

Universidade Brasil

Campus Descalvado

JANAINA REGINA RIGOBELLO IMEDIATO DA SILVA SANTOS

**COMPLEXO CROMO METIONINA COMO AGENTE
HIPOGLICEMIANTE EM CAMUNDONGOS SWISS OBESOS**

COMPLEX CHROMIUM METHIONINE AS AGENT ANTIDIABETIC IN MICE SWISS
OBESE

Descalvado-SP

2016

JANAINA REGINA RIGOBELLO IMEDIATO DA SILVA SANTOS

**COMPLEXO CROMO METIONINA COMO AGENTE HIPOGLICEMIANTE EM
CAMUNDONGOS SWISS OBESOS**

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca Melo

Co-orientadora: Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Descalvado-SP

2016

S235c Santos, Janaina Regina Rigobello Imediato da Silva
Complexo Cromo Metionina como agente hipoglicemiante em camundongos Swiss obesos / Janaina Regina Rigobello Imediato da Silva Santos. – Descalvado, 2016.
40 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Prof^o Dr. Gabriel Maurício Peruca Melo

Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Liandra M. Abaker Bertipaglia

1. Mineral orgânico. 2. Complexo. 3. Diabetes. 4. Cromio. I. Título.

CDD 636.08951

Termo de Autorização**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da UNICASTELO e no Banco de Teses da CAPES**

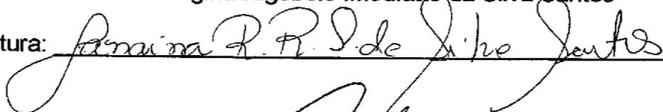
Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a UNICASTELO a disponibilizar através do site <http://www.unicastelo.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

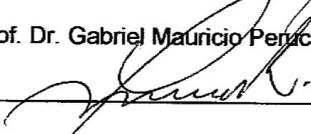
Título do Trabalho: "COMPLEXO CROMO METIONINA COMO AGENTE HIPOGLICEMIANTE EM CAMUNDONGOS WISS OBESOS"

Autor(es):

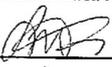
Discente: Janaina Regina Rigobelo Imediatto da Silva Santos

Assinatura:  _____

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo

Assinatura:  _____

Co-orientador: Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia

Assinatura:  _____

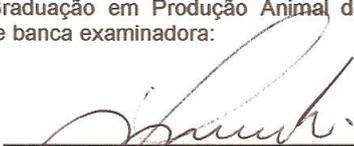
Data: 24 de março de 2016

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

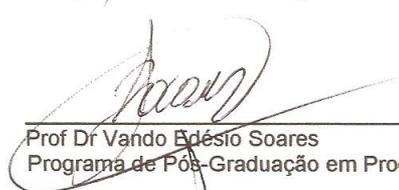
Janaina Regina Rigobelo Imediato da Silva Santos

“COMPLEXO CROMO METIONINA COMO AGENTE HIPOGLICEMIANTE EM CAMUNDONGOS WISS OBESOS”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo
(Orientador)
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Prof. Dr. Vando Edésio Soares
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Prof. Dr. Wanderley José de Melo
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária
UNESP-Jaboticabal

Descalvado, 24 de Março de 2016

Prof. Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo
Presidente da Banca

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal
Avenida Hilário da Silva Passos, 950. CEP: 13690-970. Descalvado – SP
Contatos: (19) 3593.8510 ou strictosensu_des@unicastelo.br
www.unicastelo.com.br/ppgpa

DEDICATÓRIA

DEDICO ESTE TRABALHO AOS MEUS FILHOS EMANUEL E GABRIELA E AO
MEU MARIDO EDILTON PELO APOIO INCONDICIONAL E INCENTIVO
CONSTANTE.

DEDICO TAMBÉM AO MEU ORIENTADOR PROFESSOR DR. GABRIEL
MAURÍCIO PERUCA DE MELO, PELA CONFIANÇA, PACIÊNCIA, INCENTIVO E
APOIO MORAL.

AS MINHAS AMIGAS QUE FIZERAM PARTE DESSES MOMENTOS, SEMPRE
AJUDANDO E INCENTIVANDO.

A TODOS OS COLEGAS E PROFESSORES DA PÓS GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO ANIMAL PELO CONVÍVIO E APRENDIZADO.

AGRADECIMENTO

A DEUS PELA MINHA EXISTÊNCIA E PERMITIR ESTAR AQUI NA TERRA PARA
UM NOVO PROCESSO DE EVOLUÇÃO, ME AMPARANDO EM TODAS AS
DIFICULDADES E SEMPRE MOSTRANDO O MELHOR CAMINHO A SEGUIR.
AO MEU ORIENTADOR POR TODA DEDICAÇÃO E PACIÊNCIA NESTES 2 ANOS
DE TRABALHO.
A MINHA FAMÍLIA POR ESTAR SEMPRE AO ME LADO.

COMPLEXO CROMO METIONINA COMO AGENTE HIPOGLICEMIANTE EM CAMUNDONGOS SWISS OBESOS

RESUMO

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de análise fatorial, com 3 tratamentos principais e 2 tratamentos secundários, sendo cada tratamento composto por 6 unidades experimentais. Utilizou-se 36 camundongos *swiss* senis, divididos em 6 tratamentos. Os tratamentos principais avaliados foram: **TC** (tratamento controle – ração comercial); **TI** (cromo na forma de cloreto cromo - 100 mg.kg⁻¹ ração); **TO** (cromo orgânico complexado com metionina – 100 mg.kg⁻¹ ração). Os valores de inclusão na dieta foram estabelecidos com o intuito de obter um consumo médio diário de 0,5 a 0,7 mg/kg⁻¹ de cromo (consumo médio de ração de 7 gramas). O experimento teve duração de 35 semanas, das quais 28 semanas foram utilizadas para diferenciação de peso entre indivíduos, que constituíram o tratamento secundário (obesidade), 1 semana para adaptação a dieta e 6 semanas de avaliação experimental. O peso dos animais e o consumo de ração foram determinados semanalmente e os resultados expostos em intervalos de 14 dias. Na determinação da glicemia, no 42º dia de suplementação, os animais foram mantidos em jejum prévio de 3 horas através de punção da veia caudal lateral utilizando glucometer. Os efeitos da suplementação com cromo não foram influenciados pela obesidade. A obesidade promoveu concentrações séricas superiores de glicose nos camundongos *swiss* e, a suplementação com complexo cromo/metionina não alterou a concentração séria se glicose, no entanto, esta fonte promoveu redução no peso corpóreo, a partir do 28º dia de suplementação, sem alterar o consumo de ração. A forma orgânica mostrou-se mais eficiente que a inorgânica para redução de peso corpóreo.

Palavras-chave: mineral orgânico, complexo, diabetes, cromo

COMPLEX CHROMIUM METHIONINE AS AGENT ANTIDIABETIC IN MICE SWISS OBESE

ABSTRACT

The experiment was installed in completely randomized design in factorial analysis scheme, with 3 main and secondary treatments 2 treatments, each treatment consists of 6 experimental units. We used camunongos 36 swiss senis, divided into 6 treatments. The main treatments evaluated were: TC (control treatment-commercial ration); YOU (in the form of chromium chloride chromium-100 mg.kg-1 ration); To (organic complexed with chromium methionine-100-1 ration mg.kg). The values of inclusion in lay were established with the set forth to obtain an average daily consumption of 0.5 to 0.7 mg/kg-1 of chromium (average consumption ration of 7 grams). The experiment lasted 35 weeks, of which 28 weeks were used weight differentiation between individuals, which constituted the secondary treatment (obesity), 1 week for adaptation to diet and 6 weeks of experimental evaluation. The weight of the animals and feed intake were determined on a weekly basis and the results exposed at intervals of 14 days. In the determination of blood glucose, the 42nd day of supplementation, the animals were maintained fasting for 3 hours through lateral flow vein puncture using glucometer. The effects of supplementation with chromium were not influenced by obesity. Obesity top serum glucose was promoted in swiss mice, and supplementation with chromium complex/methionine did not change the serious concentration if glucose, however, this source promoted a reduction in body weight, from the 28th day of supplementation, without changing the feed intake. The organic form proved to be more efficient than the inorganic chemistry to reduce body weight.

Keywords: organic mineral, complex, diabetes, chromium

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mecanismo proposto da participação do cromo na ação da insulina21
- Figura 2:** Na parte superior, animal representativo do tratamento obeso e, na parte inferior, animal considerado como peso normal (BC 3,5).....25
- Figura 3:** Ilustração do cronograma de execução do experimento com os principais marcos25
- Figura 4:** Características dos pellets de rações (TC, TI e TO) utilizadas. Da esquerda para a direita observa-se a ração controle (TC), ração contendo 100 mg/kg MS de cromo inorgânico (TI) e ração contendo 100 mg/kg MS de cromo orgânico (TO).....27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composição bromatológica das rações utilizadas no experimento. Dados expressos na matéria seca.....27
- Tabela 2:** Peso vivo corpóreo, expresso em gramas, de camundongos swiss, normais ou obesos, suplementados com diferentes fontes de cromo.....29
- Tabela 3:** Consumo de ração, expresso em gramas/animal.dia-1, de camundongos swiss, normais ou obesos, suplementados com diferentes fontes de cromo31
- Tabela 4:** Glicose sérica, expresso em mg/dL, de camundongos swiss, normais ou obesos, suplementados com diferentes fontes de cromo em amostra obtida após 6 semanas de suplementação.....32

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

GLUTs	Transportadores de glicose
DM	Diabetes mellitus
ppb	Partes por bilhão
ppm	Partes por milhão
TC	Tratamento controle
TI	Cromo na forma de cloreto de cromo
TO	Cromo inorgânico complexado com metionina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Relevância do tema	14
1.2. Fundamentação	15
1.2.1. Diabetes mellitus	15
1.2.2. Insulina	17
1.2.3. Cromo	17
1.3. Hipótese	23
1.4. Objetivo geral e objetivos específicos	23
2. MATERIAIS E MÉTODOS	24
2.1. Local de condução	24
2.2. Unidades Experimentais e manejo	24
2.3. Delineamento experimental	26
2.4. Quelatos de cromo e incorporação na dieta	26
2.5. Duração experimental	28
2.6. Manejo semanal	28
2.7. Pesagem dos animais e consumo de ração	28
2.8. Glicemia	28
3. RESULTADOS E DISCUÇÃO	29
3.1. Peso corpóreo	29
3.2. Consumo de ração	30
3.3. Glicemia	31
4. CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
RESENHA BIOGRÁFICA DO AUTOR	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Relevância do tema

Desde as demonstrações iniciais dos efeitos antidiabéticos do cromo *in vivo*, há mais de 100 anos, avanços significativos foram feitos no entendimento das propriedades e dos mecanismos de ação dos compostos de cromo, como potencializador da ação da insulina. O mecanismo intracelular exato e /ou mediadores envolvidos nas ações do cromo ainda não estão totalmente elucidados, no entanto, tem vindo a aumentar o interesse no seu valor terapêutico sendo já conhecidos alguns mecanismos de ação

Estudos relacionados com a suplementação da dieta com o cromo se faz pertinente e necessário, de modo a fornecer subsídios para a correta suplementação deste elemento. A importância se dá pela escassez de dados com relação à suplementação deste mineral e pela diversidade de resultados.

A suplementação de cromo na forma de sal inorgânico não é uma técnica eficiente sendo aconselhável a utilização deste na forma de quelatos ou complexos, fato este justificado pela afinidade a fibra da dieta de fontes inorgânica e solúveis, o que interfere na sua absorção.

Atualmente, esse mineral tem sido utilizado como suplemento dietético em pacientes que necessitam de controle glicêmico. Evidências científicas apontam que a sua deficiência na dieta contribui para a intolerância à glicose e alterações relacionadas ao perfil lipídico. Isto se explica porque a função primária do cromo é a de potencializar os efeitos da insulina, com melhora da tolerância à glicose e, conseqüentemente, do metabolismo de carboidratos, lipídios. (GOMES, 2005).

O presente trabalho fornecerá informações sobre os efeitos da suplementação do cromo complexado com a metionina em fêmeas de camundongos *swiss*, senis e obesas, com o intuito de avaliar os efeitos sobre parâmetros de peso corpóreo, metabólicos e hematológicos. Os dados gerados servirão como bases para estudos com suplementação deste elemento em humanos e animais.

1.2. Fundamentação

1.2.1. Diabetes mellitus

Diabetes *mellitus* (DM) atualmente é considerada uma das principais doenças crônicas que afeta o homem contemporâneo, acometendo populações de países em todos os estágios de desenvolvimento econômico e social (ORTIZ, 2007).

Atualmente considerada a doença do século XXI, a diabetes é a 4ª causa principal de mortes nos países desenvolvidos e é considerada epidemia global que acomete 140 milhões de pessoas no mundo, sendo 50% desse total ainda não diagnosticado. Estimativas indicam que este número chegará a 300 milhões nos próximos 25 anos (World Health Organization e International Diabetes federation). Este aumento está associado com alterações no estilo de vida de modo geral, marcado principalmente pelo sedentarismo e obesidade (ZIMMET *et al.*, 2001).

A palavra “*diabetes*” vem do grego diabeneim e significa “fluir através”, enquanto o termo “*mellitus*”, do latim, significa “doce”. Existem relatos da diabetes mellitus há mais de 2000 anos atrás descrevendo sintomas detalhados desta doença. (KAHN, 1994).

A diabetes *mellitus*, é a desordem endócrina mais comum (DEVLIN 2006, AHMED 2007). É caracterizada por hiperglicemia, em jejum, devido a uma deficiência absoluta/relativa e/ou resistência à insulina (AHMED 2007). Os sintomas característicos da patologia são produção excessiva de urina (poliúria), sede excessiva e ingestão aumentada de fluidos (polidipsia), visão borrosa, perda de peso inexplicada e letargia. É provável que estes sintomas estejam ausentes se o açúcar no sangue for apenas moderadamente elevado (DEVLIN 2006, LIONEL 2007)

Uma epidemia de diabetes mellitus está por vir, atualmente estima-se que a população mundial com diabetes é da ordem de 382 milhões de pessoas e que deverá atingir 471 milhões em 2035, sendo que cerca de 80% destes indivíduos com diabetes vivem em países desenvolvidos, onde a epidemia tem maior intensidade, fato este que vem associado ao sedentarismo e hábitos não saudáveis, causando resistência insulínica, que está envolvida na patogênese do diabetes (MALERBI e FRANCO, 1992).

A obesidade é o principal fator de risco para o desenvolvimento da resistência à insulina, que está envolvida na patogênese do Diabetes (CHOI e KIM, 2010). Em

situações de excesso de peso, a utilização periférica da insulina torna-se reduzida, alterando a regulação da homeostase da glicose. Assim a perda de peso é um objetivo terapêutico importante para indivíduos diabéticos. (ADA, 2011)

O conceito de sensibilidade à insulina foi introduzido por Sir Harold Himsworth, em 1939, ao estudar a resposta de pacientes diabéticos ao estímulo glicêmico e à insulina (HIMSWORTH, 1939). Pode-se definir resistência à insulina como uma perturbação das vias de sinalização, mediadas pela insulina em que as concentrações normais do hormônio produzem uma resposta biológica subnormal, ocorrendo então um aumento da função das células beta pancreática para compensar a resistência à insulina, resultando em níveis sanguíneos elevados de insulina e mais tarde de glicose (LAU, 2008; CARVALHEIRO, 2006; TAYLOR, 1994).

Não é caracterizada como uma doença, mais sim uma anomalia fisiopatológica que pode ter inúmeras consequências e está ligada a diversas situações fisiológicas como puberdade, gravidez, menopausa, uso de corticosteroides, obesidade, diabetes mellitus tipo II, doenças cardiovasculares, dislipidemias, síndrome metabólica entre outras (KELLY, 2000).

Várias complicações podem ocorrer como, disfunção e falha renal, anormalidades cardíacas, retinopatia diabética, neuropatia, aterosclerose, entre outras. A etiologia da diabetes e as suas complicações continuam por clarificar. Contudo, vários fatores como a idade, obesidade e dano oxidativo têm sido implicados. Devido à prevalência da diabetes, estudos multidisciplinares se destinam a prevenir e a tratar diabetes é uma das propriedades da investigação em todo o mundo (FLORES et al., 2011).

Inicialmente conhecida como diabetes “juvenil”, a diabetes tipo I ocorre devido a destruição das células β por um processo auto-imune (tipo A) ou por causa desconhecida (forma idiopática ou tipo B). Na forma auto-imune que é a mais comum, ocorre um processo de insulite e a presença de auto-anticorpos (antidescarboxilase do ácido glutâmico, anti-ilhotas e anti-insulina), enquanto a forma idiopática caracteriza-se pela ausência de insulite e de auto-anticorpos. O fato de haver ausência absoluta de insulina na diabetes tipo I, resulta em manifestações clínicas evidentes, possibilitando rápido diagnóstico quando comparada com a diabetes tipo II (GROSS *et al.*, 2002).

A diabetes tipo II é a mais comum, correspondendo a 90% dos casos. Este tipo ocorre devido a distúrbios na ação e secreção da insulina. Anteriormente

conhecida como diabetes da maturidade, por ser muito freqüente em indivíduos acima de 40 anos, hoje está denominação caiu em desuso, devido a alta incidência de diabetes tipo II em indivíduos jovens. O diabetes tipo II é uma doença multifatorial, sendo resultado de uma combinação de genes (“diabetogenes”) e de fatores ambientais (KAHN, C. R. *et al.*, 1994).

1.2.2. Insulina

A insulina é um hormônio capaz de induzir resposta anabólica no fígado, tecidos musculares e tecido adiposo, sendo importante para a homeostase de lipídios e carboidrato e, conseqüentemente, para o funcionamento do organismo. Além disso, a insulina regula vários processos fisiológicos em diferentes tipos celulares e tecidos como fluxo de íons, captação de aminoácidos, expressão gênica, proliferação celular, apoptose, rearranjo do citoesqueleto e regulação de enzimas celulares. (MASSEEN e OWENS, 1997; MYERS e WHITE, 1996.)

É essencial para a manutenção da homeostase glicêmica, do crescimento e diferenciação celular. Sendo esta secretada pelas células β das ilhotas pancreáticas em resposta ao aumento das concentrações circulantes de glicose (NOLAN et al. DAMM; PRENTIKI, 2011; WILLIAMS, 2002).

A insulina é mais conhecida por seu papel na regulação sanguínea, pois ela suprime a neoglicogênese hepática e promove a síntese e armazenamento de glicogênio no fígado e músculos (WILLIAMS et al 2002). Além disso, ela estimula a lipogênese no fígado e adipócitos e aumenta a síntese proteica (CAVALHEIRA; ZECHUIN; SAAD, 2002).

1.2.3. Cromo

O elemento cromo mineral foi descoberto por Vaquelin em 1797, e deu-lhe este nome porque para tratar com carvão que em temperaturas elevadas resultaram em um produto intensamente colorido (Barceloux , 1999) .

O cromo é encontrado na natureza como Cromita (FeCr_2O_4) um óxido duplo de ferro e cromo de coloração amarelo ocre. É um mineral que ocorre nas valências de -2 a $+6$, sendo as mais comuns $+2$ (Cr^{2+}), $+3$ (Cr^{3+}) e $+6$ (Cr^{6+}). Sua

forma mais comum presente nos alimentos é o Cr^{3+} (LOURENÇO, 2003; MITCHELL, 1978).

As funções atribuídas ao cromo abrangem principalmente o metabolismo de carboidratos, mas também o metabolismo lipídico, reduzindo a concentração plasmática de colesterol em indivíduos com dislipidemias (KHOSRAVI-BOROUJENI et al., 2011). No que se refere ao metabolismo de carboidratos, Mertz e Schwarz (1957) identificaram o fator de tolerância a glicose (GTF), um complexo orgânico de baixo peso molecular contendo Cr^{+3} associado a aminoácidos (ácido nicotínico, glicina, ácido glutâmico e cisteína), que estimula a captação de glicose pelas células de tecidos-alvo.

Sendo assim, a insulina tem como função participar do metabolismo energético, permitir a deposição de tecidos nos músculos, atuar no metabolismo das gorduras e regular a utilização do colesterol. Caso a glicose não seja utilizada pelas células do organismo devido a baixa atividade da insulina, esta é convertida em gordura. Caso os aminoácidos não consigam entrar no interior das células, os músculos não poderão ser formados (Anderson, 1988).

Em humanos, o cromo inibe indiretamente as enzimas de síntese de ácido graxo, responsáveis pela lipogênese, modificando o armazenamento de triglicerídeos mediados pela insulina, resultando em menor deposição de gordura (Kaats et al., 1998), tendo também um efeito positivo sobre a utilização e incorporação de aminoácidos e na síntese de proteínas, melhorando a transcrição do RNA (Okada et al., 1984).

Em muitos trabalhos relacionados à deficiência deste elemento, a ação da insulina é deprimida a ponto de alterar o metabolismo de carboidratos, aminoácidos e lipídios (MOWAT, 1997).

A suplementação de cromo pode ser feita em ambas as situações já que interferem na ação da insulina. Além deste efeito, a potencialização da ação da insulina estimula a absorção de glicose e aminoácidos, o que resulta em efeito anabólico, com conseqüente aumento na massa magra e diminuição da massa gorda (Pasman, 1997)

Cefalu e Hu (2004) observaram que o cromo inibe a fosfatase fosfotirosina, que separa o fosfato do receptor de insulina, promovendo uma diminuição da sensibilidade à insulina. Além disso, tem sido sugerido que o cromo aumenta a

ligação da insulina ao número de receptores insulínicos e, conseqüentemente, a sensibilidade das células beta pancreáticas.

A utilização somente da glicose ou da insulina para se determinar o efeito do cromo não são eficientes, porque a concentração de ambos é regulada de forma harmônica. As relações molares insulina/glicose e da taxa de desaparecimento de insulina e glicose foram mais eficientes do que a análise individual destes dois parâmetros. As relações molares insulina/glicose e da taxa de desaparecimento insulina/glicose sugerem aumento de sensibilidade do tecido à insulina. Em contraste aos animais no pós-parto, os animais no pré-parto não apresentaram efeito da suplementação de cromo, provavelmente efeito do tempo de suplementação (HAYIRLI et al. ,2001).

A maior parte do cromo ingerido através dos alimentos está na forma trivalente. A melhor fonte de cromo é o levedo de cerveja, no entanto, outras fontes incluem: carnes, fígado bovino, ovos, frango, ostras, trigo, pimentão, brócolis, suco de uva, batata, alho, maçã, banana, espinafre, pimenta, manteiga, melão, etc (ANGUIANO, 2007).

O cromo está presente em muitos suplementos nutricionais e plurimineral e encontra-se disponível na forma de sais: cloreto, picolinato, nicotinato, citrato e pidolato. O cloreto de cromo é absorvido em menor quantidade (0,4%) e o picolinato de cromo possui sua absorção aumentada (0,7-5,2%). (ANGUIANO, 2007). Atualmente, esse mineral tem sido utilizado como suplemento dietético em pacientes que necessitam de controle glicêmico. Evidências científicas apontam que a sua deficiência na dieta contribui para a intolerância à glicose e alterações relacionadas ao perfil lipídico. Isto se explica porque a função primária do cromo é a de potencializar os efeitos da insulina, com melhora da tolerância à glicose e, conseqüentemente, do metabolismo de carboidratos, lipídios. (GOMES, 2005).

Em dietas normais, o consumo médio diário de uma pessoa é de 50 a 80 mg de cromo, quantidade insuficiente para o funcionamento normal do organismo. A Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos recomenda uma ingestão diária de 100 a 200 mg de cromo para o ser humano (JAMARILLLO R 2007.).

As recomendações variam de acordo com a faixa etária - homens adultos: 19 a 50 anos: 35mg; maiores de 50 anos: 30mg; mulheres adultas: 19 a 50 anos: 35mg; maiores de 50 anos: 20mg (ANGUIANO, 2007). Mesmo assim, a Agência

nacional de Vigilância Sanitária estabelece como nível seguro o limite máximo de 1000 mcg /dia de cromo para adulto (Brasil, 1998).

Nesse sentido, acredita-se que o suplemento de cromo é essencial para os seres humanos e animais, especialmente para os diabéticos, uma vez que esses pacientes apresentam metabolismo alterado desse nutriente, necessitando de maiores quantidades deste suplemento nutritivo, devido a sua maior assimilação. Os diabéticos absorvem mais cromo que os não diabéticos por sofrer maiores perdas deste elemento pela urina (JARAMILLO, 2007).

1.2.3.1. Mecanismo de ação do cromo

O mecanismo de participação do cromo na ação da insulina começou a ser esclarecido em meados dos anos 1980 por meio do isolamento e da caracterização de um oligopeptídeo ligador de cromo, que inicialmente foi denominado substância ligadora de cromo de baixo peso molecular (low-molecular weight chromium-binding substance - LMWCr) (VICENT, 2000; YAMAMOTO, 1989.), sendo hoje conhecida por cromodulina, pelo fato da semelhança em estrutura e função com a calmodulina. Essa estrutura é formada por quatro íons de Cr^{+3} ligado a resíduos de glicina, cisteína, glutamato e aspartato e foi isolado em tecidos de várias espécies de mamíferos (GOMES et al., 2005).

Este mineral participa ativamente do metabolismo de carboidratos, principalmente co-atuando com a insulina de modo a potencializar a ação da mesma, melhorando a tolerância à glicose, levando então a uma absorção de glicose mais eficiente (MITCHELL, 1978; MARANGON e FERNANDES, 2005). Segundo achados pelos quais o cromo age, se propôs que esse mineral aumente a fluidez da membrana celular amplificando a sinalização celular de modo a facilitar a ligação da insulina com o seu receptor (EVANS, 2002; VICENT, 1999).

Somando ao fato de que aumenta o número de receptores de insulina e a sensibilidade das células β do pâncreas. Recentemente, o cromo foi caracterizado como componente do mecanismo de amplificação da sinalização intracelular de insulina, responsável pelo estímulo da translocação de GLUT-4, ou seja, um fator colaborador do aumento da sensibilidade de receptores insulínicos na membrana plasmática (VICENT, 1999).

Quando ocorre um aumento na glicemia, a insulina é rapidamente secretada para a circulação e liga-se na subunidade alfa de seu receptor, localizada na face externa da membrana plasmática. Esta alteração desencadeia uma serie de reações de fosforilação em cascata com o objetivo de estimular translocação dos transportadores de glicose (GLUTs) para a membrana plasmática (CAVALHEIRA; et. al, 2002).

Após a insulina ligar-se ao receptor da membrana plasmática, ocorre um estímulo ao movimento do cromo sanguíneo para as células insulino-dependentes, resultando na ligação da apocromodulina ao cromo (Figura 1). A cromodulina então se liga ao receptor de insulina, ativando a tirosina quinase. No entanto, o estímulo à ação da insulina é dependente do conteúdo de cromo na cromodulina.(YAMAMOTO; et. al, 1989).

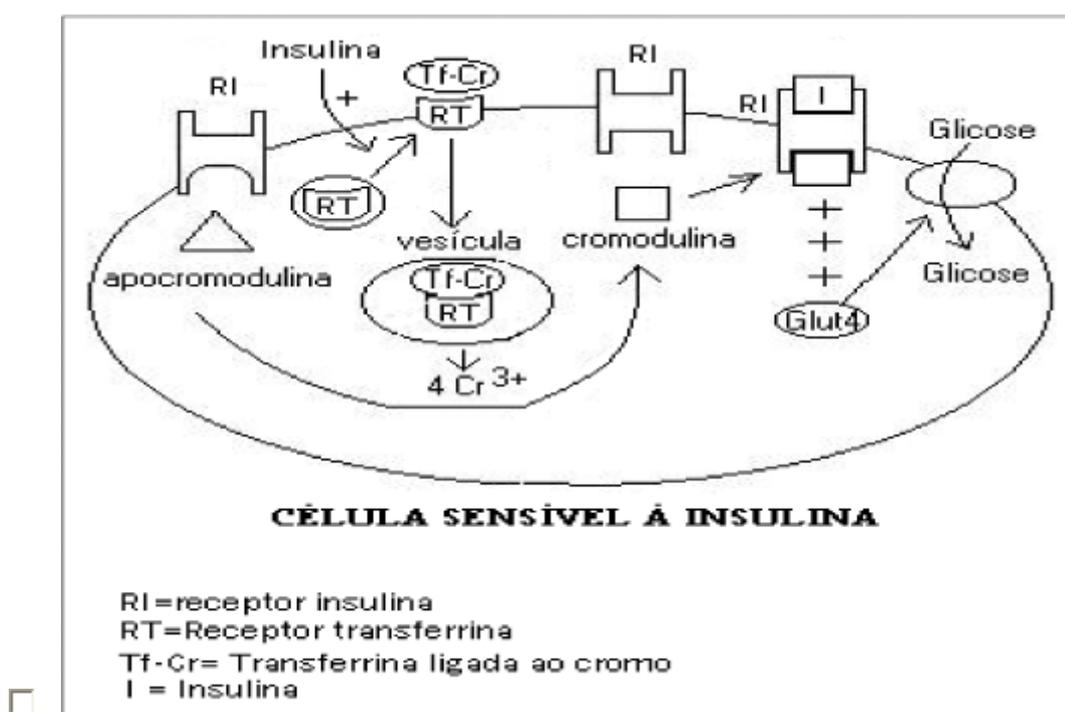


Figura 1: Mecanismo proposto da participação do cromo na ação da insulina.

Fonte: Vicente (2000); Sun et. al., (2005).

1.2.3.2. Biodisponibilidade dos quelatos

Deve-se salientar, porém, que os minerais na forma quelada nem sempre apresentam melhor biodisponibilidade que a forma de sal simples, caso do cromo

levedura e do cloreto de cromo, do ferro EDTA e do sulfato de ferro. O efeito do quelato vai depender basicamente das características do agente quelante, sendo de suma importância sua estabilidade no trato gastrintestinal e a solubilidade em água ou lipídeos (SHAH, 1981).

O requerimento mineral pode ser atendido pelos minerais presentes nos alimentos ou pela adição de minerais à dieta, na forma de sal simples ou complexado. A simples ingestão destes não implica na consequente absorção por inúmeros fatores. Sabe-se que os minerais na forma de sais solúveis são mais biodisponíveis que os presentes nos alimentos. Os elementos minerais na forma de sulfatos são mais absorvidos que óxidos e carbonatos. Um fator de suma importância com relação à biodisponibilidade de minerais inorgânicos diz respeito à solubilidade, ou seja, quanto maior a solubilidade em água, maior será a biodisponibilidade (MELLO, 1998).

Os minerais metálicos na forma de sal simples, para serem absorvidos no intestino delgado, devem, durante o trânsito no trato gastrintestinal, dissociarem-se liberando íons metálicos (cátions). (MELLO, 1998).

O simples fato de se dissociarem não garante a absorção, pois o processo de passagem pela membrana celular, no intestino delgado, é dependente de proteínas transportadoras, também denominadas ligantes. O complexo formado entre a molécula transportadora e o íon metálico deverá apresentar carga total neutra, caso contrário, não ocorrerá absorção. Os diversos microminerais competem entre si pelas proteínas transportadoras, sendo que o excesso de certos elementos minerais poderá reduzir a biodisponibilidade de um ou mais elementos (MELLO, 1998).

A absorção de minerais como zinco, cálcio e cromo no intestino delgado pode ser afetada por fatores como a presença de agentes infecciosos ou enteropatias e fatores relacionados ao hábito alimentar como a presença de óleo mineral, laxativos, consumo de grande quantidade de fibra, fitatos, oxalatos, micotoxinas e presença de elementos que complexam outros minerais (ERDMAN, 1983).

Após a absorção, o cromo pode ser estocado em vários tecidos do organismo, sem possuir um local específico necessariamente mas totalizando em média um pool de 4 a 6 mg. (GIBSON, 1990). A maior quantidade de cromo parece estar distribuída no fígado , rins, baço e epidídimo. (HOPKINS, 1965).

Chen et al. (1973) testaram a influência de agentes quelantes (oxalato, fitato, citrato e EDTA) na absorção intestinal do cromo em ratos. Os autores observaram

redução na absorção *in vitro* e *in vivo*, quando foi incluído o fitato, e aumento na absorção, quando foi utilizado o oxalato.

1.3. Hipótese

O cromo na forma de complexo com a metionina promoverá redução nos níveis séricos de glicose, em animais obesos e hiperglicêmicos, culminado na redução do tecido adiposo abdominal.

1.4. Objetivo geral e específicos

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos terapêuticos do cromo (complexo com metionina) em camundongos senis e obesos visando reduzir a glicemia, ganho de massa magra bem como perceber o mecanismo de ação do cromo através de atributos bioquímicos e hematológicos.

De modo específico, pretendeu-se:

1. Desenvolver e avaliar um complexo cromo/metionina, de alta solubilidade e estabilidade, para uso inicial na nutrição animal;
2. Avaliar o complexo de cromo/metionina no tratamento da hiperglicemia oriunda da obesidade;
3. Determinar os efeitos do complexo sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos;
4. Avaliar os efeitos do complexo sobre a dinâmica peso vivo, consumo de ração e a gordura visceral.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local de condução

A condução experimental e, análises laboratoriais, foram realizadas no laboratório de PD&I alocado na Universidade Brasil, Campus de Descalvado e no Departamento de Tecnologia, Laboratório de Biogeoquímica, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal.

2.2. Unidades experimentais e manejo

Como unidades experimentais foram utilizados camundongos Swiss, fêmeas, linhagem isogênica, obtidos em biotério certificado. Sessenta fêmeas, com idade média de 4 semanas, foram adquiridas e separadas aleatoriamente em grupos de 20 animais em gaiolas nas medidas de 49x34 cm, com malha de 0,5cm, contendo serragem de madeira no fundo. Estes animais permaneceram nestas gaiolas por 26 semanas.

Os grupos experimentais e controles permaneceram sob idênticas condições ambientais, em lugar arejado e com temperatura ambiente equivalente à média local para a época do ano (aproximadamente 25 °C), no escuro e à luz artificial durante ciclos alternados de 12 horas, alimentados com água filtrada e ração comercial (Probiotério MP77), *ad libitum*, disponibilizadas nos comedouros e bebedouros das gaiolas.

Ao final do período de 28 semanas (32 semanas de idade), os animais foram separados em grupos de 2 indivíduos, transferidos para gaiolas nas medidas de 30x20 e identificados individualmente através da pintura de parte da cauda com cores diferentes, com tinta atóxica e resistente a água.

Procedeu-se a pesagem e a identificação de animais com peso normal e obesos. Consideramos os animais como obesos quando o peso do animal era superior a 60 gramas e como peso normal animais entre 45 e 50 gramas (Figura 2). Dos 60 animais iniciais selecionou-se 36, descartando-se os com peso muito superior ou inferior à média de cada grupo. Os animais foram submetidos a

adaptação ao novo alojamento e a dieta experimental, ao final foram pesados novamente, tendo início do período experimental.

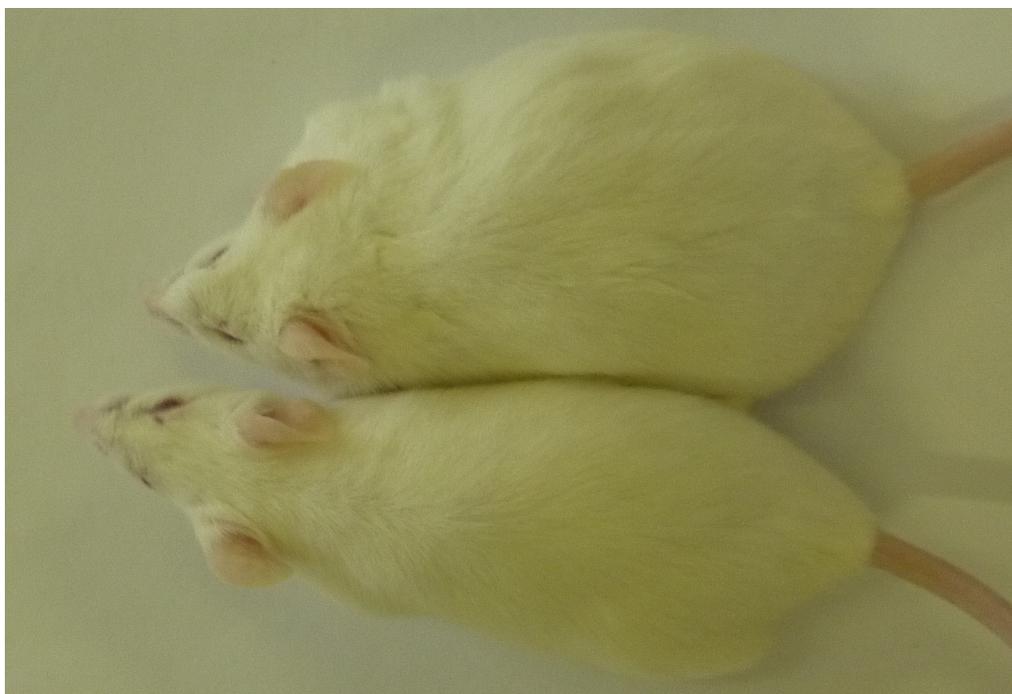


Figura 2: Na parte superior, animal representativo do tratamento obeso e, na parte inferior, animal considerado como peso normal (BC 3,5).
O animal obeso foi classificado com BC 4,5 segundo Culleré et al., 1999.

O cronograma de execução do experimento, com os principais marcos, pode ser observado na Figura 3.

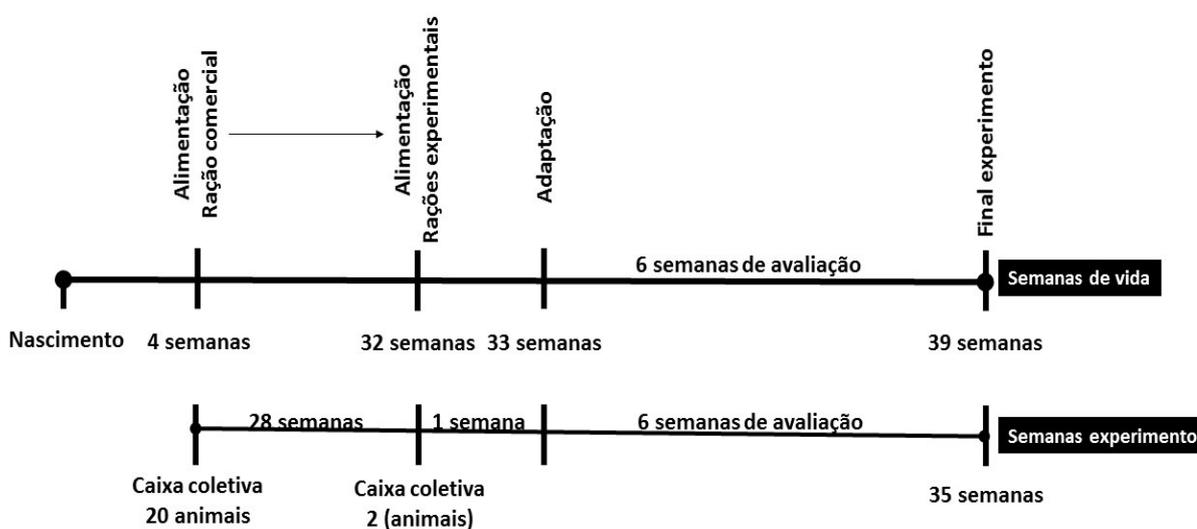


Figura 3: Ilustração do cronograma de execução do experimento com os principais marcos. Na linha superior, o tempo demonstra a idade dos animais e na linha inferior os tempos envolvidos em cada fase experimental.

2.3. Delineamento experimental

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de análise fatorial, com 3 tratamentos principais e 2 tratamentos secundários, sendo cada tratamento composto por 6 unidades experimentais, distribuídos em 3 gaiolas.

Os tratamentos principais avaliados foram: TC (tratamento controle – ração comercial); TI (cromo na forma de cloreto cromo - 100 mg.kg^{-1} ração); TO (cromo orgânico complexado com metionina – 100 mg.kg^{-1} ração). Os valores de inclusão na deita foram estabelecidos com o intuito de obter um consumo médio diário de 0,5 a $0,7 \text{ mg/kg}^{-1}$ de cromo (consumo médio de ração de 7 gramas)

2.4. Complexo de cromo e incorporação na dieta

As fontes de cromo avaliadas, foram desenvolvidas na empresa NewAgri, sediada no município de Descalvado/SP através de parceria de inovação tecnológica.

A ração comercial para camundongos (Probiotério MP77) foi triturada, peneirada e pesada, assim como as fontes de cromo para os tratamentos.

A ração moída, água (60% do peso de ração) e a fonte de cromo foram transferidas para misturador tipo *ribbon blender* (capacidade para 15 kg), sendo o material homogeneizado por 20 minutos. Posteriormente, as rações TC, TI e TO foram submetidas à formação pellets, sem aquecimento, com características similares ao pellet inicial. Para facilitar a identificação das rações utilizou-se corante verde em diferentes quantidades (Figura 4). A quantidade de ração preparada foi equivalente ao consumo durante três semana e a mesma foi acondicionada, em sacos plásticos hermeticamente fechados. As rações controle (TC) e cromo inorgânico (TI) receberam a quantidade equivalente a adição ocorrida no tratamento cromo orgânico (cromo/metionina)

A composição química das rações está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Composição bromatológica das rações utilizadas no experimento. Dados expressos na matéria seca.

Atributos	Tratamentos/Rações		
	Controle	TI	TO
Matéria seca, %	11,25	12,55	11,10
Proteína bruta, % MS	24,33	23,99	23,95
Fibra bruta, % MS	9,82	9,55	9,91
Matéria mineral, % MS	6,82	7,22	6,99
Cálcio, % MS	0,77	0,75	0,79
Fósforo, % MS	0,52	0,49	0,54
Cromo, mg/kg MS	0,21	103,56	101,64
Cobre, mg/kg MS	1,82	1,95	1,83
Ferro, mg/kg MS	10,22	11,15	10,90
Manganês, mg/kg MS	55,23	56,90	53,23
Selênio, mg/kg MS	0,088	0,094	0,099
Zinco, mg/kg MS	38,56	39,45	37,02

Ração enriquecida com 9.000 UI/kg de vitamina A, 12 mcg/kg de vitamina B12, 5 mcg/kg de vitamina B2; 1.500 UI/kg de vitamina D3, 4 mg/kg de vitamina E, 2 mg/kg de vitamina K3, 300 mg/kg de cloreto de colina, 400 mg/kg de metionina, 30 mg/kg de niacina, 10 mg de pantotenado de cálcio e BHT como antioxidante (10 mg/kg).



Figura 4: Características dos pellets de rações (TC, TI e TO) utilizadas. Da esquerda para a direita observa-se a ração controle (TC), ração contendo 100 mg/kg MS de cromo inorgânico (TI) e ração contendo 100 mg/kg MS de cromo orgânico (TO)

2.5. Duração experimental

O experimento teve duração de 35 semanas, dos quais 28 semanas foram utilizadas para diferenciação de peso entre indivíduos, que constituíram o tratamento secundário – obesidade, 1 semana para adaptação a nova gaiola, companheira e a dieta e 6 semanas de avaliação experimental.

2.6. Manejo semanal

Semanalmente foram determinados o consumo de ração e o peso dos camundongos, procedimento realizado sempre as 7:00 da manhã, utilizando balança semi analítica.

2.7. Pesagem dos animais e consumo de ração

Os animais foram pesados semanalmente, no entanto, os dados foram apresentados em intervalos de 14 dias. Os dados de consumo de ração estão expressos em g/dia.

2.8. Glicemia

Na determinação da glicemia, os animais foram mantidos em jejum prévio de 6 horas e, através de punção da veia lateral da cauda, a glicemia foi avaliada com o uso de glucometer.

3. RESULTADOS E DISCUÇÃO

3.1. Peso corpóreo

A análise estatística realizada no tempo zero teve como objetivo verificar a eficiência do procedimento utilizado na separação dos animais para a formação dos grupos experimentais. Pode-se observar na Tabela 2 que não houve diferença estatística entre os tratamentos principais (TC, TI e TO), no entanto, houve efeito significativo para o tratamento secundário (animais normais e animais obesos), sendo a diferença média entre estes dois grupos de 11,66 gramas.

Os fatores avaliados, fontes de suplementação e peso, apresentaram efeitos independentes e, durante todo o período, os tratamentos secundários (peso) apresentaram o mesmo comportamento, sendo o grupo obeso sempre superior em peso aos animais normais ($p < 0,05$).

Tabela 2. Peso vivo corpóreo, expresso em gramas, de camundongo+os swiss, normais ou obesos, suplementados com diferentes fontes de cromo.

Períodos	Peso	Suplementação			Médias	
		TC	TI	TO		
Dia zero	Normal	50,66	50,30	48,78	49,91	B
	Obesos	62,51	60,73	61,48	61,57	A
	Médias	56,59	a 55,51	a 55,13	a	
14 ^o dia	Normal	52,93	50,56	48,37	50,62	B
	Obesos	62,21	59,45	58,91	60,19	A
	Médias	57,57	a 55,00	a 53,64	a	
28 ^o dia	Normal	54,43	53,73	48,88	52,35	B
	Obesos	62,70	60,23	59,03	60,65	A
	Médias	58,56	a 56,98	ab 53,95	b	
42 ^o dia	Normal	54,21	52,61	48,46	51,76	B
	Obesos	62,45	59,78	59,10	60,44	A
	Médias	58,33	a 56,20	ab 53,78	b	

Letras minúsculas comparam média na linha (tratamento principal, fontes de cromo) e, letras maiúsculas comparam médias na coluna (tratamento secundário, condição corporal) pelo teste SNK ($p < 0,05$). TC=ração controle; TI= ração com adição de cromo inorgânico; TO= ração com adição de cromo orgânico.

Até o 14^o dia do período experimental não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da suplementação de cromo sobre o peso vivo dos animais. No entanto, as pesagens realizadas no 28^o e 42^o dias de condução experimental houve efeito significativo das fontes de suplementação de cromo ($p < 0,05$) sendo observada

diferença entre pesos de 4,61 e 4,55 entre os tratamentos TC (controle) e TO (cromo orgânico) nas pesagens realizadas no 28^o e 42^o dias, respectivamente. Pode-se observar que a magnitude de redução observada no 28^o dia não se repetiu no período subsequente. O tratamento TI (cromo inorgânico) não diferiu significativamente ($p>0,05$) dos demais tratamentos.

Um enigma persiste em relação ao papel biológico de Cr sobre o peso corporal e da composição da massa corporal. Se Cr (III) potencializa a ação da insulina, deve agir como um agente anabólico. Assim, Cr (III) deve regular a síntese de proteínas e promover o ganho de músculo e massa corporal magra. No entanto, o mecanismo pelo qual suplementar Cr (III) promove a perda de peso e de gordura, tal como hipotética, é desconhecido. Uma hipótese poderia sugerir que o Cr (III) tem um efeito inexplicável no aumento do gasto energético (VINCENT, 2007).

3.2. Consumo de ração

No consumo de ração não foi observado efeito de interação entre a condição corpórea em função da suplementação de diferentes fontes de cromo. Houve efeito significativo, somente para o primeiro período de amostragem, das fontes de suplementação de cromo, em que, os animais suplementados com cromo orgânico apresentaram consumo de ração superiores aos do tratamento controle. A condição corpórea não influenciou o consumo de ração, expresso em g/animal.dia^{-1} .

Dados contraditórios podem ser encontrados na literatura e semelhantemente do que foi observado neste experimento, Mahmood et al., (2005) que suplementaram ratos UNX com 5m/kg de cromo picolinato, por 60 dias, não observaram alterações no consumo de alimento diário.

Tabela 3. Consumo de ração, expresso em gramas/animal.dia⁻¹, de camundongos swiss, normais ou obesos, suplementados com diferentes fontes de cromo.

Períodos	Peso	Suplementação/Tratamentos					Médias	
		Contro	TI	TO				
0 - 14 ^o dia	Normal	4,96		5,58		5,94	5,49	A
	Obesos	4,63		4,65		6,06	5,12	A
	Médias	4,80	b	5,12	ab	6,00	a	
14 ^o - 28 ^o dia	Normal	6,52		6,96		6,48	6,65	A
	Obesos	5,66		5,60		6,54	5,93	A
	Médias	6,09	a	6,28	a	6,51	a	
28 ^o - 42 ^o dia	Normal	6,38		6,20		5,80	6,12	A
	Obesos	5,94		5,29		6,05	5,76	A
	Médias	6,16	a	5,75	a	5,92	a	

Letras minúsculas comparam média na linha (tratamento principal, fontes de cromo) e, letras maiúsculas comparam médias na coluna (tratamento secundário, condição corporal) pelo teste SNK ($p < 0,05$). **TC**=ração controle; **TI**= ração com adição de cromo inorgânico; **TO**= ração com adição de cromo orgânico.

3.3. Glicemia

Não foi observado efeito significativo ($p > 0,05$) da suplementação de cromo sobre a concentração de glicose sérica e, independente da suplementação, os animais em condição de sobrepeso apresentaram concentrações séricas de glicose superiores aos animais com peso normal.

O tecido adiposo modula o metabolismo pela liberação de ácidos graxos livres (AGL), glicerol, citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e hormônios, incluindo a leptina e a adiponectina. O aumento da produção da maioria desses fatores, na obesidade, compromete a ação da insulina nos órgãos-alvo, atuando, principalmente, na sua cascata de sinalização e levando à resistência insulínica (SAUTER et. al, 2008)

O cromo é um suplemento nutricional que é defendido como uma terapia adjuvante para intolerância à glicose/ diabetes tipo 2, pois melhora a homeostase da glicose. Uma diversidade de resultados pode ser encontrada na literatura fato que pode ser justificado pela fonte de cromo, dieta (quantidade de fibra e tipos de carboidratos), espécie animal (monogástricos e ruminantes) entre outros fatores de menor impacto.

Mahmood (2005) suplementou ratos UNX com 5m/kg de cromo picolinato por 60 dias e, embora as concentrações de glicose no sangue, no estado de não jejum,

foram semelhantes entre os 2 grupos (suplementados e controle), a concentração de insulina no plasma foi menor no suplementado, sugerindo melhoria da sensibilidade à insulina.

Tabela 4. Glicose sérica, expresso em mg/dL, de camundongos swiss, normais ou obesos, suplementados com diferentes fontes de cromo em amostra obtida após 6 semanas de suplementação.

Peso	Suplementação			Médias	
	TC	TI	TO		
Normal	97,83	90,33	91,50	93,22	B
Obesos	111,55	112,47	101,33	108,45	A
Médias	104,69	a	101,40	a	

Letras minúsculas comparam média na linha (tratamento principal, fontes de cromo) e, letras maiúsculas comparam médias na coluna (tratamento secundário, condição corporal) pelo teste SNK ($p < 0,05$). TC=ração controle; TI= ração com adição de cromo inorgânico; TO= ração com adição de cromo orgânico.

4. CONCLUSÃO

A obesidade promoveu concentrações séricas superiores de glicose nos camundongos swiss e, a suplementação com complexo cromo/metionina, não alterou a concentração séria se glicose, no entanto, esta fonte promoveu redução no peso corpórea a partir do 28º dia de suplementação sem alterar o consumo de ração. A forma orgânica mostrou-se mais eficiente que a inorgânica para redução de peso corpóreo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, Standart of medical care in Diabetes 2011. *Diabetes Care* 2011; 34 S10-S61.

AHMED, N.; DAWSON, M.; SMITH, C. and Wood, E. (2007). *Biology of Disease*. First Edition. Taylor & Francis..

ANDERSON, R. A. 1988. Chromium, History and nutritional importance. *Biological Trace Element Research*, Totowa, v. 32, Nº 3. pp: 409-421.

ANDERSON, R. A. Chromium, Glucose Intolerance and the American College of Nutrition, 17, pp. 548-555.

ANGUIANO A, GASCÓN M, CRUZ A. Evidencias del efecto del cromo en personas con diabetes: revisión sistemática. **Rev Biomed** 2007; 18(2):117-126.

ARSA G, LIMA L, ALMEIDA S, MOREIRA SR, CAMPBELL CSG, SIMÕES HG. Diabetes *mellitus* tipo 2: aspectos fisiológicos, genéticos e formas de exercício físico para seu controle. **Rev. bras. cineantropom. desempenho hum** 2009; 11(1):103-111. 3

BARCELOUX D.G. 1999. Chromium Clinical Toxicology, Vol.37; pp: 173–194.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Normas para Níveis de Dosagens de Vitaminas e Minerais em Medicamentos. Portaria nº 40 de 13 de Janeiro de 1998. Disponível em: http://WWW.anvisa.gov.br/legis/portaria/40_98.htm. Acesso em 27 fevereiro 2016

CAVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H . G.; SAAD, M. J. A. Vias de sinalização de insulina *Arquivos Brasileiros de endocrinologia e metabologia São Paulo*, v. 46, n. 4, p. 419 - 425, 2002.

CEFALU WT, HU FB. Role of chromium in human health and Diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(11):2741-51.

CHEN, N. S. C.; TASI, A.; DYER, I. A. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats. **J Nutr**, Bethesda, n.103, p.1182-1186, 1973.

CHOI, K.; KIM, Y.B. Molecular mechanism of resistance in obesity and type 2 diabetes. **The Korean Journal of internal Medicine**, Seoul, v25 n. 2, p. 119-129, 2010.

DEVLIN, T. (2006). Textbook of Biochemistry with clinical correlations. Sixth Edition. Wiley-Liss

diabetes epidemic. **Nature**, v. 414, p. 782 – 787, 2001.

ERDMAN, J. W. Factors that limit or enhance bioavailability of minerals from food. **Nutr and the M.**, v.9, n.2, p 1-2, 1983.

EVANS, G.; BOWMAN, T. D.. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization. *J. Inorg. Biochem.* 6:243-250. 2002.

FLORES CR, et al. Trace elements status in diabetes mellitus type 2: Possible role of interaction between molybdenum and copper in the progress of typical complications. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 91: 333-341

Gibson RS. Principles of nutrition assessment. New York: Oxford University Press 1990. Hopkins LL Jr. Distribution in the ratio of physiological amounts of injected Cr (III) with time. *Am J Physiol* 1965; 209:731-5.

GOMES M, ROGERO M, TIRAGEGUI M. *Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico*. In: **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** 2005; 11(5): 262-266.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; AZEVEDO, M. J.. Diabetes Mellitus: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 46 (1), p. 16 – 26, 2002.

HAYIRLI, A. et al. Effects of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cow. **J Dairy Sci**, Champaign, v.84, p.1218-1230, 2001.

HIMSWORTH HP, KERR RB. Insulin-sensitive and insulin-insensitive types of diabetes mellitus. *Clin Sci.* 1939; 4:119-52.

JARAMILLO R. Importância del cromo em el organismo de personas com diabetes tipo II. **Revista Tecnociencia Universitaria Bolivia** 2007; 5(5):5.

KAATS, G.R.; BLUM, K.; PULLIN, D.; KEITH, S.C.; WOOD, R. A randomized, double-masked, placebo-controlled study of the effects of chromium picolinate supplementation on body composition: a replication and extension of a previous study. *Current Therapeutic Research*, v.59, p.379-388, 1998

KAHN, C. R. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. **Diabetes**, v. 43, p.1066 – 1084, 1994

KELLY G. S.. Insulin resistance: lifestyle and nutritional interventions. *Altern Med Rev.* 2000; 5(2):109-32.

KHOSRAVI-BOROUJENI, H, ROSTAMI, A.; RAVANSHAD, S, ;ESMAILZADEH A. Favorable effects on metabolicrisk factors were observed with a daily intake of brewer's yeastin type 2 diabetic patientswith hypercholestelolemia: a semi-experimental study. *Journal of Diabetes*. Richmond, 2011.

LAU F. C. ; BAGCHI M. ; SEN C. K. ; Nutrigenomic basis of beneficial effects of chromium on obesity and diabetes. *Mol Cell Biochem.* 2008; 317(1-2):1-10.

LIONEL OP (2007). Metabolic syndrome. *Circulation*, 115: 32-35

LOURENÇO, L. M.. Estudo espectrofotométrico do sistema crômio (III) / azoteto e seu aproveitamento analítico. Ribeirão Preto, 2003. 113 F. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Química – Universidade de São Paulo). 2003

MAASSEN, J,A.; OUWENS, D. M. Mechanism of Insulin Action. *Molecular Pathogenesis of Diabetes Mellitus*, v.22 , p. 201-221, 1997.

MALERBI, D. A. ; FRANCO, L. J.. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian popalation aged 30-69 yr. *Diabetes care*, Alexandria, v.15, n. 11, p.1509-1516, 1992.

MARANGON, A. F. C.; FERNANDES, L. G. M. O uso do picolinato de cromo como coadjuvante no tratamento da diabetes mellitus. Universidade ciências da saúde, VOL.3 N.2, P. 253-260, 2005.

MELLO C. A. O que há de novo na mineralização. **Leite Brasil**, São Paulo, v.1 , n.6, p.8-14, 1998.

MERTZ W. Chromium in human nutrition: a Review. *J Nutr* 1993; 123:626-33.

MERTZ, W.; SCHAWARZ, K. A glucose tolerance factor and its differentiation from factor 3. **Archives of Biochemistry and Biophysics** , New York, v72, n.2, p. 515 – 518, 1957.

MITCHELL, H. S.; RYNBERGEN, H. J., ANDERSON, L.; DIBBLE, M. V.. Nutrição. 16^o. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978. P. 60-71.

MITCHELL, H. S.; RYNBERGEN, H. J., ANDERSON, L.; DIBBLE, M. V.. Nutrição. 16^o. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978. P. 60-71.

MOONSIE-SHAGEER, S.; MOWAT, D. N. Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents and immune status of stressed feeder calves. **J Anim Sci**, Champaign, v.71, p.232-238, 1993.

MOWAT, D. N. **Organic chromium**, Chromium Books, 258p., 1997.

MYERS, M. G.; WHITE, M. F. Insulin signal transduction and the IRS protein. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v36; p.615 – 58.

NOLAN, C.J.; DAMM, P.; PRENTTKI, M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *The Lancet*, Boston, v.378, n.9786, p. 169-181, 2011.

OKADA, S.; TSUKADA, H.; OHBA, H. Enhancement of nucleolar RNA synthesis by chromium (III) in regenerating rat liver. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.21, p.113-124, 1984

ORTIZ MCA, ZANETTI ML. Levantamento dos fatores de risco para diabetes *mellitus* tipo 2 em uma instituição de ensino superior. **Rev Latino-am Enfermagem** 2007; 9(3):58-63

PASMAM, W. J. , WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. , SARIS, W. H. M. 1997. The effectiveness of lon-term supplementations of carbohydrate, chromium, fibre and caffeine on weight maintenance, In *Internacional Jornal of obesity*, 21 pp 1143-1151.

SHAH, B. G.; Chelating agents and bioavailability of minerals. **Nutr Res** , Tarrytown, v.1, n.6, p.617-622, 1981.

Sun Y, Ramirez J, Woski AS, Vicent JB. The bilding of trivalente chromiu to low-molecular-Weight , chromium bilding substance (LMW Cr) and the transfer of chromium from transferrin and chromium picolinate to LMW Cr. *J Biol Inorg Chen* 2005 :5: 129-36

Ullman-Culleré, Mollie H., and Charmaine J. Foltz. "Body Condition Scoring: A Rapid and Accurate Method for Assessing Health Status in Mice." *Laboratory Animal Science* 49.3 (1999).

VICENT, J. B.. Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium - binding substance. *J Am Coll Nutr* 1999;18:6-12.

VINCENT JB. The biochemistry of chromium. *J Nutr* 2000;130:715-8

WHITE, M.F. The insuling signalling system and the IRS proteins. **Diabetologia**, v40, p.2 – 17, 1997.

WILLIAMS, M,; LIPPNCOTT, T,; WILKINS, B.. Atlas of Diabetes. Ed. Jay S. Skyler; p. 248; 2002.

YAMAMOTO A, WADA O, MANABE S. Evidence that chromium is an essential factorfor biological activity of low-molecular-weight chromium-binding substance. *Bio-chem Biophys Res Commun* 1989;163:189-93.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K. G. M. M.; SHAW, J. Global and societal implications of the

SAUTER, N.S.; SCHULTHESS, F.T.; GALASSO, CASTELLANI, L.W.; MAEDLER, K. The Antiinflammatory Cytokine Interleukin-1 Receptor Antagonist Protects from High-Fat Diet-Induced Hyperglycemia. *Endocrinology*, v.149, n.5, p.2208-2218, 2008.

MAHMOOD S. MOZAFFARI, CHAMPA PATEL, CLAUDIA BALLAS, STEPHEN W. SCHAFFER. Effects of chronic chromium picolinate treatment in uninephrectomized rat. *Metabolism*. 2005 September; 54(9): 1243–1249. doi: 10.1016/j.metabol.2005.04.011.

VINCENT, J. B. *The nutritional biochemistry of chromium (III)*. Amsterdam: Elsevier, 2007. 279 p.

RESENHA BIOGRÁFICA DO AUTOR