

Universidade Camilo Castelo Branco

Campus Descalvado

SIMONE FERRO RIBEIRO

**COMPLEXOS DE VANÁDIO, DE USO ORAL, COMO AGENTE
HIPOGLICEMIANTE**

COMPLEX VANADIUM, ORAL USE AS AGENT ANTIDIABETIC IN MICE WISTAR
OBESE

Descalvado,SP

2016

Simone Ferro Ribeiro

**COMPLEXOS DE VANÁDIO, DE USO ORAL, COMO AGENTE
HIPOGLICEMIANTE**

Orientador: Prof. Dr. Paulo Moura Dian

Co-orientador: Prof. Gabriel Maurício Peruca Melo

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

Descalvado,SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Ribeiro, Simone Ferro

R372c Complexos de Vanádio, de uso oral, como agente hipoglicemiante / Simone Ferro Ribeiro. -- Descalvado, 2016.
40 f. : il. ; 29,5cm.

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

Orientador: Profº Dr. Paulo Moura Dian

Co-orientador: Profº Dr. Gabriel Maurício Peruca Melo

1. Complexo metionina. 2. Glicose. 3. Mineral orgânico. 4. Obesidade. I. Título.

CDD 636.08951

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

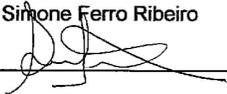
Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a UNICASTELO a disponibilizar através do site <http://www.unicastelo.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como 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.

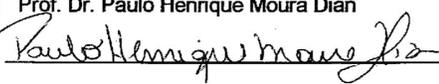
Título do Trabalho: "COMPLEXOS DE VANÁDIO, DE USO ORAL, COMO AGENTE HIPOGLICEMIANTE"

Autor(es):

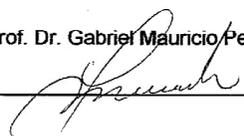
Discente: Simone Ferro Ribeiro

Assinatura:  _____

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian

Assinatura:  _____

Co-orientador: Prof. Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo

Assinatura:  _____

Data: 24 de março de 2016

DEDICATÓRIA

DEDICO ESTE TRABALHO AOS MEUS FILHOS RODRIGO E JULIA E AO MEU MARIDO MARCELO PELO APOIO INCONDICIONAL E INCENTIVO CONSTANTE.

DEDICO TAMBÉM AO MEU ORIENTADOR PROFESSOR DR. PAULO MOURA DIAN E AO MEU CO - ORIENTADOR 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.

COMPLEXOS DE VANÁDIO, DE USO ORAL, COMO AGENTE HIPOGLICEMIANTE

RESUMO

Estudos sobre a suplementação da dieta com o vanádio se fazem pertinentes e necessários, de modo a fornecer subsídios para a correta suplementação deste elemento, que é considerado tóxico. O Objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos terapêuticos do vanádio, em camundongos, senis e obesos, visando reduzir a glicemia e ganho de massa magra. 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. Os tratamentos principais avaliados foram: TC (tratamento controle – ração comercial); T1 (vanádio na forma de cloreto vanádio - 100 mg.kg⁻¹ ração); TO (vanádio inorgânico 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 vanádio (consumo médio de ração de 7 gramas). 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 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. Concluiu-se que o vanádio na forma de complexo apresentou efeito hipoglicemiante e promoveu a redução de peso corpóreo.

Palavras-chave: complexo metionina, glicose, mineral orgânico, obesidade

COMPLEX VANADIUM, ORAL USE AS AGENT ANTIDIABETIC IN MICE WISTAR OBESE

ABSTRACT

Studies on supplementation of the diet with vanadium are necessary and relevant, so as to provide subsidies for the correct supplementation of this element, which is considered toxic. The objective of the present work was to study the therapeutic effects of vanadium, in mice Suis, obese, and senile to reduce blood glucose and gain lean mass. The experiment was completely randomized in a factorial analysis scheme, with three main treatments and 2 secondary treatments, with each treatment consists of 6 experimental units. The main treatments evaluated were: TC (control treatment - commercial feed); IT (vanadium in the form of vanadium chloride - 100 mg.kg⁻¹ feed); TO (inorganic vanadium complexed with methionine - 100 mg.kg⁻¹ feed). The inclusion of the values lies were established with the sensed to obtain an average daily intake from 0.5 to 0.7 mg / kg⁻¹ of vanadium (average feed intake of 7 grams). The experiment lasted 35 weeks, including 28 weeks were used to differentiate between weight individuals who were the secondary treatment (obesity), 1 week for adaptation to diet and 6 weeks of experimental evaluation. The animal weight and feed intake were measured weekly and the results presented in intervals of 14 days. In the determination of glucose, after 42 days of supplementation, the animals were kept fasting for three hours by puncturing the lateral tail vein using glucometer. It is concluded that vanadium in the form of complex presented hypoglycaemic effect and promoted the reduction of body weight.

Keywords: glucose, methionine complex, obesity, organic mineral

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema dos efeitos gerais da insulina 18
- Figura 2:** Na parte superior, animal representativo do tratamento obeso e, na parte inferior, animal considerado como peso normal (BC 3,5). A animal obeso foi classificado com BC 4,5 segundo Culleré et al., 1999.....25
- 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.....25
- 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 vanádio inorgânico (TI) e ração contendo 100 mg/kg MS de vanádio orgânico (TO) .28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composição bromatológica das rações utilizadas no experimento.
Dados expressos na matéria
seca.....27
- Tabela 2:** Peso vivo de ratos normais e obesos, submetidos à suplementação
com vanádio inorgânico e
orgânico.....30
- Tabela 3:** Tabela 3: Consumo, em gramas, de ratos normais e obesos,
submetidos à suplementação com vanádio inorgânico e orgânico 31
- Tabela 4:** Níveis de glicose de ratos normais e obesos, submetidos a
suplementação com vanádio inorgânico e orgânico aos 42 dias após o início da
suplementação 32

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DM	Diabetes mellitus
IV	Vanadil
ppb	Partes por bilhão
ppm	Partes por milhão
TC	Tratamento controle
TI	Vanádio na forma de cloreto vanádio
TO	Vanádio inorgânico complexado com metionina
V	Vanadato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Relevância do tema	14
1.2. Fundamentação	15
1.2.1. Diabetes	15
1.2.2. Insulina	18
1.2.3. Vanádio	19
1.2.4. Biodisponibilidade dos minerais.....	21
1.3. Hipótese	23
1.4. Objetivo geral e objetivos específicos	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1. Local de condução	25
4.2. Unidades Experimentais e manejo.....	25
4.3. Delineamento experimental	27
4.4. Quelatos de vanádio e incorporação na dieta.....	27
4.5. Duração experimental	29
4.6. Manejo semanal.....	29
4.7. Pesagem dos animais e consumo de ração	29
4.8. Glicemia	30
5. RESULTADOS E DISCUÇÃO	31
5.1. Peso corpóreo.....	31
5.2. Consumo de ração.....	32
5.3. Glicemia	33
6. CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	35

1. INTRODUÇÃO

1.1. Relevância do tema

Estudos relacionados com a suplementação da dieta com o vanádio se fazem pertinentes e necessários, 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, pois o vanádio, muitas vezes é considerado como elemento tóxico.

Deficiência na secreção e/ou na ação da insulina resulta, na doença Diabetes mellitus que é caracterizada, principalmente, pela presença de hiperglicemia. O Diabetes mellitus do tipo II (não dependente de insulina) é o mais comum e pode causar sérias complicações crônicas no sistema circulatório, excretório e nervoso (GROSS et al., 2002). Os compostos de vanádio fazem parte de um conjunto de novas drogas que possuem grande potencial para o tratamento da diabetes, pela sua ação insulinomimética e antidiabética (MOLLER, 2001; BAILEY, 2000; EMILIEN et al., 1999).

A importância biológica dos compostos de vanádio tem vindo a ser enunciada por vários investigadores, principalmente pela sua interação com as proteínas, sistemas enzimáticos e constituintes celulares.

A suplementação de vanádio na forma de sais inorgânicos não é uma técnica eficiente, sendo aconselhável a utilização deste na forma de quelato ou complexos. O vanádio, na forma de sal, é extremamente tóxico, sendo que a forma orgânica apresenta dose tóxica letal superior, portanto mais segura.

Uma revisão do conhecimento das propriedades deste metal e o entendimento do seu mecanismo molecular na célula, permitirá uma melhor compreensão da sua toxicidade e efeitos terapêuticos, principalmente na diabetes mellitus, uma síndrome metabólica com graves implicações em nível de saúde pública (NRIAGU, 1998).

Clark et al. (1985) demonstraram que o vanádio altera o metabolismo de glicose de modo semelhante ao da insulina no músculo. O vanádio aumenta a entrada de glicose onde? Síntese de glicogênio e glicólise em amplitude menor

que à da insulina, mas sua ação é maior ao produzir lactato e oxidar glicose. Ao contrário da insulina, não houve modificação na síntese ou degradação proteica pelo vanadato (CLARK et al., 1985).

O presente trabalho fornecerá informações sobre os efeitos da suplementação do vanádio em níveis seguros em roedores, em decorrência de testes toxicológicos, e avaliação de parâmetros metabólicos, que poderão esclarecer possíveis efeitos no desempenho do metabolismo da glicose. Da mesma forma, tem-se como objetivo a avaliação deste mineral na forma de sais e complexada com metionina sobre a absorção e toxicologia dos mesmos.

O controle dos níveis glicêmicos, é de extrema importância, sabendo se, que a longo prazo a diabetes culmina processos patológicos intensos, causando disfunção, danos e falência de múltiplos órgãos, comprometendo a autonomia e a qualidade de vida do indivíduo portador do Diabetes Mellitus. Com essa realidade destaca se a importância de novas pesquisas para o desenvolvimento de novos fármacos, voltados para a prevenção e o controle da Diabetes Mellitus, para evitar e minimizar as complicações inerentes do diabetes.

1.2. Fundamentação

1.2.1. Diabetes

O Diabetes Mellitus (DM) tem se tornado um grande problema em saúde pública, considerada hoje como uma epidemia mundial. Este fato se deve ao envelhecimento da população, a urbanização crescente e a adoção de estilo de vida pouco saudáveis como o sedentarismo, dieta inadequada e obesidade são grandes responsáveis pelo aumento da incidência e prevalência em todo mundo (BRASIL, 2009).

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)

A hiperglicemia, característica principal de todos os tipos de diabetes, é responsável por várias alterações metabólicas que resultam em diversas complicações vasculares como cegueira, insuficiência renal e neuropatias (BROWNLIE, 2001). A hiperglicemia em indivíduos diabéticos é explicada pelo aumento na produção de glicose pelo fígado, secreção desregulada de insulina e redução da captação de glicose pelos tecidos-alvo da insulina (KRUSZYNSKA; OLEFSKY, 1996).

Embora a diabetes seja classificada como uma única doença, 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 que se destinam a prevenir e a tratar diabetes é uma das propriedades da investigação em todo o mundo (FLORES, 2011)

O diabetes é considerado fator de risco, principalmente devido aos distúrbios importantes causados no metabolismo de lipídeos. O diabetes *mellitus* é uma síndrome de comprometimento do metabolismo dos carboidratos, das gorduras e das proteínas, causada pela ausência de secreção de insulina ou por redução da sensibilidade dos tecidos à insulina. Um aspecto característico desta doença consiste na resposta secretora defeituosa ou deficiente de insulina, que se manifesta na utilização inadequada dos carboidratos (glicose), com consequente hiperglicemia (COTRAN et al., 1994)

A diabetes *mellitus* tipo 1 afeta cerca de 3% dos indivíduos diabéticos e desenvolve-se precocemente, na maioria das vezes por volta dos 14 anos de

idade sendo causada por uma diminuição acentuada da secreção da insulina (GUYTON; HALL, 2000). A destruição das células β pancreáticas, responsáveis pela produção de insulina pode ser causada por infecções virais ou doenças autoimunes, no entanto, a predisposição genética parece ser de grande importância no que diz respeito à determinação da susceptibilidade destas células à sua destruição (DEVLIN, 2006).

Em alguns casos, a incapacidade de produzir os níveis adequados de insulina pode também dever-se a uma mutação no gene da preproinsulina. Quanto ao tratamento deste tipo de diabetes, uma vez que as células β são incapazes de produzir uma quantidade adequada de insulina, esta tem de ser administrada intravenosamente (DEVLIN, 2006).

O DM2 é responsável por mais de 90% dos casos de DM, não tem componente autoimune, acontece em geral após os 30 anos, em indivíduos com história familiar positiva. O tratamento em geral envolve dieta e agentes hipoglicemiantes orais, sem necessidade do uso de insulina, que, se necessário, deve ocorrer pelo menos cinco anos após o diagnóstico para configurar que não há dependência como no DM1 (MARASCHIN et al., 2010).

O diabetes mellitus tipo 2 é uma síndrome heterogênea que resulta de defeitos na secreção e na ação da insulina, sendo que a patogênese de ambos os mecanismos está relacionada a fatores genéticos e ambientais. Sua incidência e prevalência vêm aumentando em várias populações, tornando-se uma das doenças mais prevalentes no mundo (SMELTZER; BARE, 2002). O diabetes tipo 2 pode ocorrer em crianças e adolescentes, mas, normalmente, ele inicia após os 30 anos e torna-se progressivamente mais comum com o avançar da idade. Aproximadamente 15% dos indivíduos com mais de 70 anos de idade apresentam o diabetes tipo 2. A obesidade é um fator de risco do diabetes tipo 2; 80 a 90% dos indivíduos que o apresentam são obesos (AZEVEDO; GROSS, 1990).

Embora não se saiba o que causa o diabetes tipo 2, sabe-se que neste caso o fator hereditário tem uma importância bem maior do que no diabetes tipo 1. Também existe uma conexão entre a obesidade e o diabetes tipo 2, embora a obesidade não leve necessariamente ao diabetes (COTRAN et al., 2000).

1.2.2. Insulina

A insulina desencadeia diversos processos metabólicos nas células ligando-se a receptores na superfície celular. Tais receptores são encontrados em tecidos classicamente sensíveis à insulina como músculo, fígado e adipócitos e também em tecidos que são tradicionalmente vistos como não sensíveis à insulina como o cérebro, eritrócitos e gônadas (WHITE; KAHN, 1994)

A resistência à insulina acontece quando níveis normais ou aumentados de insulina produzem uma resposta biológica reduzida; isso se refere, classicamente, à disparidade na sensibilidade da insulina mediada pela disponibilidade de glicose (WILCOX, 2005; TREIBER et al, 2006a).

A sinalização intracelular da insulina começa com a sua ligação a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase, composta por duas subunidades α e duas subunidades β , que atua como uma enzima alostérica na qual a subunidade α inibe a atividade tirosina quinase da subunidade β . A ligação da insulina à subunidade α permite que a subunidade β adquira atividade quinase levando a alteração conformacional e autofosforilação, que aumenta ainda mais a atividade quinase do receptor (PATTI, 1998). Uma vez ativado, o receptor de insulina fosforila vários substratos protéicos em tirosina. Dez substratos do receptor de insulina já foram identificados. Quatro desses pertencem à família dos substratos do receptor de insulina, as proteínas IRS (WHITE, 1998).

O hormônio insulina promove a síntese e armazenamento de carboidratos, lipídios e proteínas além de inibir a quebra e liberação dos mesmos para a corrente sanguínea (Figura1) (SALTIEL; KAHN, 2001).

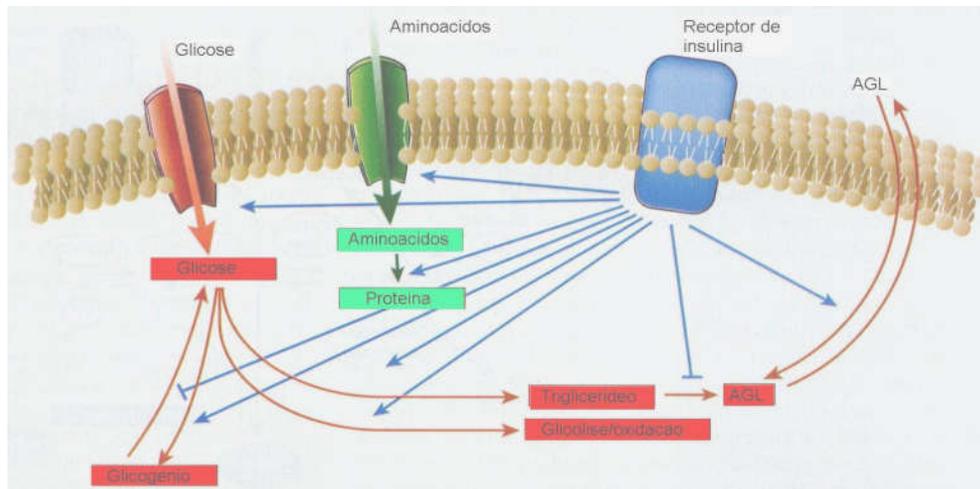


Figura 1: Esquema dos efeitos gerais da insulina
Fonte: SALTIEL; KAHN (2001).

1.2.3. Vanádio

O vanádio é um elemento que se pode encontrar na crosta terrestre numa concentração de 100 a 200 ppm, sendo o quinto metal de transição mais abundante, podendo ser encontrado maioritariamente em rochas, solos, plantas, animais, água, combustíveis fósseis e numa menor extensão na água, onde os seus níveis raramente excedem 0,1 ppb (GREENWOOD; EARNSHAW, 1997). Este elemento pode ser extraído a partir de combustíveis fósseis, nomeadamente o petróleo e derivados como a gasolina, carvão, fósseis carbonáceos em que a quantidade de vanádio na forma de porfirinas de vanadilo é muito elevada (MAMANE; PIRNONE, 1998).

Nas últimas décadas o vanádio passou a ser foco de atenção quanto ao seu potencial farmacológico. O uso deste metal tem sido amplamente estudado, no tratamento da Diabetes mellitus e como agente antitumoral (COLLINS et al., 1982). Este metal versátil tem assumido um papel relevante e têm vindo a ser desenvolvidos inúmeros estudos que visam uma melhor compreensão da química e bioquímica de compostos contendo este metal, nomeadamente os das espécies contendo oxovanadatos uma vez que são análogas do fosfato e podem deste modo regular e interferir com um elevado número de processos bioquímicos (CRANS, 2000; CRANS et al., 2004).

Como no caso de outros elementos microminerais, pequenas quantidades de vanádio são benéficas ao crescimento e desenvolvimento dos

animais (NILSEN; UTHUS, 1990), embora no ser humano não há evidências de que o vanádio seja um mineral essencial. No entanto, em mamíferos em geral, sua deficiência prejudica as funções generativas, metabolismo da tireóide e mineralização do osso e desta forma representa um elemento necessário na dieta diária (FRENCH; JONES, 1993; ROJAS, 1999; MOSKALYK; ALFANTAZI, 2003).

Mecanismos homeostáticos regulam a absorção deste elemento sistematicamente, removendo desde o vanádio do sangue até o presente nas células do tecido, cuja concentração raramente excede $0,2 \mu\text{M}$ e pode girar em torno de apenas $10\text{-}20 \mu\text{M}$ em animais no momento da administração do vanádio. Esse elemento é eliminado pela bile e urina (RADIKE et al., 2002).

A meia vida do vanádio no corpo humano é de aproximadamente 42 dias, mas a maior quantidade do elemento é removida entre 2 dias após o contato. O transporte dos íons vanádio através da membrana não é bem esclarecido, no entanto, sabe-se que os compostos de vanadil penetram os eritrócitos da membrana através de difusão passiva. Sua interação com membranas estabilizam os complexos e estimulam alterações da conformação de suas proteínas, embora o processo espontâneo de oxidação dos íons catiônico e aniônico são observados (YANG et al., 2003).

O estado de oxidação do vanádio é o fator que determina a extensão do seu efeito biológico que é manifestado não apenas na regulação da atividade de muitas enzimas, mas nos processos dos radicais livres e na fosforilação/desfosforilação das proteínas. Hoje em dia, esses processos são estudados intensivamente, especialmente devido a sua importância na proliferação celular, diferenciação e regulação do metabolismo celular (LAPENNA et al., 2002).

O vanádio é um elemento com alto potencial redox, característica esta que permite a formação tanto de complexos aniônicos quanto catiônicos, dependendo da variação do pH. Os estados de oxidação encontrados *in vivo*, V(+4) e V(+5), coexistem em equilíbrio e são regulados pela tensão do oxigênio, acidez e presença de agentes redutores como, por exemplo, ascorbato, glutatona e catecolaminas (THOMPSON; ORVIG, 2001).

O mecanismo de ação dos compostos de vanádio ainda não foi totalmente esclarecido. Embora alguns estudos tenham demonstrado ação dos

sais de vanádio via ativação do receptor tirosina quinase, vários estudos sugerem que a ação do vanádio não está envolvida com o receptor da insulina (SHISHEVA; SHECHTER, 1992; D'ONOFRIO et al., 1993; D'ONOFRIO et al., 1994).

O vanádio existe em dois grandes estados de oxidação nos fluidos biológicos, como vanadato (V) e vanadil (IV). Após a ingestão, é absorvido do duodeno e circula no plasma ligado às proteínas plasmáticas (principalmente transferrina) (POUCHERET et al., 1998).

Estudos *in vitro* indicam que o vanádio pode mimetizar um certo número de ações da insulina, atuando como facilitador da captação e do metabolismo da glucose, com o aumento da sensibilidade à insulina, com a síntese de glicogênio, coma inibição da lipólise e com alterações no metabolismo proteico (NECHY, 1984; POUCHERET et al., 1998; CAM, BROWNSEY; MCNEIL, 2000).

A ação do vanádio parece ser independente da insulina e pode envolver a estimulação do transporte e do metabolismo da glucose nos músculos e adipócitos. O vanádio parece afetar diversos pontos na via de sinalização da insulina, e pode levar à regulação dos receptores de insulina, com subsequente sinalização intracelular (POUCHERET et al., 1998; CAM; BROWNSEY; MCNEIL, 2000). O efeito sugerido inclui a autofosforilação do receptor de insulina, a inibição da atividade fosfo-tirosina fosfatase, o aumento da atividade da adenilato ciclase, a diminuição da atividade da enzima glucose-6-fosfatase gluconeogênica e o aumento na síntese de glicogênio (POUCHERET et al., 1998; CAM, BROWNSEY; MCNEIL, 2000).

Além disso, o vanadato foi responsável por aumentar a atividade das enzimas glicolíticas glucoquinase e fosfofrutoquinase (PUGAZHENTHI; KHANDELWAL, 1990; CAM; BROWNSEY; MCNEIL, 2000). Fantus et al. (1995) demonstraram a capacidade do vanadato em modular a ação da insulina, em adipócitos, através do aumento da afinidade do receptor pela insulina. Foi verificado que o tempo de ligação da insulina com o receptor não é alterado, entretanto, o tempo de ação da insulina aumentou significativamente na presença do vanadato.

1.2.4. Biodisponibilidade dos minerais

A biodisponibilidade de um nutriente é um termo relativo, sempre se referindo ao valor de outro produto usado como padrão. E pode ser definida como a medida da habilidade de um suplemento sustentar os processos biológicos nos animais (McGILLIRAY, 1978).

Os minerais quelatados são definidos por Leeson e Summers (1997) como sendo uma mistura de elementos minerais que são ligados a algum tipo de carreador o qual pode ser um aminoácido ou polissacarídeo que possuem a capacidade de ligar o metal por ligações covalentes através de grupamentos aminos ou oxigênio, formando assim uma estrutura cíclica

Deve-se salientar, porém, que o mineral na forma quelada nem sempre apresentam melhor biodisponibilidade que a forma de sal simples. O efeito do quelado 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 pelo mineral presente nos alimentos ou pela adição de minerais à dieta, na forma de sal simples ou complexado. A simples ingestão deste não implica na consequente absorção por inúmeros fatores. Sabe-se que o mineral na forma de sais solúveis são mais biodisponíveis que os presentes nos alimentos. Os elementos minerais na forma de sulfato 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).

O mineral metálico na forma de sal simples, para ser absorvido no intestino delgado, deve, durante o trânsito no trato gastrintestinal, dissociar-se, liberando íons metálicos (cátions). Porém, 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 vanádio 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 quelam outros minerais (ERDMAN, 1983).

1.3. Hipótese

A molécula do vanádio metionina é um agente hipoglicemiante, e atuante na manutenção da massa magra, acelerando o metabolismo e auxiliando na redução da gordura corporal.

1.4. Objetivo geral e objetivos específicos

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos terapêuticos do vanádio, em camundongos senis e obesos visando reduzir a glicemia, ganho de massa magra.

De modo específico, pretendeu-se:

1. Fornecer subsídios para determinação da dose diária de vanádio na dieta de roedores.
2. Avaliar o complexo de vanádio metionina no tratamento da hiperglicemia oriunda da obesidade.
3. Desenvolver e avaliar o complexo cromo metionina, de alta solubilidade e estabilidade para o uso inicial na nutrição animal.
4. Avaliar os efeitos do complexo sobre a dinâmica de peso vivo consumo de ração.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local de condução

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

4.2. Unidades Experimentais e manejo

Como unidades experimentais foram utilizados camundongos Wistar, 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.

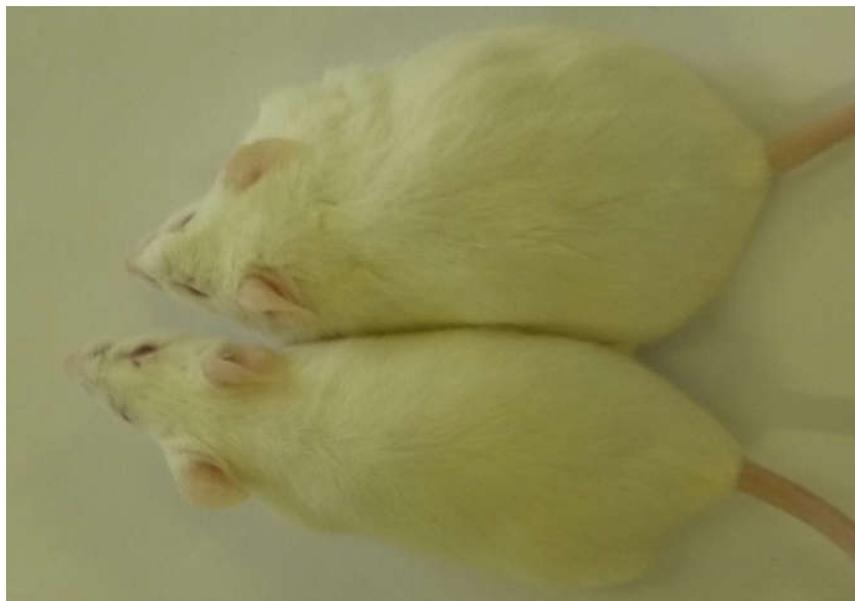


Figura 2. Na parte superior, animal representativo do tratamento obeso e, na parte inferior, animal considerado como peso normal (BC 3,5). A animal obeso foi classificado com BC 4,5 segundo Culleré et al., 1999.

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

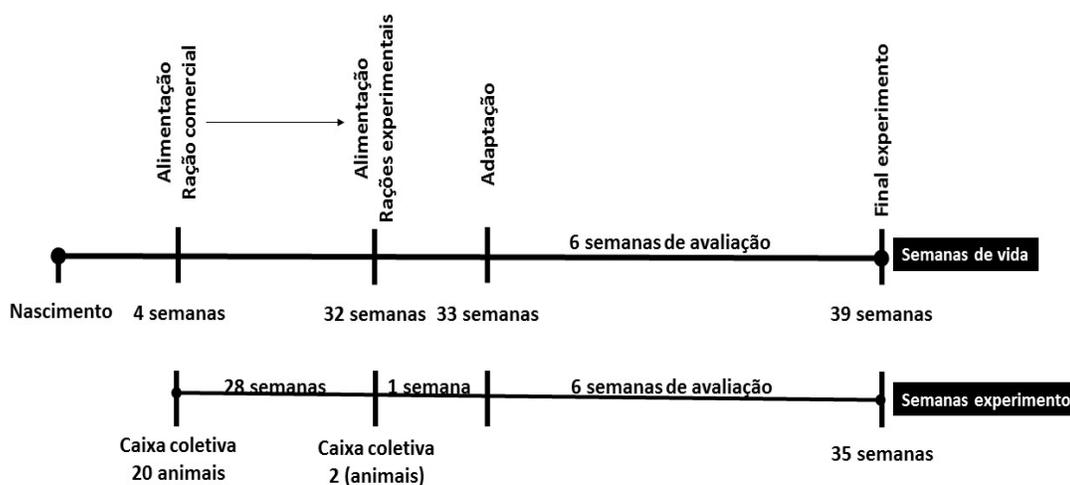


Figura 3. Ilustra o do cronograma de execu o do experimento com os principais marcos. Na linha superior, o tempo demonstra a idade dos animais e na linha inferior os tempos envolvidos em cada fase experimental.

4.3. 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 vanádio - 100 mg.kg⁻¹ ração); TO (vanádio 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 vanádio (consumo médio de ração de 7 gramas)

4.4. Quelatos de vanádio e incorporação na dieta

As fontes de vanádio 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 vanádios para os tratamentos. A ração moída, água (60% do peso de ração) e a fonte de vanádio 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 semanas 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 vanádio orgânico (vanádio/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	Cromo inorgânico	Cromo orgânico
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
Vanádio, 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 vanádio inorgânico (TI) e ração contendo 100 mg/kg MS de vanádio orgânico (TO).

4.5. 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.

4.6. Manejo semanal

Semanalmente foram determinados o consumo de ração e o peso dos camundongos, procedimento realizado sempre as 7h00 da manhã, utilizando balança semi analítica.

4.7. 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.

4.8. Glicemia

Na determinação da glicemia os animais foram mantidos em jejum prévio de 3 horas e, através de punção lateral na cauda, a glicemia foi avaliada com o uso de glucometer.

5. RESULTADOS E DISCUÇÃO

5.1. Peso corpóreo

O peso vivo entre o grupo de ratos normais e obesos foram diferentes ($p < 0,01$) no início do experimento e esta diferença se manteve até o final do período experimental, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2: Peso vivo de ratos normais e obesos, submetidos à suplementação com vanádio inorgânico e orgânico.

Períodos	Peso	Suplementação			Média	
		Testemunha	V inorgânico	V-orgânico		
0 dias	Normal	50,67	49,37	50,13	50,06	B
	Obesos	62,52	62,45	60,72	61,89	A
	Média	56,59	a 55,91	a 55,43	a	
14 dias	Normal	49,90	48,60	45,80	48,10	B
	Obesos	63,07	59,07	57,37	59,83	A
	Média	56,48	a 53,83	ab 51,58	b	
28 dias	Normal	51,62	49,65	46,65	49,31	B
	Obesos	63,42	60,00	57,63	60,35	A
	Média	57,52	a 54,83	ab 52,14	b	
42 dias	Normal	52,52	48,60	43,67	48,26	B
	Obesos	63,40	59,08	57,22	59,90	A
	Média	57,96	a 53,84	b 50,44	b	

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste SNK ($p < 0,05$)

Quando o grupo testemunha foi comparado com os grupos suplementados com vanádio orgânico ou inorgânico, não houve diferença significativa para a variável peso vivo no início do experimento (dia 0), ($p \geq 0,05$). Quando a variável peso vivo foi avaliada nos dias 14 e 28 após o início do experimento, o menor peso vivo médio foi observado para o grupo de ratos suplementados com vanádio orgânico, independente dos animais serem normais ou obesos, porém, não diferindo do grupo de animais suplementados com vanádio inorgânico. Já, aos 42 dias após o início do experimento, os

grupos suplementados com vanádio orgânico e inorgânico apresentaram valores semelhantes entre si e inferiores ao peso vivo médio obtido nos animais não suplementados.

Estes resultados evidenciam o potencial do elemento vanádio na redução do peso corporal de ratos.

5.2. Consumo de ração

Quando avaliado a variável consumo, não foram observadas diferenças significativas entre o grupo de animais normais e obesos em nenhum dos períodos avaliados ($p \geq 0,05$), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Consumo, em gramas, de ratos normais e obesos, submetidos à suplementação com vanádio inorgânico e orgânico.

Períodos	Peso	Suplementação			Média	
		Testemunha	V inorgânico	V orgânico		
0 a 14 dias	Normal	4,96	4,89	4,31	4,72	A
	Obesos	5,06	5,24	4,62	4,97	A
	Média	5,01	a	5,07	ab	4,47
14 a 28 dias	Normal	6,52	6,17	6,86	6,52	A
	Obesos	5,67	7,40	6,08	6,38	A
	Média	6,10	a	6,79	a	6,47
28 a 42 dias	Normal	6,38	5,41	6,54	6,11	A
	Obesos	5,94	6,32	5,85	6,04	A
	Média	6,16	a	5,86	a	6,20

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si

A suplementação com vanádio orgânico reduziu o consumo de ração em relação ao grupo controle nos primeiros 14 dias do experimento, porém não diferindo dos animais suplementados com vanádio inorgânico. Após os 14 dias do período experimental até o término aos 42 dias, o consumo médio de ração não foi influenciado pelo fornecimento de vanádio na forma orgânica ou inorgânica.

5.3. Glicemia

Os valores de glicose sanguínea avaliados aos 42 dias após o início do período experimental evidenciam níveis superiores de glicose para os animais obesos, independente do tratamento a eles submetidos ($p < 0,01$), (Tabela 4).

Tabela 4: Níveis de glicose de ratos normais e obesos, submetidos a suplementação com vanádio inorgânico e orgânico aos 42 dias após o início da suplementação.

Peso	Suplementação			Média	
	Testemunha	V inorgânico	V-orgânico		
Normal	98,62	98,33	85,52	94,16	B
Obesos	111,55	103,33	93,67	102,85	A
Média	105,08	100,83	89,59		

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste SNK ($P < 0,05$)

Os menores níveis de glicose foram obtidos em ratos submetidos ao tratamento com vanádio orgânico, independente dos animais serem obesos ou normais. Porém, os animais suplementados com vanádio inorgânico apresentaram níveis de glicose semelhantes aos animais do grupo controle, o que demonstra o menor poder hipoglicemiante do vanádio quando suplementado na forma inorgânica.

6. CONCLUSÃO

O vanádio na forma de complexo apresentou efeito hipoglicemiante e promoveu a redução de peso corpóreo independente do peso corpóreo. Mostrando ser mais eficiente na forma de complexo orgânico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, M. I.; GROSS, J. L. Aspectos especiais da dieta no tratamento do diabetes mellitus. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 34, p.181-186, jul./set. 1990.

BAILEY, C. J. Potential new treatments for type 2 diabetes. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 21, p. 259 – 265, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estratégia Nacional para educação em saúde para o autocuidado em Diabetes Mellitus**. Florianópolis, 2009

CAM, M. C.; BROWNSEY, R. W.; MCNEIL, J. H. Mechanisms of vanadium action: insulin mimetic or insulin-enhancing agent? **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, n.78, p.829-847. 2000.

CLARCK, A. S.; FAGAN, J. M.; MITCH, W. E. Selectivity of the insulin-like actions of vanadate on glucose and protein metabolism in skeletal muscle. **The Biochemical Journal**, v.232, i.1, p. 273 – 276, 1985.

COLLINS, F.M.; KLAYMAN, D.L.; MORRISON, N.E. Correlations between structure and antimycobacterial activity in a series of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones. **J Gen Microbiol**, v.128, n.6, p. 1349-1356, 1982.

COTRAN, R. S.; CRAWFORD, J. M. Pâncreas. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. Cap. 20.

Crans, D.C. (2000). Chemistry and insulin-like properties of vanadium(IV) and vanadium(V) compounds. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 80: 123-131.

Crans, D.C.; Smee, J.J.; Gaidamauskas, E.; Yang, L. (2004). The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds. **Chemistry Reviewer**. 104: 849-902.

D'ONOFRIO, F.; LE, M. Q.; CHIASSON, J. L.; SRIVASTAVA, A. K. Activation of mitogen activated protein (MAP) kinases by vanadate is independent of insulin

receptor autophosphorylation. FEBS (Federation of European Biochemical Societies) **Letters**, v. 340, p. 269 – 275, 1994.

D'ONOFRIO, F.; LE, M. Q.; CHIASSON, J. L.; SRIVASTAVA, A. K. Vanadate dependent activation of mitogen activated protein (MAP) kinase in Chinese hamster ovary cells overexpressing a wild type human insulin receptor (CHO-HIRc). **The Pharmacologist**, v. 35, p. 109, 1993

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

EMILIEN, G.; MALTEAUX, J.; PONCHON, M. Pharmacological management of diabetes: recent progress and future perspective in daily drug treatment. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 81, p. 37 – 51, 1999.

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.

FANTUS, I. G.; DERAGON, G.; LAI, R.; TANG, S. Modulation of insulin action by vanadate: evidence of a role for phosphotyrosine phosphatase activity to alter cellular signaling. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 153, p. 103-112, 1995.

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.

GOC, A. (2006). Biological activity of vanadium compounds. **Cent. Eur. J. Biol.** 1: 314-332. TIRAR

GREENWOOD, N.; EARNSHAW, A. (1997). **Chemistry of the Elements** (2nd ed.), Oxford: Butterworth-Heinemann, 340 p. ISBN 0-7506-3365-4.

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

GUYTON & HALL (2000) **Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças**. 6ª Edição, Nova Guanabara.

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

KRUSZYNSKA, Y. T.; OLEFSKY, J. M. Cellular and molecular mechanisms of noninsulin dependent diabetes mellitus. **Journal of Investigative Medicine**, v.44, n.8, 1996. KAHN, C. R. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. **Diabetes**, v. 43, p.1066 – 1084, 1994

LAPENNA, D.; CIOFANI, G.; BRUNO, C.; PIERDOMENICO, S.D.; GIULIANI L.; GIAMBERARDINO M.A.; CUCCURULLO, F.: “Vanadyl as catalyst of human lipoproteid oxidation”, **Biochem. Pharmacol.**, Vol. 63, (2002), pp. 375–380.

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

MAMANE, Y.; PIRRONE, N. (1998). Vanadium in atmosphere. In: Nriagu, J.O. (Eds.). *Vanadium in the environment, Part 1: Chemistry and Biochemistry*. John Wiley & Sons, Inc. New York, pp. 37-71.

MARASCHIN, J. F.; MURUSSI, N. ; WITTER, V.; SILVERIO, S. P. Classificação do Diabete Melito. **Arq. Bras. Cardiol**2010, v.95, n 2, p.e 40-e47.

McGILLIRRAY, J.J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 1., 1978, Petersburg Beach. Anais... St. Petersburg Beach: IMC, 1978, p.104-150.

McGILLIRRAY, J.J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 1., 1978, Petersburg Beach. Anais... St. Petersburg Beach: IMC, 1978, p.104-150.

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

MOLLER, D. E. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. **Nature**, v. 414, p. 821 – 827, 2001.

MOSKALYK R.R.; ALFANTAZI A.M. “Processing of vanadium: a review”, **Miner. Engineer.**, Vol. 16, (2003), pp. 793–805.

NECHY, B. R. Mechanism of action of vanadium. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, n.24, p.501-524. 1984.

NIELSEN, F.H.; UTHUS, E.O. “**The essentiality and metabolism of vanadium**”, In: N.D. Chasteen (Ed.): *Vanadium in Biological Systems*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1990, pp. 51–62.

O. NRIAGU JEROME (1998). *Health Effects, Part 2, Vanadium in the Environment*. First Edition, New York: Wiley.

POUCHERET, P. et al. Vanadium and diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **The Hague**, n.188, p.73-80. 1998.

PUGAZHENTHI, S.; KHANDELWAL, R. L. Insulin-like effects of vanadate on hepatic glycogen metabolism in nondiabetic and streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, New York, n.39, p.821-827. 1990

RADIKE, M.; WARSHAWSKY D.; CARUSO J.; GOTH-GOLDSTEIN R.; REILMAN R.; COLLINS T.; YAEGER M.; WANG, J.; VELA, N.; OLSEN, L.; SCHNEIDER J. “Distribution and accumulation of mixture of arsenic, cadmium, chromium, nickel and vanadium in mouse small intestine, kidneys, pancreas and femur following oral administration in water or feed”, **J. Toxicol. Environ. Health Am.**, Vol. 13, (2002), pp. 2029–2059.

ROJAS, E. HERRERA, L.A. POIRIER, L.A.; OSTROSKY-WEGMAN P. “Are metals dietary carcinogens?” **Mutat. Res.**, Vol. 443, (1999), pp. 157–181. (USOU NA 12 TBM).

SALTIEL, A.R.; KAHN, R.C. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, p. 799 – 812

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

SHISHEVA, A; SHECHTER, Y. Quercetin selectively inhibits insulin receptor function in vitro and the bioresponse of insulin and insulinomimetic agents in rat adipocytes. **Biochemistry**, v. 31, p. 8059 – 8063, 1992.

SMELTZER, S. C.; BARE, B. G. Histórico e tratamento de pacientes com diabetes mellitus. In: _____. **Tratado de enfermagem médico-cirúrgica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap. 37.

THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Coordination chemistry of vanadium in metallopharmaceutical candidate compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v.219- 221, p.1033 – 1053, 2001.

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; BYRD, B. M.; SPLAN, R. K.; STANIAR, W. B. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional 16 risk factors for pasture-associated laminitis in ponies **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 228, n. 10, 1538-1545, 2006c.

WHITE MF. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. **Mol Cell Biochem** 1998; 182:3-11.

WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. **Clinical Biochemical Review**, v.26, p.19-39, 2005.

YANG. X.G., WANG. K., LU, J. CRANS, D.C. "Membrane transport of vanadium compounds and interaction with the erythrocyte membrane", **Coordin. Chem. Rev.**, Vol. 273, (2003), pp. 103–111.