019).

Embora não sejam completamente elucidados os mecanismos envolvidos na DM2, diferentes mecanismos são diretamente relacionados, como a resistência à insulina, disfunção das células β -pancreáticas, inflamação, intenso estresse oxidativo e disfunção mitocondrial (PROTZEK *et al.*, 2016; PLOWS *et al.*, 2018; YARIBEYGI *et al.*, 2019).A hiperglicemia precede o DM2 no estágio conhecido como pré-diabetes, definido como intolerância à glicose, glicemia de jejum alterada ou elevação dos níveis de hemoglobina glicada 1C (HbA1C), o que em conjunto representa um fator de risco elevado para o desenvolvimento do DM2 (DE FORNZO *et al.*, 2015; KAO *et al.*, 2016).

A manifestação clínica da DM2 é diversa e depende de fatores individuais, tais como idade, etnia, fatores genéticos, hábitos de vida, sedentarismo, dietas ricas em gorduras saturadas e carboidratos, dentre outros (Figura 03) (TAYLOR, 2013; DEFRONZO *et al.*, 2015; IDF, 2019). A RI se inicia 1 ou 2 décadas antes do diagnóstico, o que naturalmente reflete uma doença silenciosa de progressão lenta (DEFRONZO *et al.*, 2015).

Figura 3 – Fisiopatologia do DM2



Fonte: Adaptado de Zheng, Ley e Hu (2018).

De todo modo, uma vez confirmado o diagnóstico de DM2, torna-se fundamental o uso de estratégias de terapia que envolvem desde a modificação de hábitos de vida, inclusive alimentares e atividade física, até o uso de fármacos em monoterapia ou combinados, como estratégia de controle glicêmico e prevenção das comorbidades diabéticas, como a hipertensão arterial, intenso estresse oxidativo, doenças micro e macrovasculares e dislipidemias (DEFRONZO *et al.*, 2015; KHAZAI & HAMDY, 2016; CHESTER *et al.*, 2019).

2.1.2.3. Diabetes gestacional (DMG)

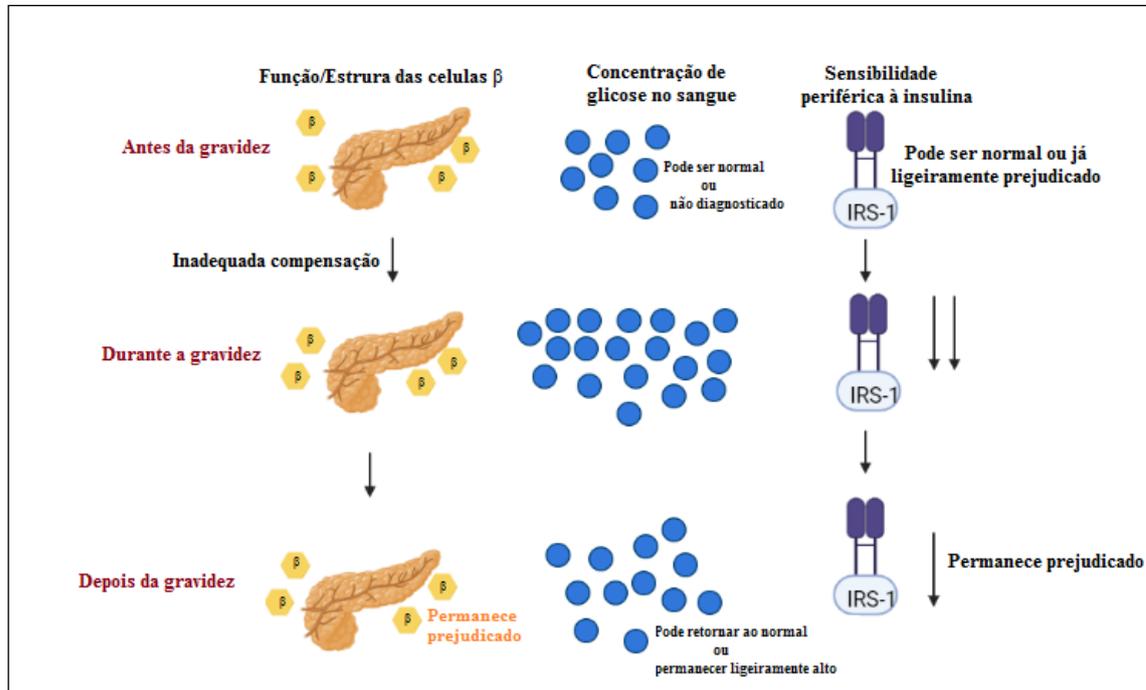
O diabetes *mellitus* gestacional (DMG) é definido como a intolerância à glicose em qualquer grau detectada durante a gestação em mulheres sem história prévia de DM

(OLIVEIRA *et al.*, 2015; MACK *et al.*, 2017; PLOWS *et al.*, 2018). Em 2017, 14% das gestantes foram diagnosticadas com DMG (JONHS *et al.*, 2018), isto é, 1 a cada 7 nascidos eram afetados pela hiperglicemia gestacional (IDF, 2019). Em 2019, a prevalência foi de 15.8%, juntamente com a elevação da relação direta com o sobrepeso e a obesidade, sedentarismo e aumento da idade materna (KHAZAI *et al.*, 2016; JONHS *et al.*, 2018). Embora, ainda existam sérias controvérsias a respeito da triagem, limites de diagnósticos, manejo adequado e acompanhamento pós-parto, o DMG é o distúrbio metabólico mais comum durante a gestação, com impactos na vida da mãe e da vida perinatal e pós-natal do feto.

O DMG predispõe a mãe a riscos severos como a hipertensão arterial, pré - eclampsia, depressão anterior ao parto e o desenvolvimento de DM2, obesidade e doenças cardiovasculares posterior ao parto na mãe (JOHNS *et al.*, 2018; PLOWS *et al.*, 2018). Os efeitos sobre o feto também são importantes como a macrosomia, distorcia de ombro ao nascimento, hipoglicemia por dependência da hiperglicemia materna (hiperinsulinemia fetal), maior risco de ocorrência de natimortos. E, não menos importantes, efeitos sobre a vida pós-natal como maior incidência de obesidade, DM e doenças cardiovasculares na vida adulta (ZHU *et al.*, 2016; SPAIGHT *et al.*, 2016; MACK *et al.*, 2017; PLOWS *et al.*, 2018).

Na gestação normal, há uma redução de 30 a 40% na sensibilidade à insulina e um consequente aumento (200 a 250%) na secreção de insulina pelas células β pancreáticas (figura 04) (CATALANO *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2015; FOROUHI; WAREHAM, 2014). Hormônios como o lactogênio placentário (HPL) e a prolactina (PRL) estimulam a hiperplasia das células β -pancreáticas, o que naturalmente eleva os níveis de insulina circulante na mãe (MACK *et al.*, 2017). Além do HPL, outros hormônios de origem placentária como o estrógeno, progesterona, cortisol e leptina contribuem para a resistência à insulina materna, o que favorece o transporte de glicose através da placenta, garantindo o desenvolvimento fetal adequado (JOHNS *et al.*, 2018).

Figura 4 - Relação entre a disfunção das células β , resistência à insulina e DMG



IRS-1: Primeiro substrato do receptor de insulina.

Fonte: A autora, utilizando a ferramenta BioRender.com (2021).

Entretanto, o surgimento da inabilidade das células pancreáticas de responderem adequadamente ao aumento da necessidade de secreção de insulina durante a gravidez é o que determina, em graus variados, a hiperglicemia no DMG (figura 04) (CATALANO *et al.*, 2014; JOHNS *et al.*, 2018; PLOWS *et al.*, 2018). A participação do HPL no desenvolvimento do DMG é conhecida, sobretudo porque atua sobre o receptor e a sinalização intracelular de insulina por mecanismos tais como: modificações na subunidade β do receptor para insulina (RIns); redução da fosforilação nos domínios tirosina quinase do RIns o primeiro substrato para o receptor de insulina (IRS1).

Além do ambiente endócrino envolvido na instalação do DMG, outros fatores tem sido implicados como a participação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) pelo tecido adiposo branco (RADAELLI *et al.*, 2003; FRIEDMAN *et al.*, 2008), menor produção de adiponectina (WILLIAMS *et al.*, 2014) e mecanismos de transporte de macronutrientes placentários (PLOWS *et al.*, 2018). Felizmente, a resistência à insulina (RI) induzida pela DMG é reversível após a gravidez, porem aproximadamente 30% a 50% dessas mulheres desenvolvem DM2 em um período de 5 a 10 anos, principalmente as

que apresentam alguma comorbidade como por exemplo obesidade (OLIVEIRA *et al.*, 2015). As complicações do DM constituem as principais causas de mortalidade precoce na maioria dos países múltiplas vezes associada a hiperglicemia e ao intenso estresse oxidativo (OLIVEIRA; JÚNIOR; VENCIO, 2018).

2.1.3 Diagnóstico de Diabetes Mellitus

Os critérios diagnósticos para o DM são essenciais, pois permitem avaliar alterações metabólicas importantes que precedem a instalação do DM, como o pré-diabetes (tabela 1). De modo geral, o DM pode ser dividido em 4 categorias gerais já conhecidas: DM1, DM2, DMG e DM de causas secundárias ao uso de medicamentos, (corticoides, retrovirais utilizados no tratamento do HIV/AIDS), endocrinopatias (síndrome de Cushing, hipertireoidismo, hiperaldosteronismo, glucagonoma e somatostatina) e doenças do pâncreas exócrino (fibrose cística e a pancreatite aguda) (ADA, 2018; IDF, 2019; SAPRA *et al.*, 2020).

De modo geral, o diagnóstico do DM está baseada na verificação da glicemia de jejum, no teste de tolerância oral à glicose (OGTT), hemoglobina glicada 1C (HbA1c) e na dosagem aleatória da glicemia sem jejum (Tabela 01) (FOROUHI; WAREHAM, 2014; IDF, 2019). Para o DM1, a presença dos sinais e sintomas clássicos como poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento não explicado dispensa o uso do OGTT, desde que estejam associados a glicemia com dosagem randomizada acima de 200mg/dl (11.1 mmol/l), glicemia de jejum superior a 126mg/dl (7.0mg/dl) e HbA1c maior que 6.5% (IDF, 2019).

Os critérios diagnósticos para DMG são controversos, mas de modo geral resultados de glicemia de jejum acima de 95mg/dl (5.5 mmol/ml), ou após 1h, 2h e 3h da sobrecarga de glicose (OGTT) na ordem de 180mg/dl (10mmol/l), 155mg/dl (8.6mmol/l) e 140mg/dl (7.8mmol/l), respectivamente, são aceitos para o diagnóstico (IDF, 2019). Embora, a dosagem de HbA1c seja realizada de forma limitada pela dificuldade no processamento do exame e o alto custo para muitos países em desenvolvimento, é um excelente indicador, pois permite a avaliação temporal dos níveis glicêmicos dos últimos 2 a 3 meses. Apresentando diversas vantagens em relação aos demais teste devido sua maior estabilidade pré-analítica e menor risco de sofrer influência de fatores externos como por exemplo, variações nutricionais e o estresse socioeconômico a que é submetido o paciente. (CARE; SUPPL, 2018; FOROUHI; WAREHAM, 2014).

Tabela 1 – Critérios diagnósticos para o diabetes mellitus

AMOSTRA	DIABETES (Um ou mais critérios presentes)	INTOLERÂNCIA À GLICOSE (Todos os critérios presentes)	INTOLERÂNCIA À GLICOSE DE JEJUM (Primeiro ou ambos os critérios presentes)
Glicemia de jejum	≥ 126mg/dl (7.0mmol/l)	<126mg/dl (< 7.0mmol/l)	110 – 125mg/dl (6.1 – 6.9mmol/l)
Glicemia no OGTT	≥ 200mg/dl (11.1mmol/l)	140 - 200mg/dl (7.8 – 11.1mmol/l)	140mg/dl <7.8mmol/l
HbA1c	≥48 ≥ 6.5%		
Valor de glicemia em amostragens aleatórias	≥ 200mg/dl (11.1mmol/l)		

OGTT – Teste de tolerância oral à glicose; HbA1C – hemoglobina glicada 1C.

Fonte: Adaptado de IDF (2019).

2.2 Hormônio Insulina

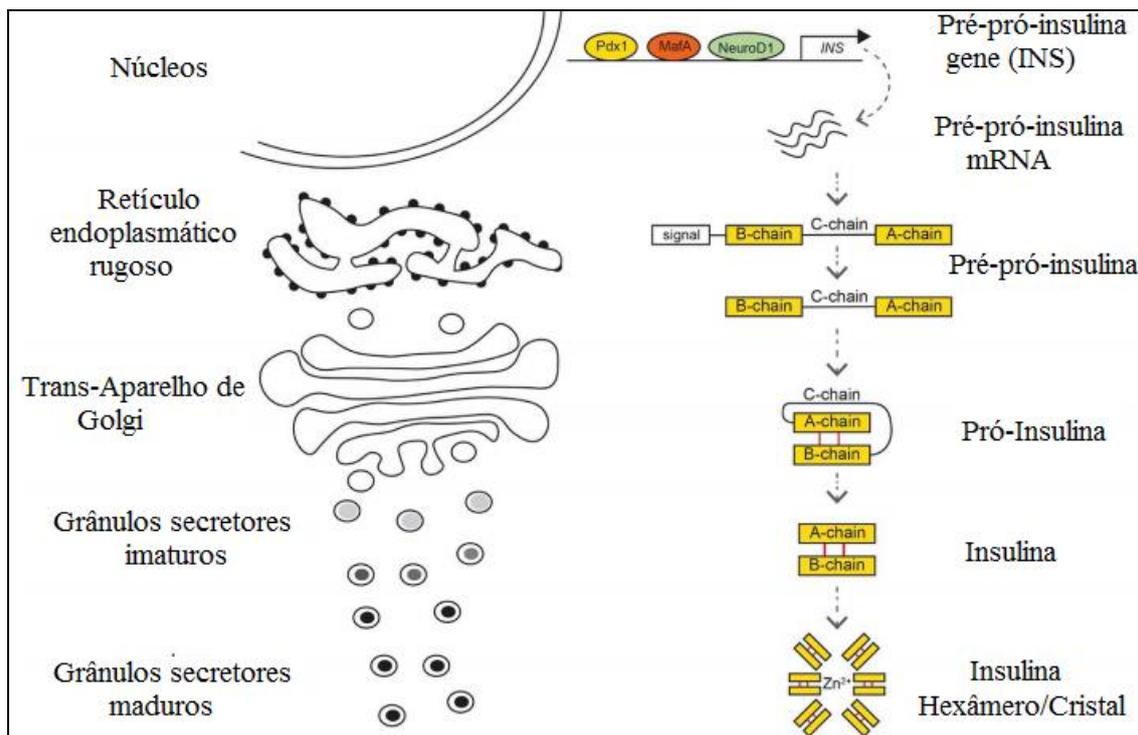
A insulina humana é um hormônio peptídico formado por duas cadeias: α (21 aminoácidos) e β (30 aminoácidos), na qual a cadeia α possui pontes dissulfeto em resíduos de cisteína intracadeia produzida pelas células β pancreáticas com peso molecular de 5,808 Kda (GUTIÉRREZ-RODELO *et al.*, 2017). O ser humano apresenta um único gene para insulina localizado no braço curto do cromossomo 11. Inicialmente, a síntese se dá como pré-pró-insulina, formada pelas cadeias α , β , peptídeo de conexão e um peptídeo sinal de 23 aminoácidos que é clivada no retículo endoplasmático rugoso (RER) pela peptidase sinal, dando origem a pró-insulina com 86 aminoácidos (Figura 03). No RER, a pró-insulina adquire sua conformação tridimensional com as cadeias α semi helicoidal e β helicoidal ligadas entre si por pontes dissulfeto (TOKARZ; MACDONALD; KLIP, 2018).

Sendo direcionadas para o aparelho de Golgi, onde a pró-insulina é empacotada em grânulos secretório imaturos nos quais por ação das enzimas convertases 1, 2 e 3, a pró-insulina é convertida à insulina por clivagem do peptídeo de conexão ou peptídeo C (TOKARZ; MACDONALD; KLIP, 2018). Em seguida, por ação da carboxipeptidase E, os aminoácidos básicos da extremidade carboxi-terminal das cadeias peptídicas produzidas dão

origem à insulina madura, ou seja, as cadeias α e β ligadas entre si por pontes dissulfeto (DU *et al.*, 2016; KEBEDE *et al.*, 2014). O trânsito da insulina nas vesículas imaturas do aparelho de Golgi é complexo e depende da função de diferentes proteínas, tais como a SORCS1 e HID-1 (DU *et al.*, 2016; KEBEDE *et al.*, 2014).

De modo geral, a biossíntese da insulina, além de rápida (dura menos de ~ 2 h) é bastante eficiente, uma vez que menos de 2% de pró-insulina é mantida nos grânulos secretórios maduros, onde a insulina forma complexos com o zinco em estruturas hexaméricas cristalinas (TOKARZ; MACDONALD; KLIP, 2018). A secreção deste hormônio é complexa e dependente de enzimas intracelulares como a proteína cinase dependente do AMP (AMPK) e cinesina 1 (MCDONALD *et al.*, 2009). É fundamental para o processo secretório reorganização do citoesqueleto, mecanismo controlado por pequenas proteínas G monoméricas e as concentrações intracelulares de cálcio (TOKARZ; MACDONALD; KLIP, 2018).

Figura 5 – Síntese da insulina nas células β -pancreáticas



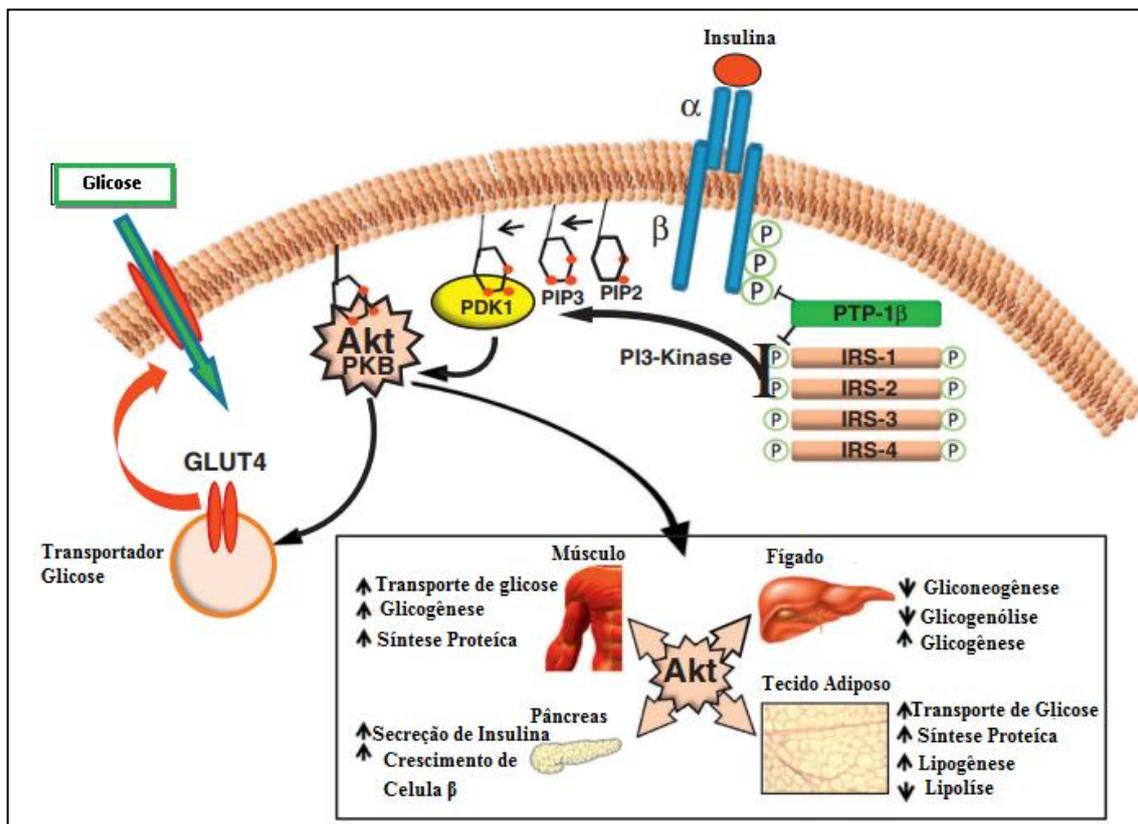
Fonte: Adaptado de Tokarz, Macdonald e Klip (2018).

A insulina é um hormônio essencialmente anabólico que regula diretamente o metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos (Figura 6), assim apresenta ação fundamental para regulação da produção hepática de glicose através da glicogeniogênese e neoglicogênese (LEE *et al.*, 2017; TITCHENELL *et al.*, 2017). Como também regula a síntese

e o armazenamento de lipídios no fígado, pelo menos em parte, por meio da síntese de um novo lipídio, supressão da β -oxidação de ácidos graxos e esterificação e secreção de triglicérides sob a forma de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) para armazenamento em tecidos extra-hepático, especialmente tecido adiposo abdominal (TAB) (RUI, 2014; TITCHENELL *et al.*, 2017).

A via de sinalização da insulina é complexa e altamente integrada que envolve a ativação por autofosforilação do receptor de insulina (IR), fosforilação de proteínas adaptadoras como o substrato do receptor de insulina (IRS) que está conectada a duas vias clássicas (Figura 06): (a) a ativação proteína fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) e proteína quinase B ou AKT, via PDK1, que responde pelas ações metabólicas deste hormônio e; (b) a via da Ras-proteínas mitógenas quinase (MAPK) que estimula crescimento e diferenciação celular em todos os tecidos biológicos (LEE *et al.*, 1994; TANIGUCHI *et al.*, 2006; HAEUSLER *et al.*, 2018; PETERSEN *et al.*, 2018)

Figura 6 - Sinalização de insulina e seus principais efeitos nos tecidos-alvo



AKT- proteína quinase; PTP1 β - proteína tirosina fosfatase 1B;PI3K- fosfoinositídeo 3-quinase; IRS-receptor de insulina.

Fonte: Adaptado de Capurso e Capurso (2012).

Classicamente, a insulina, através da via PI3K/AKT estimula a captação de glicose (figura 06) através da translocação do transportador de glicose isoforma 4 (GLUT4) expresso no tecido adiposo branco (TAB) e muscular esquelético (GUTIÉRREZ-RODELO *et al.*, 2017; PLOWS *et al.*, 2018).

2.3 Resistência à Insulina (RI)

Neste sentido, a resistência à insulina (RI), foi reconhecida desde a década de 1930, é caracterizada pela redução da resposta celular à ação da insulina em concentrações fisiológicas, sobretudo em tecidos sensíveis à insulina como o tecido muscular esquelético, adiposo branco e hepático (SHAODONG, 2014; VAN RAALTE *et al.*, 2013; BODEN, 2011). Além disso, a RI determina a redução na captação de glicose por tecidos hormônio dependentes, ausência da supressão da produção hepática de glicose, hiperinsulinemia compensatória e dislipidemia, um quadro típico de síndrome metabólica que é associado ao desenvolvimento das principais comorbidades como a obesidade, esteatose hepática não alcoólica, doença aterosclerótica e DM2 (SAMUEL *et al.*, 2012; YARIBEYGI *et al.*, 2018).

Do ponto de vista molecular, a RI pode ser causada, dentre outros fatores, por redução da expressão dos receptores de insulina (IRS) e/ou de sua atividade autocatalítica (BOUCHER *et al.*, 2011), modificações pós-transducionais do receptor de insulina e de moléculas efetoras que compõem a via de transdução do sinal hormonal, tais como fosforilação em resíduos de aminoácido serina e treonina do próprio IRS ou da proteína primeiro substrato do IRS (IRS-1) (ZICK, 2005), aumento da atividade de fosfatases de resíduos de tirosina fosfatadas (LU *et al.*, 2003), menor atividade das proteínas PI3K e Akt (BIJUR *et al.*, 2003) assim como alterações na expressão e na função do GLUT4 o que pode gerar a redução da responsividade celular (GUTIÉRREZ-RODELO *et al.*, 2017; PLOWS *et al.*, 2018).

De modo geral, processos inflamatórios, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e o estresse de retículo endoplasmático (RE) tem relação negativa com a sinalização de insulina, o que pode ocasionar o desenvolvimento da RI (IZQUIERDO *et al.*, 2019). É bem descrito que o acúmulo de lipídios não somente no TAB, mas em outros órgãos, contribuem para o desenvolvimento da RI. O excesso de ácidos graxos no TAB modifica o perfil de secreção de adipocinas e citocinas pró-inflamatórias as quais geram RI no músculo esquelético e no fígado (XU *et al.*, 2003; REHMAN *et al.*, 2016). Dentre as citocinas produzidas no TAB que

prejudicam a sinalização de insulina está o TNF- α que induz a fosforilação dos IRS-1 em resíduos de serina, inativando-o, e compromete a translocação de GLUT4 no músculo (PERALDI *et al.*, 1998). A redução na produção da adiponectina, citocina produzida pelo TAB, também tem sido relacionada à RI, sobretudo pela redução dos seus níveis na obesidade (YARIBEYGI *et al.*, 2018).

Outro fator é a disfunção mitocondrial, que também contribui para a instalação da RI, pois o funcionamento apropriado das mitocôndrias em tecidos insulino-dependentes tem relação direta com a sensibilidade à ação da insulina (CHENG, TESENG *et al.*, 2010). A redução da oxidação de lipídios e carboidratos nas mitocôndrias ocasiona o acúmulo ectópico de lipídios em tecidos como músculo e fígado, especialmente ceramidas e diacilglicerol (DAG) que inibem a sinalização de insulina (TURNER *et al.*, 20013, GONZALEZ-FRANQUESA, 2017). Além disso, com a redução na oxidação de nutrientes, a proporção entre a produção de adenosina trifosfato (ATP) e o consumo de oxigênio é reduzida, o que eleva a produção de ânions superóxidos, o que naturalmente gera estresse oxidativo responsável por danos mitocondriais importantes e suficientes para estimular processos inflamatórios que podem comprometer a sinalização da insulina (LANDAR *et al.*, 2006).

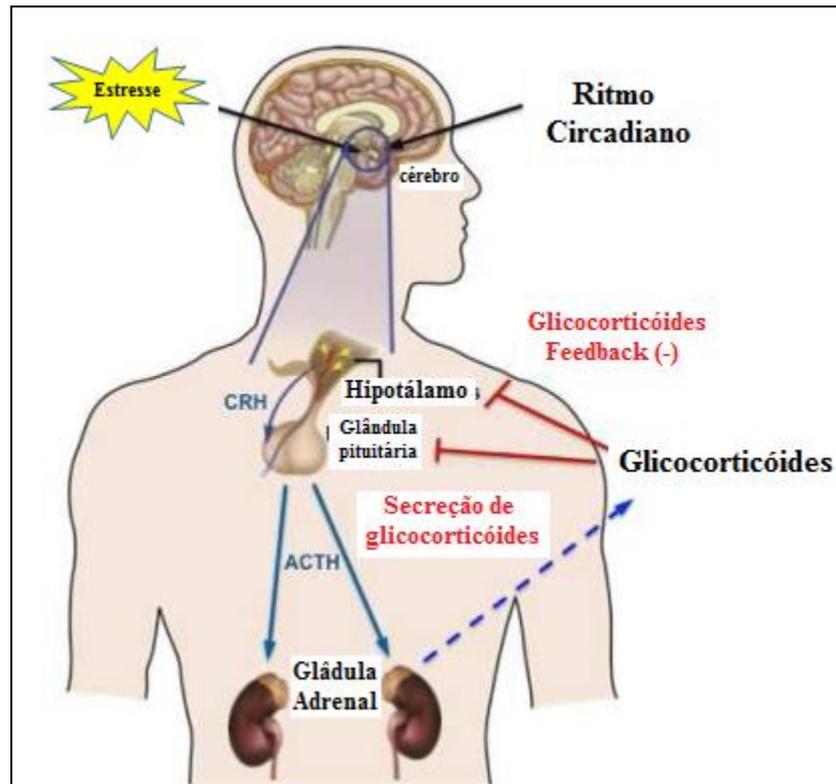
Mais recentemente, tem sido atribuída a participação do estresse de retículo endoplasmático (RE) na resistência à insulina. Estímulos como hiperglicemia e o estresse oxidativo causam alterações no funcionamento normal do RE (BANHEGYI *et al.*, 2007). Nas células β -pancreática, o estresse de RE aumenta a inflamação e o acúmulo de lipídios, que além de comprometer a função celular, dificulta a síntese da insulina, o que contribui para a instalação da RI em tecidos como músculo, TAB e fígado (YARIBEYGI *et al.*, 2018).

2.3.1 Resistência à insulina induzida por glicocorticoide (GC)

Os glicocorticoides (GC) foram descobertos na década de 1940 pelos Dr. Edward C. Kendall, Dr. Tadeus Reichstein e Phillip S. Hench, laureados pelo Nobel em Fisiologia e Medicina em 1950 (WANDELVALLEY *et al.*, 2018). São hormônios de natureza esteroides sintetizados na região fasciculada do córtex adrenal sob o controle neuroendócrino do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Figura 7) e que exercem amplas funções para manutenção da regulação do metabolismo glicídico, crescimento e diferenciação celular, reprodução, função cardiovascular, comportamento e cognição, além do metabolismo lipídico e

protéico (RAMAMOORTHY; CIDLOWSKI, 2016; ZHOU *et al.*, 2016; GJERSTAD *et al.*, 2018; GUPTA *et al.*, 2019).

Figura 7 – Regulação da síntese e secreção dos glicocorticoides pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

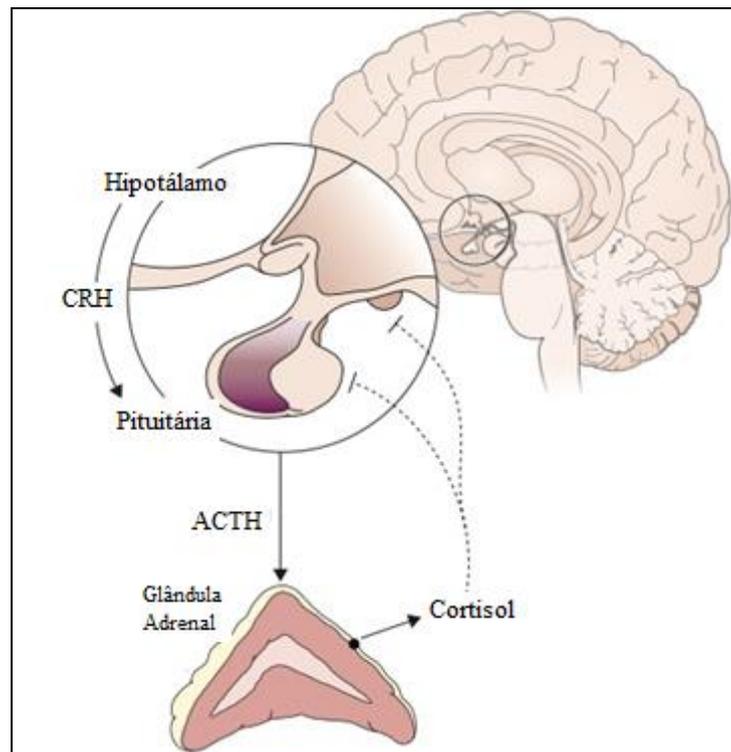


ACTH- hormônio adrenocorticotrófico; CRH- hormônio liberador de corticotrofina.
Fonte: Adaptado de Ramamoorthy e Cidlowski (2016).

Os GC (corticoides em humanos e corticosterona em roedores) são sintetizados e secretados pela glândula adrenal sob controle circadiano e neuroendócrino em resposta a estímulos fisiológicos e estressores (RAMAMOORTHY; CIDLOWSKI, 2016). Os estímulos circadianos oriundos do supraquiasmático são enviados ao núcleo paraventricular hipotalâmico que estimula a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e arginina vasopressina (AVP). Estes neuropeptídeos são secretados na eminência mediana (EM) no plexo vascular porta hipotálamo-hipofisário de onde é drenado para hipófise anterior onde estimula a produção da pró-opiomelanocortina (POMC) e subsequente liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pelos corticotrofos hipofisários (Figura 7) (ANTONI, 1986; HERMAN *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2016).

Deste modo, o ACTH estimula a região fasciculada da glândula adrenal a síntese dos glicocorticoides, especialmente, o cortisol em humanos (DALLMAN *et al.*, 1987). O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) (figura 08) é regulado por mecanismos clássicos de retroalimentação negativa, no qual os níveis circulantes de cortisol inibem a expressão e atividade do CRH e ACTH (VITELLIUS *et al.*, 2018; BIDDIE; CONWAY-CAMPBELL; LIGHTMAN, 2012). Uma vez secretados pelas glândulas adrenais, 80 a 90% dos CG são transportados pela globulina ligadora de corticoides (CBG), 10 a 15% pela albumina, de modo que apenas 5% fica na fração livre e biologicamente ativa (RAMAMOORTHY; CIDLOWSKI, 2016). A expressão de CBG regula a biodisponibilidade hormonal. Em nível celular, a disponibilidade dos GC para exercerem suas funções depende da expressão da 11 β -desidrogenase isoforma 1 (11 β -HSD1) e 2 (11 β -HSD2), que podem ativar e inativá-los, nesta mesma ordem (SLOMINSKI *et al.*, 2020).

Figura 8 – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA)



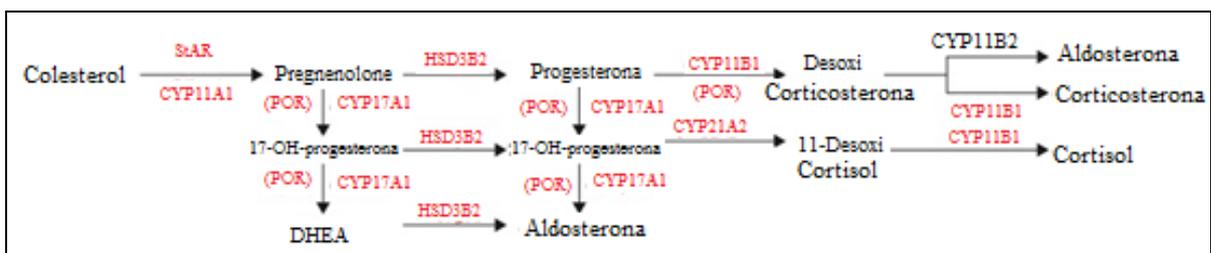
ACTH- hormônio adrenocorticotrófico; CRH- hormônio liberador de corticotrofina.
Fonte: Adaptado de El-Maouche, Arlt e Merke (2017).

Os GC são produzidos a partir do colesterol através de um complexo e multienzimático processo denominado esteroidogênese. O ACTH, via receptor ligado à

proteína Gα estimulatório de membrana (GPCRaS) estimula a síntese de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) e aumento da atividade da proteína cinase A (PKA) (EL-MAOUCHE, DIALA; ARLT, WIEBKE; MERKE, DEBORAH P.,2017). A PKA estimula a atividade da lipase hormônio sensível (LHS) que aumenta a disponibilidade de colesterol intracelular e também a ativação por fosforilação da enzima reguladora aguda da esteroidogênese (StAR)(EL-MAOUCHE, DIALA; ARLT, WIEBKE; MERKE, DEBORAH P.,2017; RAMAMOORTHY S, CIDLOWSKI, GJERSTAD *et al.*, 2018).

Esta enzima transporta o colesterol para mitocôndria onde, através da clivagem da cadeia lateral pela enzima P450_{SCC} (CYP11A), é convertido a pregnenolona. A partir da pregnenolona e, por reações enzimáticas sucessivas na mitocôndria e no retículo endoplasmático liso, o cortisol é produzido pela zona fasciculada da glândula adrenal (Figura 09) (EL-MAOUCHE, DIALA; ARLT, WIEBKE; MERKE, DEBORAH P.,2017; RAMAMOORTHY S, CIDLOWSKI, GJERSTAD *et al.*, 2018). Classicamente, os GC atuam em receptores intracelulares que pertencem à superfamília dos receptores nucleares, mas que se mantêm inativos no citoplasma e associados a um complexo multienzimático que envolve proteínas de choque térmico (HSP, *heat shock protein* 70, 90 e p23) e imunofilinas (FKBP51 e 52) (EL-MAOUCHE, DIALA; ARLT, WIEBKE; MERKE, DEBORAH P.,2017).

Figura 9 - Biossíntese dos hormônios esteroides adrenais.



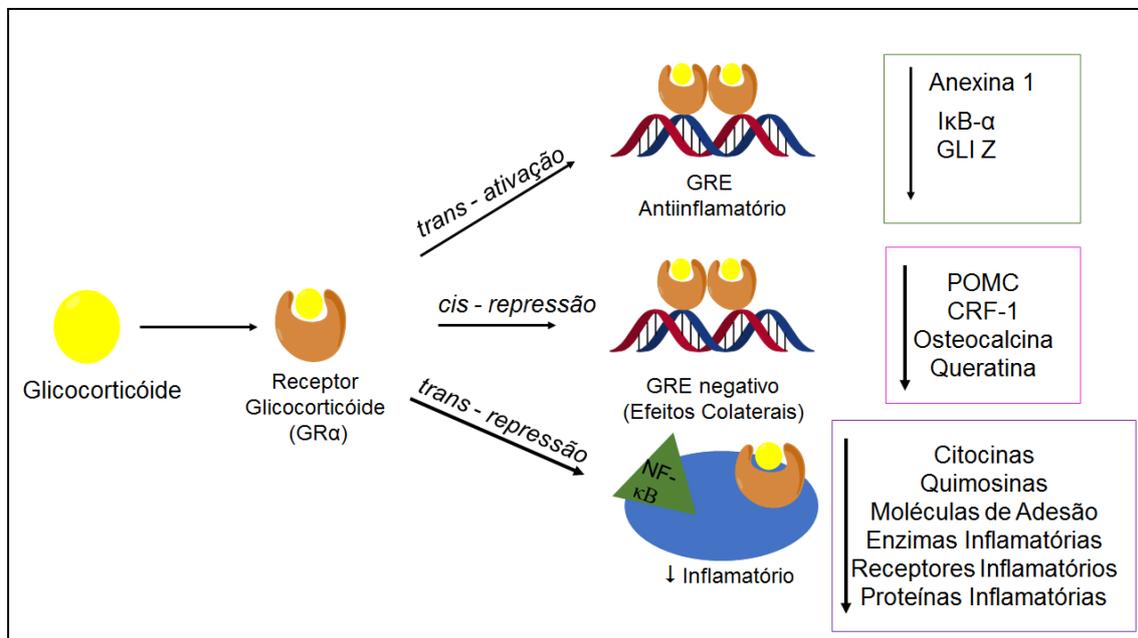
CYP11A - enzima P450_{SCC}; CYP21A2- A 21-hidroxilase esteroidal; StAR – Proteína reguladora aguda da esteroidogênese; POR- P450oxidorreductase; HSD3B2-3beta-hidroxiesteróide desidrogenase / delta-deltaisomerase tipo II ou a hidroxí-delta-5-esteróide desidrogenase, 3 beta e esteróide delta-isomerase 2; CYP11B2-enzimas aldosterona sintase.

Fonte: Adaptado de El-Maouche, Arlt e Merke (2017).

Uma vez ativados pelo ligante, os receptores se modificam conformacionalmente e se desligam dos complexos proteicos para migrarem para núcleo onde modulam a atividade transcricional por transativação ou transrepressão (SLOMINSKE *et al.*, 2020). Na transativação, o complexo hormônio-recepto (H-R) foram dímeros que se ligam aos elementos reponsivos ao glicocorticoides (GRE), que são sequencias palindrômica de DNA

(GGAACAnnTGGTTCT), recrutando co-ativadores da expressão gênica. Na transrepressão, o complexo H-R se liga a outros fatores transcricionais como o fator transcricional kaapa B (NFkB) através de interações proteína-proteína, o que reduz a expressão dos genes-alvo (Figura 10) (SLOMINSKE *et al.*, 2020; GJERSTAD; LIGHTMAN; SPIGA, 2018; RAMAMOORTHY; CIDLOWSKI, 2016; HE *et al.*, 2014). A transrepressão é o principal mecanismo através do qual os GC exercem seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores (SLOMINSKE *et al.*, 2020; GJERSTAD; LIGHTMAN; SPIGA, 2018; RAMAMOORTHY; CIDLOWSKI, 2016).

Figura 10 – Esquema dos mecanismos gênicos dos glicocorticoides



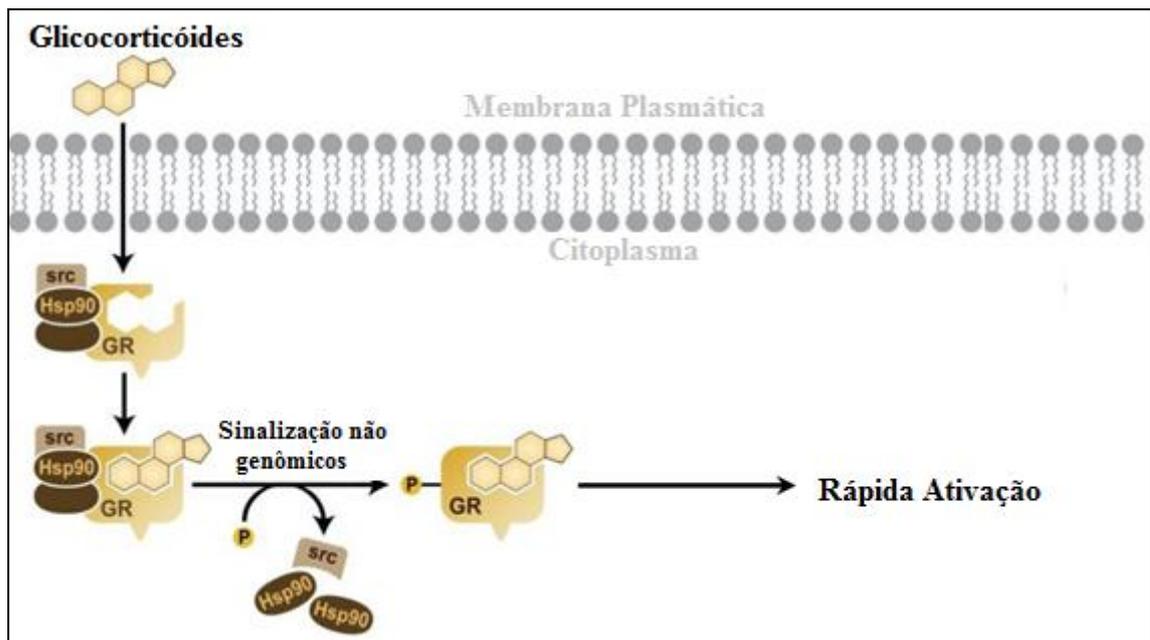
GR α -Receptor Glicocorticoide α ; GRE – Elementos responsivos aos glicocorticoides; Anexina 1 (lipocortina-1) – proteína endógena regulada por glicocorticoides; MKP-1 - Proteína cinase fosfatase-1 ativada por mitogênio (fosfatase da MAPK);GLIZ - proteína induzida por glicocorticoide que possui zipper de leucina; NF- κ B- fator nuclear kappa B; POMC- precursor polipeptídico com 241 resíduos de aminoácidos; I κ B α -fator nuclear do intensificador do gene do polipeptídeo kappa leve no inibidor de células B, alfa; CRF - fator de liberação da corticotropina; Trans-ativação- crRNA de ativação em trans (tracrRNA); Cis-repressão-repressão da expressão de outras proteínas (POMC supressão do eixo HPA; osteocalcina osteoporose); Trans-repressão- inibição do fator nuclearNF- κ B e do API, que são fatores essenciais na resposta inflamatória.

Fonte: Adaptado de Gjerstad, Lightman e Spiga (2018).

Além das ações clássica, os GC produzem ações não genômicas rápidas (RAMAMOORTHY; CIDLOWSKI, 2016; SLOMINSKE *et al.*, 2020), as quais provavelmente acontecem através de interações fisicoquímicas com receptores citosólicos ou de membrana (SLOMINSKE *et al.*, 2020). Essas ações rápidas podem envolver modulações

na atividade de diferentes cinases como a AKT/PKB e mitógenas (MAPK), independentemente de suas vias clássicas (SAMARASHINGHE *et al.*, 2012; KADMIEL; CIDLOWSKI, 2013). Essas ações rápidas dos GC tem sido descritas em diferentes sistemas, como cardiovascular (AYROLDI *et al.*, 2021), imunológico (LEE *et al.*, 2012) e neuroendócrino (Figura 11) (BELLAVANCE; RIVEST, 2012).

Figura 11 – Ações não genômicas dos GC



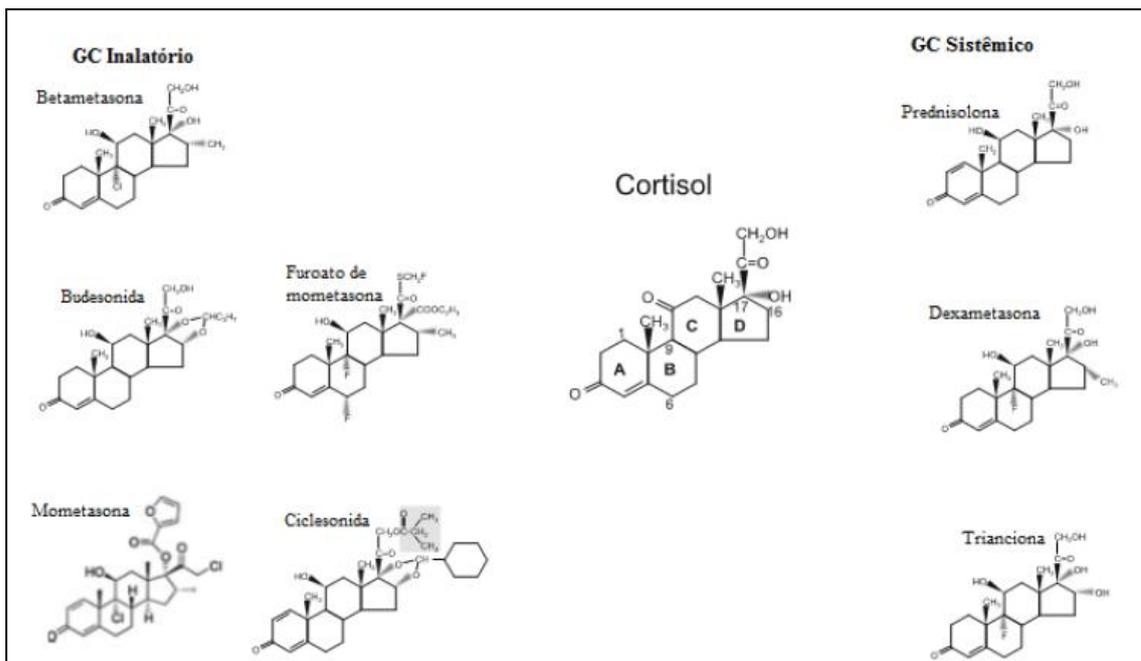
GR- receptor glicocorticoide; Hsp90- proteína de choque térmico 90; src- tirosina quinase oncogênica.
Fonte: Adaptado de Kadmiel e Cidlowski (2013).

Sendo testado em 1948 pelo reumatologista Philip Hench em portadores de artrite reumatoide com sucesso, tornando-se uma das drogas mais usadas no século XX (GOSSYE *et al.*, 2010; HILLIER, 2007). O amplo uso clínico dos GC se deve às ações anti-inflamatórias e imunomodulatórias destes hormônios, o que os torna uma opção terapêutica de primeira escolha para diferentes situações clinicamente importantes como asma, artrite reumatoide, alergias, doença intestinal inflamatória (ORAY *et al.*, 2016; HE *et al.*, 2014; GOSSYE *et al.*, 2010). Além da imunossupressão induzida por GC para minimizar a rejeição em pacientes submetidos ao transplante de órgãos (HE *et al.*, 2014; ORAY *et al.*, 2016).

Embora os GC modernos como a prednisolona, fluticasona, budesonida e dexametasona, derivados do cortisol (hidrocortisona), mas estruturalmente modificados para aumentar a potência terapêutica (Figura 12) (ADCOCK; MUMBY, 2016). Devem ser empregados na clínica médica cuidadosamente, sobretudo pelos efeitos adversos importantes

que apresentam, dentre eles: hipertensão, intolerância à glicose, adiposidade central, dislipidemia, RI, DM2, catabolismo proteico muscular e, em algumas situações a síndrome de Cushing farmacologicamente induzida (ROSE *et al.*, 2013; FLEUREN *et al.*, 2013; HERZIG, 2013; ZHOU *et al.*, 2016).

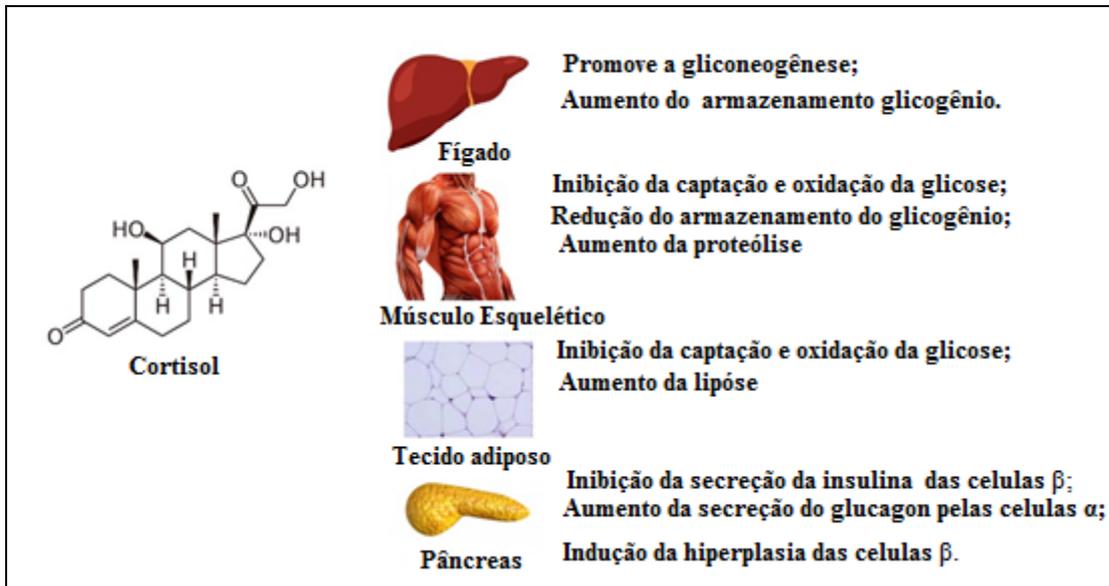
Figura 12 - Estrutura química de glicocorticoides sintéticos (prednisona, metilprednisona e betametasona) mais prescritos na prática clínica.



Fonte: Adaptado de Adcock e Mumby (2016).

Os GC são assim denominados porque regulam o metabolismo da glicose, com ações muito importantes em situações de estresse metabólico, como o jejum prolongado, durante a qual é necessário manter a glicemia para utilização como fonte primária de energia pelo sistema nervoso central (KUO *et al.*, 2015). São bem conhecidas as ações metabólicas dos GC como a redução da captação de glicose no tecido muscular esquelético e tecido adiposo branco (TAB), aumento da produção hepática de glicose (neoglicogênese), inibição da secreção de insulina e aumento da secreção de glucagon pelo pâncreas, além das ações catabólicas como o aumento da proteólise muscular e da lipólise no TAB (Figura 13) (ZHUO *et al.*, 2016).

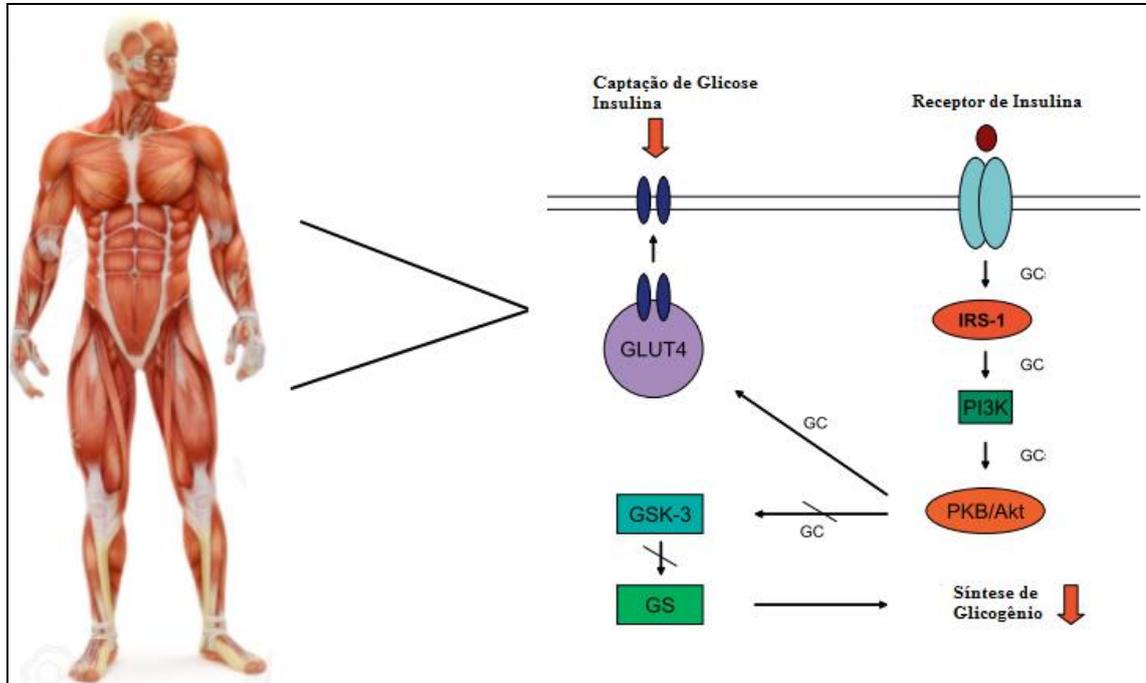
Figura 13 - Efeitos dos glicocorticóides na homeostase da glicose.



Fonte: A autora (2021).

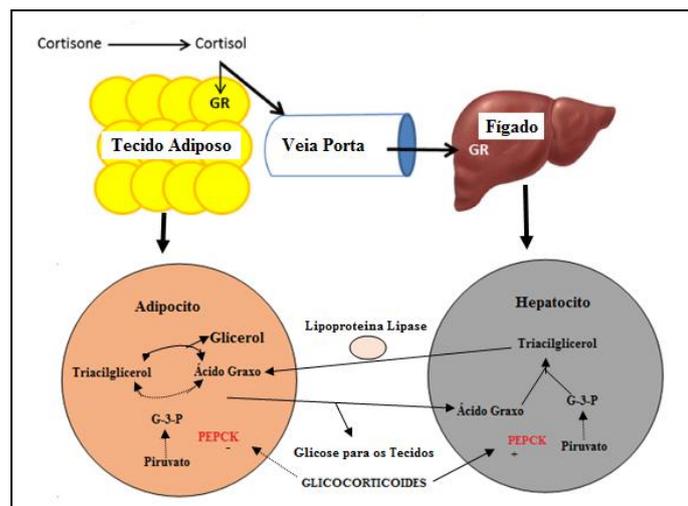
Embora, sejam ações fisiologicamente essenciais à manutenção da vida em situações de demanda energética, o excesso de GC, endógenos e/ou exógenos, produz um quadro de hiperglicemia por diferentes mecanismos: (a) RI no músculo esquelético e no TAB (figuras 14 e 15) com redução na captação de glicose; (b) embora no fígado os GC estimulem a síntese do glicogênio hepático, produzem um efeito permissivo para as catecolaminas no músculo esquelético produzindo glicogenólise muscular, assim como bloqueia a glicogeniogênese muscular estimulada pela insulina; (c) estimula a secreção de glucagon pelas células α -pancreáticas e maior sensibilidade hepática a este hormônio; (d) produz hiperplasia das células β -pancreáticas, o que resulta em hiperinsulinemia (ZHUO *et al.*, 2016; PIVONELLO, ROSARIO *et al.*, 2010). Um outro mecanismo envolvido na RI induzida por glicocorticoide é o estresse oxidativo (COSTANTINI, MARASCO, MØLLER, 2011). De modo conjunto, são ações que determinam a instalação da RI, hiperinsulinemia e hiperglicemia, condições associadas ao desenvolvimento de doenças cardiometabólicas importantes (KUO *et al.*, 2015; ZHUO *et al.*, 2016).

Figura 14 – Resistência à insulina induzida por GC no músculo esquelético.



IRS-1 = substrato-1 do receptor de insulina; PI3K = fosfatidilinositol-3-cinase; PKB = proteína cinase B; GSK-3 = glicogênio-sintase-cinase-3; GLUT4-transportador de glicose 4; GS- glicogênio-sintase.
 Fonte: Adaptado de Pivonello *et al.* (2010).

Figura 15 – Efeito dos glicocorticoides na gliceroneogênese no tecido adiposo e no fígado.



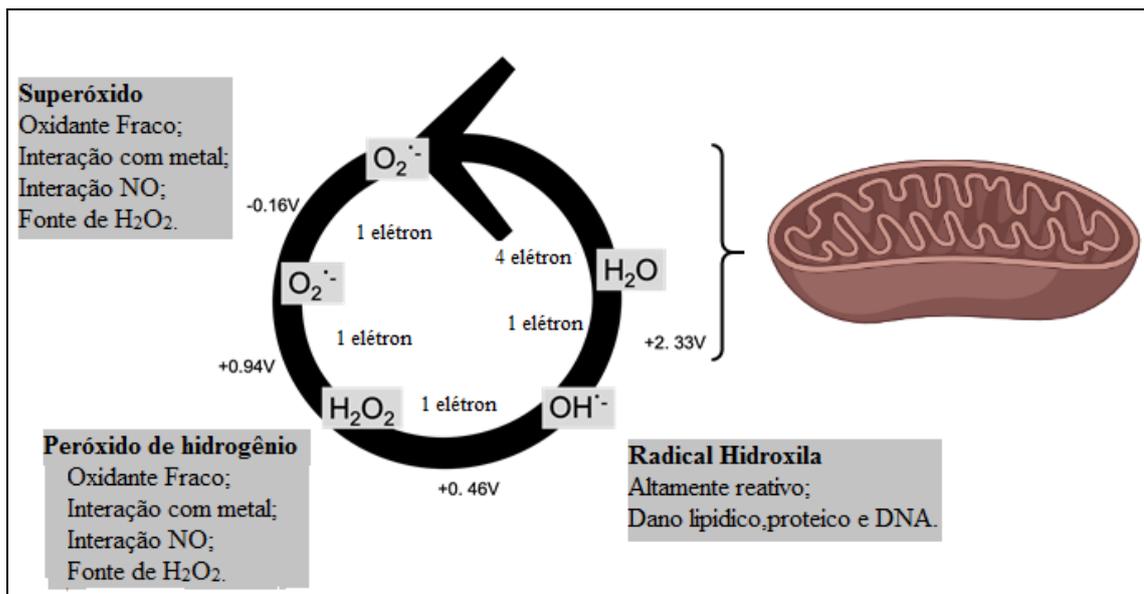
GR-receptor glicocorticoide; PEPCK- fosfoenolpiruvato carboxiquinase ;G-3-P- gliceraldeído-3-fosfato.

Fonte: Adaptado de Bose, Hutson e Harris (2016).

2.4 RI por GC e estresse oxidativo

O metabolismo celular sob condições aeróbicas, invariavelmente, produz espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) como o ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), óxido nítrico (NO^{\bullet}), peróxido nitrito ($ONOO^-$) (Figura 16) (SPENCER *et al.*, 2014; MOAL *et al.*, 2017). As principais fontes celulares das ERO/ERN são a fosforilação oxidativa mitocondrial (na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, principalmente, complexos I e III e a atividade enzimática das NADPH oxidase transmembrana (NOX) e a (SIES; JONES, 2020). Além destas, a enzima xantina oxidase e o retículo endoplasmático também são fontes geradoras de EROS/RNS na célula (MOAL *et al.*, 2017).

Figura 16 – Geração das espécies reativas de oxigênio (ERO)



O_2 - oxigênio; $O_2^{\bullet -}$: ânion superóxido reativo; HO^{\bullet} : radical hidroxila; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio; NO^{\bullet} : óxido nítrico.

Fonte: Adaptado de Le Moal *et al.* (2017).

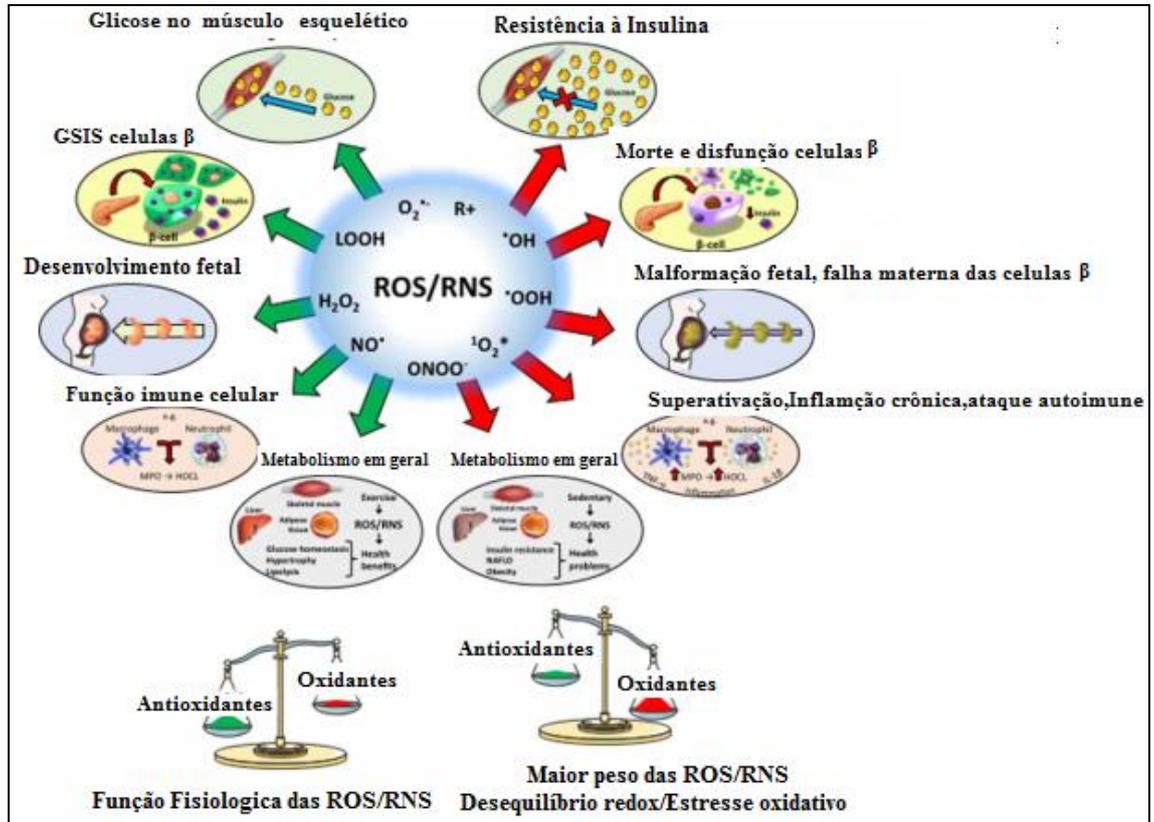
A célula também apresenta sistemas antioxidantes enzimáticos como a superóxido dismutase (SOD), catalase e glutatona peroxidase (GPX) e não enzimáticos como as vitaminas, glutatona e outros tióis, os quais são capazes de prevenir e reparar danos oxidativo e manter a homeostasia redox celular (BONETTO *et al.*, 2009; GROTH; JACOB, 2014; MOAL *et al.*, 2017). O estado redox é finamente regulado pelo balanço entre produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) e as defesas antioxidantes durante o

metabolismo celular, de modo que o desequilíbrio destes gera produção excessiva de radicais livres (BONETTO *et al.*, 2009; MATHEUS *et al.*, 2013).

Embora, a homeostasia redox seja importante para diferentes celulares como a sinalização celular (figura 17), crescimento e diferenciação além de mecanismos de defesa imunológica (SIES; JONES, 2020; SPENCER *et al.*, 2014;). O estresse oxidativo (EO) compromete, irreversivelmente, macromoléculas como DNA, lipídios e proteínas e, conseqüentemente, a homeostasia celular (BONETTO *et al.*, 2009; MOAL *et al.*, 2017). Assim a manutenção das variações do estado redox, é fundamental para homeostasia celular, tendo o EO um papel central no desenvolvimento da RI e do DM2 (NEWSHOLME *et al.*, 2016). A produção excessiva de ERO/RNS decorrente da hiperglicemia crônica é responsável pelo surgimento das comorbidades microvasculares importantes do DM, como a vasculopatia, neuropatia, retinopatia e nefropatia diabética (TIWARI *et al.*, 2013).

Diferentes mecanismos têm sido demonstrados no desenvolvimento da RI induzida pelo EO, tais como: (a) fosforilação em resíduo de serina do primeiro substrato do receptor de insulina (IRS1) por diferentes proteínas como proteína cinase C (PKC), p38 MAP cinase e janus cinase (KJK), o que resulta em inativação e degradação do IRS pelo proteassoma (EVANS *et al.*, 2005), (b) ativação do fator nuclear kappa b (NFkB) envolvido diretamente na expressão de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas 1 β e 6 (Il6) (GIACCO; BROWNLEE, 2010) e conseqüentemente reduzindo a expressão de transportador de glicose isoforma 4 (GLUT4) na membrana celular de adipócitos e miócitos (HURRELE *et al.*, 2017). Desta forma reduz a captação de glicose induzida por insulina. Além disso, o intenso EO está relacionado à disfunção da célula β -pancreática e redução na produção de insulina (NEWSHOLME *et al.*, 2016).

Figura 17 – Efeito das ERO/ERN nas funções celulares e no desenvolvimento das doenças.



O₂ - oxigênio; O₂ • -: ânion superóxido reativo; HO •: radical hidroxila; H₂O₂: peróxido de hidrogênio; NO • :óxido nítrico; RNS- Espécies reativas de nitrogênio; ROS- Espécies reativas de oxigênio; ONOO- peroxinitrito; LOOH-hidroperóxidos lipídicos.

Fonte: Adaptado de Newsholme *et al.* (2016).

Embora sejam clara a elevação dos marcadores de EO como malondialdeído (MDA), LDL oxidada, produtos de glicação avançada (AGE) tem relação com a severidade da doença e com a redução da sensibilidade à insulina em tecidos periféricos, o uso clínico ainda não é inteiramente padronizado (MOAL *et al.*, 2017; YARIBEYGI *et al.*, 2018). Mas, a modificações em proteínas como a glicação, carbonilação e nitrosilação induzida pelo EO é melhor utilizado clinicamente, a exemplo da dosagem da hemoglobina glicada (HbA1C) para acompanhar o controle glicêmico do paciente (NEWSHOLME *et al.*,2016; IDF, 2019).

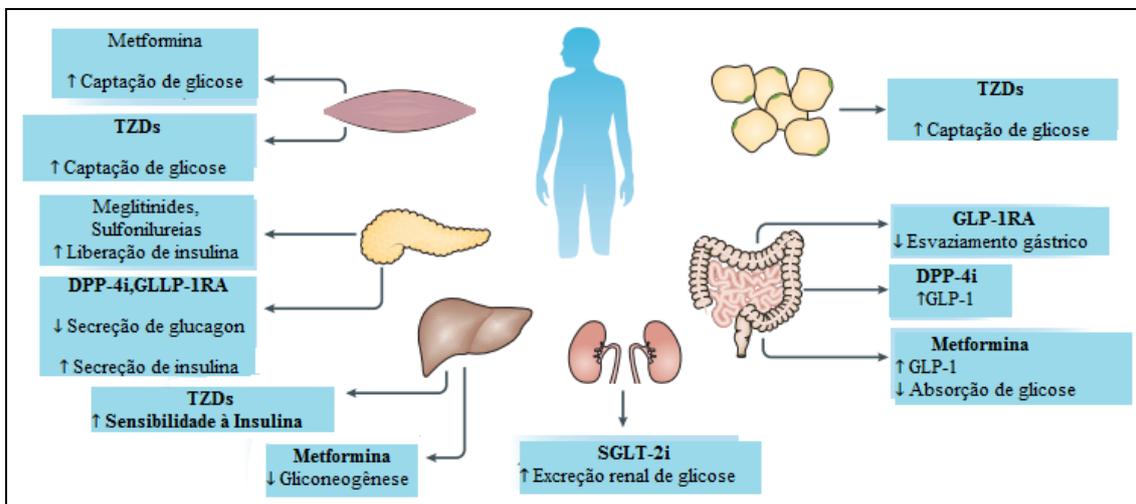
2.5. Terapia farmacológica no tratamento do DM/RI

Existem diversas formas de tratamento do DM com variados hipoglicemiantes, classicamente está baseada nas modificações no estilo de vida incluindo uma alimentação saudável, aumento da atividade física e manutenção do peso corporal (WIŃSKA *et al.*, 2019;

GOEDEKE; PERRY; SHULMAN, 2019).O tratamento para o DM1 é principalmente por terapia de reposição da insulina (LEBOVITZ, 2010).Já a terapia farmacológica do DM2 metformina, é mais utilizada para DM2 funcionando na diminuição da gliconeogênese no fígado, outras medicações orais são: sulfoniluréias, meglitinidas, análogos do peptídeo-1 equivalente à glicose (GLP-1) e inibidores da dipeptidil peptidase-4 (DPP4) (TABELA 2) (KLEINBERGER; POLLIN; MEDICINE, 2016).

Além inibidores de α -glicosidase que inibem a digestão de carboidratos; secretagogos que estimulam o pâncreas liberando insulina e sensibilizadores que melhoram a resposta dos tecidos alvo, assim como inibidores do cotransporte de sódio-glicose 2 (SGLT2) (figura 18) (WIŃSKA *et al.*, 2019; BAILEY, 2016; ZHOU *et al.*, 2016).Diante dos riscos associados à RI, como o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e o DM2, diferentes classes de drogas têm sido utilizadas no tratamento da RI, dentre elas, biguanida e as tiazolidinedionas (TZD), são as mais comuns (BAILEY, 2016).

Figura 18 – Mecanismos de ação das principais classes de fármacos antidiabético e seus respectivos órgãos e tecidos-alvo



DPP-4i- inibidores da dipeptidil peptidase 4; GLP-1 -peptídeo 1 semelhante ao glucagon; TZDs- Tiazolidinedionas; GLP-1RA- receptor agonista do peptídeo 1 semelhante ao glucagon; SGLT-2i- Inibidores do cotransportador 2 de sódio-glicose.

Fonte: Adaptado de Zhou *et al.* (2016).

Embora existam terapias comportamentais e farmacológicas disponíveis ao controle glicêmico, sendo a grande dificuldade a adesão aos programas de modificação de estilo de vida e ao uso correto dos medicamentos (GOEDEKE; PERRY; SHULMAN, 2019; KLEINBERGER; POLLIN; MEDICINE, 2016). Sobretudo pelos efeitos colaterais, assim

compromete o sucesso terapêutico e o controle glicêmico adequado (KLEINBERGER; POLLIN; MEDICINE, 2016). Deste modo, a busca por agentes terapêuticos capazes de prevenir e reduzir as comorbidades diabéticas de modo eficiente e com o menor efeito colateral possível ainda é uma necessidade dos sistemas de saúde no mundo (ZHOU *et al.*, 2016).

Quadro 1 - Principais classes agentes hipoglicemiantes orais, mecanismo de ação e efeitos colaterais.

Classe	Agente	Mecanismo de Ação	Efeito Colateral
Sulfonylureas	Primeira Geração: Acetohexamida (Dymelor) Clorpropamida (Diabinese) Tolazamida (Tolinase) Tolbutamida (Orinase) Segunda Geração: Glibenclamida (Micronase) Glipizida (Glucotrol) Glimepiride (Amaryl)	Atuam estimulando a liberação de insulina das células beta do pâncreas e podem melhorar ligeiramente a resistência à insulina em tecidos-alvo periféricos (músculos, gordura).	A hipoglicemia é o efeito colateral mais preocupante das sulfoniluréias. É uma preocupação particular com agentes que são metabolizados em um metabólito ativo com excreção renal significativa. Esses agentes incluem clorpropamida (Diabinese) e gliburida, os quais devem ser evitados em caso de insuficiência renal e usados com cautela em pacientes idosos. A glipizida e a glimepirida estão associadas a uma menor incidência de hipoglicemia. Todas as sulfonilureias foram associadas ao ganho de peso e, portanto, podem não ser a primeira escolha ideal para pacientes obesos.
Meglitinidas	Repaglinida (Prandin) Nateglinida (Starlix)	Estimulam a liberação de insulina das células β -pancreáticas. No entanto, essa ação é mediada por um sítio de ligação diferente no “receptor de sulfonilureia” da célula beta. Ao contrário das sulfonilureias comumente usadas, os meglitinídeos têm um início de ação muito curto e uma meia-vida curta.	Causa menos efeitos gastrointestinais que a metformina, mas causa ganho de peso, rinite/sinusite/faringite, mais episódios de hipoglicemia e dor de cabeça
Biguanida	Metformina (Glucophage)	Atua reduzindo a produção de glicose hepática e, em menor grau, aumentando a sensibilidade à insulina nos tecidos hepáticos e periféricos. Outros efeitos incluem uma redução nos níveis de triglicerídeos no plasma e nos níveis de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL).	A maioria dos efeitos colaterais relacionados (incluindo gosto metálico, desconforto gastrointestinal e náuseas) são transitórios e comumente relatados durante o início da terapia.
Thiazolidinediones	Pioglitazona (Actos) Rosiglitazona (Avandia)	Atuam aumentando a sensibilidade à insulina tanto no músculo quanto no tecido adiposo e, em menor grau, inibindo a produção hepática de glicose. Esses agentes têm um efeito notável na melhoria da resistência à insulina, particularmente quando usados em combinação com outros antidiabéticos, mas não têm efeito na secreção de insulina.	Possui reação idiossincrática. Esta reação é inicialmente caracterizada por níveis elevados de transaminases séricas, que em alguns casos evoluíram para hepatite, insuficiência hepática e morte

Inibidores de Alpha-glucosidase	Acarbose (Precose) Miglitol (Glycet)	Agem inibindo a enzima alfa-glicosidase encontrada nas células da borda em escova que revestem o intestino delgado, que divide os carboidratos mais complexos em açúcares. Como eles inibem a quebra e a subsequente absorção de carboidratos (dextrinas, maltose, sacarose e amido; nenhum efeito na glicose) do intestino após as refeições, o maior impacto desses medicamentos é na hiperglicemia pós-prandial.	A terapia com acarbose tem sido associada a elevações nos níveis de transaminases séricas e o uso deste agente é contra-indicado em pacientes com cirrose hepática
---------------------------------	---	---	--

2.6 Vanádio

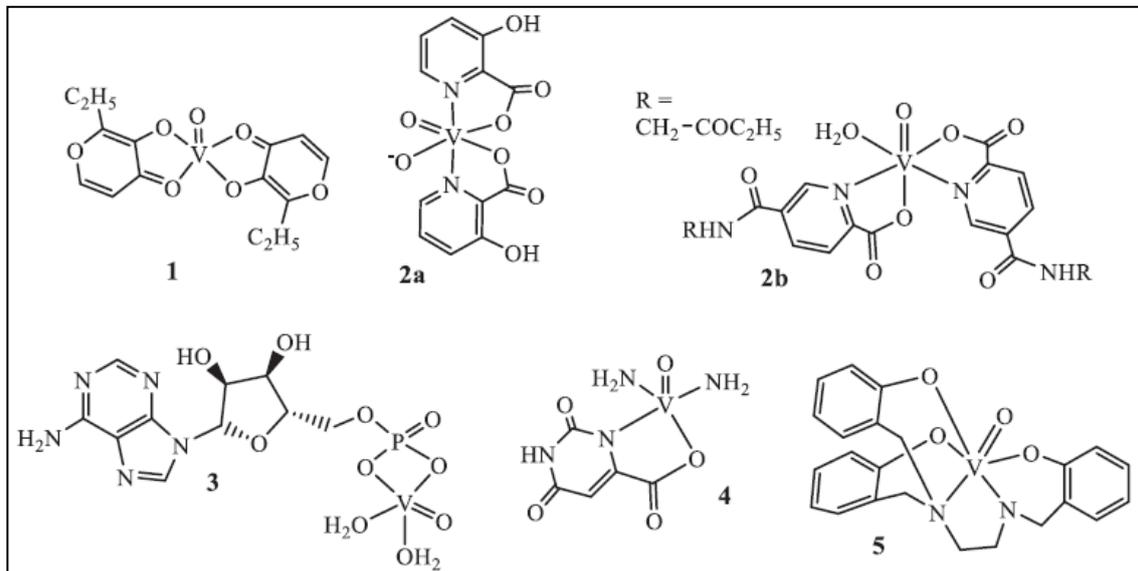
O vanádio ($Z=23$) é um oligoelemento amplamente distribuído na natureza e o segundo elemento de transição mais abundante na água do mar (TREVINO *et al.*, 2019; COSTA, 2015). O composto foi descoberto em 1801 no México, pelo químico e mineralogista espanhol Don Andrés Manuel Del Río (1764-1849), porém o metal foi isolado pela primeira vez em 1867 pelo químico Henry Enfield Roscoe (TREVINO *et al.*, 2019). O nome foi uma homenagem à deusa Vanadis, deusa da beleza e fertilidade na mitologia grega, devido a variedades de cores e luminosidade do metal (THOMPSON; ORVIG, 2006).

O vanádio está presente no solo, água e no ar, como também na pimenta-do-reino, endro (tipo de erva), salsa, cogumelos, espinafre, ostras, mexilhões, cereais, peixes (águas profundas) e diversos tipos de ecossistemas (TREVINO *et al.*, 2019; TREVINO *et al.*, 2018). Ainda é utilizado nas indústrias de vidro, tintas, cerâmica, fotográfica, química, eletroquímica e de refino, além da indústria metalúrgica na produção de aço e ligas não ferrosas (ŚCIBIOR *et al.*, 2020; TREVINO *et al.*, 2019).

As propriedades físico-química do vanádio dependem de dois fatores o estado de oxidação os quais variam desde V (II), V (III), V (IV) e V (V), sendo a V (III) que mais predomina e outro fator é o pH (DEL *et al.*, 2018). O vanádio apresenta atividades biológicas na terapia antiviral, antibacteriana, antiparasitária (doença de chagas, leishmaniose e amebíase), antifúngica, antitumoral, antidiabética, antipercolesterolêmica, cardioprotetora e neuroprotetora (REHDER, 2020; ŚCIBIOR *et al.*, 2020; COSTA, 2015).

Na década de 1990, foi realizado o primeiro ensaio clínico em pacientes diabéticos utilizando o vanádio inorgânico, o qual mostrou resultados animadores (GOLFINE *et al.*, 1995; COEHN *et al.*, 1995). Estudos subsequentes demonstraram que o vanádio sob a forma de fosfato exibiu resultados positivos em ratos diabéticos, além de compostos com potencial mimético à insulina, apresentados na figura 19 (REHDER, 2020; HUSSAIN *et al.*, 2018; THOMPSON *et al.*, 2003). Os compostos a base de vanádio possuem efeitos miméticos e / ou intensificadores de insulina tanto *in vitro* como *in vivo*, elevando a absorção da glicose e fosforilação da akt, estimulando a síntese de glicogênio e lipogênese, aumentando o transporte de glicose e oxidação (LIU *et al.*, 2015; COSTA, 2015).

Figura 19 - Exemplo de compostos à base de Vanádio que demonstraram propriedades miméticas de insulina



Compostos à base de vanádio e seus ligantes: (1) etil-maltolato, 3-hidroxipicolinato (2a), 2,5-dipicolinato (2b), monofosfato de adenosina (3), orotato (4) e aminotris (fenolato) (5).

Fonte: Adaptado de Rehder (2020).

Os compostos à base de vanádio estimulam a síntese do glicogênio, aumentando o número de transportadores de GLUT-4 na membrana celular, além de apresentar capacidade de regeneração de células β (BARANOWSKA-BOSIACKA, 2016). As ações de regulação sobre o estado redox celular ligados aos compostos de vanádio, contribuindo para preservação da sinalização de insulina nos tecidos (WILLSKY *et al.*, 2011).

2.6.1 Vanádio e suas aplicações clínicas

As pesquisas voltadas para as aplicações clínicas são realizadas, em geral, *in vitro* e *in vivo* com animais experimentais, o VO(maltol)₂ é um complexo o qual chegou aos testes clínicos I e II (REHDER, 2020). Em seres humanos o vanádio altera o metabolismo do colesterol e dos triglicerídeos, induzem a oxidação da glicose hepática e a síntese de glicogênio (ŚCIBIOR *et al.*, 2020; TREVINO *et al.*, 2019). As investigações dos compostos a base de vanádio no tratamento de doenças como câncer, doenças tropicais epidêmicas (leishmaniose, doença de Chagas e amebíase) já são uma realidade (ŚCIBIOR *et al.*, 2020).

Além de evidências que especulam a proteção cardiovascular e potencial antiviral (HIV) são potenciais para futuras aplicação clínica (ŚCIBIOR *et al.*, 2020; DALTON, 2013). Porém a toxicidade de alguns compostos a base de vanádio limita sua utilização, devido ao

aumento de mais metais nas células ocasionando danos ou perda da eficiência (TREVINO *et al.*, 2018). Ainda que ensaios clínicos sugiram o vanádio como uma opção terapêutica importante, o desenvolvimento de novos complexos químicos utilizando o vanádio como VO₂, necessita de avaliações criteriosas que permitam avançar na consolidação deste oligoelemento como opção na terapia de prevenção e tratamento da RI induzida por GC.

3 HIPÓTESE

O uso do VO-dt reduz a resistência à insulina induzida pela dexametasona em camundongos.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar o efeito do VO-dt na resistência à insulina induzida por dexametasona em camundongos.

4.2 Específicos

Quantificar os efeitos do tratamento com o VO-dt em camundongos tratados com dexametasona nos seguintes parâmetros:

1. Ganho ponderal, ingestão hídrica e alimentar de camundongos;
2. Massa de órgãos e tecidos;
3. Perfil bioquímico sérico;
4. Lipídios hepáticos totais;
5. Tolerância oral à glicose;
6. Resistência periférica à insulina;
7. Perfil oxidativo hepático.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Preparo do VO-dt

O complexo foi preparado em um balão de fundo redondo, adicionando 1 mmol do ligante (modificado) e 1 mmol de sulfato de vanadila pentahidratado em meio aquoso (10 mL). O sistema foi acondicionado ao abrigo da luz e mantido sob agitação constante por 24 horas. Em seguida o complexo foi purificado com lavagens sucessivas com Etanol e éter Dietílico, e liofilizado. A estrutura do composto proposto foi confirmada através de espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível, ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , ^{51}V , espectrometria de massas de alta resolução e Espectroscopia paramagnética eletrônica. O complexo após caracterizado foi submetido à testes de toxicidade aguda e atividade antidiabética. A estrutura e detalhes do composto está protegida sob a patente com número de registro BR 10 2020 010025-4.

5.2 Modelo Experimental

5.2.1 Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) fêmeas da linhagem Swiss (30- 35g), entre 8 e 12 semanas de vida, proveniente do biotério do departamento de fisiologia e farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em sala climatizada com temperatura controlada e ciclo claro-escuro de 12 horas, com acesso livre a água e alimentados com ração industrializada própria para roedores da marca Labina[®] normocalórica e normoproteica enriquecida com vitaminas e minerais.

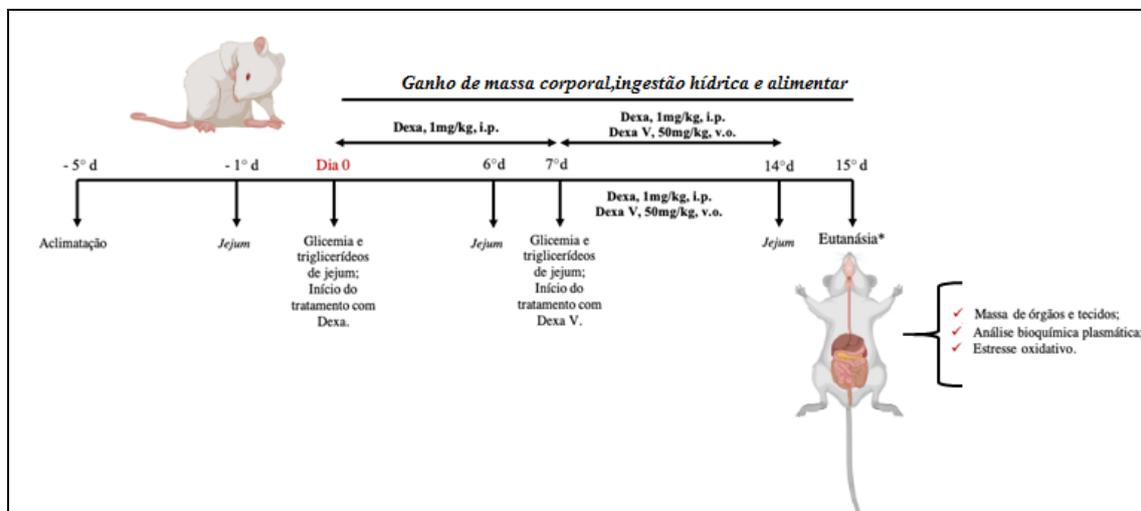
Todos os procedimentos experimentais envolvendo animais de biotério foram realizados de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE (CEUA), com o número 0027/2020.

5.2.2 Resistência à insulina induzida por dexametasona em camundongos

Os animais foram inicialmente aclimatados ao ambiente do laboratório por 5 dias anteriores ao início do experimento e, em seguida distribuídos randomicamente em três grupos com 5 animais cada: (a) tratado com salina (Controle, C); (b) tratado com dexametasona (Dexa, Decadron[®], Pfizer) e (c) tratado com dexametasona e o VO-dt (DexaV). A RI foi induzida por doses diárias dexametasona (1mg/kg, i.p.) por 7 dias. A partir do 8^o dia, o grupo DexaV recebeu o VO-dt (50mg/kg, v.o.) e o grupo Dexa recebeu salina 0,9% por via oral até 14^o dia (figura 20). O grupo controle recebeu salina 0,9% durante os 14 dias de experimento.

A massa corporal, ingestão hídrica e alimentar foram determinadas diariamente. A RI foi confirmada após 7 dias de tratamento diário com dexametasona nos animais com glicemia de jejum acima de 126mg/dL através da relação entre glicemia e da trigliciridemia de jejum, que foi calculado pela fórmula: $\text{Ln}[(\text{trigliciridemia de jejum (mg/dL)} \times \text{glicemia de jejum (mg/dL)})/2]$ (índice TyG) (GUERRERO-ROMERO *et al.*, 2010; NUNES *et al.*, 2013).

Figura 20 – Desenho experimental para avaliar o efeito do VO-dt na resistência à insulina induzida por GC em camundongos



Fonte: A autora, utilizando BioRender.com (2021).

5.3 Análises Bioquímicas

No 1^o e 7^o dias de experimento, os animais foram anestesiados com isoflurano (BioChimico[®]) para coleta de sangue pelo plexo retro-orbital. No 15^o dia de experimento, o

sangue foi colhido pelo plexo retro-orbital e por punção cardíaca sob anestesia. O fluido biológico foi centrifugado a 4.000 rpm, a temperatura ambiente, sem anticoagulante, por 20 minutos para obtenção de soro, que foi transferido com auxílio de micropipeta automática para microtubos plásticos e aliqüotados para quantificação dos níveis séricos de: alanina (ALT) e aspartato (AST) aminotranferases, albumina (ALB), proteínas totais (PT), glicerol, glicose, frutamina, triglicérides (TG), colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL) e ureia utilizando kits Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brasil) seguindo o protocolo do fabricante. As alíquotas não utilizadas no mesmo dia para quantificação dos parâmetros bioquímicos séricos foram armazenadas em freezer (-20°C) e descongeladas uma única vez.

5.4 Massa de órgãos e tecidos

No 15º dia, após a eutanásias sob anestesia profunda com xilazina (50mg/kg) e catamina (200mg/kg), coração, glândula adrenal, tecido adiposo branco (TAB) retroperitoneal (Retro) e abdominal (TAB), músculos soleus, extensor digital longo dos dedos (EDL) e músculo tibial anterior (TA) foram coletados, rapidamente lavados com salina 0.9%, secos e pesados em balança de precisão. A massa dos órgãos foi expressa em g/100g.

5.5 Análise de lipídios hepáticos totais

Para determinação dos lipídios hepáticos totais foi realizado o protocolo de Bligh & Dyer (1959). Foram retirados 500mg de tecido hepático e adicionado em tubos de ensaio contendo 3ml a solução de metanol-clorofórmio (2M:1C). Em seguida foi homogeneizado no politron®, imediatamente o homogenato foi transferido para uma proveta (15 ou 20ml) e completada com a solução metanol-clorofórmio (2M:1C), lavando o recipiente 3 vezes. Logo após realizou-se a filtração e para cada 5ml de filtrado foi adicionado 1ml de água destilada, depois sendo centrifugado por 5 minutos em 1.000 rpm.

Posteriormente descartou-se a fase superior com auxílio de pipeta automática, cuidadosamente, sendo transferido a fase inferior clorofórmica para um Becker ou placa de petri (previamente pesado) e colocada na estufa, com circulação de ar forçada, a 50°C para evaporação do clorofórmio. Depois foi pesado novamente o Becker ou placa de petri e o conteúdo de lipídios totais foi expresso em g/mg de tecido, em seguida foram armazenados a -20°C. Posteriormente foram descongelados uma única vez para ressuspensão em 500 µl de

álcool isopropílico para dosagem de triglicerídeos (TG), colesterol total (CT) e colesterol HDL (HDL) utilizando kits Labtest[®] (Lagoa Santa, MG, Brasil) seguindo o protocolo do fabricante.

5.6 Teste de Tolerância oral à glicose (OGTT)

No 15^o, os animais foram submetidos ao teste de tolerância oral à glicose. Os camundongos foram submetidos ao jejum noturno de 12 horas e quantificada a glicemia basal em sangue capilar (tempo 0) por punção da cauda. Em seguida, realizada a sobrecarga de glicose (2,5g/kg de massa corporal) e aferida a glicemia pela mesma através do glicosímetro On call plus[®] ao longo dos 15', 30', 60', 90' e 120' minutos seguintes para determinação da curva glicêmica e cálculo da área sob a curva.

5.7 Dosagem de Glicogênio Muscular e Hepático

A quantificação do glicogênio hepático e muscular foi feita pelo método da antrona de acordo com Carrol et al (1956). 500mg de fígado e a massa total do músculo gastrocnêmio foram colocados em tubos de vidro para extração com solução de 2 mL de KOH (30%) e hidrolisados em banho fervente por uma hora. Os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm, por 12 minutos e o sobrenadante foi desprezado por inversão dos tubos, em seguida foi ressuspensão o precipitado com 2 mL de água destilada (aquecida a 40°C) e os tubos levados ao banho-maria fervente por 30 minutos ou até dissolver o precipitado. Foi adicionado o reativo de antrona e agitando e resfriado de imediato em gelo. Em seguida, foi realizada a leitura no espectrofotômetro com comprimento de onda 620nm e o resultado expresso em %/g de tecido.

5.8 Análise dos marcadores de estresse oxidativo

Foram retirados 250mg de tecido hepático e homogeneizado com adição de tampão tris-base 50 mM e antiproteases (PMSF e ortovanadato) de concentração 1 mM. Após esse processo, foram centrifugados a 4°C em 3.600 rpm durante 10 minutos. Do sobrenadante, 250 µl coletados para análise da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT); 120 µl para os níveis de glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) e nitrito (WU H, ZHANG G, HUANG L, *et al.* 2017), 200 µl utilizados para análise do ácido tiobarbitúrico (TBARS). 20 µl foi

utilizado para quantificação de proteínas totais no tecido foi realizada pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

5.8.1 Determinação da Concentração de malonaldeído (MDA)

A peroxidação lipídica foi estimada a partir da quantificação dos níveis de malondialdeído (MDA) através dos níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos de fígado de acordo com Ohkawa *et al.* (1979). Em resumo, 0,1 mL dos homogenatos foi misturado com 0,08 mL de SDS a 8,1%, 0,6 mL de ácido acético a 20% (pH 3,5), 0,6 mL de TBA a 0,8% e aquecida a 95 °C durante 60 min.

Após o resfriamento até temperatura ambiente, foram adicionados 0,6 mL de n-butanol misturado e centrifugado a $3000 \times g$ durante 10 min. 0,3 ml do sobrenadante foi coletado e estimadas as absorvâncias a 532 nm. Uma curva de calibração foi preparada com padrão de malondialdeído (MDA).

5.8.2 Determinação da Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade total da enzima superóxido dismutase (SOD) foi realizada de acordo com o método de Misra e Fridovich (1972). Os sobrenadantes (0,06 mL), recolhidos a partir de fígado homogeneizado após centrifugação, foram incubados com 0,920 mL de carbonato de sódio 0,1M, EDTA 0,1mM (pH10,2) a 37 °C. Adicionados trinta milimoles por litro de epinefrina (em ácido acético a 0,05%) e a atividade de SOD a 37°C, medida pela cinética de inibição da auto-oxidação de epinefrina a 480 nm e o decaimento da absorvância foi acompanhada por 90 segundos (MISRA; FRIDOVICH, 1972). Uma unidade de SOD, sendo definida como a quantidade de proteína necessária para inibir a auto-oxidação de 1 μ mol de epinefrina por minuto. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína.

5.8.3 Determinação da Atividade da Catalase (CAT)

Para a atividade da catalase (CAT), foi retirado 0,06 ml do homogeneizado de acordo com o método descrito por Aebi (1984). O princípio do ensaio baseia-se na determinação da constante de velocidade (k) da decomposição de H₂O₂, que em nossas condições de temperatura e pH foi definida como $4,6 \times 10^7$. A constante de velocidade da enzima foi determinada medindo a variação na absorvância (a 240 nm) por minuto durante um período

de 4 minutos a 30°C (Aebi, 1984), em um meio de reação, contendo tampão fosfato 50mM (pH=7,0) amostra e H₂O₂ (300mM). Uma unidade de CAT foi definida como a quantidade de proteína necessária para converter 1 µmol de H₂O₂ por minuto em H₂O. Os resultados expressos em U/mg de proteína.

5.8.4 Níveis de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e Razão glutathiona reduzida (GSH)/ glutathiona oxidada (GSSG)

Foi adicionado 0,05 ml do homogeneizado dos tecidos ao tampão fosfato 0,1 M (pH 8,0) contendo EDTA 5 mM e incubado com oftaldialdeído (OPT, 1 mg / mL) à temperatura ambiente durante 15 min. A intensidade de fluorescência medida com excitação de 350 nm e comprimentos de onda de emissão de 420 nm, para análise do GSSG utilizar a N-etilmaleimida para evitar interferências da GSH na medição (HISSIN E HILF, 1976). Os resultados expressos em nmol/mg de proteína.

5.8.5 Determinação dos níveis de nitrito

Os níveis de óxido nítrico medidos com base na estimativa de nitrito total que foi obtida pela reação de Greiss, adaptada do método de Tiwari *et al.* (2011). Foram adicionados 100 µL do homogenato dos tecidos a 100 µL de reagente de Greiss e medida em placas de 96 poços a 570 nm utilizando um espectrofotômetro. As concentrações de nitrito, sendo calculadas usando uma curva padrão que variava de 100 a 1,56 µM de nitrito de sódio (NaNO₂). Os níveis de nitrito expressos como µM.

6 PRÁTICAS DE REDUÇÃO E CONFORTO A DOR E AO ESTRESSE

Ao decorrer da pesquisa foi realizada praticas capazes de atender aos cuidados com os camundongos, sendo fundamentada no conhecimento técnico, ético e científico objetivando a promoção de intervenções com o menor impacto físico e psíquico, como também um ambiente mais confortável. Neste sentido foi proporcionado um ambiente enriquecido, estratégia que oferece condições para facilitar a estimulação sensorial, visual, cognitiva e motora dos camundongos (DRUZIAN *et al.*, 2015). Resultando em diminuição do estresse decorrentes do tratamento diário com as doses intraperitoneais da dexametasona e gavagem do tratamento com o VO-dt.

Outras estratégias utilizadas, principalmente, durante o OGTT foram: massagem na região dorsal dos camundongos, ambiente com redução de ruídos, diferentes locais de coleta de sangue e acomodação após coleta com distanciamento entre cada animal com o objetivo de diminuir o odor de sangue para os camundongos. Como também a utilização de salina aquecida para ajudar na vasodilatação antes da coleta e após salina resfriada para alivio a dor. Durante o tratamento com as doses diárias de dexametosana para evitar lesões as injeções foram aplicadas em regiões distintas do peritônio do camundongo com objetivo de reduzir o desconforto com as injeções.

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

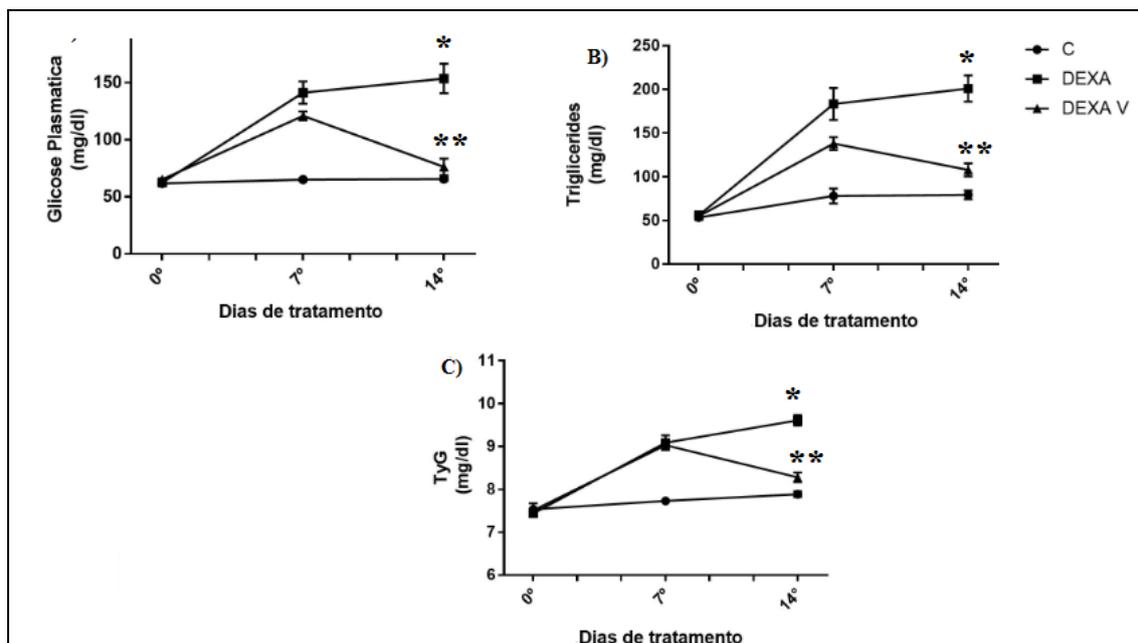
Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão ($M \pm EP$). O teste de normalidade foi de Shapiro-Wilk. Os resultados foram comparados através da análise de variância de uma via (*one way ANOVA*) seguido do teste de Newman Keuls. O nível de significância foi considerado maior ou igual a 95% ($p < 0,05$). Para análise estatística dos dados utilizado o software GraphPad Prism 6[®].

8 RESULTADOS

8.1 Efeito do VO-dt nos níveis de glicemia e trigliceridemia de jejum e cálculo do índice TyG

A dexametasona, a partir do 7° dia de tratamento, o aumento da glicemia (86%, $p < 0,05$), dos triglicérides (TG, 2,6X, $p < 0,05$) de jejum e do índice TyG (30%, $p < 0,05$) (figura 21A,21B,21C). Todos estes parâmetros se mantiveram elevados até o 14° dia de tratamento, inclusive com um aumento de 20% ($p < 0,05$) e 30% ($p < 0,05$) nos valores de glicemia e TG de jejum, respectivamente. O tratamento com o VO-dt normaliza a glicemia, melhora a trigliceridemia (~50%, $p < 0,05$), assim como reduziu o TyG (~10%, $p < 0,05$).

Figura 21 - Efeito do VO-dt nos níveis de glicemia e triglicérides de jejum e índice TyG de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.



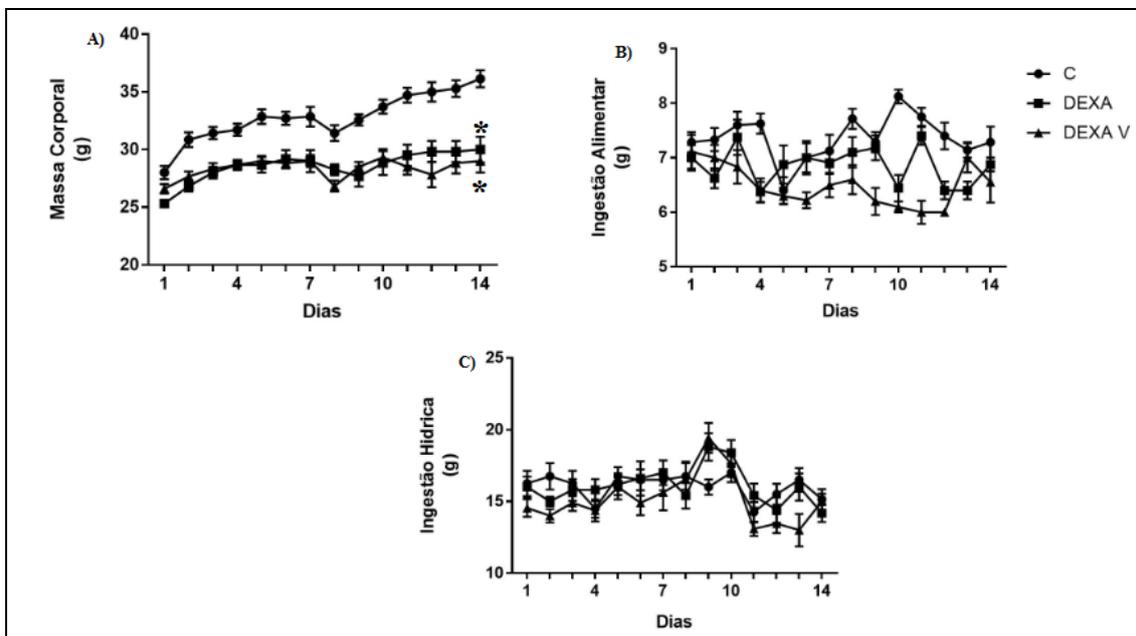
Os valores expressos como média \pm erro padrão da média com $p < 0,05$, **versus* grupo controle; $p < 0,05$ ** *versus* grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A autora (2021).

8.2 Efeito do VO-dt no ganho de massa corporal, e ingestão alimentar e hídrica, massa de órgãos e tecidos

O tratamento com dexametasona reduziu o ganho de massa corporal (~10%, $p < 0,05$), sem alterações na ingestão alimentar e hídrica (figura 22A,22B,22C). O tratamento com o VO-dt não melhorou o ganho ponderal, assim como não modulou a ingestão hídrica e alimentar. Como visto na tabela 03, o tratamento com dexametasona aumentou a massa do tecido adiposo branco retroperitoneal (40%, $p < 0,05$), sem alterações na massa do tecido adiposo abdominal, assim como reduziu a massa muscular do soleo (~40%, $p < 0,05$) e EDL (35%, $p < 0,05$) sem alterações na massa do músculo tibial anterior (tabela 2). O tratamento com o VO-dt reduziu a deposição de gordura retroperitoneal (15%, $p < 0,05$), assim como atenuou a proteólise em músculos vermelhos (~20%, $p < 0,05$). Não houve alteração na massa da glândula adrenal em nenhum dos grupos avaliados.

Figura 22 - Efeito do VO-dt no ganho de massa corporal, ingestão alimentar e hídrica de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.



Os valores expressos como média \pm erro padrão da média com $p < 0,05$, **versus* grupo controle; $p < 0,05$ ** *versus* grupo DEXA, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A autora (2021).

Tabela 2 – Efeito do VO-dt na massa relativa do coração, glândula adrenal, tecido adiposo branco retroperitoneal e abdominal, músculo tibial anterior, extensor longo dos dedos (EDL) e soleo de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.

Órgãos	C	Dexa	DexaV
Adrenal (g/100g)	263,5 ± 32,9	280,2 ± 12,6	277,3 ± 39,5
RETRO (g/100g)	646,6 ± 49,3	925,3 ± 119,5*	753,5 ± 116,0**
Tab (g/100g)	3303,6±214,1	2947,5±207,1	3195,4±357,7
TA (g/100g)	127,6±7,0	125,5±15,8	126,4±3,7
EDL (g/100g)	38,4±3,2	25,2±1,8*	24,0±0,5**
Soleo (g/100g)	21,9±1,9	13,3±0,9*	16,1±1,7

RETRO – tecido adiposo branco retroperitoneal; Tab – tecido adiposo branco visceral; TA – músculo tibial anterior; EDL – extensor longo dos dedos.

Os valores expressos como média ± erro padrão da media com $p < 0,05$, **versus* grupo controle; $p < 0,05$ ** *versus* grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A autora (2021).

8.3 Teste de tolerância oral a glicose (OGTT)

O grupo tratado com dexametasona apresentou hiperglicemia basal de jejum ($129,8 \pm 12,4$ vs $98,7 \pm 5,0$ mg/dL, $p < 0,05$). Logo após a sobrecarga de glicose, o pico glicêmico foi alcançado aos 15 minutos ($342,0 \pm 64,9$ vs $187,7 \pm 29,0$ mg/dL, $p < 0,05$) e se manteve alto aos 30 minutos ($326,0 \pm 26,1$ vs $170,3 \pm 23,7$ mg/dL, $p < 0,05$). A glicemia foi reduzida aos 60 e 90 minutos e alcançou o menor nível aos 120 minutos após a sobrecarga, mas não retornou aos níveis iniciais anteriores à sobrecarga (figura 23A). O cálculo da área sob a curva (AUC) mostrou que o tratamento com a dexametasona aumentou a intolerância oral à glicose (~45%). O tratamento com VO-dt reduziu o pico glicêmico alcançado aos 15 minutos (44%) e 30 minutos (40%). Os níveis glicêmicos foram reduzidos até o último tempo avaliado (figura 23B). A análise da área sob a curva mostrou que o tratamento com o VO-dt melhorou a tolerância oral ao carboidrato (~22%; figura 23B).

Figura 23 - Efeito do VO-dt no teste de tolerância oral a glicose em camundongos tratados com dexametasona durante 14 dias.

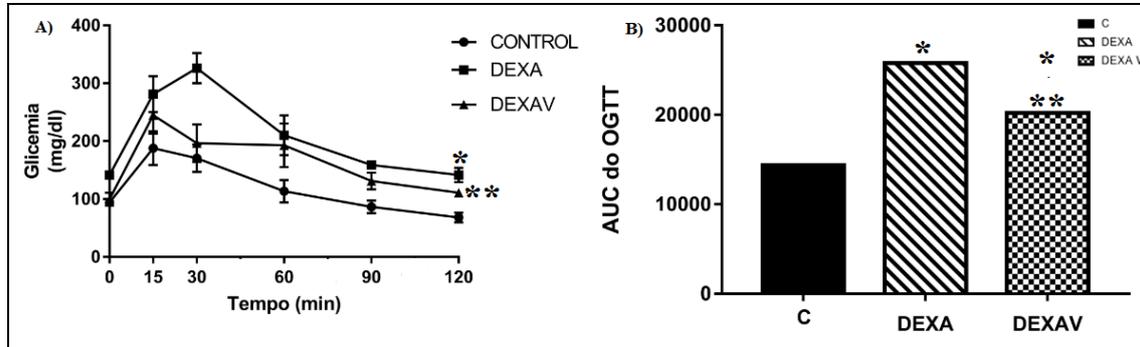


Figura 23A-Área sob a curva (AUC) do OGTT (0 – 120min). Os valores expressos como média \pm erro padrão da média com $p < 0,05$, *versus grupo controle; $p < 0,05$ ** versus grupo Dexa, utilizando a análise de uma via (one way ANOVA). N = 4 – 6 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

8.4 Efeito do VO-dt nos níveis de glicerol plasmático e no conteúdo de glicogênio hepático e muscular

O tratamento com dexametasona induziu o aumento do glicerol sérico (85%, $p < 0,05$), o que foi atenuado pelo VO-dt (~ 45%, $p < 0,05$). O grupo Dexa elevou os níveis de glicogênio muscular (~10X, $p < 0,05$) e hepático (~16X, $p < 0,05$) no jejum (tabela 3) o que foi reduzido em 3 e 10 vezes pelo VO-dt respectivamente.

Tabela 3 – Efeito do VO-dt nos níveis de glicerol, glicogênio hepático e glicogênio muscular em camundongos tratados com dexametasona durante 14 dias.

Analises	C	Dexa	DexaV
Glicerol(mg/dl)	27,0 \pm 2,4	49,8 \pm 2,9*	30,0 \pm 2,7**
Glicogênio muscular	0,69 \pm 0,05	6,63 \pm 1,32*	1,72 \pm 0,05**
Glicogênio hepático	0,30 \pm 0,01	4,78 \pm 1,19*	0,90 \pm 0,04**

Os valores expressos como média \pm erro padrão da média com $p < 0,05$, *versus grupo controle; $p < 0,05$ ** versus grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (one way ANOVA). N = 3 – 4 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

8.5 Perfil bioquímico sérico

O tratamento com a dexametasona induziu um aumento nos níveis séricos de CT (~80%, $p<0,05$), TG (2,6X, $p<0,05$) e VLDL (2X%, $p<0,05$) acompanhado da redução do HDL (50%, $p<0,05$), além do aumento do índice aterogênico (~4,5X, $p<0,05$). O tratamento com o VO-dt reduziu a hipercolesterolemia (25%, $p<0,05$), hipertrigliciridemia (50%, $p<0,05$), VLDL (50%, $p<0,05$), e índice arterogênico (~50, $p<0,05$), sem efeitos sobre os níveis de HDL (tabela 05). A dexametasona aumentou os níveis de albumina (apesar de não apresentar $p<0,05$), ALT (80%, $p<0,05$), AST (90%, $p<0,05$), frutossamina (30%, $p<0,05$). O tratamento com o VO-dt reduziu a concentração sérica de ALT (~ 30%, $p<0,05$) e frutossamina (~ 15%, $p<0,05$), sem alterações nos níveis de AST e albumina. Em nenhuma das condições avaliadas houve alteração nos níveis de proteínas totais, globulinas e ureia (tabela 5).

Tabela 4 - Efeito do VO- dt nos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos, colesterol HDL, colesterol-VLDL, índice aterogênico e frutossamina de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.

Analises	C	Dexa	DexaV
CT (mg/dl)	86,4 ± 5,5	153,5 ± 13,1*	117,4 ± 6,2** *
TG (mg/dl)	83,5 ± 8,0	217,2 ± 20,3*	107,8 ± 7,4 * **
HDL (mg/dl)	78,9 ± 9,9	48,5 ± 5,2*	45,1 ± 6,2**
VLDL (mg/dl)	16,7 ± 1,6	43,4 ± 4,1*	21,6 ± 1,5**
IA	1,2 ± 0,5	5,6 ± 1,7*	3,0 ± 0,7 * **
Frutossamina (mg/dl)	65,6 ± 10,1	117,5 ± 9,8*	82,9 ± 4,2**

CT- Colesterol total; TG- triglicerídeos; IA- índice iatrogênico.

Os valores expressos como média ± erro padrão da média com $p<0,05$, *versus grupo controle; $p<0,05$ ** versus grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

Tabela 5 - Efeito do VO- dt nos níveis séricos de albumina, proteína total, globulina e ureia de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.

Analises	C	Dexa	DexaV
ALT (U/L)	57,5±2,4	102,3±8,9 *	72,8±3,3 **
AST (U/L)	68,0±5,7	127,3±19,3*	109,0 ± 7,6 ** *
ALB (g/L)	1,2±0,1	2,0 ± 0,5	1,9 ± 0,3
PT (g/L)	4,0 ± 0,1	4,6 ±0,2	4,7 ± 0,3
Globulina (g/L)	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,6	3,0 ± 0,5
Ureia (mg/dL)	41,7± 0,9	51,4 ± 0,8*	45,9 ± 3,8**

ALT – alanina aminotransferase; AST – aspartato aminotransferase. ALB – albumina; PT-proteína total.

Os valores expressos como média ± erro padrão da media com $p < 0,05$, *versus grupo controle; $p < 0,05$ ** versus grupo Dexa, utilizando a análise de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

8.6 Efeito do VO-dt no perfil lipídico hepático

O tratamento dexametasona induziu um aumento nos níveis de lipídios hepáticos totais (100%, $p < 0,05$), TG hepáticos (2,2X, $p < 0,05$), CT hepático (~136%, $p < 0,05$) e colesterol HDL (2,2X, $p < 0,05$). O VO-dt reduziu o conteúdo de lipídios totais (20%, $p < 0,05$), hipercolesterolemia (~26%), hipertrigliciridemia hepática (40%, $p < 0,05$), sem alterações nos níveis de HDL (tabela 6).

Tabela 6 – Ação do VO-dt nos níveis de lipídios hepáticos totais, triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.

Analises	C	Dexa	DexaV
Lipídeos Hepáticos totais	0,6 ± 0,1	1,7 ± 0,5*	1,0 ± 0,2**
CT (mg/dl)	53,7± 10,0	106,7 ± 7,3 *	109,2± 10,8 **
HDL (mg/dl)	19,1 ± 2,5	40,2 ± 5,3 *	42,8 ± 2,9**
TG (mg/dl)	64,9 ± 10,0	147,7 ± 18,8*	78,1 ± 17,1**

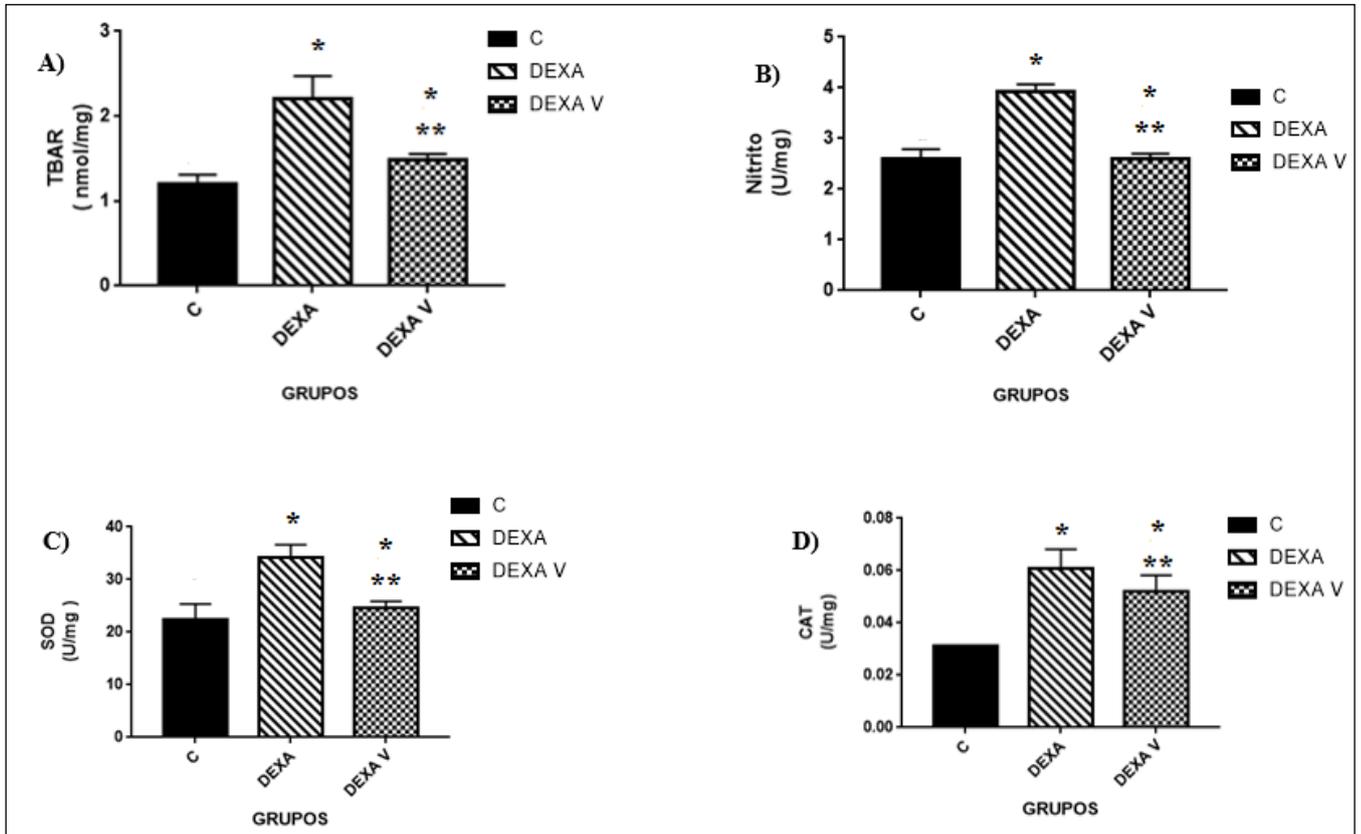
Os valores expressos como média ± erro padrão da média com $p < 0,05$, **versus* grupo controle; $p < 0,05$ ** *versus* grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

8.7 Efeito do VO-dt no estresse oxidativo

O tratamento com dexametasona induziu o aumento nos níveis nitrito (40%, $p < 0,05$) e de malodialdeído, um indicador de peroxidação lipídica (~65%, $p < 0,05$), assim como o aumento na atividade das enzimas SOD (~40%, $p < 0,05$) e CAT (~45%, $p < 0,05$) (Figura- 24A,24B,24C,24D), sem alterações nos níveis de GSH, GSSG e na relação GSH/GSSG (Figura- 25A,25B,25C). O VO-dt reduziu os níveis de nitrito (~30%, $p < 0,05$), TBAR (~30%), SOD (~30%) e CAT (~40%), sem modificações nos níveis de GSH, GSSG e na relação GSH/GSSG.

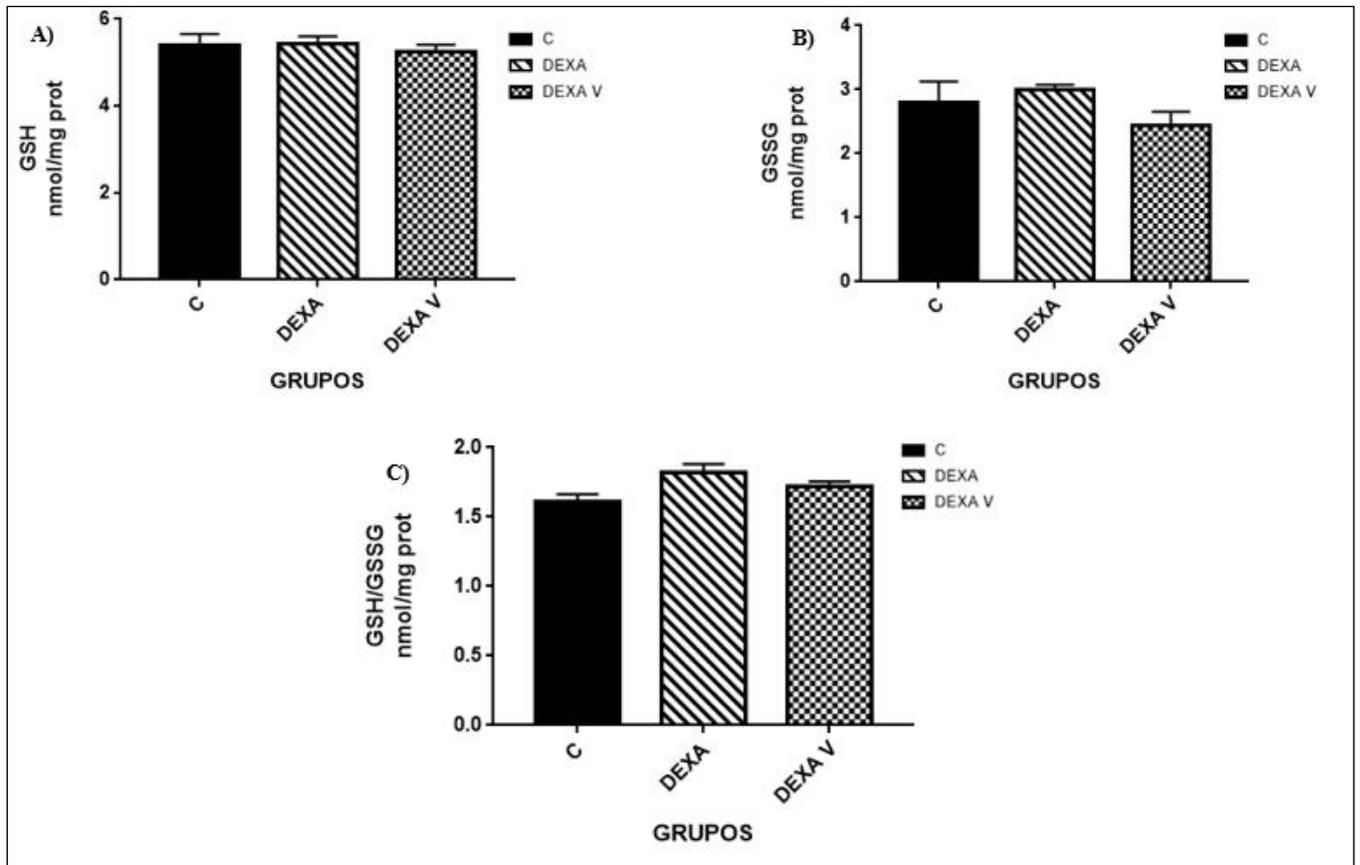
Figura 24 - Efeito do VO-dt nos níveis hepáticos de TBAR, nitrito e na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.



Os valores expressos como média \pm erro padrão da média com $p < 0,05$, **versus* grupo controle; $p < 0,05$ ** *versus* grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

Figura 25 - Efeito do VO-dt na atividade da glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e relação GSH/GSSG de camundongos tratado com dexametasona durante 14 dias.



Os valores expressos como média \pm erro padrão da media com $p < 0,05$, **versus* grupo controle; $p < 0,05$ ** *versus* grupo Dexa, utilizando a análise de variância de uma via (*one way ANOVA*). N = 6 – 8 animais por grupo.

Fonte: A Autora (2021).

9 DISCUSSÃO

Neste estudo foi utilizado o modelo de resistência à insulina induzido por dexametasona, um corticoide sintético, amplamente utilizado na clínica médica no tratamento de doenças inflamatórias, reumáticas, alérgicas e também na imunossupressão para transplantes de órgãos (VANDEWALLE *et al.*, 2018; PHANSE *et al.*, 2016). Porém o uso terapêutico é limitado pelos efeitos colaterais como atrofia muscular esquelética, osteoporose e diabetes (SCHACKE *et al.*, 2002; RAFACHO *et al.*, 2010; RAFACHO *et al.*, 2014; KUO *et al.*, 2015). Os resultados mostraram que o VO-dt tem ações antihiperlicemiantes por melhorar a resistência à insulina e o balanço redox celular, o que contribuiu para prevenir a dislipidemia e o acúmulo de lipídios no fígado (esteatose) em roedores.

Os efeitos diabetogênicos dos GC são bem conhecidos, dentre eles a intolerância à glicose, resistência periférica à insulina, hiperglicemia, hiperinsulinemia e disfunção das β -células pancreáticas e a esteatose hepática (BUREN *et al.*, 2008; VAN RAALTE *et al.*, 2009; RAFACHO *et al.*, 2010; KUO *et al.*, 2015). Além disso, os GC aumentam a produção hepática de glicose e lipídios, o catabolismo proteico muscular e também lipídico no tecido adiposo branco, assim como reduz a utilização periférica de glicose pelos tecidos insulino-dependentes (GEER *et al.* 2014; RAFACHO *et al.*, 2010; RAFACHO *et al.*, 2014).

Nossos resultados mostraram claramente que o tratamento com a dexametasona induziu RI em camundongos, o que foi constatado a partir dos níveis elevados de glicemia e trigliceridemia de jejum, que corrobora com outras pesquisas (THI *et al.*, 2018; MOHINI; MANOHAR; KONDE, 2016; PROTZEK *et al.*, 2015; PRASHANT *et al.*, 2012) e calculada a partir do índice TyG (GAMBOA-GAMÉZ *et al.*, 2017). A avaliação da RI *in vivo* pode ser feita por diferentes técnicas como o clamp euglicêmico hiperinsulinêmico e o cálculo do índice homeostático de RI (HOMA-IR), os quais pelo custo econômico ou a dificuldade metodológica nem sempre podem ser realizados (AHN *et al.*, 2018).

O índice TyG tem sido utilizado e bem aceito por apresentar alta sensibilidade e especificidade para identifica RI (GUERRERO-ROMERO *et al.*, 2010). É bem estabelecido que os GC reduzem a utilização e a captação de glicose induzida pela insulina por reduzir a translocação do transportador de glicose isoforma 4 (GLUT4) no tecido muscular esquelético e tecido adiposo branco (TAB) (GEER *et al.* 2014; MO *et al.*, 2019). Os efeitos neoglicogênicos dos GC, através do aumento da atividade de enzimas limitantes desta via, como a fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK) e a glicose 6 fosfatase (G6P), também são

bem conhecidos (KUO *et al.*, 2018). Contribuindo diretamente para hiperglicemia observada nos animais tratados com dexametasona, foi demonstrado que ratos tratados com dexametasona durante 5 dias aumentaram a produção de glucagon, o que corrobora os efeitos hiperglicemiantes destes hormônios esteroides (RAFACHO *et al.*, 2014).

Apesar de bem documentados por diferentes autores na literatura, está longe de ser consenso os efeitos antidiabetogênicos dos compostos à base de vanádio. A redução da glicemia em ratos diabéticos tipo 1 (EL-SHAZLY *et al.*, 2015; CONG *et al.*, 2016; TREVINO *et al.*, 2016) e tipo 2 (KHANDELWAI *et al.*, 1995; TREVINO *et al.*, 2019) tem sido descrita, assim como em modelos *in vitro*, os quais utilizam adipócitos isolados, mostraram que o decavanadato, por exemplo, foi capaz de inibir ações anti-insulínicas da dexametasona na captação de glicose (PEREIRA *et al.*, 2019). Entretanto, Barbera *et al.*, 2009 demonstrou que embora o sulfato de vanadila (VOSO₄) tenha ações protetoras para as células β -pancreáticas, não corrigiu as alterações no metabolismo glicídico e lipídico induzidas pela dexametasona em ratos senis. Já Pereira *et al.*, 2009 evidenciou que os efeitos semelhantes à insulina de compostos de vanádio depende da dose e da estrutura química envolvida, salientando que quanto mais vanádio maior o efeito estimulante sobre a captação de glicose.

Nossos resultados mostram, claramente, que o VO-dt reduziu a RI induzida pelo glicocorticoide *in vivo* em animais jovens. Embora não tenhamos avaliados os possíveis mecanismos moleculares neste estudo, sabe-se que as ações semelhantes à insulina dos compostos de vanádio são associadas à inibição das proteínas fosfatases, enzimas responsáveis por defosforilar e, portanto, inativar a transdução do sinal hormonal da insulina nos tecidos-alvo, o que contribui para melhor captação e utilização da glicose assim menor produção hepática de glicose (PETERS *et al.*, 2003; MEHDI *et al.*, 2006). É bem estabelecido que o uso de dexametasona promove uma hiperinsulinemia compensatória, o que está associado ao aumento na síntese e secreção hormonal em função do aumento da massa de células β -pancreáticas (VAN RAALTE *et al.*, 2010). Embora não tenha sido quantificado os níveis séricos de insulina neste trabalho, a tolerância oral à glicose (OGTT) mostra a intolerância ao carboidrato induzida pela dexametasona, o que foi atenuado com o tratamento como VO-dt.

Algumas possibilidades podem ser, futuramente, investigadas para responder a essa questão: (a) o VO-dt preservou a massa e a função das células β -pancreáticas (PEREIRA *et al.*, 2009); (b) melhorou a sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos para captação de glicose (CONG *et al.*, 2016); (c) reduziu a secreção de glucagon pelas células α -pancreáticas

(RAFACHO *et al.*, 2014). Independente do mecanismo envolvido, a análise da área sob curva do OGTT mostra que o VO-dt melhora a tolerância oral à glicose *in vivo*, o que torna esse composto promissor na prevenção dos efeitos clinicamente não desejados dos glicocorticoides em situações que o uso prolongado seja indispensável. Já a redução de massa corporal observada nos animais tratados com dexametasona pode ser explicada, pelo menos em parte, pela redução da ingestão alimentar associada ao catabolismo proteico muscular. Resultados semelhantes foram observados em ratos tratados com CG (NUNES *et al.*, 2013).

Os efeitos proteolíticos induzidos pelos glicocorticoides, estão bem descritos na literatura inclusive por suas ações anti-insulínicas (BODINE; FURLOW, 2015). O VO-dt, ainda que tenha reduzido a proteólise muscular, não atenuou a redução de massa corporal e a hipofagia observada nos animais tratados com dexametasona. Considerando a hiperinsulinemia decorrente do tratamento com GC e a melhor sensibilidade à insulina induzida pelo VO-dt é possível explicar as ações antiproteolíticas observadas em músculos oxidativos como o soleo. Não se pode excluir a possibilidade do aumento da sensibilidade hepática à insulina promovida pelo VO-dt possa ter contribuído para menor produção hepática de glicose, seja pela menor oferta de substratos neoglicogênicos como aminoácidos (músculo) e glicerol (TAB), ou pela inibição da expressão e atividade de enzimas neoglicogênicas estimuladas pelo GC (CASSUTO *et al.*, 2005; GEER *et al.*, 2014).

As ações dos GC sobre o tecido adiposo são amplas e, por vezes, antagônicas, uma vez que, a depender do tipo de TAB estudado, podem ser ações lipolíticas e também lipogênicas (RAFACHO *et al.*, 2014). Em condições de excesso de GC como a síndrome de Cushing é observado um acúmulo de gordura visceral, assim como redução da massa adiposa em outras regiões do corpo, como braços e pernas (REYNOLDS *et al.*, 2012). Esse fenômeno tem sido associado a expressão dos receptores para glicocorticoides (GR), assim como no grau de sensibilidade à insulina assimétrico nos tecidos adiposos (RAFACHO *et al.*, 2014). Efetivamente, há um paradoxo criado pelos GC no fenômeno da RI, uma vez que estes esteroides podem induzir RI em tecidos específicos e de modo tempo e concentração dependente (GEER *et al.*, 2014). O aumento da massa no TAB retroperitoneal foi constatado sem alterações no TAB abdominal de camundongos tratados com dexametasona. O efeito diferencial da dexametasona nos diferentes coxins de TAB observados neste trabalho são corroborados por dados de Ferreira *et al.* (2017).

Ferreira *et al.* (2017) mostraram que ratos tratados durante 5 dias com corticoide sintético tiveram acumularam massa adiposa retroperitoneal. Além disso, a redução do

glicerol pelo VO-dt sugere uma menor lipólise e/ou maior lipogênese no TAB retroperitoneal estimulada pelo composto à base de vanádio. Dados recentes em humanos mostraram que a regulação da síntese de novo de lipídios no TAB em indivíduos saudáveis é prejudicada na obesidade (ESSISSING *et al.*, 2013), o que reforça a melhor sensibilidade à insulina induzida e o melhor controle da massa adiposa pelo VO-dt. Uma grande limitação do uso clínico de sensibilizadores da insulina, como tiazolidinedionas (TZD), é ganho de massa corporal, sobretudo da massa adiposa (HE *et al.*, 2015; SOHN *et al.*, 2018). Logo, candidatos a remédios que melhorem a sensibilidade à insulina de modo não dependente das vias que estimulam a síntese de lipídios, como os receptores ativados por proliferadores e peroxissomas gama (PPAR γ), podem ser uma estratégia terapeuticamente interessante.

Os GCs desempenham um papel essencial na resposta ao estresse, inclusive na manutenção dos níveis de glicose plasmática para manutenção metabólica de órgãos e tecidos como cérebro, eritrócitos e músculo (ZHENG *et al.*, 2009). Os mecanismos envolvidos nessa resposta aos GC são, basicamente, (a) maior sensibilidade dos hepatócitos a hormônios catabólicos como glucagon, hormônio do crescimento e catecolaminas induzidas pelo CGs; e (b) maior produção hepática de glicose a partir da neoglicogênese e glicogenólise, assim com a redução da utilização periférica de glicose. Semelhante ao observado neste trabalho, outros autores demonstraram que os GCs preservam o conteúdo de glicogênio hepático em animais jejuados (MERSMANN; SEGAL, 1969; EXTON *et al.*, 1976). Experimentos de perfusão hepática em ratos jejuados mostraram que os GCs controlam o fluxo de piruvato para neoglicogênese, e estimula a atividade da enzima glicogênio sintase, enzima responsável pela síntese do glicogênio (EXTON *et al.*, 1976).

Esse controle parece ser tecido-específico, uma vez que os efeitos dos GCs no glicogênio muscular são opostos (KUO *et al.*, 2015). O efeito glicogenolítico de hormônios como a adrenalina e glucagon dependente dos GCs (GREEN *et al.*, 1980; TAVONI *et al.*, 2013). Entretanto, Ruzzin *et al.* (2005) demonstraram que o tratamento com dexametasona foi capaz de aumentar os níveis de glicogênio em músculos *soleus* e epitroclear, além do fígado, em ratos tratados por 12 dias, o que sugere que os GCs são importantes para o efeito da insulina na síntese do glicogênio (ZHENG *et al.*, 2009). Esses resultados parecem depender de tempo e da dose de exposição ao GC.

Embora os mecanismos não sejam totalmente conhecidos, é consenso que os GCs produzem resistência à insulina hepática e muscular, inclusive no controle de enzimas chaves das vias de geração e degradação de glicogênio, como a glicogênio sintase a e b, e também a

glicogênio sintase cinase 3 (GSK3). Além disso, a condição nutricional parece modular este controle, uma vez que ratos jejuados são mais sensíveis às ações catabólicas de agentes glicogenolíticos, como a adrenalina e glucagon (TAVONI *et al.*, 2013). Neste sentido, o vanádio parece contribuir na regulação do metabolismo do glicogênio hepático e muscular de camundongos tratados com dexametasona, no sentido de permitir a preservação dos níveis desta reserva mesmo durante o jejum, o que pode sugerir uma maior sensibilidade à insulina. Mas, não bloqueou a mobilização controlada desta reserva para manutenção da glicemia em valores fisiologicamente aceitáveis.

O excesso de GC é conhecido por promover alterações importantes no metabolismo lipídico em diferentes tecidos, o que contribui diretamente para dislipidemia, quantificada pela elevação nos níveis de triglicérides (TG), colesterol total (CT) e redução dos níveis de HDL (ANAGNOSTIS *et al.*, 2009; INÁCIO *et al.*, 2018). Além disso, os GCs estimulam a expressão e a atividades de enzimas importantes na síntese hepática de lipídios, como a ácido graxo sintase e a acetil coenzia A (CoA) carboxilase, também aumentam a produção de ésteres de colesterol e a redução da secreção de lipoproteínas de baixíssima densidade (VLDL), o que contribui para o acúmulo ectópico de lipídios no fígado (HAWANG *et al.*, 2014; WOODS *et al.*, 2015), um fator de risco importante para doenças cardiovasculares (WOODS *et al.*, 2015; HARASIM-SYMBOR *et al.*, 2016). As ações do vanádio no metabolismo lipídico não são tão claras quando comparadas aos efeitos antihiperlipidêmicos. O tratamento com sulfato de vanadila, embora tenha melhorado o perfil glicêmico, gerou dislipidemia em ratos saudáveis, por exemplo (HUSSAIN SHAH *et al.*, 2016).

Experimentos em pacientes diabéticos do tipo 1 tratados por 30 meses com o sulfato de vanadila melhoraram somente os níveis de CT, sem alterações na trigliciridemia (SOVEID *et al.*, 2013). De modo oposto, um estudo com humanos saudáveis expostos profissionalmente à inalação do vanádio mostrou uma melhora no perfil lipêmico, com redução inclusive do índice aterogênico (ZHANG *et al.*, 2014). O tratamento com o VO-dt melhorou o perfil lipídicos e o índice aterogênico de animais tratados com dexametasona. Neste mesmo sentido, Mbatha *et al.* (2020) evidenciou a redução nos níveis de CT e TG e também melhora no perfil aterogênico de animais diabéticos tratados com dióxido vanádio (V). Corroborando estes achados, Bin-Jalial *et al.* 2018 mostraram que o tratamento de ratos diabéticos com vanádio também resultou em melhoras no perfil glicídico e lipêmico. É preciso considerar que as ações do vanádio dependem da estrutura química utilizada, de modo que complexos orgânicos

parecem ser mais eficientes em relação a sais inorgânicos, inclusive com efeitos adversos reduzidos (FRANCIK *et al.*, 2017).

Analisando de forma conjunta, os nossos dados sugerem que o VO-dt é benéfico para o perfil lipídico plasmático e hepático em situações de demanda metabólica como o DM ou excesso de GC, por ações que podem ser explicadas, pelo menos em parte, pela melhora na sensibilidade à insulina. Embora os dados sobre as ações diretas do vanádio sobre o metabolismo lipídico no fígado e no TAB sejam escassos, a modulação da expressão e da atividade de enzimas chaves de controle na síntese e oxidação de lipídios não pode ser descartada. Neste cenário, não se pode deixar de considerar a clara relação funcional entre fígado e TAB (HAZLEHURST *et al.*, 2014). Em outras palavras, a maior lipólise promovida pelos GC em alguns tipos de TAB contribui com a maior disponibilidade de substratos para síntese hepática de lipídios, igualmente estimulada pelos GC, o que favorece o acúmulo de lipídio no tecido hepático. Naturalmente, considerando a redução da dislipidemia e do acúmulo hepático de lipídios pelo VO-dt, é possível sugerir o efeito insulinomimético dos compostos de vanádio no controle do metabolismo lipídico em diferentes tecidos, inclusive fígado e TAB.

Mas, também não se pode ignorar possíveis ações direta sobre o TAB deste composto de vanádio, sobretudo o melhor controle da massa adiposa durante a RI. A esteatose hepática própria do excesso de GC gera aumento dos níveis plasmáticos das transaminases hepáticas, alanina e aspartato aminotransferases (WOODS *et al.*, 2015). O VO-dt atenuou essa disfunção hepática. Curiosamente, o tratamento com dexametasona induziu aumento nos níveis de albumina sérica, o que não foi reduzido pelo VO-dt. A albumina é a principal proteína plasmática produzida pelo fígado que tem diferentes funções, tais como transporte de moléculas endógenas e exógenas ao corpo (íons, fármacos, vitaminas e hormônios), além de efeitos osmóticos importantes e anti-inflamatórios (WIEDERMANN, 2007; ARQUES, STEPHANE, 2018). Esta alteração nos níveis séricos de albumina pode ter relação com as ações clássicas anti-inflamatórias dos glicocorticoides. Além disso, a insulina estimula a síntese hepática de albumina (SAMUEL *et al.*, 2012; YARIBEYGI *et al.*, 2018). Neste sentido, a dexametasona, além de causar a RI, também gera hiperinsulinemia (RAFACHO *et al.*, 2010; RAFACHO *et al.*, 2014), o que poderia também explicar a albuminemia.

Tanto o uso de GC como a hiperglicemia decorrente deste uso perturbam o estado redox celular, desviando-o para a intensa produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), com comprometimento concomitante das defesas antioxidantes do

organismo (BUTKOWSKI; JELINEK, 2019; COSTANTINI *et al.*, 2011). O dano oxidativo observado pela dexametasona é bem documentado na literatura *in vivo* (YILMAZ-OZDEN *et al.*, 2014; EL-SONBATY *et al.*, 2019) e *in vitro* (LUAN *et al.*, 2019). As ações do vanádio sobre o estado redox são contraditórias. O vanádio pode atuar como um agente pró-oxidante, o que tem sido relacionado aos efeitos tóxicos deste metal (SCIBIOR *et al.*, 2019). Entretanto, nossos resultados mostraram um efeito antioxidante claro do VO-dt em animais tratados com dexametasona. De modo semelhante aos nossos resultados, o tratamento de ratos diabéticos com sulfato de vanadila resultou em redução do estresse oxidativo através da redução da peroxidação lipídica, atividade de enzimas antioxidantes e preservação nos níveis de GSH em músculos da pata posterior (KURT *et al.*, 2019) e do estômago (YILMAZ-OZDEN *et al.*, 2011) de ratos.

Outro mecanismo envolvido no o desenvolvimento das complicações microvasculares em função do aumento da concentração da glicose no plasma são as reações de glicoxidação. São reações tempo e concentração dependentes, ou seja, ocorrem em função da hiperglicemia crônica (TAGHAVI *et al.*, 2017). Ocorrem através da interação não enzimática entre grupo aminos de proteína com açúcares redutores como a glicose, a frutose e o sorbitol (reação de Maillard). O VO-dt foi eficiente na redução nos níveis de frutosamina, um dos produtos de Heyns (glico-oxidação), utilizados clinicamente para o rastreo do controle glicêmico. Outro produto de glicação avançada (AGE) utilizado para rastreo do controle glicêmico é a hemoglobina glicada A1C (Produto de Amadori) (KUHN *et al.*, 1937; TAGHAVI *et al.*, 2017). Pacientes tratados com sulfato de vanadila por 6 semanas mostraram redução nos níveis séricos de frutosamina e também hemoglobina (CUSI *et al.*, 2000). Embora, a estrutura química associada ao vanádio, dose utilizada e tempo de tratamento devam ser considerados, os nossos resultados sugerem um efeito antioxidante *in vivo* do VO-dt que pode sinalizar um dos possíveis mecanismos de ação deste composto na redução da RI induzida por glicocorticoides.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os achados sugerem que o VO-dt reduziu a resistência à insulina e melhorou a tolerância oral à glicose em camundongos tratados com dexametasona. Além disso, o VO-dt melhorou a dislipidemia, assim como atenuou a esteatose hepática, provavelmente por melhorar a sensibilidade periférica à insulina e ações antioxidantes mediante as ações negativas dos GCs.

Assim os dados demonstram que o uso do VO-dt pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos colaterais dos GCs no metabolismo glicídico, lipídico e proteico de pacientes portadores de hipercortisolismo ou que necessitem utilizar de terapia à base de glicocorticoides exógenos de forma prolongada ou em altas doses.

REFERÊNCIAS

- ABEL ED, PERONI O, KIM JK, KIM YB, BOSS O, HADRO E, *ET AL.* **Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver.** *Nature.* 2001.
- ABRAHAM, S.B.; RUBINO, D.; SINAIL, N.; RAMSEY, S.; NIEMAN, L. K. **Cortisol, obesity, and the metabolic syndrome: a cross-sectional study of obese subjects and review of the literature.** *Obesity*, v. 21, n. 1, p. 105-117, 2013.
- ADCOCK, IAN M.; MUMBY, SHARON. **Glucocorticoids.** In: *Pharmacology and Therapeutics of Asthma and COPD.* Springer, Cham. p. 171-196.2016.
- AHMED EL-SHAZLY, SAMIR *et al.* **Síntese, caracterização e avaliação da eficácia de um novo complexo antidiabético de cloridrato de vanadil (II) tiamina em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.** *Jornal Internacional de Imunopatologia e Farmacologia* , v. 28, n. 2, pág. 227-239, 2015.
- AHN, NAYEON *et al.* **Visceral adiposity index (VAI), lipid accumulation product (LAP), and product of triglycerides and glucose (TyG) to discriminate prediabetes and diabetes.** *Scientific reports*, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2019.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018.** *Diabetes Care*, v. 41 (Suppl. 1): S13–S27, 2018.
- A. MOHAMMAD, S. BHANOT, AND J. H. MCNEILL. **In vivo effects of vanadium in diabetic rats are independent of changes in PI-3 kinase activity in skeletal muscle.** *Molecular and Cellular Biochemistry.* vol. 223, no. 1-2, pp. 103–108, 2001.
- ANACKER, C.; ZUNSZAIN, P. A.; CARVALHO, L. A.; PARIANTE, C. M. **The glucocorticoid receptor: Pivot of depression and of antidepressant treatment?** *Psychoneuroendocrinology*, v.36, n. 3, p. 415–425, 2011.
- ANAGNOSTIS, P., ATHYROS, V. G., TZIOMALOS, K., KARAGIANNIS, A., & MIKHAILIDIS, D. P. **The pathogenetic role of cortisol in the metabolic syndrome: a hypothesis.** *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(8), 2692-2701.2009.
- ANAND P. GUPTA , PRAGATI SINGH , RICHA GARG , GURU R. VALICHERLA MOHAMMED RIYAZUDDIN , ANEES A. SYED ZAKIR HOSSAIN , JIAUR R. GAYEN. **Pancreastatin inhibitor activates AMPK pathway via GRP78 and ameliorates dexamethasone induced fatty liver disease in C57BL/6 mice.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 116, p. 108959, 2019.
- ANTONI, FERENC A. **Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor.** *Endocrine reviews*, v. 7, n. 4, p. 351-378, 1986.

ANRAKU M, CHUANG VT, MARUYAMA T, OTAGIRI M. **Redox properties of serum albumin.** *Biochim Biophys Acta* . Dec;1830(12):5465–72, 2013.

ARQUES, STEPHANE. **Human serum albumin in cardiovascular diseases.** *European journal of internal medicine*, v. 52, p. 8-12, 2018.

ARQUES, STEPHANE; AMBROSI, PIERRE. **Human serum albumin in the clinical syndrome of heart failure.** *Journal of cardiac failure*, v. 17, n. 6, p. 451-458, 2011.

ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE DIABETES *ET AL.* **Classificação e diagnóstico de diabetes: padrões de atendimento médico em diabetes - 2018.** *Diabetes care* , v. 41, n. Suplemento 1, p. S13-S27, 2018.

AYROLDI, E., CANNARILE, L., MIGLIORATI, G., NOCENTINI, G., DELFINO, DV, RICCARDI, C. **Mecanismos dos efeitos anti - inflamatórios dos glicocorticóides: interferência genômica e não genômica nas vias de sinalização MAPK.** *The FASEB Journal* , v. 26, n. 12, pág. 4805-4820, 2012.

BARTHOLOME B, SPIES CM, GABER T, SCHUCHMANN S, BERKI T, KUNKEL D, *ET AL.* **Os receptores de glicocorticóide de membrana (mGCR) são expressos em células mononucleares do sangue periférico humano normal e regulados para cima após estimulação in vitro e em pacientes com artrite reumatóide.** *O diário do FASEB*, v. 18, n. 1, p. 70-80, 2004.

BAVILONI, P. D.; SANTOS, M. P.; AIKO, G. M.; REIS, S. R. L.; LATORRACA, M. Q.; SILVA, V. C.; DALL'OGGIO, E. L.; JÚNIOR, P. T. S.; LOPES, C. F.; BAVIERA, A. M.; KAWASHITA, N. H. **Mechanism of anti-hyperglycemic action of Vatairea macrocarpa (Leguminosae): Investigation in peripheral tissues.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 131, n. 1, p. 135-139, 2010.

BELLAVANCE, MARC- ANDRÉ; RIVEST, SERGE. **The neuroendocrine control of the innate immune system in health and brain diseases.** *Immunological reviews*, v. 248, n. 1, p. 36-55, 2012.

BIDDIE, S. C.; CONWAY-CAMPBELL, B. L.; LIGHTMAN, S. L. **Dynamic regulation of glucocorticoid signalling in health and disease.** *Rheumatology*, v. 51, n.3, p. 403-412, 2012.

BIJUR, GAUTAM N.; JOPE, RICHARD S. **Rapid accumulation of Akt in mitochondria following phosphatidylinositol 3- kinase activation.** *Journal of neurochemistry*, v. 87, n. 6, p. 1427-1435, 2003.

BIN-JALIAH I, SAKR HF, MORSY MD, DALLAK M, HAIDARA MA. **Modulatory effect of concomitant administration of insulin and vanadium on inflammatory biomarkers in type 2 diabetic rats: role of adiponectin.** *Chin J Physiol.* 2018 Feb 28;61(1):42-49. doi: 10.4077/CJP.2018.BAG523.

BOUCHER J, KLEINRIDDER A, KAHN CR. **Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states.** *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014.

BODEN, G. **Obesity, insulin resistance and free fatty acids.** Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity, v. 18, n.2, p.139- 143, 2011.

BODINE, SUE C.; FURLOW, J. DAVID. **Glucocorticoids and skeletal muscle.** Glucocorticoid Signaling, p. 145-176, 2015.

BOLES, A.; KANDIMALLA, R.; REDDY, P. H. **Dynamics of diabetes and obesity: Epidemiological perspective.** Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease, v. 1863, n.5, p.1026- 1036, 2017.

BONETTO, A.; PENNA, F.; MUSCARITOLI, M.; MINERO, V. G.; FANELLI, F. R.; BACCINO, F. M.; COSTELLI, P. **Are Antioxidants Useful for Treating Skeletal Muscle Atrophy?** Free Radical Biology and Medicine, v.47, n.7, p. 906-916, 2009.

BOSE, S. K.; HUTSON, I.; HARRIS, C. A. **Hepatic Glucocorticoid Receptor Plays a Greater Role Than Adipose GR in Metabolic Syndrome Despite Renal Compensation.** Endocrinology, v. 157, n. 12, p. 4943–4960, 2016.

BUENO, J. R.; GOUVÊA, C. M. C. P. **Cortisol e exercício: efeitos, secreção e metabolismo.** Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício, v. 10, n. 3, p. 178-180, 2011.

BUENTKE, E.; NORDSTRÖM, A.; LIN, H.; BJÖRKLUND, A. C.; LAANE, E.; HARADA, M.; LU, L.; TEGNEBRATT, T.; STONE-ELANDER, S.; HEYMAN, M.; SÖDERHÄLL, S.; PORWIT, A.; OSTENSON, C. G.; SHOSHAN, M.; TAMM, K. P.; GRANDÉR, D. **Glucocorticoid-induced cell death is mediated through reduced glucose metabolism in lymphoid leukemia cells.** Blood cancer journal, v.1, n.7, e.31, p.1-9, 2011.

BUTKOWSKI, EUGENE G.; JELINEK, HERBERT F. **Hyperglycaemia, oxidative stress and inflammatory markers.** Redox Report, v. 22, n. 6, p. 257-264, 2017.

BURÉN, JONAS *et al.* **Ação da insulina e sinalização na gordura e músculo de ratos tratados com dexametasona.** Arquivos de bioquímica e biofísica , v. 474, n. 1, pág. 91-101, 2008.

BURÉN, J.; LIU, Hui-Xia; JENSEN, J.; ERIKSSON, J. W. **Dexamethasone impairs insulin signalling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes.** European Journal of Endocrinology, v. 146, n. 3, p. 419- 429, 2002.

CABRAL, M. A. **Anotações em farmacologia e farmácia clínica.** Nova Friburgo, 2010.

CASSUTO, HANOCH *et al.* **Glucocorticoids regulate transcription of the gene for phosphoenolpyruvate carboxykinase in the liver via an extended glucocorticoid regulatory unit.** Journal of Biological Chemistry, v. 280, n. 40, p. 33873-33884, 2005.

CATALANO, P.M. **Trying to understand gestational diabetes.** Diabet. Med. 31, 273–281.2014.

- CATALANO, P.M.; L. HUSTON, S.B. AMINI, S.C. KALHAN. **Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus.** American journal of obstetrics and gynecology, v. 180, n. 4, p. 903-916, 1999.
- CARDOSO, J. S.; OLIVEIRA, P. S.; BONA, N. P.; VASCONCELLOS, F. A.; BALDISSARELLI, J.; VIZZOTTO, M.; SOARES, M.; RAMOS, V. P.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; TAVARES, R. G.; STEFANELLO, F. M. **Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance.** Redox report: communications in free radical research, v.23, n.1, p. 41-46, 2018.
- CITLALY GUTIÉRREZ-RODELO, ADRIANA ROURA-GUIBERNA Y JESÚS ALBERTO OLIVARES-REYES **Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización.** Gac Med Mex. 2017.
- CHESTER, BRITTANNIE *ET AL.* **The effects of popular diets on type 2 diabetes management.** Diabetes/metabolism research and reviews, v. 35, n. 8, p. e3188, 2019.
- CONG, XIAO-QIANG *et al.* **Bis (maltolato) oxovanadium (IV)(BMOV) attenuates apoptosis in high glucose-treated cardiac cells and diabetic rat hearts by regulating the unfolded protein responses (UPRs).** Biological trace element research, v. 173, n. 2, p. 390-398, 2016.
- CODERRE, LISE *et al.* **Regulation of glycogen concentration and glycogen synthase activity in skeletal muscle of insulin-resistant rats.** Archives of biochemistry and biophysics, v. 464, n. 1, p. 144-150, 2007.
- COSTANTINI, DAVID; MARASCO, VALERIA; MØLLER, ANDERS PAPE. **A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates.** Journal of Comparative Physiology B, v. 181, n. 4, p. 447-456, 2011.
- CRANS, DEBBIE C. **Antidiabetic, chemical, and physical properties of organic vanadates as presumed transition-state inhibitors for phosphatases.** The Journal of organic chemistry, v. 80, n. 24, p. 11899-11915, 2015.
- CUSI, K. *et al.* **O sulfato de vanadil melhora a sensibilidade à insulina hepática e muscular no diabetes tipo 2.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 86, n. 3, pág. 1410-1417, 2001.
- DAL CANTO E.; CERIELLO, A.; RYDÉN, L.; FERRINI M.; HANSEN, T. B.; SCHNELL, O.; STANDL, E.; BEULENS, J. W. **Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications.** European Journal of Preventive Cardiology, v. 26 (2S), p. 25-32, 2019.
- DALLMAN, M.F., AKANA, S.F., JACOBSON, L., LEVIN, N., CASCIO, C.S., & SHINSAKO, J. **Characterization of Corticosterone Feedback Regulation of ACTH Secretion a.** Annals of the New York Academy of Sciences, v. 512, n. 1, p. 402-414, 1987.

DE BOSSCHER, K.; HAEGEMAN, G.; ELEWAUT, D. **Targeting inflammation using selective glucocorticoid receptor modulators.** *Current Opinion in Pharmacology*, v. 10, n. 4, p. 497–504, 2010.

DESHPANDE, A. D.; HARRIS-HAYES M.; SCHOOTMAN, M. **Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications.** *Physical Therapy*, v.88, n. 11, p. 1254- 1264, 2008.

DING, LING-ZHI *et al.* **Mangiferin inhibits apoptosis and oxidative stress via BMP2/Smad-1 signaling in dexamethasone-induced MC3T3-E1 cells.** *International journal of molecular medicine*, v. 41, n. 5, p. 2517-2526, 2018.

DIRLEWANGER, M. *ET AL.* **Effects of glucocorticoids on hepatic sensitivity to insulin and glucagon in man.** *Clinical Nutrition*, v. 19, n. 1, p. 29-34, 2000.

DU, WEN *et al.* **HID-1 is required for homotypic fusion of immature secretory granules during maturation.** *Elife*, v. 5, p. e18134, 2016.

DRUZIAN, ALESSANDRA FERNANDES; MELO, JOSÉ APARECIDO DE OLIVEIRA; SOUZA, ALBERT SCHIAVETO DE. **The influence of enriched environment on spatial memory in Swiss mice of different ages.** *Arquivos de neuro-psiquiatria*, v. 73, n. 8, p. 692-697, 2015.

EGUCHI, K.; BODEN-ALBALA, B.; JIN, Z.; RUNDEK, T.; SACCO, R. L.; HOMMA, S.; DI TULLIO, M. R. **Association between diabetes mellitus and left ventricular hypertrophy in a multiethnic population.** *The American journal of cardiology*, v.101, n.12, p. 1787–1791, 2008.

EL-MAOUCHE, DIALA; ARLT, WIEBKE; MERKE, DEBORAH P. **Hiperplasia adrenal congênita.** *The Lancet* , v. 390, n. 10108, pág. 2194-2210, 2017.

EL-SONBATY, SUDDEK GM, MEGAHED N, GAMEIL NM. **X Protocatechuic acid exhibits hepatoprotective, vasculoprotective, antioxidant and insulin-like effects in dexamethasone-induced insulin-rats.** *Bioquímie*. 167: 119 . 134,2019.

EISSING, LEAH *et al.* **A lipogênese de novo na gordura e no fígado humanos está ligada ao ChREBP-β e à saúde metabólica.** *Comunicações da natureza* , v. 4, n. 1, pág. 1-11, 2013.

ERRANTE, P. R.; RODRIGUES, F. S. M.; TAVARES, J. G. P.; REIS, M. C. M.; ICIMOTO, M. Y.; FERRAZ, R. R. N.; NETO, A. C. **Mecanismos de ação e resistência ao uso de glicocorticóides.** *Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica*, v.6, n.2, p. 01-11, 2014.

EVANS, JOSEPH L.; MADDUX, BETTY A.; GOLDFINE, IRA D. **The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance.** *Antioxidants & redox signaling*, v. 7, n. 7-8, p. 1040-1052, 2005.

EXTON, JOHN H. *et al.* **Metabolismo de carboidratos em fígados perfundidos de ratos adrenalectomizados e substituídos por esteróides.** *American Journal of Physiology-Legacy Content* , v. 230, n. 1, pág. 163-170, 1976.

FARIA, E. R.; FARIA, F. R.; FRANCESCHINI, S. C. C.; PELUZIO, M. C. G.; SANT'ANA, L. F. R.; NOVAES, J. F.; RIBEIRO, S. M. R.; RIBEIRO, A. Q.; PRIORE, S. E. **Resistência à insulina e componentes da síndrome metabólica, análise por sexo e por fase da adolescência.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 58, n. 6, p. 610–618, 2014.

FATHALLAH, A. M.; CHIANG, M.; MISHRA, A.; KUMAR, S.; XUE, L.; MIDDAUGH, C. R.; BALU-IYE, S. V. **The Effect of Small Oligomeric Protein Aggregates on the Immunogenicity of Intravenous and Subcutaneous Administered Antibodies.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 104, n.11, p. 3691–3702, 2015.

FATHALLAH, N., SLIM, R., LARIF, S., HMOUDA, H., & SALEM, C. B. **Drug-induced hyperglycaemia and diabetes.** Drug safety, v. 38, n. 12, p. 1153-1168, 2015.

FERREIRA, L. T.; SAVIOLLI, I. H.; VALENTI, V. E.; ABREU, L. C. **Diabetes melito: hiperglicemia crônica e suas complicações.** Arquivo Brasileiros de Ciências da Saúde, v. 36, n.3, p. 182–188, 2011.

FERRE, P. ; FOUFELLE, F. **Esteatose hepática: um papel para a lipogênese de novo e o fator de transcrição SREBP - 1c.** Diabetes, obesidade e metabolismo , v. 12, p. 83-92, 2010.

FERESHTEH TAGHAVI MEHRAN HABIBI-REZAEI; MOJTABA AMANI; ALI AKBAR SABOURY; ALI AKBAR MOOSAVI-MOVAHEDI .**The status of glycation in protein aggregation.** International Journal of Biological Macromolecules. 2017.

FERREIRA, GRAZIELLA NASCIMENTO *et al.* **Differential regulation of glyceroneogenesis by glucocorticoids in epididymal and retroperitoneal white adipose tissue from rats.** Endocrine, v. 57, n. 2, p. 287-297, 2017.

FLEUREN, W. W.; TOONEN, E. J.; VERHOEVEN, S.; FRIJTERS, R.; HULSEN, T.; RULLMANN, T.; VAN SCHAIK, R.; Vlieg, J.; ALKEMA, W. **Identification of new biomarker candidates for glucocorticoid induced insulin resistance using literature mining.** BioData Mining, v.6, n.1, p.1-15, 2013.

FOROUHI N. G.; WAREHAM, N. J. **Epidemiology of diabetes.** Medicine (Abingdon), v.42, n.12, p. 698- 702, 2014.

FRANSSON, LISELOTTE *et al.* **Adaptação de células b em um modelo de camundongo com síndrome metabólica induzida por glicocorticóides.** Journal of endocrinology , v. 219, p. 231-241, 2013.

FRANCIK R, KRYCZYK-KOZIOŁ J, FRANCIK S, GRYBOŚ R, KROŚNIAK M. **Bis (4'4'.dimethyl-2,2'-bypyridine) oxidovanadium (IV) sulfate dehydrate: potential candidate for controlling lipid metabolism?.** Biomed Res Int. 2017.doi: 10.1155/2017/6950516.2017.

FRAQUEZA G, OHLIN CA, CASEY WH, AURELIANO M . **Interações da ATPase de cálcio do retículo sarcoplasmático com decaniobato, decavanadato, vanadato, tungstato e molibdato.** J Inorg Biochem 107: 82–89,2012.

FRIEDMAN, JACOB E. *ET AL.* **Increased skeletal muscle tumor necrosis factor- α and impaired insulin signaling persist in obese women with gestational diabetes mellitus 1 year postpartum.** Diabetes, v. 57, n. 3, p. 606-613, 2008.

FRENCH, S. A.; STORY, M.; PERRY, C. L. **Self- Esteem and Obesity in Children and Adolescents: A Literature Review.** Obesity Research, v. 3, n. 5, p. 479–490, 1995.

FURUKAWA, S., FUJITA, T., SHIMABUKURO, M., IWAKI, M., YAMADA, Y., NAKAJIMA, Y., SHIMOMURA, I. **Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome.** The Journal of clinical investigation, v. 114, n. 12, p. 1752-1761, 2017.

FU, Z.; R. GILBERT, E.; LIU, D. **Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes.** Current Diabetes Reviews, v. 9, n. 1, p. 25–53, 2012.

GAMBOA-GÓMEZ, CLAUDIA I. *et al.* **Avaliação in vitro e in vivo dos efeitos anti-hiperglicêmicos e antioxidantes de infusões de folhas de carvalho (*Quercus convallata* e *Quercus arizonica*) e bebidas fermentadas.** Food Research International , v. 102, p. 690-699, 2017.

GASPARINI, SYLVIA J. *et al.* **Androgens sensitise mice to glucocorticoid-induced insulin resistance and fat accumulation.** Diabetologia, v. 62, n. 8, p. 1463-1477, 2019.

GEER, ELIZA B.; ISLAM, JULIE; BUETTNER, CHRISTOPH. **Mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance: focus on adipose tissue function and lipid metabolism.** Endocrinology and Metabolism Clinics, v. 43, n. 1, p. 75-102, 2014.

GHAISAS, M.; NAVGHARE, V.; TAKAWALE, A.; ZOPE, V.; TANWAR, M.; DESHPANDE, A. **Effect of *Tectona grandis* Linn. on dexamethasone-induced insulin resistance in mice.** Journal of Ethnopharmacology, v. 122, n. 2, p. 304–307, 2009.

GIACCO, FERDINANDO; BROWNLEE, MICHAEL. **Oxidative stress and diabetic complications.** Circulation research, v. 107, n. 9, p. 1058-1070, 2010.

GJERSTAD, J. K.; LIGHTMAN, S. L.; SPIGA, F. **Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility.** Stress, v. 21, n. 5, p. 403–416, 2018.

GOEDEKE, LEIGH; PERRY, RACHEL J.; SHULMAN, GERALD I. **Emerging pharmacological targets for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease, insulin resistance, and type 2 diabetes.** Annual review of pharmacology and toxicology, v. 59, p. 65-87, 2019.

GOSSYE, V.; ELEWAUT, D.; VAN BENEDEN, K.; DEWINT, P.; HAEGEMAN, G.; DE BOSSCHER, K. **A plant-derived glucocorticoid receptor modulator attenuates**

inflammation without provoking ligand-induced resistance. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v.69, n.1, p.291- 296, 2010.

GONZALEZ-FRANQUESA, ALBA; PATTI, MARY-ELIZABETH. **Insulin resistance and mitochondrial dysfunction.** In: *Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Medicine*. Springer, Cham, 2017. p. 465-520.

GROITL, BASTIAN; JAKOB, URSULA. **Comutadores redox baseados em tiol.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Proteins and Proteomics* , v. 1844, n. 8, pág. 1335-1343, 2014.

GRUZEWSKA, K.; MICHNO, A.; PAWELCZYK, T.; BIELARCZYK, H. **Essentiality and toxicity of vanadium supplements in health and pathology.** *Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 65, n. 5, p. 603–611, 2014.

GUARIGUATA, L.; WHITING, D. R.; HAMBLETON, I.; BEAGLEY, J.; LINNENKAMP, U.; SHAW, J. E. **Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035.** *Diabetes research and clinical practice*, v.103, n.2, p.137–149, 2014.

GUERRERO-ROMERO F, SIMENTAL-MENDIA, GONZÁLEZ-ORTIZ M, MARTÍNEZ-ABUNDIS E, RAMOS-ZAVALA MG, HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ SO, JACQUES-CAMARENA O, RODRÍGUEZ-MORÁN M. **The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp.** *Clin Endocrinol Metab* 95(7), 3342-3351, 2010.

GUO, S. **Insulin Signaling, Resistance, and the Metabolic Syndrome: Insights from Mouse Models to Disease Mechanisms Shaodong.** *The Journal of endocrinology*, v. 71, n. 11, p. 3831–3840, 2014.

HAASE, M.; WILLENBERG, H. S.; BORNSTEIN, S. R. **Update on the corticomedullary interaction in the adrenal gland.** *Endocrine Development*, v.20, p. 28–37, 2011.

HAEUSLER, REBECCA A.; MCGRAW, TIMOTHY E.; ACCILI, DOMENICO. **Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 19, n. 1, p. 31, 2018.

HAN, H. S., KANG, G., KIM, J. S., CHOI, B. H., & KOO, S. H. **Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective.** *Experimental & molecular medicine*, v. 48, n. 3, p. e218-e218, 2016.

HARASIM-SYMBOR E, KONSTANTYNOWICZ-NOWICK K, CHABOWKSI A. **Additive effects of dexamethasone and palmitate on hepatic lipid accumulation and secretion.** *J Mol Endocrinol*. 57(4), 261 – 273, 2016.

HAWNG, J. L.; WEISS, R. E. **Understanding and Treatment Steroid induces diabetes.** *National Institute of Health*, v. 30, n. 2, p. 96–102, 2014.

HAZLEHURST JM, GATHERCOLE LL, NASIRI M, ARMSTRONG MJ, BORROWS S, YU J. **Glucocorticoids fail to cause insulin resistance in human subcutaneous adipose**

tissue in vivo. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 98, n. 4, p. 1631-1640, 2013.

HE, D. T.; CHEN, J. M.; WANG, B. **Regulation of triglyceride metabolism by the Farnesoid X receptor.** *World Chinese Journal of Digestology*, v.20, n.36, p.3732–3736, 2012.

HE, JINHAN *et al.* **Thiazolidinediones attenuate lipolysis and ameliorate dexamethasone-induced insulin resistance.** *Metabolism*, v. 64, n. 7, p. 826-836, 2015.

HE, YUANZHENG *et al.* **Structures and mechanism for the design of highly potent glucocorticoids.** *Cell research*, v. 24, n. 6, p. 713-726, 2014.

HILLIER, S. G. **Diamonds are forever: The cortisone legacy.** *Journal of Endocrinology*, v. 195, n. 1, p. 1–6, 2007.

HUANG M, WU Y, WANG N, WANG Z, ZHAO P, YANG X. **A ação hipoglicêmica dos compostos de vanádio está relacionada à supressão da alimentação?** *Biol Trace Elem Res* 157: 242–248,2014.

HURRELL, S.; HSU, W. H. **The etiology of oxidative stress in insulin resistance.** *Biomedical Journal*, v. 40, n. 5, p. 257–262, 2017.

HUSEINI, H. F.; KIANBAKHT, S.; HAJIAGHAEI, R.; DABAGHIAN, F. H. **Anti-hyperglycemic and anti-hypercholesterolemic effects of Aloe vera leaf gel in hyperlipidemic type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial.** *Planta medica*, v.78, n.4, p.311–316, 2012.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Atlas IDF 2019**, 2019.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas 8th Edition (2017)**. 2017.

IGHBARIYA A, WEISS R. **Insulin Resistance, Prediabetes, Metabolic Syndrome: What Should Every Pediatrician Know?** *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, v.9 (Suppl 2), p. 49-57, 2017.

INÁCIO, M. D.; RAFACHO, A.; CAMAFORTE, N. A. P.; TEIXEIRA, P.; VAREDA, P.; VIOLATO, N. M.; BOSQUEIRO, J. R. **Prevention of Elevation in Plasma Triacylglycerol with High-Dose Bezafibrate Treatment Abolishes Insulin Resistance and Attenuates Glucose Intolerance Induced by Short-Term Treatment with Dexamethasone in Rats.** *International journal of endocrinology*, p.1-12, 2018.

JATWA, RAMESHWAR; KAR, ANAND. **Amelioration of metformin- induced hypothyroidism by Withania somnifera and Bauhinia purpurea extracts in type 2 diabetic mice.** *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, v. 23, n. 8, p. 1140-1145, 2009.

- JENSEN, D. H.; AABOE, K.; HENRIKSEN, J. E.; VOLUND, A.; HOLST, J. J.; MADSBAD, S.; KRARUP, T. **Steroid-induced insulin resistance and impaired glucose tolerance are both associated with a progressive decline of incretin effect in first-degree relatives of patients with type 2 diabetes.** *Diabetologia*, v.55, n.5, p.1406–1416, 2012.
- JOHNS, E. C., DENISON, F. C., NORMAN, J. E., REYNOLDS, R. M. **Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications.** *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 29(11), 743-754.2018.
- JUNIOR, D. B. F.; QUEIROZ, J. H.; PIZZIOLO, V. R.; OLIVEIRA, T. T.; MATTA, S. L. P. **Avaliação Dos Níveis Séricos De Glicose E Insulina No Uso De Alendronato De Sódio E Atorvastatina Cálcica Na Osteoporose Induzida Com Dexametasona.** *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais - Animais e Humanos*, v. 9, n. 1, p. 21–28, 2018.
- KADMIEL, MAHITA; CIDLOWSKI, JOHN A. **Glucocorticoid receptor signaling in health and disease.** *Trends in pharmacological sciences*, v. 34, n. 9, p. 518-530, 2013.
- KARAMANOY, M.;POULAKOU-REBELAKO. **Milestones in the history of diabetes mellitus: the main contributors.** *World J Diabetes*, v. 10, n. 7, p. 1, 2016.
- KATSAROU, ANASTASIA *et al.* **Type 1 diabetes mellitus.** *Nature reviews Disease primers*, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2017.
- KATSUYAMA, H.; SAKO, A.; ADACHI, H.; HAMASAKI, H.; YANAI, H. **Effects of 6-month sitagliptin treatment on metabolic parameters in diabetic patients taking oral glucocorticoids: a retrospective cohort study.** *Journal of clinical medicine research*, v.7, n.6, p.479–484, 2015.
- KATSAROU, A., GUDBJÖRNSDOTTIR, S., RAWSHANI, A. *et al.* **Diabetes mellitus tipo 1.** *Nature reviews Disease primers*, v. 3, n. 1, pág. 1-17, 2017.
- KAWAMURA, M.; HEINECKE, J. W.; CHAIT, A. **Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway.** *The Journal of clinical investigation*, v.94, n.2, p.771–778, 1994.
- KAWASHITA, N. H.; BAVIEIRA, A. M. **Evaluation of Medicinal Plants Used to Diabetes Treatment. In: J.N. Govil; V.K. Singh (Org.). Recent Progress in Medicinal Plants - "Drug Plants III".** Houston: Studium Press LLC. v. 29, p. 115-159, 2010.
- KEBEDE, MELKAM A. *et al.* **SORCS1 is necessary for normal insulin secretory granule biogenesis in metabolically stressed β cells.** *The Journal of clinical investigation*, v. 124, n. 10, p. 4240-4256, 2014.
- KIM AD, ZHANG R, AH KANG K, JIN YOU H, WON HYUN J. **Increased glutathione synthesis following Nrf2 activation by vanadyl sulfate in human Chang liver cells.** *International journal of molecular sciences*. v. 12, n. 12, p. 8878-8894, 2011., 2011.

KIM, JS *et al.* **Influência da gordura hepática elevada nas adipocitocinas circulantes e resistência à insulina em adolescentes obesos com H hispânicos.** *Obesidade pediátrica*, v. 7, n. 2, pág. 158-164, 2012.

KESAVADEV, J.; SABOO, B.; SADIKOT, S.; DAS, A. K.; JOSHI, S.; CHAWLA, R.; THACKER, H.; SHANKAR, A.; RAMACHANDRAN, L.; KALRA, S. **Unproven Therapies for Diabetes and Their Implications.** *Advances in therapy*, v.34, n.1, p.60–77, 2017.

KHANDELWAL, RAMJI L.; PUGAZHENTHI, SUBBIAH. **Efeitos in vivo do vanadato na metabolização do glicogênio hepático e nas enzimas lipogênicas em animais diabéticos insulino-dependentes e resistentes à insulina.** In: **Compostos de Vanádio: Aplicações Bioquímicas e Terapêuticas**. Springer, Boston, MA, 1995. p. 87-94.

KHODABANDEHLOO, H.; GORGANI-FIRUZJAEI, S.; PANAHI, G.; MESHKANI, R. **Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction.** *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*, v.167, n.1, p.228–256, 2016.

KHAZAI, NATASHA B.; HAMDY, OSAMA. **Inpatient diabetes management in the twenty-first century.** *Endocrinology and Metabolism Clinics*, v. 45, n. 4, p. 875-894, 2016.

KIANBAKHT, S.; DABAGHIAN, F. H. **Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: a randomized placebo.** *Controlled clinical trial. Complementary therapies in medicine*, v.21, n.5, p.441–446, 2013.

KLEINBERGER, J. W.; POLLIN, T. I.; MEDICINE, G. **Personalized medicine in diabetes mellitus: current opportunities and future prospects.** *Ann N Y Acad Sci*, v. 1346, n. 1, p. 45–56, 2016.

KOWALSKI, G. M.; KLOEHN, J.; BURCH, M. L.; SELATHURAI, A.; HAMLEY, S.; BAYOL, S. A. M.; LAMON, S.; WATT, M. J.; LEE-YOUNG, R. S.; CONVILLE, M. J. M.; BRUCE, C. R. **Overexpression of sphingosine kinase 1 in liver reduces triglyceride content in mice fed a low but not high-fat diet.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, v.1851, n.2, p.210-219, 2015.

KUHN, RICHARD; WEYGAND, FRIEDRICH. **DIE Amadori- Umlagerung.** *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, v. 70, n. 4, p. 769-772, 1937.

KURT, OZLEM *et al.* **Influence of vanadium supplementation on oxidative stress factors in the muscle of STZ-diabetic rats.** *Biometals*, v. 24, n. 5, p. 943, 2011.

KUO, T.; MCQUEEN, A.; CHEN, T. C.; WANG, J. C. **Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids.** *Advances in experimental medicine and biology*, v.872, p.99–126, 2015.

LANDAR A, ZMIJEWSKI JW, DICKINSON DA, LE GOFFE C, JOHNSON MS, MILNE GL, *ET AL.* **Interaction of electrophilic lipid oxidation products with mitochondria in endothelial cells and formation of reactive oxygen species.** *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 290, n. 5, p. H1777-H1787, 2006.

LANKATILLAKE, C.; HUYNH, T.; DIAS, D.A. **Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants.** *Plant Methods*, v.15, n.1, p.1-35, 2019.

LEBOVITZ, H. E. **Insulin resistance definition and facts.** *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, v. 109, p. 135–148, 2001.

LEBOVITZ, H. E. **Adjunct therapy for type 1 diabetes mellitus.** *Nature Reviews Endocrinology*, v. 6, n. 6, p. 326–334, 2010.

LEE, JONGSOON; PILCH, PAUL F. **The insulin receptor: structure, function, and signaling.** *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 266, n. 2, p. C319-C334, 1994.

LE MOAL, E., PIALOUX, V., JUBAN, G., GROUSSARD, C., ZOUHAL, H., CHAZAUD, B., & MOUNIER, R. **Redox control of skeletal muscle regeneration.** *Antioxidants & redox signaling*, v. 27, n. 5, p. 276-310, 2017.

LEE, SUNG RYUL *et al.* **Efeito não genômico dos glicocorticóides no sistema cardiovascular.** *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, v. 464, n. 6, pág. 549-559, 2012.

LEEDER, STEPHEN R. **The history of insulin: the mystery of diabetes.** *The Medical journal of Australia*, v. 199, n. 4, p. 227, 2013.

LINSSEN, M. M.; VAN RAALTE, D. H.; TOONEN, E. J.; ALKEMA, W.; VAN DER ZON, G. C.; DOKTER, W. H.; DIAMANT, M.; GUIGAS, B.; OUWENS, D. M. **Prednisolone-induced beta cell dysfunction is associated with impaired endoplasmic reticulum homeostasis in INS-1E cells.** *Cellular signalling*, v.23, n.11, p.1708–1715, 2011.

LIRA, E. C.; SILVA, C. O.; MARTINS, R. D. **Diabetes mellitus tipo 2: qual o papel da insulina na expressão de NF-KappaB, PPAR γ e CD36?.** *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, [S.l.], v.26, n.3, p.172-178, 2014.

LONGUI, C. A. **Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais.** *Jornal de Pediatria*, v.83, n.5, Porto Alegre, 2007.

LUAN, GUANGXIANG *et al.* **Dexamethasone-induced mitochondrial dysfunction and insulin resistance-study in 3T3-L1 adipocytes and mitochondria isolated from mouse liver.** *Molecules*, v. 24, n. 10, p. 1982, 2019.

LU B, GU P, XU Y, YE X, WANG Y, DU H, *ET AL.* **Overexpression of protein tyrosine phosphatase 1B impairs glucose-stimulated insulin secretion in INS-1 cells.** *Minerva Endocrinol.* 2016.

MAAHS, DAVID M. *ET AL.* **Epidemiology of type 1 diabetes.** *Endocrinology and Metabolism Clinics*, v. 39, n. 3, p. 481-497, 2010.

- MBATHA, B., KHATHI, A., SIBIYA, N., BOOYSEN, I., MANGUNDU, P., & NGUBANE, P. **Efeitos cardio-protetores de um complexo de dioxidovanádio (V) em ratos machos Sprague-Dawley com diabetes induzido por estreptozotocina.** *BioMetals*, v. 34, n. 1, pág. 161-173, 2021.
- MACK, LYNN R.; TOMICH, PAUL G. **Gestational diabetes: diagnosis, classification, and clinical care.** *Obstetrics and Gynecology Clinics*, v. 44, n. 2, p. 207-217, 2017.
- MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B. **Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review.** *Journal of biochemical and molecular toxicology*, v.17, n.1, p.24–38, 2003.
- MARTÍNEZ, B. B.; PEREIRA, A. C.; MUZETTI, J. H.; TELLES, F. P.; MUNDIM, F. G.; TEIXEIRA, M. A. **Experimental model of glucocorticoid-induced insulin resistance.** *Acta cirurgica brasileira*, v.31, n.10, p.645–649, 2016.
- MATHEUS, A. S. M.; TANNUS, L. R. M.; COBAS, R. A.; PALMA, C. C.; NEGRATO, C. A.; GOMES, M. B. **Impact of diabetes on cardiovascular disease: an update.** *International journal of hypertension*, v.15, p.1-15,2013.
- MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. **Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.** *Diabetologia*, v.28, n.7, p.412–419, 1985.
- MAYER-DAVIS, E. J.; DABELEA, D.; LAWRENCE, J. M. **Incidence Trends of Type 1 and Type 2 Diabetes among Youths, 2002-2012.** *The New England journal of medicine*, v. 376, n. 15, p. 1419-1429, 2017.
- MCDONALD, A., FOGARTY, S., LECLERC, I., HILL, E. V., HARDIE, D. G., & RUTTER, G. A. **Control of insulin granule dynamics by AMPK dependent KLC1 phosphorylation.** *Islets*, v. 1, n. 3, p. 198-209, 2009.
- MEHDI, MOHAMAD Z. *et al.* **A insulina sinaliza mimetismo como um mecanismo para os efeitos semelhantes à insulina do vanádio.** *Cell biochemistry and biophysics*, v. 44, n. 1, pág. 73-81, 2006.
- MERSMANN, HARRY J.; SEGAL, HAROLD L. **Glucocorticoid control of the liver glycogen synthetase-activating system.** *Journal of Biological Chemistry*, v. 244, n. 7, p. 1701-1704, 1969.
- MO, Z.; LI, L.; YU, H.; WU, Y.; LI, H. **Coumarins ameliorate diabetogenic action of dexamethasone via Akt activation and AMPK signaling in skeletal muscle.** *Journal of pharmacological sciences*, v.139, n.3, p.151–157, 2019.
- MOHAMED, A. K.; BIERHAUS, A.; SCHIEKOFER, S.; TRITSCHLER, H.; ZIEGLER, R.; NAWROTH, P. P. **The role of oxidative stress and NF-kappaB activation in late diabetic complications.** *BioFactors (Oxford, England)*, v.10, n.2-3, p.157–167, 1999.

MUOIO, D. M.; NEWGARD, C. B. **Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes.** Nature reviews. Molecular cell biology, v.9, n.3, p.193–205, 2008.

NAM, SOOHYUN *ET AL.* **Barriers to diabetes management: patient and provider factors.** Diabetes research and clinical practice, v. 93, n. 1, p. 1-9, 2011.

NEWSHOLME, PHILIP *et al.* **Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes.** Biochemical Journal, v. 473, n. 24, p. 4527-4550, 2016.

NUNES, G. G.; FRIEDERMANN, G. R.; SANTOS, J. L. B.; HERBST, M. H.; VUGMAN, N. V.; HITCHCOCK, P. B.; LEIGH, G. J.; SÁ, E. L.; CUNHA, C. J.; SOARES, J. F. **The first thermochromic vanadium (IV) alkoxide system.** Inorganic Chemistry Communications, v. 6, n. 1, p. 83-88, 2005.

OHASHI, NARO *et al.* **A alogliptina melhora a hiperglicemia induzida por esteróides em pacientes japoneses sem tratamento com doença renal crônica pela diminuição dos níveis plasmáticos de glucagon.** Monitor de ciências médicas: revista médica internacional de pesquisas experimentais e clínicas, v. 20, p. 587, 2014.

OLIVEIRA, C. C. G.; MELO, S. B. F.; PAIVA, I. P.; WANDERLEY, A. M. P. S. **Diabetes Gestacional Revisitada: Aspectos Bioquímicos E Fisiopatológicos.** Revista Humano Ser, v. 1, n. 1, p. 60–73, 2015.

OLIVEIRA, J. E. P. DE; JÚNIOR, R. M. M.; VENCIO, S. **Diretrizes 2017-2018.**

ORAY, M., ABU SAMRA, K., EBRAHIMIADIB, N., MEESE, H., & FOSTER, C. S. **Long-term side effects of glucocorticoids.** Expert opinion on drug safety, v. 15, n. 4, p. 457-465, 2016.

PANDEY, JYOTSANA *ET AL.* **Murraya koenigii (L.) Spreng. melhora a resistência à insulina em camundongos tratados com dexametasona, aumentando a sensibilidade periférica à insulina.** Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura, v. 94, n. 11, p. 2282-2288, 2014.

PAREDES, S.; ALVES, M. **Abordagem e tratamento da hiperglicemia induzida por glicocorticóides.** Acta Medica Portuguesa, v. 29, n. 9, p. 556–563, 2016.

PEARSON E. R. **Type 2 diabetes: a multifaceted disease.** Diabetologia, v.62, n.7, p.1107–1112, 2019.

PARK SJ, YOUNG C, HYUN JW, YOU HJ. **O efeito anti-obesidade da água subterrânea de Jeju contendo vanádio natural.** Biol Trace Elem Res 151: 294–300, 2013.

PISOSCHI, AURELIA MAGDALENA; POP, ANET. **The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review.** European journal of medicinal chemistry, v. 97, p. 55-74, 2015.

PEREIRA, A. F. DE A. **RELAÇÃO ENTRE O HORMÔNIO CORTISOL E A SÍNDROME METABÓLICA.** XVII SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica,

UNIFACS, 2018., n. 1, p. 90, 2018.

PEREIRA, MARIA JOÃO *et al.* **Effects of decavanadate and insulin enhancing vanadium compounds on glucose uptake in isolated rat adipocytes.** Journal of inorganic biochemistry, v. 103, n. 12, p. 1687-1692, 2009.

PESSOA, J. C.; GARRIBBA, E.; SANTOS, M. F. A.; SILVA, T. S. **Vanadium and proteins: Uptake, transport, structure, activity and function.** Coordination Chemistry Reviews, v. 301–302, p. 49-86, 2015.

PETERS, KEVIN G. *et al.* **Mechanism of insulin sensitization by BMOV (bis maltolato oxo vanadium); unliganded vanadium (VO₄) as the active component.** Journal of inorganic biochemistry, v. 96, n. 2-3, p. 321-330, 2003.

PETERSEN, MAX C.; SHULMAN, GERALD I. **Mechanisms of insulin action and insulin resistance.** Physiological reviews, v. 98, n. 4, p. 2133-2223, 2018.

PERALDI, PASCAL; SPIEGELMAN, BRUCE. **TNF- α and insulin resistance: summary and future prospects.** Molecular and cellular biochemistry, v. 182, n. 1-2, p. 169-175, 1998.

PIPERI, C., ADAMOPOULOS, C., DALAGIORGOU, G., DIAMANTI-KANDARAKIS, E., & PAPA VASSILIOU, A. G. **Crosstalk between advanced glycation and endoplasmic reticulum stress: emerging therapeutic targeting for metabolic diseases.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 97, n. 7, p. 2231-2242, 2012.

PHANSE MA, PATIL MJ, ABBULU K. **Synthesis, characterization and evaluation of the suppression of insulin resistance in Type-II diabetes mellitus animals by treatment with metal complex.** Saudi J Biol Sci. May;23(3):420-5. 2016.

PIVONELLO, R.; DE LEO, M.; VITALE, P.; COZZOLINO, A.; SIMEOLI, C.; DE MARTINO, M. C.; LOMBARDI, G.; COLAO, A. **Pathophysiology of diabetes mellitus in Cushing's syndrome.** Neuroendocrinology, v.92, S. 1, p.77–81, 2010.

PLOWS, JASMINE F. *ET AL.* **The pathophysiology of gestational diabetes mellitus.** International journal of molecular sciences, v. 19, n. 11, p. 3342, 2018.

PROTZEK, A. O., REZENDE, L. F., COSTA-JÚNIOR, J. M., FERREIRA, S. M., CAPPELLI, A. P., DE PAULA, F. M., DE SOUZA, J. C., KURAUTI, M. A., CARNEIRO, E. M., RAFACHO, A., & BOSCHERO, A. C. **Hyperinsulinemia caused by dexamethasone treatment is associated with reduced insulin clearance and lower hepatic activity of insulin-degrading enzyme.** The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, v.155(Pt A), p. 1–8, 2016.

PROTZEK, A. O.; COSTA-JÚNIOR, J. M.; REZENDE, L. F.; SANTOS, G. J.; ARAÚJO, T. G.; VETTORAZZI, J. F.; ORTIS, F.; CARNEIRO, E. M.; RAFACHO, A.; BOSCHERO, A. C. **Augmented β -Cell Function and Mass in Glucocorticoid-Treated Rodents Are Associated with Increased Islet Ir- β /AKT/mTOR and Decreased AMPK/ACC and AS160 Signaling.** International journal of endocrinology, ID: 983453, 2014.

- RADAELLI,T.;VARASTEHPOUR,A.;CATALANO,P.;HAUGUELDE MOUZON,S.**Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways.** Diabetes, v. 52, n. 12, p. 2951-2958, 2003.
- RAFACHO, ALEX *et al.* **Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function: implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes.** 2017.
- RAFACHO A., ORTSÄTER H., NADAL A., QUESADA I. **Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function: Implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes.** J. Endocrinol, 2014.
- RAFACHO, A. *et al.* **Morphofunctional alterations in endocrine pancreas of short-and long-term dexamethasone-treated rats.** Hormone and Metabolic Research, 2011.
- RAMAMOORTHY, SIVAPRIYA; CIDLOWSKI, JOHN A.**Corticosteroids: mechanisms of action in health and disease.** Rheumatic Disease Clinics, v. 42, n. 1, p. 15-31, 2016.
- RAINS, J. L.; JAIN, S. K. **Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes.** Free radical biology & medicine, v. 50, n.5, p.567–575, 2011.
- RAJAEI E, JALALI MT, SHAHRABI S, ASNAFI AA, PEZESHKI SMS. **HLAs in Autoimmune Diseases: Dependable Diagnostic Biomarkers?.** Current rheumatology reviews, v. 15, n. 4, p. 269-276, 2019.
- RAMAMOORTHY, S.; CIDLOWSKI, J. A. **Exploring the molecular mechanisms of glucocorticoid receptor action from sensitivity to resistance.** Endocrine Development, v. 24, p. 41- 56, 2013.
- RAMÍREZ-DOMÍNGUEZ, MIRIAM.**Historical background of pancreatic islet isolation.** In: Pancreatic Islet Isolation. Springer, Cham. 2016.
- RANGEL, M., TAMURA, A., FUKUSHIMA, C., & SAKURAI, H.**In vitro study of the insulin-like action of vanadyl-pyrone and -pyridinone complexes with a VO(O4) coordination mode.** Journal of Biological Inorganic Chemistry. v. 6, n. 2, p. 128-132, 2001.
- RANI, V.; DEEP, G.; SINGH, R. K.; PALLE, K.; YADAV, U. C. **Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies.** Life sciences, v.148, p.183–193, 2016.
- REAVEN, G. M. **Relationships Among Insulin Resistance, Type 2 Diabetes, Essential Hypertension, and Cardiovascular Disease: Similarities and Differences.** Journal of Clinical Hypertension, v. 13, n. 4, p. 238–243, 2011.
- REHDER, Dieter. **The potentiality of vanadium in medicinal applications.** Inorganica Chimica Acta, v. 504, p. 119445, 2020.
- REYNOLDS, REBECCA M. *et al.* **Glucocorticoid treatment and impaired mood, memory and metabolism in people with diabetes: the Edinburgh Type 2 Diabetes Study.** European journal of endocrinology, v. 166, n. 5, p. 861, 2012.

REHMAN, KANWAL; AKASH, MUHAMMAD SAJID HAMID. **Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked?.** Journal of biomedical science, v. 23, n. 1, p. 87, 2016.

ROCHE, MARJOLAINE *et al.* **The antioxidant properties of serum albumin.** FEBS letters, v. 582, n. 13, p. 1783-1787, 2008.

ROMA, L. P., OLIVEIRA, C. A., CARNEIRO, E. M., ALBUQUERQUE, G. G., BOSCHERO, A. C., & SOUZA, K. L. **N-acetylcysteine protects pancreatic islet against glucocorticoid toxicity.** Redox Report, v. 16, n. 4, p. 173-180, 2011.

ROSE AJ, HERZIG S. **Metabolic control through glucocorticoid hormones: an update.** Mol Cell Endocrinol.380: 65–78.2013.

RUI, L. **Energy Metabolism in the Liver.** Comr Physiol. 4(1): 177-197. 2014.

RUZZIN, J.; WAGMAN, A. S.; JENSEN, J. **Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signaling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor.** Diabetologia, v. 48, n. 10, p. 2119-2130, 2005.

SAAD, M. J.; FOLLI, F.; KAHN, J. A.; KAHN, C. R. **Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats.** The Journal of clinical investigation, v.92, n.4, p.2065–2072, 1993.

SAIGI ULLASTRE, I.; PEREZ PEREZ, A. **Hiperglucemia inducida por glucocorticoides.** Seminarios de la Fundacion Espanola de Reumatologia, v. 12, n. 3, p. 83–90, 2011.

SAMADDER, A.; CHAKRABORTY, D.; DE, A.; BHATTACHARYYA, S. S.; BHADRA, K.; KHUDA-BUKHSH, A. R. **Possible signaling cascades involved in attenuation of alloxan-induced oxidative stress and hyperglycemia in mice by ethanolic extract of Syzygium jambolanum: drug-DNA interaction with calf thymus DNA as target.** European journal of pharmaceutical science: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, v.44, n.3, p.207–217, 2011.

SAMARASINGHE, RANMAL A.; WITCHELL, SELMA F.; DEFRANCO, DONALD B. **Cooperatividade e complementaridade: sinergias na sinalização de glicocorticóides não clássica e clássica.** Cell Cycle , v. 11, n. 15, pág. 2819-2827, 2012.

SAMOCHA-BONET, D.; HEILBRONN, L. K.; LICHTENBERG, D.; CAMPBELL, L. V. **Does skeletal muscle oxidative stress initiate insulin resistance in genetically predisposed individuals?.** Trends in endocrinology and metabolism: TEM, v.21, n.2, p.83–88, 2010.

SAMUEL, VARMAN T.; SHULMAN, GERALD I. **Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links.** Cell, v. 148, n. 5, p. 852-871, 2012.

SAPRA A, BHANDARI P. **Diabetes Mellitus.** Em: StatPearls. Ilha do Tesouro (FL): StatPearls Publishing; 2020.

SCIBIOR, AGNIESZKA *et al.* **Vanádio: Riscos e possíveis benefícios à luz de uma visão abrangente de seus mecanismos farmacotoxicológicos e múltiplas aplicações com um resumo das tendências de pesquisas futuras.** *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, p. 126508, 2020.

SHAH, SYED ZUBAIR HUSSAIN; NAVEED, ABDUL KHALIQ; RASHID, AMIR. **Effects of oral vanadium on glycaemic and lipid profile in rats.** *J Pak Med Assoc*, v. 66, n. 12, p. 1592-1596, 2016.

SHAW, J. E. **Pré-diabetes: estilo de vida, farmacoterapia ou regulação?** *Avanços terapêuticos em Endocrinologia e metabolismo*, v. 10, 2019.

SIES, HELMUT; JONES, DEAN P. **Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 21, n. 7, p. 363-383, 2020.

SINGH, R.; KAUR, N.; KISHORE, L.; GUPTA, G. K. **Management of diabetic complications: A chemical constituents based approach.** *Journal of ethnopharmacology*, v.150, n.1, p.51–70, 2013.

SIONOV RV, COHEN O, KFIR S, ZILBERMAN Y, YEFENOF E. SIONOV, RONIT VOGT *ET AL.* **Role of mitochondrial glucocorticoid receptor in glucocorticoid-induced apoptosis.** *The Journal of experimental medicine*, v. 203, n. 1, p. 189-201, 2006.

SMITH II, T. S.; LoBRUTTO, R.; PECORARO, V. L. **Paramagnetic spectroscopy of vanadyl complexes and its applications to biological systems.** *Coordination Chemistry Reviews*, v. 228, p. 1-18, 2002.

SPENCER, NETANYA Y.; ENGELHARDT, JOHN F. **The basic biology of redoxosomes in cytokine-mediated signal transduction and implications for disease-specific therapies.** *Biochemistry*, v. 53, n. 10, p. 1551-1564, 2014.

SOHN, JEE HYUNG *et al.* **Effects of three thiazolidinediones on metabolic regulation and cold-induced thermogenesis.** *Molecules and cells*, v. 41, n. 10, p. 900, 2018.

SOJIN LEE AND H. HENRY DONG FOX. **O integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism** .*J Endocrinol.* May.2017.

S. K. PANDEY, M. B. ANAND-SRIVASTAVA, AND A. K. SRIVASTAVA. **Vanadyl sulfate-stimulated glycogen synthesis is associated with activation of phosphatidylinositol 3 kinase and is independent of insulin receptor tyrosine phosphorylation.** *Biochemistry*, vol. 37, no. 19, pp. 7006–7014, 1998.

STAHN, CINDY; BUTTGEREIT, FRANK. **Genomic and nongenomic effects of glucocorticoids.** *Nature clinical practice Rheumatology*, v. 4, n. 10, p. 525-533, 2008.

SOVEID, MAHMOOD; DEHGHANI, GHOLAM ABBAS; OMRANI, GHOLAMHOSSEIN RANJBAR. **Eficácia a longo prazo e segurança do vanádio no tratamento da diabetes tipo 1.** *Arquivos da medicina iraniana*, v. 16, n. 7, pág. 0-0, 2013.

TANIGUCHI, CULLEN M.; EMANUELLI, BRICE; KAHN, C. RONALD. **Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action.** Nature reviews Molecular cell biology, v. 7, n. 2, p. 85-96, 2006.

TANGVARASITTICHAJ, S. **Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus.** World Journal of Diabetes, v. 6, n. 3, p. 456, 2015.

TASKINEN, MARJA-RIITTA; BOREN, JAN. **New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes.** Atherosclerosis, v. 239, n. 2, p. 483-495, 2015.

TAVONI, THAUANY M. *et al.* **Evaluation of liver glycogen catabolism during hypercortisolism induced by the administration of dexamethasone in rats.** Pharmacological Reports, v. 65, n. 1, p. 144-151, 2013.

THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. **Vanadium in diabetes: 100 years from Phase 0 to Phase I.** Journal of Inorganic Biochemistry, v. 100, n. 12, p. 1925-1935, 2006.

TIWARI, B. K., PANDEY, K. B., ABIDI, A. B., & RIZVI, S. I. **Markers of oxidative stress during diabetes mellitus.** Journal of biomarkers, v. 2013, 2013.

TITCHENELL, PAUL M.; LAZAR, MITCHELL A.; BIRNBAUM, MORRIS J. **Unraveling the regulation of hepatic metabolism by insulin.** Trends in Endocrinology & Metabolism, v. 28, n. 7, p. 497-505, 2017.

TRIPATHI, DEEPIKA; MANI, VEENA; PAL, RAVI PRAKASH. **Vanadium in biosphere and its role in biological processes.** Biological trace element research, v. 186, n. 1, p. 52-67, 2018.

TREVIÑO, SAMUEL *et al.* **Vanadium in biological action: chemical, pharmacological aspects, and metabolic implications in diabetes mellitus.** Biological trace element research, v. 188, n. 1, p. 68-98, 2019.

TREVIÑO, S., DÍAZ, A., SÁNCHEZ-LARA, E., SARMIENTO-ORTEGA, V. E., FLORES-HERNÁNDEZ, J. Á., BRAMBILA, E., GONZÁLEZ-VERGARA, E. **Pharmacological and toxicological threshold of bisammonium tetrakis 4-(N, N-Dimethylamino) pyridinium decavanadate in a rat model of metabolic syndrome and insulin resistance.** Bioinorganic chemistry and applications, v. 2018, 2018.

TREVIÑO, S., VELÁZQUEZ-VÁZQUEZ, D., SÁNCHEZ-LARA, E., DIAZ-FONSECA, A., FLORES-HERNANDEZ, J. Á., PÉREZ-BENÍTEZ, A., GONZÁLEZ-VERGARA, E. **Decavanadato de metformínio como um potencial metalofármaco para o tratamento do diabetes mellitus.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2016, 2016.

TOKARZ, VICTORIA L.; MACDONALD, PATRICK E.; KLIP, AMIRA. **A biologia celular da função sistêmica da insulina.** Journal of Cell Biology, v. 217, n. 7, pág. 2273-2289, 2018.

TREVIÑO, S.; DÍAZ, A.; SÁNCHEZ-LARA, E.; SANCHEZ-GAYTAN, B. L.; PEREZ-AGUILAR, J. M.; GONZÁLEZ-VERGARA, E. **Vanadium in Biological Action: Chemical,**

Pharmacological Aspects, and Metabolic Implications in Diabetes Mellitus. Biological trace element research, v.188, n.1, p.68–98, 2019.

TURNER N, KOWALSKI GM, LESLIE SJ, RISIS S, YANG C, LEE-YOUNG RS, *ET AL.* **Distinct patterns of tissue-specific lipid accumulation during the induction of insulin resistance in mice by high-fat feeding.** Diabetologia, v. 56, n. 7, p. 1638-1648, 2013.

UNUOFIN, JEREMIAH OSHIOMAME; LEBELO, SOGOLO LUCKY. **Efeitos antioxidantes e mecanismos das plantas medicinais e seus compostos bioativos para a prevenção e tratamento do diabetes tipo 2: uma revisão atualizada.** Medicina oxidativa e longevidade celular , v. 2020, 2020.

VAN RAALTE, D. H.; DIAMANT, M.; OUWENS, D. M.; IJZERMAN, R. G.; LINSSEN, M. M.; GUIGAS, B.; ERINGA, E. C.; SERNÉ, E. H. **Glucocorticoid treatment impairs microvascular function in healthy men in association with its adverse effects on glucose metabolism and blood pressure: a randomised controlled trial.** Diabetologia, v.56, n.11, p.2383–2391, 2013.

VAN RAALTE, DANIËL H. *et al.* **A exposição aguda e de 2 semanas à prednisolona prejudica diferentes aspectos da função das células β em homens saudáveis.** Jornal europeu de endocrinologia , v. 162, n. 4, pág. 729-735, 2010.

VAN RAALTE, DH; OUWENS, DM; DIAMANT, M. **Novos insights sobre os efeitos diabetogênicos mediados por glicocorticóides: em direção à expansão das opções terapêuticas ?.** Jornal europeu de investigação clínica , v. 39, n. 2, pág. 81-93, 2009.

VARMAN T. SAMUEL; GERALD I. SHULMAN¹. **Integrating Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links.** Cell. March 2; 148(5): 852–871. 2012.

VEHIK, KENDRA; DABELEA, DANA. **The changing epidemiology of type 1 diabetes: why is it going through the roof?.** Diabetes/metabolism research and reviews, v. 27, n. 1, p. 3-13, 2011.

VITELLIUS, G.; TRABADO, S.; BOULIGAND, J.; DELEMER, B.; LOMBÈS, M. **Pathophysiology of Glucocorticoid Signaling.** Annales d'endocrinologie, v.79, n.3, p.98–106, 2018.

WALKER, B. R. **Cortisol-cause and cure for metabolic syndrome?.** Diabetic medicine, v.23, n.12, p. 1281–1288, 2006.

WARS, S. W. **Type 2 Diabetes: The Pathologic Basis of Reversible β -Cell Dysfunction.** v. 39, p. 2080–2088, 2016.

WEINSTEIN, R. S. **Glucocorticoid-induced osteonecrosis.** Endocrine, v.41, n.2, p.183–190, 2012.

WIEDERMANN CJ. **Atividade antiinflamatória da albumina.** Crit Care Med. Março de 2007.doi: 10.1097 / 01.ccm.0000257234.87784.91.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. **Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030.** *Diabetes care*, v.27, n.5, p.1047–1053, 2004.

WILLIAMS, M.A.; QIU, C.; MUY-RIVERA, M.; VADACHKORIA, S.; SONG, T.; LUTHY, D.A. **Plasma adiponectin concentrations in early pregnancy and subsequent risk of gestational diabetes mellitus.** *J. Clin. Endocrinol. MeTable* 2004.

WIŃSKA, K., MAĆZKA, W., GABRYELSKA, K., GRABARCZYK, M. **Mushrooms of the genus Ganoderma used to treat diabetes and insulin resistance.** *Molecules*, v. 24, n. 22, p. 4075, 2019.

WOODS CP, HAZLEHURST JM, TOMLINSON JW. **Glucocorticoids and non-alcoholic fatty liver disease.** *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.07.020

XIE, M.; CHEN, D.; ZHANG, F.; WILLSKY, G. R.; CRANS, D. C.; DING, W. **Effects of vanadium (III, IV, V)-chlorodipicolinate on glycolysis and antioxidant status in the liver of STZ-induced diabetic rats.** *Journal of inorganic biochemistry*, v.136, p.47–56, 2014.

XU H, BARNES GT, YANG Q, TAN G, YANG D, CHOU CJ, *ET AL.* **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance.** *The Journal of Clinical Investigation* . Volume 112.December. 2003.

YANG, PIJIAN *ET AL.* **Liraglutide ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in diabetic mice via the IRS2/PI3K/Akt signaling pathway.** *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, v. 12, p. 1013, 2019

YAMAGISHI, S. I.; NAKAMURA, N.; MATSUI, T. **Glycation and cardiovascular disease in diabetes: A perspective on the concept of metabolic memory.** *Journal of Diabetes*, v. 9, n. 2, p. 141–148, 2017.

YARIBEYGI, H., SATHYAPALAN, T., ATKIN, S. L., & SAHEBKAR. A. **Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus.** *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2020, 2020.

YARIBEYGI, H.; ATKIN, S. L.; SAHEBKAR, A. **A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia - induced free radical generation leading to oxidative stress.** *Journal of cellular physiology*, v.234, n.2, p.1300–1312, 2019.

YARIBEYGI, HABIB; ATKIN, STEPHEN L.; SAHEBKAR, AMIRHOSSEIN. **Mitochondrial dysfunction in diabetes and the regulatory roles of antidiabetic agents on the mitochondrial function.** *Journal of cellular physiology*, v. 234, n. 6, p. 8402-8410, 2019.

YARIBEYGI, H.; FARROKHI, F. R.; BUTLER, A. E.; SAHEBKAR, A. **Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms.** *Journal of cellular physiology*, v.234, n.6, p.8152–8161, 2018.

YARIBEYGI, HABIB; MOHAMMADI, MOHAMMAD TAGHI; SAHEBKAR, AMIRHOSSEIN. **O agonista PPAR- α melhora o estresse oxidativo induzido pela hiperglicemia nas células pancreáticas, potencializando o sistema de defesa antioxidante.** *Pesquisa de drogas*, v. 68, n. 06, p. 355-360, 2018.

YEYI ZHU; CUILIN ZHANG; CAROLINE SPAIGHT; JUSTINE GROSS; ANTJE HORSCH; JARDENA JACQUELINE PUDER. **Gestational Diabetes Mellitus.** *Endocr Dev.* Basel, Karger .vol 31.2016.

YIE, L.; XU, J.; GUO, Y.; XUE, Y.; WANG.; CHANGHU.; JINGFENG, XUE. **Ameliorative effect of vanadyl(IV)-ascorbate complex on high-fat high-sucrose diet-induced hyperglycemia, insulin resistance, and oxidative stress in mice.** *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 32, p. 155–161, 2015.

YILMAZ-OZDEN T, SIRIN OK, TUNALI S, AKEV N, CAN A, YANARDAG R. **Ameliorative effect of vanadium on oxidative stress in stomach tissue of diabetic rats.** *Bosn J Basic Med Sci* 14(2): 105–109, 2014.

YOUNG, I. S.; TATE, S.; LIGHTBODY, J. H.; MCMASTER, D.; TRIMBLE, E. R. **The effects of desferrioxamine and ascorbate on oxidative stress in the streptozotocin diabetic rat.** *Free radical biology & medicine*, p.18, n.5, p.833–840, 1995.

YUZEFVYCH, L.; WILSON, G.; RACHEK, L. **Different effects of oleate vs. palmitate on mitochondrial function, apoptosis, and insulin signaling in L6 skeletal muscle cells: Role of oxidative stress.** *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, v.299, n.6, 2010.

ZICK, YEHIEL. **Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insulin resistance.** *Sci. STKE*, v. 2005, n. 268, p. pe4-pe4, 2005.

ZHANG, YANG *et al.* **Influence of vanadium on serum lipid and lipoprotein profiles: a population-based study among vanadium exposed workers.** *Lipids in health and disease*, v. 13, n. 1, p. 1-6, 2014.

ZHENG, XF *et al.* **Efeitos bifásicos da dexametasona no metabolismo do glicogênio em hepatócitos de rato de cultura primária.** *Jornal de investigação endocrinológica*, v. 32, n. 9, pág. 756-758, 2009.

ZHOU, P. Z.; ZHU, Y. M.; ZOU, G. H.; SUN, Y. X.; XIU, X. L.; HUANG, X.; ZHANG, Q. H. **Relationship Between Glucocorticoids and Insulin Resistance in Healthy Individuals.** *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, v.22, p.1887–1894, 2016.

ZUO, YI - QING *et al.* **Bis (α - furancarboxilato) oxovanádio (IV) previne e melhora a resistência à insulina induzida por dexametasona em adipócitos 3T3 - L1.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 60, n. 10, pág. 1335-1340, 2008.

APÊNDICE A – MENÇÃO HONROSA NO II SIMPÓSIO NORDESTINO DE INTEGRAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS



APÊNDICE B - MENÇÃO HONROSA NO III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA



III Simpósio Internacional de Nutrição,
Atividade Física e Plasticidade Fenotípica

Certificamos que o trabalho intitulado **EFEITO DO COMPOSTO À BASE DE VANÁDIO (VO-DT) NA RESISTÊNCIA À INSULINA INDUZIDA POR DEXAMETASONA EM CAMUNDONGOS** da autoria de **Eucilene Kélita de Lima Batista, Lidiane Macedo Alves de Lima, Wagner Eduardo da Silva, Mônica Freire Belian, Dayane Aparecida Gomes, Eduardo Carvalho Lira**, recebeu **MENÇÃO HONROSA** durante o **III Simpósio Internacional de Nutrição, Atividade física e Plasticidade Fenotípica**, realizado no dia 11 Dezembro de 2020, pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco.

Prof. Dr. João Henrique Costa-Silva
Coordenador do evento



Vitória de Santo Antão, 18 de dezembro de 2020

APÊNDICE C - ARTIGO PUBLICADO EM COLABORAÇÃO

*Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Química, Av. Dom Manoel
de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife-
PE, Brasil.

*Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Fisiologia e
Farmacologia, Centro de Biociências,
CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

*E-mail: mfbelian@gmail.com;
monica.freirebelian@ufrpe.br

Recebido: 9 de Novembro de 2020

Aceito: 22 de Fevereiro de 2021

Publicado online: 23 de Abril de 2021

“Redescobrimo e Redesenhando” Estratégias para Obtenção de Complexos de Vanádio com Atividade Antidiabética

“Rediscovering and Redesigning” Strategies for Obtaining Vanadium Complexes with Antidiabetic Activity

Lidiane Macedo Alves de Lima,* Amanda Katielly Jordão Pessoa Felix da Silva,* Thayná Ferreira de Mendonça,* José Paulino da Silva,* Severino Vitor do Nascimento Moura,* Eucilene Kélita de Lima Batista,* Eduardo Carvalho Lira,* Wagner Eduardo da Silva,* Mônica Freire Belian*[✉]

In the last few years, the interest in the development of vanadium-based compounds has been increased due to therapeutic potential of *Diabetes Mellitus* (DM). This review summarizes essential topics about vanadium chemistry, classification, examples, activity timeline in animal models, mechanistic proposals, bioavailability, and pharmacokinetics. Furthermore, the principal approaches for designing new vanadium coordination compounds with antidiabetic activity has been discussed.

Keywords: Vanadium; diabetes; coordination compounds; antidiabetic.

1. Introdução

Na química bioinorgânica, os compostos de vanádio são amplamente estudados devido às suas atividades biológicas, especialmente como agentes antidiabéticos e/ou anti-hiperglicemiantes.¹ Desde o primeiro relato das atividades biológicas desses compostos há mais de 100 anos, a partir da interação entre o vanádio e proteínas, o interesse no desenvolvimento de novos candidatos à fármacos baseados neste metal tem aumentado, sobretudo quando se trata de agentes antidiabéticos.^{2,3} Na Figura 1(b) são apresentados os dados estatísticos de publicações indexadas no portal de periódicos “Web of Science” entre 2001 e 2020, utilizando como palavras-chave “vanádio e diabetes mellitus”, com um total de 620 artigos indexados. O número de citações (Figura 1(a)) crescente ao longo dos anos evidencia o interesse sobre a utilização de compostos de vanádio para fins terapêuticos.

Os compostos de vanádio são categorizados em sais (metavanadato, ortovanadato e sulfato

APÊNDICE D - ARTIGO QUE SERÁ SUBMETIDO

**ARTIGO QUE SERÁ SUBMETIDO AO AMERICAN JOURNAL OF
PHYSIOLOGY-ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM**

Fator de Impacto: 3.3
Classificação “A2” na área de Nutrição

EFFECT OF NEW VANADIUM BASE COMPOUND (IV) (VO-dt) ON DTHASONE-INDUCED INSULIN RESISTANCE IN MICE

Eucilene K. Lima Batista¹, Lidiane M. Alves de Lima², Amanda K. Jordão Pessoa Felix da Silva², Wagner E. da Silva, Mônica F. Belian², Dayane A. Gomes³, Eduardo C. Lira³.

1 - Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica - UFPE, Vitória de Santo Antão-PE; 2 - Departamento de Química, UFRPE-Recife-PE.

3 - Departamento de Fisiologia e Farmacologia-UFPE-Recife-PE.

ABSTRACT: Insulin resistance (IR) is related to prolonged use of synthetic glucocorticoids (GC), thus researching new adjuvant therapies to reduce the diabetogenic effects of GC, such as vanadium-based compounds. **Objective:** Evaluate the possible effects of the new vanadium-based compound (VO-dt) on dithasone-induced insulin resistance in mice. **Material and Methods:** Female mice treated for 14th days with dmethhasone (Dexa, 1mg/kg, i.p.) and for 7 days with VO-dt (DexaV, 50mg/Kg, v.o.) were used. **Results:** On the 14th day dexa induced insulin resistance (TyG, 30%, $p < 0.05$), with increased blood glucose (86%, $p < 0.05$) and triglyceridemia (2.6X, $p < 0.05$) fasting, these parameters remained high until the 21st day. Dexa increased liver levels of CT (136%, $p < 0.05$), TG (2.2X, $p < 0.05$), total lipids (2.8X, $p < 0.05$), serum liver transaminases levels (~2X, $p < 0.05$). VO-dt attenuated RI (~10%, $p < 0.05$), reduced hyperglycemia (40%, $p < 0.05$) and hypertriglyceridemia (~50%, fasting $p < 0.05$), without changing HDL. Dexa induced intense muscular and adipose protein catabolism, which was not attenuated by VO-dt. The Dexa group increased indicators of oxidative stress (VO-dt recovered) and reduced body mass gain (~20%), which was not modified by VO-dt, as well as did not modulate water and food intake. **Conclusion:** The data suggest that dthethanhasone-induced IR has metabolic parameters similar to DM2, as well as VO-dt attenuates metabolic changes, making it promising for the adjuvant treatment of DM2 or in therapeutic use of GC.

KEYWORDS: Diabetes *mellitus*; Vanadium; Dexamethasone; Glucocorticoids.

INTRODUCTION

Diabetes *mellitus* (DM) represents a serious public health problem with a great impact on the social and economic sphere of the world ^{5,3}. There were 463 million people in the world living with DM in 2019, and projections show that this number will reach 700 million in 2045 in the world ⁵. Insulin resistance (IR) is present among the factors for diabetes *mellitus* 2 (DM2), which IR can be defined as a reduction in the response of insulin-sensitive tissues compromising body energy homeostasis and metabolically important tissue activity such as skeletal muscle, white adipose tissue and liver. ^{2,6}

IR is associated with lifestyle, sedentary lifestyle, high-fat diets and prolonged use of synthetic glucocorticoids (GC). The anti-insulin effects of glucocorticoids (CG) are widely known, mainly in reducing glucose utilization by peripheral tissues such as skeletal muscle, liver and white adipose tissue ^{8,9}. CG are widely used in the clinic for the treatment of chronic inflammatory diseases (rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, among others), allergies and immunosuppression in patients undergoing organ transplants ^{7,1,6,8}. However, it is extremely important to reduce side effects, including the diabetogenic effects of GCs. In this sense, the investigation of adjuvant therapies that can block the hyperglycemic effects and preserve the therapeutic effects of GCs is essential.

Thus, adjuvant therapies are sought to reduce the diabetogenic effects of CG, alternatives such as vanadium-based compounds. Vanadium-based compounds present the inhibitory action of tyrosine phosphatases (PTP) proteins, making them a viable alternative for the development of new drugs with hypoglycemic action and reduced side effects ^{10,11,12}. A vanadium-based prototype was developed and isolated, which proved anti-hyperglycemic in pilot experiments (patent filing of the in BR10 2020 010025-4), thus the objective of this research is to evaluate the effects of the new VO-dt vanadium-based compound on dexamethasone-induced IR in mice.

MATERIALS AND METHODS

Animals- Female *Mus musculus mice of the Swiss lineage* weighing 35 ± 3 g, between 8 and 12 weeks of life, from the bioterium of the department of physiology and pharmacology of the Federal University of Pernambuco (UFPE) were used. They were kept in individual cages at an ambient temperature of 22°C with a light-dark cycle of 12 hours, with free access to water and fed with industrialized feed proper to rodents of the brand Labina[®] normocaloric and normoprotein enriched with vitamins and minerals. All experimental procedures were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil (CEUA) of the center of biological sciences with no. 0027/2020.

Induction of IR by dexamethasone- The animals were randomly distributed in three groups with 5 animals each: (a) treated with saline (Control, C); (b) treated with dexamethasone (Dexa, Decadron[®], Pfizer) and (c) treated with dexamethasone and with vanadium-based compound (IV, DexaV). For 7 days dexamethasone (Decadron[®], Pfizer, 1mg/kg, i.p.) was administered daily, followed by fasting glucose and triglycerides to confirm IR by calculating TyG. On the 8th day the DexaV group received VO-dt (DexaV, 50mg/Kg, v.o.) and the Dexa group received 0.9% orally saline up to^o day. The control group received 0.9% saline during the 14 days of the experiment. The structure and details of vo-dt is protected under the patent with registration number BR 10 2020 010025-4.

Biochemical analyses, body mass, water intake and food - Body mass, water intake and food were determined daily until the last day of the experiment. On the^o day of the experiment, blood was collected by the retroorbital plexus and cardiac puncture under anesthesia to quantify serum levels of: glucose, fructose, triglycerides (TG), total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL) and urea using Labtest[®] kits (Lagoa Santa, MG, Brazil) following the manufacturer's protocol.

Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)- For the oral glucose tolerance test, the mice were fasted (12-15hours) and the basal glycemia was quantified in capillary blood by tail puncture. Then, basal blood glucose (time 0) was verified, glucose overload (2.5g/kg of body mass) was immediately verified and blood glucose was measured by the on call plus[®] glucometer[®] 15', 30', 60', 90' and 120' minutes after to determine the glycemic curve and calculate the area under the curve.

Analysis of oxidative stress markers - In the dosage of the markers of foam oxidative stress made in the hepatic tissue, which was homogenized with the addition of 50 mM tris-base buffer and antiproteases (PMSF and orthovanadato) of concentration 1 mM. The analyses were: superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT); 120 µl for reduced glutathione (GSH) and oxidized (GSSG) and nitrite (WU H, ZHANG G, HUANG L, *et al.* 2017), 200 µl used for thiobarbituric acid (TBARS) analysis and 20 µl was used to quantify total proteins in the tissue was performed by the Bradford method (Bradford, 1976).

Statistical Analysis - The results were expressed as mean \pm standard error (M \pm EP). The normality test was Shapiro-Wilk. Multiple data analysis, two-way variance analysis (two-way ANOVA) followed by Tukey's test was used for parameters that vary throughout the experiment and the other parameters were the analysis of variance of a pathway (ANOVA-one way). The significance level was considered greater than or equal to 95% ($p < 0.05$). For statistical analysis of the data used the software GraphPad Prism 6[®].

FINDINGS

Hyperglycemia, fasting triglyceridemia and TyG - On the 7th day of treatment with dmeshasone induced insulin resistance (TyG, 30%, $p < 0.05$), with increased blood glucose (86%, $p < 0.05$) and fasting triglyceridemia. These parameters remained high until the 14th day of day treatment with an increase of 20% ($p < 0.05$) and 30% ($p < 0.05$) in the values of fasting glycemia and TG, respectively. Treatment with VO-dt reduced blood glucose (52%, $p < 0.05$), triglyceridemia (~50%, $p < 0.05$), as well as reduced TyG (~10%, $p < 0.05$) (figure 01).

Body mass, food intake, water and biochemical profile - The Dexa group reduced body mass gain (~10%, $p < 0.05$), with no changes in water and food intake (figure 02). Dexa induced the increased serum levels of total cholesterol (TC, ~80%, $p < 0.05$), triglycerides (~2.6X, $p < 0.05$), VLDL (2X, $p < 0.05$), glycerol (85%, $p < 0.05$), atherogenic index (~4.5X, $p < 0.05$), with hdl reduction (50%, $p < 0.05$). Treatment as VO-dt reduced hypercholesterolemia (25%, $p < 0.05$), hypertriglyceridemia (50%, $p < 0.05$), VLDL (50%, $p < 0.05$), with no effects on HDL levels (table 01).

Oral glucose tolerance test (OGTT) - The mice in the DEXA group presented basal fasting hyperglycemia (129.8 ± 12.4 vs 98.7 ± 5.0 mg/dL, $p < 0.05$). After glucose overload, glycemic peak was reached at 15 minutes (342.0 ± 64.9 vs $187,7 \pm 29.0$ mg/dL, $p < 0.05$) and remained high at 30 minutes ($326,0 \pm 26.1$ vs $170,3 \pm 23.7$ mg/dL, $p < 0.05$). The calculation of the area under the curve (AUC) showed that treatment with dtemethasone increased oral

glucose intolerance (~45%). Treatment with VO-dt reduced the glycemic peak reached at 15 minutes (44%) and 30 minutes (40%) compared to the DEXA group, VO-dt improved oral carbohydrate tolerance (~22%) (Figure 03).

Markers of oxidative stress - The DEXA group showed an increase in nitrite (40%, $p < 0.05$) and malodialdehyde (~65%, $p < 0.05$) levels, in addition to the increase in activity of enzymes SOD (~40%, $p < 0.05$) and CAT (~45%, $p < 0.05$), with no changes in GSH levels, GSSG and the GSH/GSSG interface. VO-dt reduced nitrite levels (~30%, $p < 0.05$), TBAR (~30%), SOD (~30%) and CAT (~40%), without modifications in GSH, GSSG and GSH/GSSG ratio (figure 04).

DISCUSSION

In this study, the model of insulin resistance induced by dexamethasone was used. Our results showed that dexamethasone treatment induced IR in mice, evidenced by high levels of fasting glucose and triglyceridemia, results that corroborate scans^{8,15}. GCs have effects mediated by glucocorticoid receptors (GR), which are capable of triggering actions in the immune system and modulating the expression of the pattern of genes involved in glucose metabolism^{14,16}. They also activate genes related to gluconeogenesis, in particular the enzymes PEPCK (phosphoenol pyruvate carboxykinase) and glucose-6-phosphatase (G6PASE)^{17,14}. VO-dt reduced blood glucose and improved peripheral insulin sensitivity, although serum insulin levels have not been quantified in this study, oral glucose tolerance (OGTT) shows dexamethasone-induced carbohydrate intolerance, which was attenuated with treatment as VO-dt.

Some research reports the hypoglycemic effects of vanadium-based compounds. This action is linked to the mimetic properties to insulin and several metabolic effects in studies in experimental models in animals and *in vitro*¹³. In body mass gain, a reduction was observed in the DEXA group, and a change corroborates with other studies^{8,15}. The loss of body mass may be partly related to the diabetogenic potential of CG, because there is a reduction in the use of peripheral glucose, causing neoglycogenesis in which glucose production is due to substrates such as amino acids, resulting in an intense catabolic activity in the body^{21,18}.¹⁶, VO-dt did not recover mass gain.

CG promotes important changes in lipid metabolism in different tissues, which directly contribute to dyslipidemia, quantified by the increase in triglyceride (TG), total cholesterol (TC) levels and reduction of HDL levels^{22,24}. Dyslipidemia may be related to

elevated GC levels that activate lipolysis in adipocytes, so TG are hydrolyzed in free fatty acids (AGL) and glycerol, which may cause dyslipidemia, central obesity and hepatic steatosis²⁵. Treatment with VO-dt improved lipid profile and atherogenic index of animals treated with dethhasone. In this same sense, Mbatha *et al.* (2020) showed a reduction in CT and TG levels and also an improvement in the atherogenic profile of diabetic animals treated with vanadium dioxide (V).

The increase in glucose and circulating fatty acid levels present in IR results in a greater oxidation of these nutrients, giving rise to the mechanisms responsible for the excess generation of ROS in mitochondria with ^{EO 26,27,28} as the final product. Both the use of CG and hyperglycemia resulting from this use disturb the cellular redox state, diverting it to the intense production of reactive oxygen (ROS) and nitrogen (NRN) species, with concomitant impairment of the body's antioxidant defenses^{29,30}. Although the chemical structure associated with vanadium, dose used and treatment time should be considered, our results suggest an *in vivo antioxidant effect of VO-dt* that may signal one of the possible mechanisms of action of this compound in reducing glucocorticoid-induced IR.

FINAL CONSIDERATIONS

In conclusion, the findings in the research showed that the vanadium-based compound (VO-dt) reduced GC-induced hyperglycemia, as well as dyslipidemia, liver dysfunction and oxidative stress, probably by mechanisms that improve peripheral insulin sensitivity. The data suggest that dethhasone-induced insulin resistance has metabolic parameters similar to DM2, as well as VO-dt attenuates important metabolic changes in this condition, which makes it promising for adjuvant treatment for DM2 or conditions where the use of GC therapeutically is necessary.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks to CAPES Development Agencies.

REFERENCES

- 1- BOSE, S. K.; HUTSON, I.; HARRIS, C. A. **Hepatic Glucocorticoid Receptor Plays a Greater Role Than Adipose GR in Metabolic Syndrome Despite Renal Compensation.** *Endocrinology*, v. 157, n. 12, p. 4943–4960, 2016.
- 2- CARDOSO, J. S.; OLIVEIRA, P. S.; BONA, N. P.; VASCONCELLOS, F. A.; BALDISSARELLI, J.; VIZZOTTO, M.; SOARES, M.; RAMOS, V. P.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; TAVARES, R. G.; STEFANELLO, F. M. **Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance.** *Redox report: communications in free radical research*, v.23, n.1, p. 41–46, 2018.
- 3- GUARIGUATA, L.; WHITING, D. R.; HAMBLETON, I.; BEAGLEY, J.; LINNENKAMP, U.; SHAW, J. E. **Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035.** *Diabetes research and clinical practice*, v.103, n.2, p.137–149, 2014.
- 4- HUSEINI, H. F.; KIANBAKHT, S.; HAJIAGHAEI, R.; DABAGHIAN, F. H. **Anti-hyperglycemic and anti-hypercholesterolemic effects of Aloe vera leaf gel in hyperlipidemic type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial.** *Planta medica*, v.78, n.4, p.311–316, 2012.
- 5-INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Atlas IDF 2019**, 2019.
- 6- INÁCIO, M. D.; RAFACHO, A.; CAMAFORTE, N. A. P.; TEIXEIRA, P.; VAREDA, P.; VIOLATO, N. M.; BOSQUEIRO, J. R. **Prevention of Elevation in Plasma Triacylglycerol with High-Dose Bezafibrate Treatment Abolishes Insulin Resistance and Attenuates Glucose Intolerance Induced by Short-Term Treatment with Dexamethasone in Rats.** *International journal of endocrinology*, p.1-12, 2018.
- 7- LANKATILLAKE, C.; HUYNH, T.; DIAS, D.A. **Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants.** *Plant Methods*, v.15, n.1, p.1-35, 2019.

8-PROTZEK, A. O., REZENDE, L. F., COSTA-JÚNIOR, J. M., FERREIRA, S. M., CAPPELLI, A. P., DE PAULA, F. M., DE SOUZA, J. C., KURAUTI, M. A., CARNEIRO, E. M., RAFACHO, A., & BOSCHERO, A. C. **Hyperinsulinemia caused by dexamethasone treatment is associated with reduced insulin clearance and lower hepatic activity of insulin-degrading enzyme.** The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, v.155 (Pt A), p. 1–8, 2016.

9-PROTZEK, A. O.; COSTA-JÚNIOR, J. M.; REZENDE, L. F.; SANTOS, G. J.; ARAÚJO, T. G.; VETTORAZZI, J. F.; ORTIS, F.; CARNEIRO, E. M.; RAFACHO, A.; BOSCHERO, A. C. **Augmented β -Cell Function and Mass in Glucocorticoid-Treated Rodents Are Associated with Increased Islet Ir- β /AKT/mTOR and Decreased AMPK/ACC and AS160 Signaling.** International journal of endocrinology, ID: 983453, 2014.

10- SCIBIOR, A., PIETRZYK, L., PLEWA, Z., & SKIBA, A. **Vanádio: Riscos e possíveis benefícios à luz de uma visão abrangente de seus mecanismos farmacotoxicológicos e multiaplicações com um resumo de novas tendências de pesquisa.** Journal of Trace Elements in Medicine and Biology , p. 126508, 2020.

11- REHDER, Dieter. **The potentiality of vanadium in medicinal applications.** Inorganica Chimica Acta, v. 504, p. 119445, 2020.

12- REHDER, DIETER. **The potentiality of vanadium in medicinal applications.** Future medicinal chemistry, v. 4, n. 14, p. 1823-1837, 2012.

13- PESSOA, J. C.; GARRIBBA, E.; SANTOS, M. F. A.; SILVA, T. S. **Vanadium and proteins: Uptake, transport, structure, activity and function.** Coordination Chemistry Reviews, v. 301–302, p. 49-86, 2015.

14- ZHOU, P. Z.; ZHU, Y. M.; ZOU, G. H.; SUN, Y. X.; XIU, X. L.; HUANG, X.; ZHANG, Q. H. **Relationship Between Glucocorticoids and Insulin Resistance in Healthy Individuals.** Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, v.22, p.1887–1894, 2016.

- 15- PHANSE MA, PATIL MJ, ABBULU K. **Synthesis, characterization and evaluation of the suppression of insulin resistance in Type-II diabetes mellitus animals by treatment with metal complex.** Saudi J Biol Sci. May;23(3):420-5. 2016.
- 16- GJERSTAD, J. K.; LIGHTMAN, S. L.; SPIGA, F. **Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility.** Stress, v. 21, n. 5, p. 403–416, 2018.
- 17- PANDEY, JYOTSANA *ET AL.* **Murraya koenigii (L.) Spreng. melhora a resistência à insulina em camundongos tratados com dexametasona, aumentando a sensibilidade periférica à insulina.** Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura, v. 94, n. 11, p. 2282-2288, 2014.
- 18-CASSUTO, HANOCH *et al.* **Glucocorticoids regulate transcription of the gene for phosphoenolpyruvate carboxykinase in the liver via an extended glucocorticoid regulatory unit.** Journal of Biological Chemistry, v. 280, n. 40, p. 33873-33884, 2005.
- 19- CARDOSO, J. S.; OLIVEIRA, P. S.; BONA, N. P.; VASCONCELLOS, F. A.; BALDISSARELLI, J.; VIZZOTTO, M.; SOARES, M.; RAMOS, V. P.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; TAVARES, R. G.; STEFANELLO, F. M. **Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance.** Redox report: communications in free radical research, v.23, n.1, p. 41–46, 2018.
- 20-CITLALY GUTIÉRREZ-RODELO, ADRIANA ROURA-GUIBERNA Y JESÚS ALBERTO OLIVARES-REYES **Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización.** Gac Med Mex. 2017.
- 21- ANTONI, FERENC A. **Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor.** Endocrine reviews, v. 7, n. 4, p. 351-378, 1986.
- 22- INÁCIO, M. D.; RAFACHO, A.; CAMAFORTE, N. A. P.; TEIXEIRA, P.; VAREDA, P.; VIOLATO, N. M.; BOSQUEIRO, J. R. **Prevention of Elevation in Plasma Triacylglycerol with High-Dose Bezafibrate Treatment Abolishes Insulin Resistance and**

Attenuates Glucose Intolerance Induced by Short-Term Treatment with Dexamethasone in Rats. International journal of endocrinology, p.1-12, 2018.

23-MBATHA, B., KHATHI, A., SIBIYA, N., BOOYSEN, I., MANGUNDU, P., & NGUBANE, P..**Efeitos cardio-protetores de um complexo de dioxidovanádio (V) em ratos machos Sprague-Dawley com diabetes induzido por estreptozotocina.** BioMetals , v. 34, n. 1, pág. 161-173, 2021.

24-ANAGNOSTIS, P., ATHYROS, V. G., TZIOMALOS, K., KARAGIANNIS, A., & MIKHAILIDIS, D. P.**The pathogenetic role of cortisol in the metabolic syndrome: a hypothesis.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 94(8), 2692-2701.2009.

25- FRANCIK R, KRYCZYK-KOZIOŁ J, FRANCIK S, GRYBOŚ R, KROŚNIAK M. **Bis (4'4'.dimethyl-2,2'-bypyridine) oxidovanadium (IV) sulfate dehydrate: potential candidate for controlling lipid metabolism?**.Biomed Res Int. 2017.doi: 10.1155/2017/6950516.2017.

26- LUAN, GUANGXIANG *et al.* **Dexamethasone-induced mitochondrial dysfunction and insulin resistance-study in 3T3-L1 adipocytes and mitochondria isolated from mouse liver.** Molecules, v. 24, n. 10, p. 1982, 2019.

27-NEWSHOLME, PHILIP *et al.* **Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes.** Biochemical Journal, v. 473, n. 24, p. 4527-4550, 2016.

28-MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B. **Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review.** Journal of biochemical and molecular toxicology, v.17, n.1, p.24–38, 2003.

29- COSTANTINI, DAVID; MARASCO, VALERIA; MØLLER, ANDERS PAPE. **A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates.** Journal of Comparative Physiology B, v. 181, n. 4, p. 447-456, 2011.

30- BUTKOWSKI, EUGENE G.; JELINEK, HERBERT F. **Hyperglycaemia, oxidative stress and inflammatory markers.** Redox Report, v. 22, n. 6, p. 257-264, 2017.

Figure 01

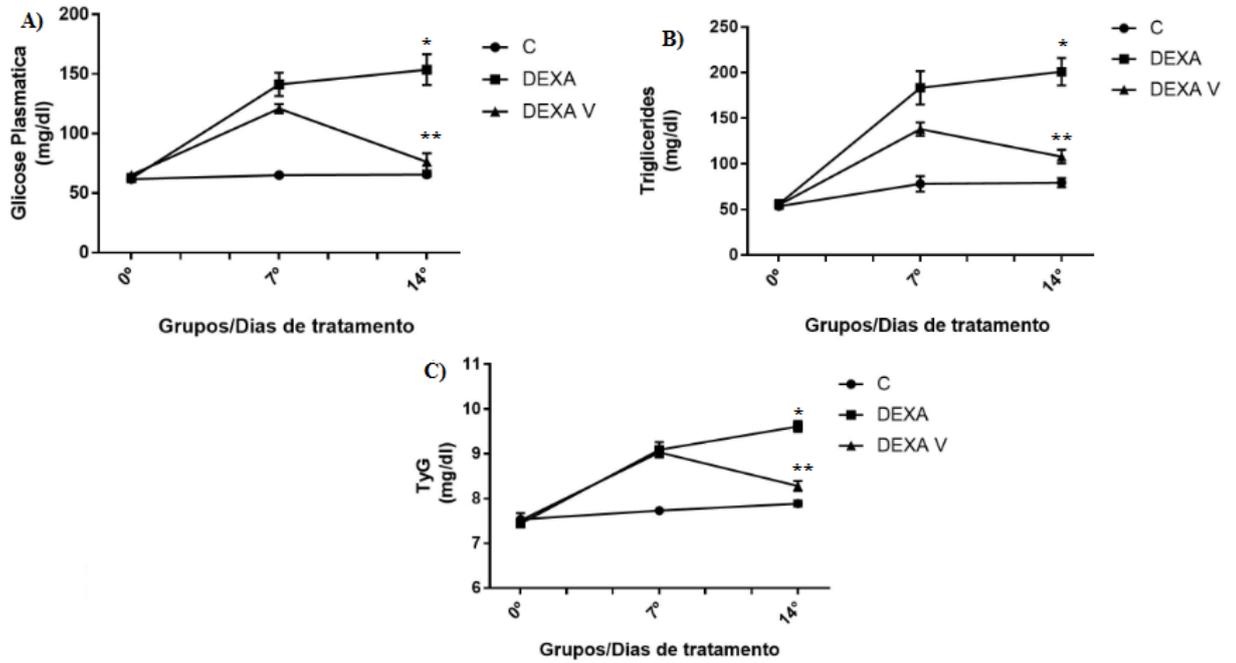


Figure 01- (a): graph of glycemia evolution according to the duration of treatment; (b): graph that represents the evolution of serum triglyceride levels according to the time of treatment; (c): graph showing resistance insulin by the TyG index according to treatment time. Values expressed as mean \pm standard error of the mean with $p < 0.05$, * versus control group; $p < 0.05$ ** versus DEXA group, using one-way analysis of variance (ANOVA). $N = 6 - 8$ animals per group.

Figure 02

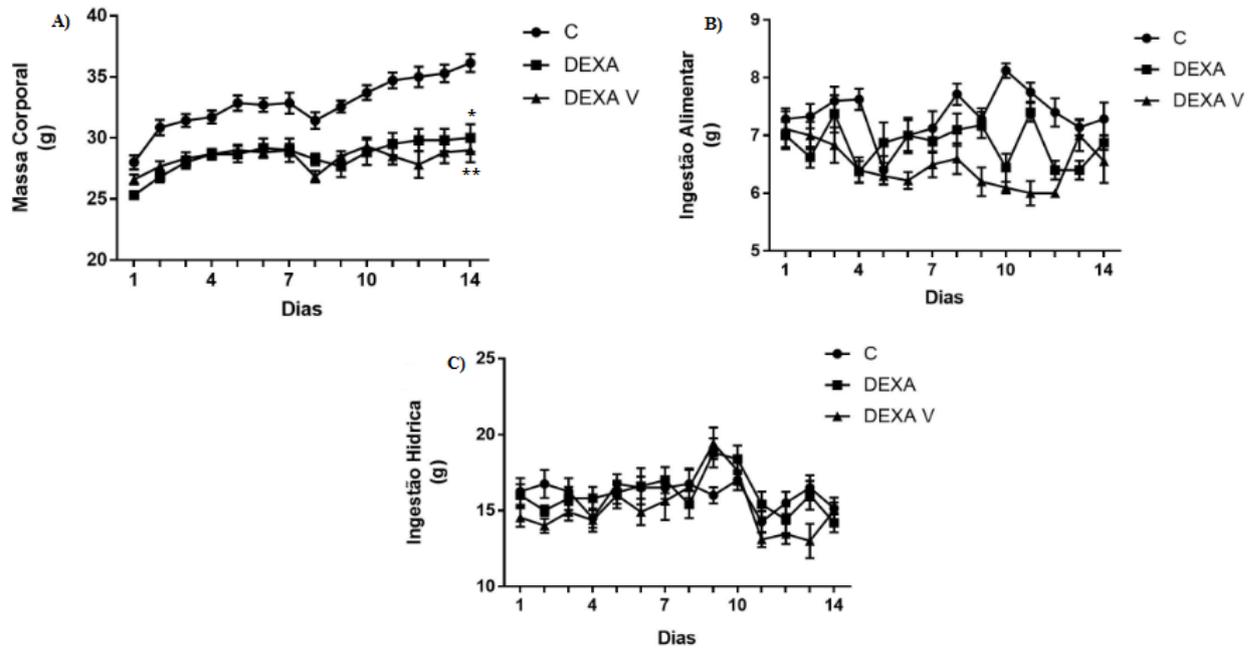


Figure 02- (a): body mass chart; (b): water intake chart; (c): food intake chart. Values expressed as mean \pm standard error of the mean with $p < 0.05$, * versus control group; $p < 0.05$ ** versus DEXA group, using one-way analysis of variance (ANOVA). $N = 6 - 8$ animals per group.

Table 01

Analises	C	Dexa	DexaV
CT (mg/dl)	86,4 ± 5,5	153,5 ± 13,1*	117,4 ± 6,2 [*] **
TG (mg/dl)	83,5 ± 8,0	217,2 ± 20,3*	107,8 ± 7,4 [*] **
HDL (mg/dl)	78,9 ± 9,9	48,5 ± 5,2*	45,1 ± 6,2**
VLDL (mg/dl)	16,7 ± 1,6	43,4 ± 4,1*	21,6 ± 1,5**
IA	1,2 ± 0,5	5,6 ± 1,7*	3,0 ± 0,7 [*] **

Table 01-**CT**- Colesterol total;**TG**- triglicerídeos;**PT**-proteína total; **IA**- índice iatrogênico.

Values expressed as mean ± standard error of the mean with p <0.05, * versus control group; p <0.05 ** versus Dexa group, one-way analysis of variance (ANOVA). N = 6 - 8 animals per group.

Figure 03

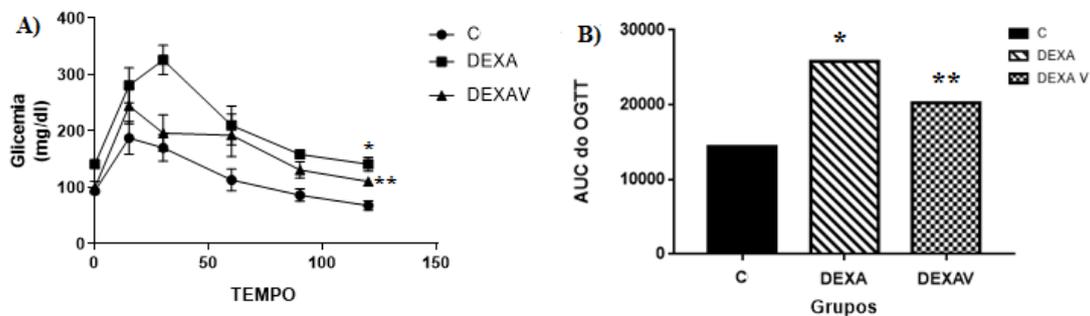


Figure 23A-Área sob a curva (AUC) do OGTT (0 – 120min). Values expressed as mean \pm standard error of the mean with $p < 0.05$, * versus control group; $p < 0.05$ ** versus Dexa group, using one-way analysis of variance (ANOVA). $N = 6 - 8$ animals per group.

Figure 04

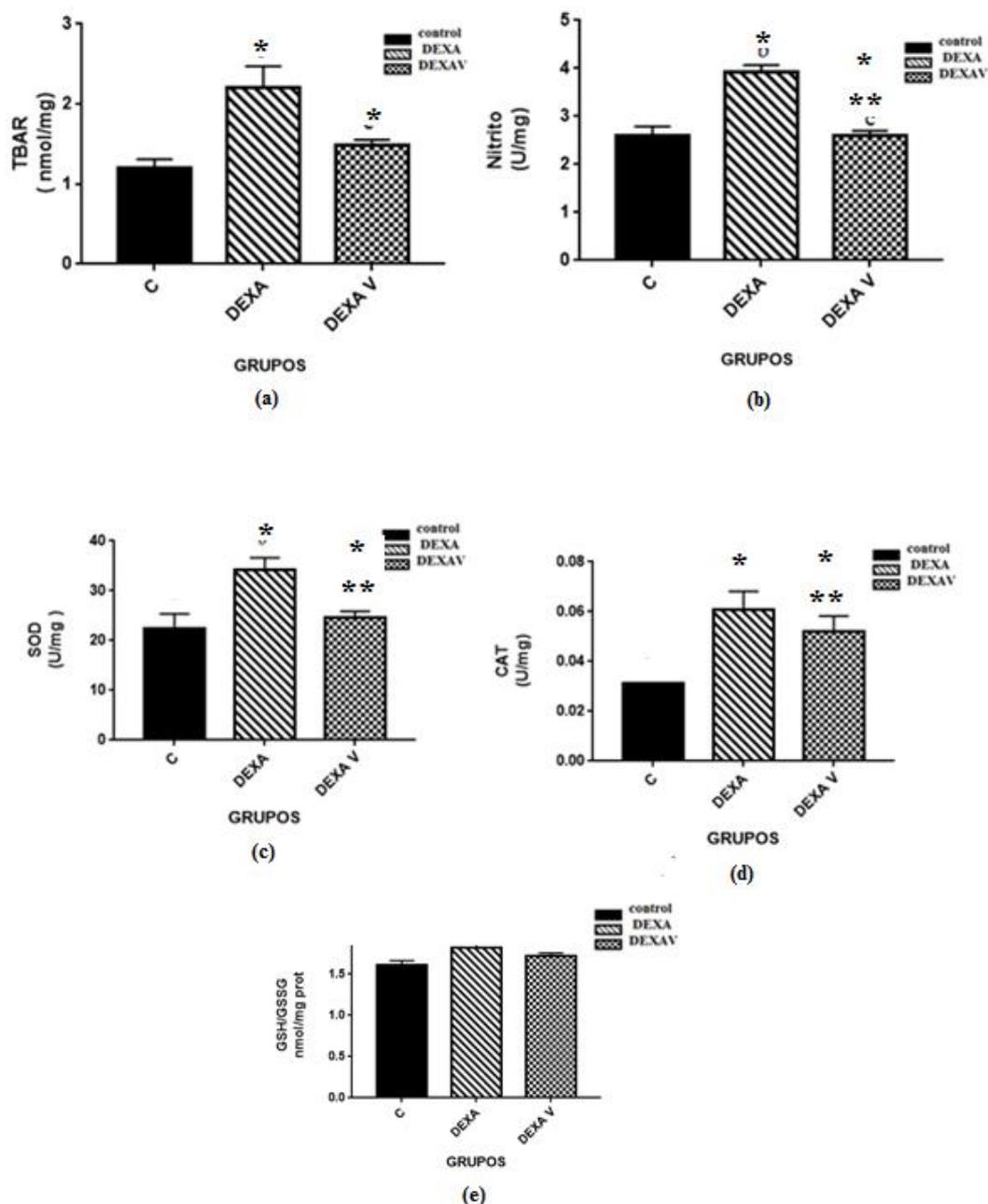


Figure 04- (a): chart of the levels of malodialdehyde; (b): chart of nitrite levels; (c): chart of superoxide dismutase (SOD) activity; (d): chart of catalase activity (CAT); (e): Ratio reduced glutathione (GSH) / oxidized glutathione (GSSG). Values expressed as mean \pm standard error of the mean with $p < 0.05$, * versus control group; $p < 0.05$ ** versus DEXa group, using one-way analysis of variance (ANOVA). $N = 6 - 8$ animals per group.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Clayton, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 30 de setembro de 2020

Ofício nº 52/20

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Eduardo Carvalho Lira**

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/CB

processo nº **0027/2020**

Certificamos que a proposta intitulada **"Efeito do Composto à Base de Vanádio (VO-dt) no DM2 causado pela Resistência à Insulina Induzida por Dexametasona em Camundongos"**, registrado com o nº **0027/2020** sob a responsabilidade da **Prof. Eduardo Carvalho Lira** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 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 DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/09/2020

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	20/10/20 A 20/02/2021
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico
Nº de animais	20
Peso/idade	08 semanas
Sexo	Fêmea (20)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE

Atenciosamente


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 -Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 234091