

VINÍCIUS COOPER CAPETINI

**Efeito da suplementação com zinco na evolução da
resistência à insulina induzida por dieta hiperlipídica
em camundongos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Dr. Fernando Rodrigues de Moraes
Abdulkader

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2016

RESUMO

CAPETINI, V. C. **Efeito da suplementação com zinco na evolução da resistência à insulina induzida por dieta hiperlipídica em camundongos.** 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

O aumento da prevalência do diabetes melito do tipo 2 (DM2) é intenso e implica ampla busca pela prevenção e tratamento da doença, que se caracteriza por uma resistência a insulina e por defeitos na secreção da mesma. Estudos têm mostrado a participação do zinco na síntese, secreção e via de sinalização da insulina. Este trabalho objetivou analisar o mecanismo de ação do zinco no controle da secreção de insulina e no controle glicêmico, de modo a entender se a suplementação com o zinco previne ou retarda a manifestação do DM2. O protocolo de experimentação animal foi aprovado pela CEUA-ICB (USP). Camundongos machos C57BL/6 foram divididos em 4 grupos experimentais: ração controle (NFD); ração controle suplementada com $ZnCl_2$ (NFDZ); ração hiperlipídica (HFD); e ração hiperlipídica suplementada com $ZnCl_2$ (HFDZ). A massa corporal, a ingestão de ração e água e a glicemia foram acompanhadas semanalmente. Testes intraperitoneais de tolerância à glicose (ipGTT) e à insulina (ipITT) foram realizados na 14ª semana de tratamento. Completadas as 15 semanas de tratamento a glicemia, a insulinemia e a zincemia foram analisadas, sendo a resistência à insulina e a atividade da célula β avaliadas pelos métodos *HOMA-IR* e *HOMA- β* , respectivamente. Ilhotas pancreáticas foram isoladas e incubadas em diferentes concentrações de glicose para avaliar a secreção de insulina. Parte dos animais tiveram o músculo sóleo incubado com e sem insulina (10mU/mL) para o teste de captação e metabolismo de glicose e outra parte para a análise do conteúdo e fosforilação das proteínas AKT e GSK3- β , que também foram avaliadas no fígado. Os dados (média \pm SEM) foram analisados por *Two way ANOVA* com pós-teste de Bonferroni ou por teste t de Student ($P \leq 0,05$). Os grupos HFD e HFDZ apresentaram um ganho de massa corporal (g) maior do que os grupos NFD e NFDZ, mas a suplementação com $ZnCl_2$ não alterou o ganho de massa corporal, a constante de decaimento de glicose ($\%min^{-1}$), o índice *HOMA-IR* (UA), a captação e o metabolismo de glicose no músculo e o conteúdo e a fosforilação (%) de AKT e GSK3- β no músculo e no fígado. Entretanto, em comparação ao grupo HFD, o grupo HFDZ apresentou menor glicemia (mg/dL) e menor área sob a curva no ipGTT (min.mg/dL) e um aumento parcial do índice *HOMA- β* (%), apesar de não melhorar a secreção de insulina em ilhotas isoladas e estimuladas com glicose (ng/ilhota/h). Portanto, a suplementação com zinco melhorou a disfunção glicêmica induzida por ração hiperlipídica, sem no entanto afetar a resistência à insulina ou a secreção de insulina por ilhotas isoladas.

Palavras chaves: Zinco. Diabetes melito. Insulina. Resistência à insulina.

ABSTRACT

CAPETINI, V. C. **Effects of zinc supplementation on the development of insulin resistance induced by high fat diet in mice.** 2016. 75 p. Masters Thesis (Human Physiology). - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

The increase in prevalence of type 2 diabetes mellitus (DM2) is intense and implies broad quest for prevention and treatment of disease, characterized by insulin resistance and defects in secretion thereof. Studies have shown a role of zinc in the synthesis, secretion and insulin signaling pathway. This study aimed to analyze the mechanism of action of zinc in the control of insulin secretion and glucose control in order to understand whether supplementation with zinc prevents or delays the manifestation of DM2. The protocol of animal experimentation it was approved by CEUA-ICB (USP). Male mice C57BL/6 were divided in 4 groups: control diet (NFD); control diet supplemented with ZnCl₂ (NFDZ); high fat diet (HFD); and high fat diet supplemented with ZnCl₂ (HFDZ). Body weight, feed intake and water and the glucose levels were monitored weekly. Intraperitoneal glucose tolerance test (ipGTT) and insulin (ipITT) were performed at the 14th week of treatment. Completing the 15 weeks of the treatment glycemia, insulinemia and zincemia were analyzed, being insulin resistance and beta cell activity was evaluated by HOMA-IR methods and HOMA-β, respectively. Pancreatic islets were isolated and incubated with different glucose concentrations to assess insulin secretion. Some of the animals had the soleus muscle incubated with and without insulin (10mU/mL) for the uptake and metabolism of glucose and other part to analyze the content and the phosphorylation of AKT and GSK3-β proteins, which were also assessed in the liver. The data (mean ± SEM) were analyzed by Two way ANOVA with Bonferoni post-test or Student's t test ($P \leq 0,05$). The HFD and HFDZ groups had a body mass gain (g) greater than NFD and NFDZ groups, but supplementation with ZnCl₂ didn't alter body weight, glucose decay constant (% min⁻¹), the HOMA-IR index (AU), the uptake and metabolism of glucose in muscle and the content and phosphorylation (%) AKT and GSK3-β in muscle and liver. However in comparison to the HFD group, the HFDZ group showed lower blood glucose (mg/dL) and lower area under the curve in the ipGTT (min.mg/dL) and a partial increase in index HOMA-β (%), despite not enhance insulin secretion in islets isolated and stimulated with glucose (ng/islet/h). Therefore, zinc supplementation improves glucose dysfunction induced by high fat diet, without nonetheless affecting insulin resistance and insulin secretion by isolated islets.

Keywords: Zinc. Diabetes mellitus. Insulin. Insulin resistance.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Diabete Melito

O diabete melito (DM) continua a ser um crescente problema de saúde pública em países como a China, a Índia, os Estados Unidos, o Brasil e a Rússia. Em 2015 o número de diabéticos no Brasil foi estimado em 14,3 milhões entre a faixa etária de 20 e 79 anos e esse número pode chegar a 23,3 milhões até 2040 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015). Apesar do DM ser uma doença de origem e classificação múltipla, destacam-se como os principais responsáveis pelo aumento de sua prevalência, o aumento do sedentarismo, da obesidade, do envelhecimento e da urbanização em países em desenvolvimento, onde os recursos são ainda mais escassos para combater os problemas clínicos associados à doença. As buscas por ações preventivas e medidas que contrariem a tendência de aumento dessa prevalência são de grande relevância para a saúde pública e a economia em países como o Brasil (GUARIGUATA et al., 2014).

É possível que o DM tenha causado 5 milhões de mortes no mundo em 2015, sendo responsável por 5% a 20% do gasto total com a saúde na maioria dos países, com um custo mundial estimado em 673 bilhões de dólares (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015). No Brasil, essa doença foi responsável por 57,8 mil óbitos em 2011, representando 5,3% do total de óbitos e uma taxa de mortalidade de 30,1 óbitos por 100 mil habitantes (MALTA et al., 2014; BRASIL, 2012), estando entre as principais causas de mortalidade e de hospitalizações no Sistema Único de Saúde (SUS) (SCHMIDT et al., 2011), sendo responsável por 7,3% do total de internações no Brasil em 2012 (BRASIL, 2013). Estima-se que o Brasil tenha gastado 21,8 bilhões de dólares com o DM em 2015 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015).

O DM ocorre quando há hiperglicemia devido à falta de insulina, um hormônio peptídico secretado pelas células β pancreáticas presentes nas ilhotas de Langerhans, e/ou quando há uma resistência à ação desse hormônio em tecidos periféricos, como no músculo, fígado e no tecido adiposo, havendo uma diminuição na captação de glicose. De modo geral, essa enfermidade é classificada em dois tipos: Diabete melito tipo 1 (DM1) e Diabete melito tipo 2 (DM2). O DM1 representa de 7 a 12% dos casos da doença (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015), o qual resulta de uma

predominante destruição autoimune das células β resultando em pouca ou nenhuma síntese de insulina (DANEMAN, 2006; DEVENDRA; LIU; EISENBARTH, 2004). Por outro lado, o DM2 é responsável por mais de 90% dos casos de DM (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015), sua patogênese é complexa e envolve a interação de fatores genéticos e ambientais, mas não apresenta um componente autoimune e desenvolve-se predominantemente devido a resistência ao efeito da insulina em algumas células alvo (HALBAN et al., 2014) e pode desencadear a destruição progressiva das células β (BERGMAN et al., 2002). Com a intolerância à glicose resultante, em longo prazo, ambos os tipos de DM podem ocasionar complicações tardias em diversos sistemas incluindo doenças macrovasculares (dislipidemia e hipertensão) e microvasculares (nefropatia, retinopatia e neuropatia) (BROWNLEE et al., 2010). Portanto, o DM é considerado uma das principais causas de doenças cardiovasculares, cegueira, insuficiência renal e amputações de membros inferiores, sendo responsável por gastos significativos em saúde no Brasil e em outros países, além de causar importante redução da capacidade de trabalho e da expectativa de vida entre as populações (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015).

Atualmente, o tratamento do DM é baseado na modificação do estilo de vida, incluindo alterações dietéticas, redução da massa corporal e prática de exercício físico, além da administração de antihiperlipidêmicos orais ou insulina. Estudos com várias drogas no tratamento dessa doença e suas complicações vêm sendo realizados, assim como é explorado o efeito terapêutico da suplementação com o zinco em algumas pesquisas (GUPTA et al., 1998; JAYAWARDENA et al., 2012).

1.2 Zinco

O zinco é um microelemento essencial para a saúde humana e está envolvido com o crescimento, o sistema imunológico e a cognição, sendo necessário para um vasto número de reações celulares. Existem mais de 2.000 fatores de transcrição dependentes de zinco e esse mineral atua como cofator em processos antioxidantes, anti-inflamatórios e anti-apoptóticos, além de participar do metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios e, da síntese ou degradação de ácidos nucleicos (MIAO et al., 2013; STEFANIDOU et al., 2006), assim como tem sido evidenciado sua participação na síntese, secreção e/ou ação de alguns hormônios, como a insulina (DODSON; STEINER, 1998) e a leptina (CHEN et al., 2001). De

modo geral suas funções são agrupadas em: (1) estrutural, auxiliando na manutenção da forma e disposição espacial de proteínas e enzimas; (2) enzimática, contribuindo com a atividade catalítica das enzimas e do balanço acidobásico sanguíneo; e (3) reguladora, atuando na atividade dos neurônios e na memória (CHASAPIS et al., 2012).

As principais fontes dietéticas de zinco são as de origem animal, como ostras, fígado, carnes, caranguejo e ovos (GALLAGHER, 2010; SANDSTRÖM, 1997). Os cereais integrais têm um alto teor de zinco, mas a presença de fitato (ácido fítico ou hexafosfato de mio-inositol) diminui a biodisponibilidade dessas fontes, devido à sua propriedade de associar-se ao mineral diminuindo sua absorção (SANDSTRÖM, 1997; SILVA; SILVA, 1999). A ingestão diária recomendada de zinco para crianças maiores, adolescentes e adultos é de 8 a 11 mg/dia dependendo do gênero, o limite superior tolerável de ingestão estabelecido é de 40 mg/dia para adultos (GALLAGHER, 2010).

A dieta deficiente em zinco, comum em países em desenvolvimento, está associada com o retardo no crescimento, falta de apetite, dermatites, alopecia, hipogonadismo, baixa atividade imunológica (PRASAD, 1985) e prejuízos no metabolismo da glicose (ARQUILLA et al., 1978; QUARTERMAN; MILLS; HUMPHRIES, 1966). Por outro lado, o zinco alimentar não apresenta efeitos tóxicos e sua ingestão acima dos limites estabelecidos não é comum. Apesar do potencial tóxico desse mineral ser baixo, devido à eficiência dos mecanismos homeostáticos que controlam o seu metabolismo (PLUM; RINK; HAASE, 2010), a toxicidade aguda por ingestão de zinco está relacionada ao surgimento de náuseas, paladar metálico, vômitos, cólicas abdominais e diarreia (SAPER; RASH, 2009).

O zinco é absorvido preferencialmente no jejuno e sua captação pelas células da superfície do epitélio intestinal é regulada homeostaticamente por proteínas especializadas responsáveis pelo influxo e efluxo desse mineral, bem como por sua distribuição intracelular. O transporte ativo é saturável em altas concentrações desse mineral no lúmen intestinal e se torna mais eficiente durante períodos de baixa ingestão. Por outro lado, o transporte passivo é um mecanismo de difusão proporcional à concentração de zinco no lúmen (SALGUEIRO et al., 2000).

Dentre os transportadores duas classes de proteínas já foram identificadas. Os transportadores de zinco da família ZIP (*Zrt-, Irt-like proteins*) são responsáveis pelo influxo desse mineral para o citoplasma e os ZnT (*Zinc transporter*), pela extrusão do cátion para fora do citoplasma ou dos compartimentos intracelulares (FUKADA et al., 2011). Nas células

intestinais já foram identificados os ZIP4, ZIP5, ZNT1, ZNT2, ZNT4, ZNT5, ZNT6 e ZNT7 (DUFNER-BEATTIE et al., 2003; DUFNER-BEATTIE et al., 2004; LIUZZI et al., 2003; MCMAHON; COUSINS, 1998; YU; KIRSCHKE; HUANG, 2007).

A compartimentalização do zinco na célula intestinal depende da regulação de metalotioneínas (MT) e de proteínas intestinais ricas em cisteína (CRIP) (HEMPE; COUSINS, 1992). As MT são proteínas de baixo peso molecular que se ligam ao zinco e a outros metais, como o cobre e o selênio. Elas controlam o reservatório de zinco para uso em atividades celulares e simultaneamente protegem a célula contra a toxicidade desse mineral (VASAK et al., 2011). O zinco está presente em mais de 300 metaloproteínas (MIAO et al., 2013). A CRIP funciona como uma proteína de transporte intracelular que direciona o zinco até a membrana basolateral onde o mineral será transportado para o plasma. Após o zinco ser transportado para o interior da célula intestinal a MT liga-se transitoriamente a esse metal e o libera gradativamente no citoplasma, podendo então associar-se a CRIP, de modo a regular a ligação do zinco a essa proteína (HEMPE; COUSINS, 1992). Após o processo de absorção, o zinco é liberado dos enterócitos na circulação mesentérica e captado da circulação portal pelo fígado, sendo a maior parte redistribuída para outros tecidos (COUSINS, 1985).

O transporte de zinco no plasma ocorre principalmente pela albumina, mas também ocorre em menor quantidade pela transferrina e a α 2-macroglobulina (CHASAPIS et al., 2012). O zinco plasmático é metabolicamente ativo e varia principalmente em resposta à sua ingestão dietética. A excreção desse mineral em indivíduos normais dá-se quase que totalmente através das secreções pancreáticas e intestinais (COUSINS, 1985).

O zinco é encontrado em todos os tecidos do corpo humano, sendo o microelemento intracelular mais abundante do organismo depois do ferro (KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000). O corpo possui apenas aproximadamente 2 a 4 g de zinco (JANSEN; KARGES; RINK, 2009), sendo que 85% do seu total são encontrados nos músculos e ossos (KING; SHAMES; WOODHOUSE, 2000). A concentração desse mineral por grama de peso é mais elevada na próstata com aproximadamente 200 μ g/g, em seguida, no pâncreas com aproximadamente 140 μ g/g, e no músculo com cerca de 50 μ g/g, enquanto que no plasma é de cerca de 14 a 16 μ M de zinco total que é distribuído para as células (JANSEN; KARGES; RINK, 2009). A nível celular, as concentrações de zinco total em células humanas são 200 a 300 μ M (MARET, 2015), sendo que 40% está localizado no núcleo, 50% no citoplasma, organelas e vesículas especializadas e o restante na membrana celular (TAPIERO; TEW, 2003).

Curiosamente, pacientes com DM2 apresentam uma diminuição na concentração de zinco no plasma, em conjunto com a hiperzincúria (KINLAW et al., 1983). Interessantemente, a suplementação com o zinco foi associada a uma melhora do controle glicêmico no DM1 e 2 (JANSEN; KARGES; RINK, 2009; TAYLOR, 2005) e alta concentração de zinco na ração também foi associada a uma redução dos níveis plasmáticos de glicose em ratos diabéticos (OKAMOTO et al., 2011).

1.3 Zinco e célula- β pancreática

No pâncreas, o zinco está envolvido na síntese, armazenamento e secreção de insulina (DODSON; STEINER, 1998). Essa compreensão nasceu quando Scott (1934) descobriu que a adição do zinco em uma solução tampão de fosfato contendo insulina induziu a formação de cristais de insulina. Mais tarde, Scott e Fisher (1938) observaram que a concentração de zinco no pâncreas de indivíduos diabéticos era menor do que em indivíduos saudáveis, mas que não havia diferença quanto à concentração de zinco encontrado no fígado, levantando à possibilidade de que, pelo menos, uma fração do zinco pancreático poderia estar relacionada com o processamento da insulina nas células β .

Atualmente é sabido que um desequilíbrio no controle homeostático de zinco parece causar um importante prejuízo na secreção da insulina (NYGAARD et al., 2014). A hipozincemia está associada com a redução no teor de insulina em células β (SONDERGAARD et al., 2003). A deficiência desse mineral em ratos foi relacionada com a deficiência na secreção de insulina e menor sensibilidade periférica a esse hormônio (ARQUILLA et al., 1978; QUARTERMAN; MILLS; HUMPHRIES, 1966). Entretanto, um aumento local na concentração desse mineral pode ter um efeito citotóxico sobre as células β , causando a morte celular por apoptose (NYGAARD et al., 2014).

Nos grânulos secretórios, a insulina está associada ao zinco em uma estequiometria de 2 íons de zinco para 6 moléculas de insulina, formando um complexo que no meio extracelular será dissolvido em moléculas de insulina e zinco após ser secretado e ao longo da circulação sanguínea. É sugerido que a associação da insulina ao zinco estabiliza e evita a degradação dos hexâmeros de insulina, reduzindo a taxa de proteólise e protegendo esse hormônio da ação de enzimas proteolíticas (EMDIN et al., 1980; DUNN, 2005). Pesquisas a respeito do zinco demonstram que os grânulos secretórios contêm um terço do zinco da

ilhota (FIGLEWICZ et al., 1984), sendo sua concentração no grânulo de aproximadamente 20 mM (FOSTER et al., 1993). Após a estimulação com glicose, a concentração de zinco co-secretado para o espaço extracelular pode atingir 475 μ M (KIM et al., 1995). Desse modo, durante a exocitose, o zinco é secretado junto à insulina, causando um aumento deste mineral no espaço extracelular, podendo ser transportado de volta para o interior da célula que o secretou ou de células vizinhas (FRANKLIN et al., 2005).

A concentração de zinco citoplasmática em células β parece ser fortemente regulada, sendo mantida por volta de pouco menos de 400 pM (BELLOMO; MEUR; RUTTER, 2011). Nas células β o nível de zinco livre parece mediar várias vias de sinalização, incluindo cascatas de sinalização apoptótica, sugerindo que esse mineral possa atuar com uma molécula de sinalização e regulação do metabolismo celular e em outras atividades funcionais (SENSI et al., 2009). Estudos recentes mostram que a estimulação por glicose aumenta a concentração e o tráfego de zinco livre em células β , indicando que essas alterações na concentração de zinco livre em resposta a estímulos externos possam ser um mecanismo para o reestabelecimento da concentração de zinco nos grânulos secretórios de insulina e um mecanismo importante na regulação da disponibilidade de insulina na célula β ou sua secreção (BELLOMO; MEUR; RUTTER, 2011; SENSI et al., 2009; SLEPCHENKO, 2012).

A homeostase do zinco em célula β pancreática também é dependente dos transportadores ZIP e ZnT. Os principais transportadores da família ZIP encontrados no pâncreas são ZIP1, 3, 4, 5, 7, 10 e 14 (BOSCO et al., 2010). Nas células β , apesar do limitado conhecimento sobre a função desses transportadores, é sabido que o ZIP4 é expresso na membrana plasmática, desempenhando importante função na homeostase do zinco, permitindo a captação desse mineral pela célula (DUFNER-BEATTIE et al., 2009). Além do ZIP4, o ZIP6, 8 e 14 também foram localizados na membrana plasmática de células β . Já o ZIP7 foi encontrado na membrana do retículo endoplasmático e de lisossomos (HUANG, 2014).

Os ZnT1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, e 10 são os principais transportadores da família ZnT encontrados em diferentes células pancreáticas (BOSCO et al., 2010). O ZnT3, 4 e 5 são expressos em células β . No entanto, a localização celular do ZnT4 é desconhecida. O ZnT3 e 5 foram localizados em vesículas citoplasmáticas e o ZnT5 também foi encontrado nos grânulos secretórios (HUANG, 2014). O ZnT8 é especificamente expresso nesses grânulos

secretórios, tendo sido identificados anticorpos que atacam esse transportador no início do desenvolvimento do DM do tipo 1 (SCOTTO et al., 2012). Associada ao DM2 foi também relatada à ocorrência de um polimorfismo de um único nucleotídeo (Arg325Trp) desse transportador (HUANG, 2014; SCOTTO et al., 2012; XU et al., 2012). Estudos recentes têm mostrado que esse polimorfismo em seres humanos está relacionado com a diminuição da secreção de insulina (BOESGAARD et al., 2008; PASCOE et al., 2008) e que camundongos diabéticos, *db/db* e *Akita*, apresentaram menor expressão do ZnT8 em relação aos camundongos controle (TAMAKI et al., 2009). O ZnT7 está envolvido no transporte de zinco citoplasmático para o complexo de Golgi onde esse mineral pode ser armazenado ou incorporado em proteínas recém-sintetizadas. Em camundongos C57BL/6J a superexpressão do ZnT7 em células β aumentou significativamente a concentração e a secreção basal de insulina (HUANG; YAN; KIRSCHKE, 2010).

As MT desempenham um importante controle homeostático do zinco intracelular em células β e auxiliam na regulação do estado redox celular (MARET, 2008). As MT liberam o zinco em resposta ao dano oxidativo, uma condição frequentemente encontrada nos tecidos de indivíduos com DM2 (LEE et al., 2003). As principais isoformas dessas proteínas encontradas no pâncreas são as MT1 e MT2 (CAI, 2004). As ilhotas de camundongos transgênicos que não expressavam MT apresentavam um teor semelhante de insulina em comparação com ilhotas de camundongos controle, entretanto, a secreção de insulina basal e estimulada por glicose em ilhotas dos animais que não expressavam as MT foi significativamente menor, sugerindo que as MT são necessárias na modulação da secreção de insulina a partir das células β (LAYCHOCK; DUZEN; SIMPKINS, 2000). A síntese de MT foi aumentada com o tratamento de zinco em células β e protegeu significativamente contra o DM induzido por estreptozotocina, o que pode estar relacionado com os efeitos protetores das MT no estresse oxidativo muitas vezes presente no DM (CAI, 2004; YANG et al., 1994).

O aumento da expressão da MT e a inibição de caspases e da xantina-oxidase exercendo efeitos antioxidantes e antiapoptóticos, respectivamente, é sugerido estar relacionado com o aumento da concentração de zinco intracelular (BOSCO et al., 2010). Além disso, o zinco desempenha um papel importante na manutenção da integridade estrutural da enzima cobre-zinco superóxido-dismutase (Cu-Zn SOD) presente no citoplasma de células eucarióticas, sendo que a suplementação com zinco aumentou a atividade dessa

enzima antioxidante *in vitro*, enquanto que a sua atividade foi diminuída em ratos com deficiência desse mineral (COUDRAY et al., 1992).

Além de estar presente em MT e nas CRIP (HEMPE; COUSINS, 1992), o zinco é um metal fundamental para garantir a estabilidade dos *Zinc fingers* (ZnF), pequenos domínios proteicos que fazem parte de fatores de transcrição eucarióticos, desempenhando um importante papel no ciclo celular ao se ligarem no DNA e no RNA, regulando a expressão de genes, o metabolismo, a apoptose e outros mecanismos celulares (KRISHNA; MAJUMDAR; GRISHIN, 2003; LAITY; LEE; WRIGHT, 2001). Um estudo recente mostrou que o aumento da expressão de ST18 (*Suppression of Tumorigenicity 18*), um ZnF que no pâncreas é expresso apenas nas células endócrinas, induz a apoptose e restringe a replicação de células β , prejudicando a secreção de insulina (HENRY; CLOSE; BUTEAU, 2014). Por outro lado, a deficiência de outros ZnF, como o *transcription factor teashirt zinc finger 1* (Tshz1) pode estar envolvida com o surgimento do DM2 (RAUM et al., 2015) e a deficiência de *GLIS family zinc finger 3* (Glis3), com o surgimento do DM1, 2 e neonatal (YANG et al., 2009).

1.4 Zinco e sensibilidade periférica à insulina

O efeito do zinco na sensibilidade periférica à insulina tem despertado o interesse de muitos pesquisadores. Este mineral possui uma relação com os sinais de membrana na regulação hormonal, que parece melhorar a interação entre hormônios e seus receptores, como no caso da ligação da insulina e seu receptor de membrana em células-alvo (CUNNINGHAM et al., 1990; HAASE; MARET, 2005).

A insulina é o principal regulador do metabolismo e do armazenamento de energia de todo o organismo (POLOZ; STAMBOLIC, 2015). Sua ligação à subunidade α do seu receptor de membrana, composto por duas subunidades α e duas subunidades β , leva à alteração conformacional e autofosforilação, ativando a atividade tirosina cinase intrínseca do receptor, que fosforila vários substratos proteicos intracelulares, como os substratos do receptor de insulina (IRSs) em tirosina, criando sítios de reconhecimento para moléculas contendo domínios com homologia a Src2 (SH2), como a fosfatidilinositol-3-quinase (PI3-K) que é a mediadora das principais ações metabólicas da insulina via efetores “*downstream*” como a proteína quinase B (AKT) (BOURA-HALFON; ZICK, 2005). Por fosforilação, a AKT inibe a proteína AS160, permitindo que as proteínas Rab (*GTPase activating protein*) operem

sobre o tráfego de vesículas que contêm transportadores de glicose do tipo 4 (GLUT4), dependentes de insulina (WATSON; PESSIN, 2007). Após estímulo com insulina a AKT também fosforila e inativa a glicogênio sintase quinase-3 β (GSK3- β), o que diminui a taxa de fosforilação da glicogêniosintetase aumentando sua atividade (CROSS et al., 1995). Independente da AKT, a PI3-K ativa a proteína fosfatase 1 que também desfosforila a glicogênio sintetase (BRADY; NAIRN; SALTIEL, 1997). Desfosforilada, a glicogênio sintetase inicia a síntese de glicogênio (BRADY; NAIRN; SALTIEL, 1997; CROSS et al., 1995).

A insulina também diminui a expressão de algumas enzimas hepáticas necessárias para o processo de gliconeogênese e glicogenólise, como a diminuição da expressão do fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK) e da glicose-6-fosfatase (G6Pase), respectivamente (PILKIS et al., 1986). Esse hormônio ainda reduz o fornecimento de precursores metabólicos para a gliconeogênese devido a sua ação antilipolítica, controlando o fornecimento de ácidos graxos livres e glicerol a partir de tecidos periféricos para o fígado (COPPACK; JENSEN; MILES, 1994) e no músculo impede a degradação proteica reduzindo a liberação de aminoácidos gliconeogênicos (FREYSE et al., 1987). Além disso, a insulina inibe a secreção de glucagon (STEVENSON et al., 1987), proporcionando outro possível mecanismo indireto para a diminuição da produção de glicose hepática. Portanto, a insulina aumenta a captação de glicose via transportadores GLUT4 em músculo e tecido adiposo, estimula o acúmulo de glicogênio através do aumento do transporte de glicose no músculo e síntese de glicogênio no fígado, inibe a produção e liberação de glicose no fígado através do bloqueio da gliconeogênese e glicogenólise, reduz a lipólise e inibe a degradação proteica.

Quando há alterações funcionais na via de sinalização da insulina, desencadeando a diminuição do transporte e do metabolismo da glicose estimulado por esse hormônio em adipócitos, hepatócitos e células musculares esqueléticas, bem como o aumento da liberação da glicose hepática, ocorre o estado de resistência à insulina (KAHN; FLIER, 2000). Essa desordem metabólica ocasiona um processo crônico de hiperglicemia e hiperinsulinemia, os quais colaboram para o surgimento do DM2, da hipertensão e de doenças renais e cardiovasculares (BUSE, 2006; KOPELMAN, 2000).

A obesidade é considerada um dos principais fatores para o desenvolvimento da resistência à insulina e o DM2 (POLOZ; STAMBOLIC, 2015). A razão hiperlipídica demonstrou causar resistência à insulina no fígado (LIU et al., 2015), músculo (KEWALRAMANI et al., 2010) e tecido adiposo (LAVAU et al., 1979). É sugerido que a resistência à insulina seja

causada pela exposição prolongada de células insulino dependentes a níveis elevados de ácidos graxos circulantes (POLOZ; STAMBOLIC, 2015), tais como o ácido palmítico e o ácido esteárico. Há várias hipóteses sobre como o excesso de ácidos graxos pode resultar em resistência à insulina, como: a relação inversa entre a disponibilidade de ácidos graxos e a utilização de glicose apresentada pelo ciclo de Randle; o acúmulo celular de derivados lipídicos (diacilglicerol e ceramidas); o estresse oxidativo; a modulação da expressão gênica; a inflamação; e a disfunção mitocondrial. Por outro lado, a expansão do tecido adiposo durante o desenvolvimento da obesidade leva há um aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) que causam prejuízos na via de sinalização da insulina (MARTINS, et al., 2012).

No músculo esquelético e no tecido adiposo a ligação da insulina ao seu receptor de membrana, bem como a fosforilação e a atividade cinase deste receptor, estão reduzidas em indivíduos com resistência à insulina (KAHN; FLIER, 2000). No tecido adiposo a fosforilação de IRS 1 está reduzida em indivíduos diabéticos e obesos com resistência à insulina (RONDINONE et al., 1997), bem como a atividade da PI3-K associada ao IRS 1 e 2 no músculo esquelético (KIM et al., 1999). Além disso, há uma diminuição da proteína GLUT 4 no músculo de ratos com diabetes induzida por estreptozotocina (RICHARDSON et al., 1991) e em adipócitos de indivíduos com DM2 (GARVEY et al., 1991).

É sugerido que o zinco esteja envolvido com a transdução de sinal do receptor de insulina auxiliando no controle glicêmico (HAASE; MARET, 2005; TANG; SHAY, 2001; YOSHIKAWA et al., 2004). Evidências demonstram que a suplementação com zinco possa melhorar a resistência à insulina em adipócitos através da via de sinalização desse hormônio, mostrando que esse mineral possui um efeito insulinomimético (BASUKI; HIROMURA; SAKURAI, 2007; NAITO; YOSHIKAWA; YASUI, 2011; NAKAYAMA et al., 2008; YOSHIKAWA et al., 2004) estimulando a atividade tirosina cinase do receptor de insulina, ativando a via da PI3-K e da AKT e consequentemente estimulando a translocação de vesículas que contêm GLUT4 dos seus sítios intracelulares para a membrana plasmática (TANG; SHAY, 2001).

O zinco mimetizou o efeito da insulina em adipócitos de ratos *Wistar*, diminuindo a liberação de ácidos graxos e atuando diretamente sobre os receptores de insulina e o PI3-K, aumentando a translocação de GLUT4 para a membrana (YOSHIKAWA et al., 2004) e induziu a fosforilação da GSK3- β (NAITO; YOSHIKAWA; YASUI, 2011). Em adipócitos de ratos é possível que o zinco tenha um efeito estimulatório sobre a lipogênese similar à insulina e

esse efeito é somado quando os dois são incubados juntos (COULSTON; DANDONA, 1980). Também em adipócitos de ratos, o tratamento com zinco mimetizou o efeito da insulina reduzindo a lipólise e melhorando o transporte de 3-O-metil-D-glicose (C₇H₁₄O₆) (MAIO; CONTOREGGI, 1982). Em outras linhagens de célula, esse mineral ainda parece aumentar a fosforilação induzida por insulina da AKT em Células HUT-78 (linhagem celular de linfócito T) (JANSEN et al., 2012). Além disso, Ilouzet al. (2002) demonstraram que células humanas embrionárias de rim (HEK-293) tratadas com zinco apresentaram maior fosforilação da GSK3- β , permitindo a ativação da glicogênio sintase e a síntese de glicogênio, o que sugere um aumento na captação de glicose e uma ação semelhante à insulina. No entanto, há falta de informação a respeito dos efeitos do zinco sobre a via de sinalização da insulina no fígado e no músculo.

1.5 Justificativa

Embora os trabalhos supracitados relatem a participação do zinco na síntese e secreção da insulina, assim como sobre o controle da insulinemia e glicemia (ARQUILLA et al., 1978; BASUKI; HIROMURA; SAKURAI, 2007; ILOUZ et al., 2002; JANSEN et al., 2012; NAITO; YOSHIKAWA; YASUI, 2011; NYGAARD et al., 2014; OKAMOTO et al., 2011; QUARTERMAN; MILLS; HUMPHRIES, 1966; TANG; SHAY, 2001; YOSHIKAWA et al., 2004), não está claro se os aparentes benefícios da suplementação com esse mineral sobre o controle glicêmico de pacientes diabéticos poderiam estar associados a uma melhora nos mecanismos de secreção de insulina ou na sensibilidade dos tecidos responsivos à insulina. Dessa forma, novos estudos sobre o mecanismo de interação do zinco com a secreção de insulina, o controle glicêmico e sua ação antioxidante poderão fornecer bases para o entendimento bioquímico do possível papel desse mineral em prevenir a progressão para o DM2 e gerar novos conhecimentos acerca dos mecanismos envolvidos.

Nesse contexto, hipotetizamos que a suplementação com zinco deve prevenir, ao menos em parte, a progressão para o DM2 induzido por ração hiperlipídica por impedir a perda de sensibilidade da resposta secretória das células β à glicose associada à ração e/ou por melhorar a sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina. Ademais, é possível que parte desses efeitos putativos da suplementação com zinco se devam à sua ação antioxidante sobre as ilhotas pancreáticas.

2 CONCLUSÃO

Os dados obtidos demonstram que a suplementação com $ZnCl_2$ melhorou o quadro de disfunção glicêmica induzido por ração hiperlipídica, aparentemente por um efeito positivo sobre a função da célula β , sem afetar a sensibilidade periférica à insulina no fígado e no músculo e o ganho massa corporal. Parece haver um melhor funcionamento das células β dos animais suplementados, sugerido (1) pelo melhor controle glicêmico e uma menor área sob a curva dos animais suplementados durante o ipGTT, (2) pelo menor resultado da glicemia de privação alimentar no grupo HFDZ em relação ao grupo HFD e (3) pelo possível efeito do zinco sobre a capacidade secretória dessas células, apresentado pelo *HOMA- β* , no grupo HFDZ em relação ao HFD.

Esses resultados indicam uma melhora na função das células β dos animais suplementados e, como consequência, um melhor controle glicêmico. Mesmo não tendo sido identificado o mecanismo por trás da melhora na função dessas células, os resultados mostram que a suplementação com o $ZnCl_2$ consegue retardar a manifestação do DM2 em modelo de camundongo em que a doença é induzida por ração hiperlipídica. Portanto, entende-se que o conhecimento da relação entre o zinco e os mecanismos subjacentes ao controle da síntese e secreção de insulina em células β seja o foco de intensas pesquisas que procurem desvendar possíveis mecanismos que justifiquem a utilização do zinco na prevenção ou retardo da manifestação do DM2.

REFERÊNCIAS*

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 38, n. 1, p. S8-S16, 2015.

ARQUILLA, E. R.; THIENE, P.; BRUGMAN, T.; RUESS, W.; SUGIYAMA, R. Effects of zinc ion on the conformation of antigenic determinants. **Biochem. J.**, v. 175, n. 1, p. 289-297, 1978.

BASUKI, W.; HIROMURA, M.; SAKURAI, H. Insulinomimetic Zn complex (Zn(opt)2) enhances insulin signaling pathway in 3 T3-L1 adipocytes. **J. Inorg. Biochem.**, v. 101, n. 4, p. 692-699, 2007.

BELLOMO, E. A.; MEUR, G.; RUTTER, G. A. Glucose regulates free cytosolic Zn²⁺ concentration, Slc39 (ZiP), and metallothionein gene expression in primary pancreatic islet β -cells. **J. Biol. Chem.**, v. 286, n. 29, p. 25778-25789, 2011.

BERGMAN, R. N.; ADER, M.; HUECKING, K.; CITTERS, G. V. Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. **Diabetes**, v. 51, n. 1, p. 212-220, 2002.

BOESGAARD, T. W.; ZILINSKAITE, J.; VÄNTTINEN, M.; LAAKSO, M.; JANSSON, P. A.; HAMMARSTEDT, A.; SMITH, U.; STEFAN, N.; FRITSCH, A.; HÄRING, H.; HRIBAL, M.; SESTI, G.; ZOBEL, D.P.; PEDERSEN, O.; HANSEN, T.; EUGENE, 2 C. The common SLC30A8 Arg325Trp variant is associated with reduced first-phase insulin release in 846 non-diabetic offspring of type 2 diabetes patients-the EUGENE2 study. **Diabetologia**, v. 51, n. 5, p. 816-820, 2008.

BONORA, E.; MOGHETTI, P.; ZANCANARO, C.; CIGOLINI, M.; QUERENA, M.; CACCIATORI, V.; CORGNATI, A.; MUGGEO, M. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies, **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 68, n. 2, p. 374-378, 1989.

BONORA, E.; TARGHER, G.; ALBERICHE, M.; BONADONNA, R. C.; SAGGIANI, F.; ZENERE, M. B.; MONAUNI, T.; MUGGEO, M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. **Diabetes Care**, v. 23, n. 1, p. 57-63, 2000.

BOURA-HALFON, S.; ZICK, Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 296, n. 4, p. E581-E591, 2005.

BOWE, J. E.; FRANKLIN, Z. J.; HAUGE-EVANS, A. C.; KING, A. J.; PERSAUD, S. J.; JONES, P. M. Metabolic phenotyping guidelines: assessing glucose homeostasis in rodent models. **J. Endocrinol.**, v. 222, n. 3, p. 13-25, 2014.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRADY, M. J.; NAIRN, A. C.; SALTIEL, A. R. The regulation of glycogen synthase by protein phosphatase 1 in 3T3-L1 adipocytes. Evidence for a potential role for DARPP-32 in insulin action. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 47, p. 29698-29703, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise da Situação de Saúde. Departamento de Informática do SUS. **Indicadores de mortalidade**. 2012. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defptohtm.exe?idb2012/c12.def>>. Acesso em: 25 jan. 2016.

_____. **Indicadores de morbidade**. 2013. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defptohtm.exe?idb2012/d29.def>>. Acesso em: 25 jan. 2016.

BROWNLEE, M.; AIELLO, L. P.; COOPER, M. E.; VINIK, A. I.; NESTO, R. W.; BOULTON, A. J. M. Complicações do diabetes melito. In: KRONENBERG, H. M.; MELMED, S.; POLONSKY, K. S.; LARSEN P.R. **Williams tratado de endocrinologia**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.1124-1189.

BUETTNER, R.; PARHOFER, K. G.; WOENCKHAUS, M.; WREDE, C.E.; KUNZ-SCHUGHART, L. A.; SCHOÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L.C.; Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **J. Mol. Endocrinol.**, v. 36, n. 3, p. 485-501, 2006.

BUSE, M. G. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 290, n. 1, p. E1-E8, 2006.

CAI, L. Metallothionein as an adaptive protein prevents diabetes and its toxicity. **Nonlinearity Biol. Toxicol. Med.**, v. 2, n. 2, p. 89-103, 2004.

CHALLISS, R. A.; LOZEMAN, F. J.; LEIGHTON, B.; NEWSHOLME, E. A. Effects of the beta-adrenoceptor agonist isoprenaline on insulin-sensitivity in soleus muscle of the rat. **Biochem. J.**, v. 233, n. 2, p. 377-381, 1986.

CHASAPIS, C. T.; LOUTSIDOU, A. C.; SPILIOPOULOU, C. A.; STEFANIDOU, M. E. Zinc and human health: an update. **Arch. Toxicol.**, v. 86, n. 4, p. 521-534, 2012.

CHEN, M. D.; LIOU, S. J.; LIN, P. Y.; YANG, V. C.; ALEXANDER, P. S.; LIN, W. H. Effects of zinc supplementation on the plasma glucose level and insulin activity in genetically obese (ob/ob) mice. **Biol. Trace. Elem. Res.**, v. 61, n. 3, p. 303-311, 1998.

CHEN, M. D.; YANG, V. C.; ALEXANDER, P. S.; LIN, P. Y.; SONG, Y. M. Effects of selected minerals on leptin secretion in streptozotocin-induced hyperglycemic mice. **Exp. Biol. Med. (Maywood)**, v. 226, n. 9, p. 836-840, 2001.

COLLINS, S. C.; HOPPA, M. B.; WALKER, J. N.; AMISTEN, S.; ABDULKADER, F.; BENGTSSON, M.; FEARNside, J.; RAMRACHEYA, R.; TOYE, A. A.; ZHANG, Q.; CLARK, A.; GAUGUIER, D.; RORSMAN, P. Progression of diet-induced diabetes in C57BL6J mice involves functional dissociation of Ca²⁺ channels from secretory vesicles. **Diabetes**, v. 59, n. 5, p. 1192-1201, 2010.

COPPACK, S. W.; JENSEN, M. D.; MILES, J. M. In vivo regulation of lipolysis in humans. **J. Lipid. Res.**, v. 35, n. 2, p. 177-193, 1994.

CORÉ, N.; CAUBIT, X.; METCHAT, A.; BONED, A.; DJABALI, M.; FASANO, L. Tshz1 is required for axial skeleton, soft palate and middle ear development in mice. **Dev. Biol.**, v. 308, n. 2, p. 407-420, 2007.

COUDRAY, C.; RICHARD, M. J.; LAPORTE, F.; FAURE, P.; ROUSSEL, A. M.; FAVIER, A. Superoxide dismutase activity and zinc status: a study in animals and man. **J. Nutr. Environ. Med.**, v. 3, n. 1, p. 13-26, 1992.

COULSTON, L.; DANDONA, P. Insulin-like effects of zinc on adipocytes. **Diabetes**, v. 29, p. 665-667, 1980.

COUSINS, R. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. **Physiol. Ver.**, v. 65, p. 238-308, 1985.

CRETZAZ, M.; PRENTKI, M.; ZANINETTI, D.; JEANRENAUD, B. Insulin resistance in soleus muscle from obese Zucker rats. Involvement of several defective sites. **Biochem. J.**, v. 186, n. 2, p. 525-534, 1980.

CROSS, D. A.; ALESSI, D. R.; COHEN, P.; ANDJELKOVICH, M.; HEMMING, B. A. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. **Nature**, v. 378, n. 6559, p. 785-789, 1995.

CUNNINGHAM, B. C.; BASS, S.; FUH, G.; WELLS, J. A. Zinc mediation of binding of human growth hormone to the human prolactin receptor. **Science**, v. 250, n. 4988 p. 1709-1712, 1990.

DANEMAN, D. Type 1 diabetes. **Lancet**, v. 367, n. 9513, p. 847-858, 2006.

DEFRONZO, R. A.; GUNNARSSON, R.; BJORKMAN, O.; OLSSON, M.; WAHREN, J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.**, v. 76, n. 1, p. 149-155, 1985.

DEVENDRA, D.; LIU, E.; EISENBARTH, G. S. Type 1 diabetes: recent developments. **BMJ.**, v. 328, n. 7442, p. 750-754, 2004.

DODSON, G.; STEINER, D. The role of assembly in insulin's biosynthesis. **Curr. Opin. Struct. Biol.**, v. 8, n. 2, p. 189-194, 1998.

DUFNER-BEATTIE, J.; KUO, Y. M.; GITSCHIER, J.; ANDREWS, G. K. The adaptive response to dietary zinc in mice involves the differential cellular localization and zinc regulation of the zinc transporters ZIP4 and ZIP5. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 49082-49090, 2004.

DUFNER-BEATTIE, J.; WANG, F.; KUO, Y. M.; GITSCHIER, J.; EIDE, D.; ANDREWS, G. K. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 33474-33481, 2003.

DUNN, M. F. Zinc-ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer - a review. **Biomaterials**, v. 18, n. 4, p. 295-303, 2005.

DUPREZ, J.; ROMA, L. P.; CLOSE, A. F.; JONAS, J. C.; Protective antioxidant and antiapoptotic effects of ZnCl₂ in rat pancreatic islets cultured in low and high glucose concentrations. **Plos One**, v. 7, n. 10, p. 1-11, 2012.

EMDIN, S. O.; DODSON, G. G.; CUTFIELD, J. M.; CUTFIELD, S. M. Role of zinc in insulin biosynthesis some possible zinc-Insulin interactions in the pancreatic β -cell. **Diabetologia**, v. 19, n. 3, p. 174-182, 1980.

FAURE, P.; ROUSSEL, A.; COUDRAY, C.; RICHARD, M. J.; HALIMI, S.; FAVIER, A. Zinc and insulin sensitivity. **Biol. Trace. Elem. Res.**, v. 32, p.305-310, 1992.

FIGLEWICZ, D. P.; FORHAN, S. E.; HODGSON, A. T.; GRODSKY, G. M. Zinc and endogenous zinc content and distribution in islets in relationship to insulin content. **Endocrinology**, v. 115, n. 3, p. 877-881, 1984.

FOSTER, M. C.; LEAPMAN, R. D.; LI, M. X.; ATWATER, I. Elemental composition of secretory granules in pancreatic islets of Langerhans. **Biophys. J.**, v. 64, n. 2, p. 525-532, 1993.

FRANKLIN, I.; GROMADA, J.; GJINOVICI, A.; THEANDER, S.; WOLLHEIM, C. B. B-cell secretory products activate α -cell atp-dependent potassium channels to inhibit glucagon release. **Diabetes**, v. 54, n. 6, p. 1808-1815, 2005.

FREYSE, E. J.; FISCHER, U.; ALBRECHT, G.; MARX, S.; KEILACKER, H. The effect of prehepatic insulin administration on alanine flux rates in diabetic dogs. **Diabetologia**, v. 30, n. 6, p. 402-408, 1987.

FUKADA, T.; YAMASAKI, S.; NISHIDA, K.; MURAKAMI, M.; HIRANO, T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 16, n. 7, p. 1123-1134, 2011.

GALLAGHER, M. L. Os nutrientes e seu metabolismo. In: MANHAN L. K.; ESCOTT-STUMP S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 12.ed. São Paulo: Roca, 2010. p. 39-158.

GALLOU-KABANI, C.; VIGÉ, A.; GROSS, M.S.; RABÈS, J. P.; BOILEAU, C.; LARUE-ACHAGIOTIS, C.; TOMÉ, D.; JAIS, J. P.; JUNIEN, C. C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome. **Obesity**, v. 15, n. 8, p. 1996-2005, 2007.

GARG, V. K.; GUPTA, R.; GOYAL, R. K. Hypozincemia in diabetes mellitus. **J. Assoc. Physicians India**, v. 42, n. 9, p. 720-721, 1994.

GARVEY, W. T.; MAIANU, L.; HUECKSTEADT, T. P.; BIRNBAUM, M. J.; MOLINA, J. M.; CIARALDI, T.P. Pretranslational suppression of a glucose transporter protein causes insulin resistance in adipocytes from patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. **J. Clin. Invest.**, v. 87, n. 3, p. 1072-1081, 1991.

GONZALEZ, A.; MERINO, B.; MARROQUÍ, L.; ÑECO, P.; ALONSO-MAGDALENA, P.; CABALLERO-GARRIDO, E.; VIEIRA, E.; SORIANO, S.; GOMIS, R.; NADAL, A.; QUESADA, I. Insulin hypersecretion in islets from diet-induced hyperinsulinemic obese female mice is associated with several functional adaptations in individual beta-cells. **Endocrinology**, v. 154, n. 10, p. 3515-3524, 2013.

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

GUPTA, R.; GARG, V. K.; MATHUR, D. K.; GOYAL, R. K. Oral zinc therapy in diabetic neuropathy. **J. Assoc. Physicians India**, v. 46, n. 11, p. 939-942, 1998.

HAASE, H.; MARET, W. Fluctuations of cellular, available zinc modulate insulin signaling via inhibition of protein tyrosine phosphatases. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, v. 19, n. 1, p. 37-42, 2005.

HALBAN, P. A.; POLONSKY, K. S.; BOWDEN, D. W.; HAWKINS, M. A.; LING, C.; MATHER, K. J.; POWERS, A. C.; RHODES, C. J.; SUSSEL, L.; WEIR, G. C. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 99, n. 6, p. 1983-1992, 2014.

HEMPE, J. M.; COUSINS, R. J. Cysteine-rich intestinal protein and intestinal metallothionein: an inverse relationship as a conceptual model for zinc absorption in rats. **J. Nutr.**, v. 122, n. 1, p. 89-95, 1992.

HENRY, C.; CLOSE, A. F.; BUTEAU, J. A Critical Role for the Neural Zinc Factor ST18 in Pancreatic β -Cell Apoptosis. **J. Biol. Chem.**, v. 289, n. 12, p. 8413-8419, 2014.

HERBERG, L.; HERBERG, L.; DÖPPEN, W.; MAJOR, E.; GRIES, F. A. Dietary-induced hypertrophic hyperplastic obesity in mice. **J. Lipid. Res.**, v. 15, n. 6, p. 580-585, 1974.

HUANG, L. Zinc and its transporters, pancreatic β -cells, and insulin metabolism. In: LITWACK, G. **Vitamins and hormones**. Burlington: Academic Press, 2014. v. 95, p. 365-390.

HUANG, L.; YAN, M.; KIRSCHKE, C. P. Over-expression of ZnT7 increases insulin synthesis and secretion in pancreatic β -cells by promoting insulin gene transcription. **Exp. Cell Res.**, v. 316, n. 16, p. 2630-2643, 2010.

ILOUZ, R.; KAIDANOVICH, O.; GURWITZ, D.; ELDAR-FINKELMAN, H. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 β by bivalent zinc ions: insight into the insulin-mimetic action of zinc. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 295, n. 1, p. 102-106, 2002.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, IDF. **Diabetes Atlas**. [Internet] 7th ed. Brussels, 2015.p. 11-27, 50-65, 86-87. Disponível em: < <http://www.diabetesatlas.org/component/attachments/?task=download&id=116>>. Acesso em: 13 jan. 2016.

JANSEN, J.; KARGES, W.; RINK, L. Zinc and diabetes-clinical links and molecular mechanisms. **J. Nutr. Biochem.**, v. 20, n. 6, p. 399-417, 2009.

JANSEN, J.; ROSENKRANZ, E.; OVERBECK, S.; WARMUTH, S.; MOCCHIGIANI, E.; GIACCONI, R.; WEISKIRCHEN, R.; KARGES, W.; RINK, L. Disturbed zinc homeostasis in diabetic patients by in vitro and in vivo analysis of insulinomimetic activity of zinc. **J. Nutr. Biochem.**, v. 23, n. 11, p. 1458-1466, 2012.

JAYAWARDENA, R.; RANASINGHE, P.; GALAPPATTHY, P.; MALKANTHI, R.; CONSTANTINE, G.; KATULANDA, P. Effects of zinc supplementation on diabetes melito: a systematic review and meta-analysis. **Diabetol. Metab. Syndr.**, v. 4, n. 1, p. 4-13, 2012.

KAHN, B. B.; FLIER, J. S. Obesity and insulin resistance. **J. Clin. Invest.**, v. 106, n. 4, p. 473-481, 2000.

KAMOHARA, S.; BURCELIN, R.; HALAAS, J. L.; FRIEDMAN, J. M.; CHARRON, M. J. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. **Nature**, v. 389, n. 6649, p. 374-377, 1997.

KARASAWA, H.; NAGATA-GOTO, S.; TAKAISHI, K.; KUMAGAE, Y. A novel model of type 2 diabetes mellitus based on obesity induced by high-fat diet in BDF1 mice. **Metabolism**, v. 58, n. 3, p. 296-303, 2009.

KEWALRAMANI, G.; BILAN, P. J.; KLIP, A. Muscle insulin resistance: assault by lipids, cytokines and local macrophages. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 13, n. 4, p. 382-390, 2010.

KIM, Y. B.; NIKOULINA, S. E.; CIARALDI, T. P.; HENRY, R. R.; KAHN B. B. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. **J. Clin. Invest.**, v. 104, n.6, p.733-741, 1999.

KIM, Y.; IWASHITA, S.; TAMURA, T.; TOKUYAMA, K.; SUZUKI, M. Effect of high-fat diet on the gene expression of pancreatic GLUT2 and glucokinase in rats. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 208, n.3, p. 1092-1098, 1995.

KING, J. C.; SHAMES, D. M.; WOODHOUSE, L. R. Zinc homeostasis in humans. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1360-1366, 2000.

KINLAW, W. B.; LEVINE, A. S.; MORLEY, J. E.; SILVIS, S. E.; MCCLAIN, C. J. Abnormal zinc metabolism in type II diabetes mellitus. **Am. J. Med.**, v. 75, n. 2, p. 273-277, 1983.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 6, n. 404, p. 635-643, 2000.

KRISHNA, S. S.; MAJUMDAR, I.; GRISHIN, N. V. Structural classification of zinc fingers: survey and summary. **Nucleic. Acids. Res.**, v. 31, n. 2; p. 532-550, 2003.

KRUSE-JARRES, J. D.; RÜKGAUER, M. Trace elements in diabetes mellitus. Peculiarities and clinical validity of determinations in blood cells. **J. Trace. Elem. Med. Biol.**, v. 14, n. 1, p. 21-77, 2000.

LAITY, J. H.; LEE, B. M.; WRIGHT, P. E. Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity. **Curr. Opin. Struct. Biol.**, v. 11, n. 1, p. 39-46, 2001.

LAVAU, M.; FRIED, S. K.; SUSINI, C.; FREYCHET, P. Mechanism of insulin resistance in adipocytes of rats fed a high-fat diet. **J. Lipid. Res.** v. 20, n. 1, p. 8-16, 1979.

LAYCHOCK, S. G.; DUZEN, J.; SIMPKINS, C. O. Metallothionein induction in islets of Langerhans and insulinoma cells. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 165, n. 2, p. 179-187, 2000.

LEE, D.K.; GEISER, J.; DUFNER-BEATTIE, J.; ANDREWS, G.K. Pancreatic metallothionein-I may play a role in zinc homeostasis during maternal dietary zinc deficiency in mice. **J. Nutr.**, v. 133, n. 1, p. 45-50, 2003.

LEWIS, R. J. **Sax's dangerous properties of industrial materials**. 9. ed. Hoboken: Wiley-Interscience, Wiley & Sons, 1996.

LICHTI-KAISER, K.; ZERUTH, G.; KANG, H. S.; VASANTH, S.; JETTEN, A. M. Gli-similar proteins: their mechanisms of action, physiological functions, and roles in disease. **Vitam. Horm.**, v. 88, p. 141-171, 2012.

LIU, L.; KARKANIAS, G. B.; MORALES, J. C.; HAWKINS, M.; BARZILAI, N.; WANG, J.; ROSSETTI, L. Intracerebroventricular leptin regulates hepatic but not peripheral glucose fluxes. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 47, p. 31160-31167, 1998.

LIU, Z.; PATIL, I. Y.; JIANG, T.; SANCHETI, H.; WALSH, J. P.; STILES, B. L.; YIN, F.; CADENAS, E. High-fat diet induces hepatic insulin resistance and impairment of synaptic plasticity. **PLoS One**, v. 10, n. 5, p. 1-16, 2015.

LIUZZI, J. P.; BOBO, J. A.; CUI, L.; MCMAHON, R. J.; COUSINS, R. J. Zinc transporters 1, 2 and 4 are differentially expressed and localized in rats during pregnancy and lactation. **J. Nutr.**, v. 133, p. 342-351, 2003.

LOWE, N. M.; FEKETE, K.; DECSI, T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 89, n.6, p. 2040S-2051S, 2009.

MAIO, J. M.; CONTOREGGI, C. S. The mechanism of the insulin-like effects of ionic zinc. **J. Biol. Chem.**, v. 257, n. 8, p. 4362-4368, 1982.

MIAO, X.; SUN, W.; FU, Y.; MIAO, L.; CAI, L. Zinc homeostasis in the metabolic syndrome and diabetes. **Front. Med.**, v. 7, n. 1, p. 31-52, 2013.

MALTA, D. C.; MOURA, L.; PRADO, R. R.; ESCALANTE, J. C.; SCHMIDT, M. I.; DUNCAN, B. B. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 23, n. 4, p. 599-608, 2014.

MANTZOROS, C. S.; PRASAD, A. S.; BECK, F. W.; GRABOWSKI, S.; KAPLAN, J.; ADAIR, C.; BREWER, G. J. Zinc may regulate serum leptin concentrations in humans. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 17, n. 3, p. 270-275, 1998.

MARET, W. Analyzing free zinc (ii) ion concentrations in cell biology with fluorescent chelating molecules. **Metallomics**, v.7, n. 2, p. 202–211, 2015.

_____. Metallothionein redox biology in the cytoprotective and cytotoxic functions of zinc. **Exp. Gerontol.**, v. 43, n.5, p. 363-369, 2008.

MARTINS, A. R.; NACHBAR, R. T.; GORJAO, R.; VINOLO M. A.; FESTUCCIA W. T.; LAMBERTUCCI R. H.; CURY-BOAVENTURA M. F.; SILVEIRA L. R.; CURI R.; HIRABARA S. M. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. **Lipids Health Dis.**, n. 11, v. 30, 2012.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985.

MCMAHON, R. J.; COUSINS, R. J. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.95, p 4841-4846, 1998.

MORGAN, C.R.; LAZAROW, A. Immunoassay of insulin: two antibody system plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. **Diabetes**, v. 12, n. 2, p. 115-126, 1963.

MÜNZBERG, H.; FLIER J. S.; BJØRBAEK C. Region-Specific Leptin Resistance within the Hypothalamus of Diet-Induced Obese Mice. **Endocrinology**, v.145, n.11, p. 4880-4889, 2004.

NAITO, Y.; YOSHIKAWA, Y.; YASUI, H. Cellular mechanism of zinchinokitiol complexes in diabetes mellitus. **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 84, n. 3, p. 298-305, 2011.

NAKAYAMA, A.; HIROMURA, M.; ADACHI, Y.; SAKURAI, H. Molecular mechanism of antidiabetic zinc-allixin complexes: regulations of glucose utilization and lipid metabolism. **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 13, n. 5, p. 675-684, 2008.

NYGAARD, S. B.; LARSEN, A.; KNUHTSEN, A.; RUNGBY, J.; SMIDT, K. Effects of zinc supplementation and zinc chelation on in vitro β -cell function in INS-1E cells. **BMC. Res. Notes.**, v. 7, p.77-84, 2004.

OKAMOTO, T.; KUROKI, T.; ADACHI, T.; ONO, S.; HAYASHI, T.; TAJIMA, Y.; EGUCHI, S.; KANEMATSU, T. Effect of zinc on early graft failure following intraportal islet transplantation in rat recipients. **Ann. Transplant.**, v. 16, n. 3, p. 114-120, 2011.

PASCOE, L.; FRAYLING, T. M.; WEEDON, M. N.; MARI, A.; TURA, A.; FERRANNINI, E.; WALKER, M.; RISC, C. Beta cell glucose sensitivity is decreased by 39% in non-diabetic individuals carrying multiple diabetes-risk alleles compared with those with no risk alleles. **Diabetologia**, v. 51, n. 11, p. 1989-1992, 2008.

PILKIS, S. J.; FOX, E.; WOLFE, L.; ROTHBARTH, L.; COLOSIA, A.; STEWART, H. B.; ELMAGHRABI M.R. Hormonal modulation of key hepatic regulatory enzymes in the gluconeogenic/glycolytic pathway. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 478, p. 1-19, 1986.

PLUM, L. M.; RINK, L.; HAASE, H. The essential toxin: impact of zinc on human health. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 7, n. 4, p. 1342-1365, 2010.

POLOZ, Y.; STAMBOLIC, V. Obesity and cancer, a case for insulin signaling. **Cell. Death. Dis.**, v. 6, n. 12, 2015.

PRASAD, A. S. Clinical manifestations of zinc deficiency. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 5, p. 341-63, 1985.

PRASAD, A. S.; BAO, B.; BECK, F. W.; KUCUK, O.; SARKAR, F. H. Antioxidant effect of zinc in humans. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 37, n. 8, p. 1182-1190, 2004.

QUARTERMAN, J.; MILLS, C.; HUMPHRIES, W. The reduced of and sensitivity to insulin in Zn-deficient rats. **BBRC**, v. 25, n. 3, p. 354-358, 1966.

RAUM, J. C.; SOLEIMANPOUR, S. A.; GROFF, D. N.; CORÉ, N.; FASANO, L.; GARRATT, A. N.; DAI, C. POWERS, A. C.; STOFFERS, D. A. Tshz1 regulates pancreatic beta cell maturation. **Diabetes**, v. 64, n. 6, p. 2905-2914, 2015.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J. Nutr.**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

REIMER, M. K.; AHREN, B. Altered β -cell distribution of pdx-1 and GLUT-2 after a short-term challenge with a high-fat diet in C57BL/6J mice. **Diabetes**, v. 51, n. 1, p. S138-S143, 2002.

RICHARDSON, J. M.; BALON, T. W.; TREADWAY, J. L.; PESSIN, J. E. Differential regulation of glucose transporter activity and expression in red and white skeletal muscle. **J. Biol. Chem.**, v. 266, n. 19, p. 12690-12694, 1991.

RIVERO-GUTIÉRREZ, B.; ANZOLA, A.; MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; DE MEDINA, F. S. Stain-free detection as loading control alternative to Ponceau and housekeeping protein immunodetection in Western blotting. **Anal Biochem.**, v. 15, n. 467, p. 1-3, 2014.

ROMERO-CALVO, I.; OCÓN, B.; MARTÍNEZ-MOYA, P.; SUÁREZ, M. D.; ZARZUELO, A.; MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; DE MEDINA, F. S. Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Anal Biochem.**, v. 15, n. 401, p. 318-320, 2010.

RONDINONE, C. M.; WANG, L.; LONNROTH, P.; WESSLAU, C.; PIERCE, J. H.; SMITH, U. Insulin receptor substrate (IRS) 1 is reduced and IRS-2 is the main docking protein for phosphatidylinositol 3-kinase in adipocytes from subjects with non-insulin-dependent diabetes melito. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.94, n. 8, p.4171-4175, 1997.

ROSSETTI, L.; MASSILLON, D.; BARZILAI, N.; VUGUIN, P.; CHEN, W.; HAWKINS, M.; WU, J.; WANG, J. Short term effects of leptin on hepatic gluconeogenesis and in vivo insulin action. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 44, p. 27758-27763, 1997.

ROUSSEL, A.; KERKENI, A.; ZOUARI, N.; MAJOUB, S.; MATHEAU, J.; ANDERSON, R. A. Antioxidant Effects of zinc supplementation in Tunisians with type 2 diabetes mellitus. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 22, n. 4, p. 316-321, 2003.

SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; SARABIA, M. I.; CARO, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. Zinc as an essential micronutrient: a review. **Nutr. Res.**, p. 20, n. 5, p. 737-755, 2000.

SANDSTRÖM, B. Bioavailability of zinc. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 51, p. 17-19, 1997.

SAPER, R. B.; RASH, R. Zinc: an essential micronutrient. **Am. Fam. Physician.**, v.79, n. 9, p. 768-772, 2009.

SCHMIDT, M. I.; DUNCAN, B. B.; AZEVEDO E SILVA, G.; MENEZES, A. M.; MONTEIRO, C. A.; BARRETO, S.M.; CHOR, D.; MENEZES, P.R. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **Lancet**, v. 4, n. 377, p. 1949-1961, 2011.

SCOTT, D. A. Crystalline insulin. **Biochem. J.**, v. 28, n. 4, p. 1592-1602, 1934.

SCOTT, D. A.; FISHER A. M. The insulin and the zinc content of normal and diabetic pancreas. **J. Clin. Invest.**, v. 17, n. 6, p. 725-728, 1938.

SCOTTO, M.; AFONSO, G.; LARGER, E.; RAVERDY, C.; LEMONNIER, F. A.; CAREL, J. C.; DUBOIS-LAFORGUE, D.; BAZ, B.; LEVY, D.; GAUTIER, J. F.; LAUNAY, O.; BRUNO, G.; BOITARD, C.; SECHI, L. A.; HUTTON, J. C.; DAVIDSON, H. W.; MALLONE, R. Zinc transporter (ZnT)8 (186-194) is an immunodominant CD8+ T cell epitope in HLA-A2+ type 1 diabetic patients. **Diabetologia**, v. 55, n. 7, p. 2026-2031, 2012.

SENSI, S. L.; PAOLETTI, P.; BUSH, A. I.; SEKLER, I. Zinc in the physiology and pathology of the CNS. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 10, n. 11, p. 780-791, 2009.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Ver. Nutr.**, v. 12, n. 1, p. 21-32, 1999.

SIMON, S. F.; TAYLOR, C. G. Dietary zinc supplementation attenuates hyperglycemia in db/db mice. **Exp. Med. Biol.**, v. 226, n. 1, p. 43-51, 2001.

SLEPCHENKO, K. G.; LI, Y. V. Rising intracellular zinc by membrane depolarization and glucose in insulin-secreting clonal HIT-T15 beta cells. **Exp. Diabetes Res.**, p. 190309, 2012.

SOINIO, M.; MARNIEMI, J.; LAAKSO, M.; PYÖRÄLÄ, K.; LEHTO, S.; RÖNNEMAA, T. Serum zinc level and coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 30, n. 3, p. 523-528, 2007.

SONDERGAARD, L. G.; STOLTENBERG, M.; FLYVBJERG, A.; BROCK, B.; SCHMITZ, O.; DANSCHER, G.; RUNGBY, J. Zinc ions in beta-cells of obese, insulin-resistant, and type 2 diabetic rats traced by autometallography. **APMIS**, v. 111, n. 12, p. 1147-1154, 2003.

SONE, H.; KAGAWA, Y. Pancreatic β cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. **Diabetologia**, v. 48, p. 1, p. 58-67, 2004.

STEFANIDOU, M.; MARAVELIAS, C.; DONA, A.; SPILIOPOULOU, C. Zinc: a multipurpose trace element. **Arch. Toxicol.**, v. 80, n. 1, p. 1-9, 2006.

STEVENSON, R. W.; WILLIAMS, P. E.; CHERRINGTON, A. D. Role of glucagon suppression on gluconeogenesis during insulin treatment of the conscious diabetic dog. **Diabetologia**, v. 30, p. 782-790, 1987.

TAMAKI, M.; FUJITANI, Y.; UCHIDA, T.; HIROSE, T.; KAWAMORI, R.; WATADA, H. Downregulation of ZnT8 expression in pancreatic β -cells of diabetic mice. **Islets**, v. 1, n. 2, p. 124-128, 2009.

TANG, X.; SHAY, N. F. Zinc has an insulin-like effect on glucose transport mediated by phosphoinositol-3-kinase and Akt in 3T3-L1 fibroblasts and adipocytes. **J. Nutr.**, v. 131, n. 5, p. 1414-1420, 2001.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomed. Pharmacother.**, v. 57, n. 9, p. 399-411, 2003.

TAYLOR, C. G. Zinc, the pancreas, and diabetes: insights from rodent studies and future directions. **Biometals**, v. 18, n. 4, p. 305- 312, 2005.

THIEBAUD, D.; JACOT, E.; DEFRONZO, R. A.; MAEDER, E.; JEQUIER, E.; FELBER, J. P. The effect of graded doses of insulin on total glucose uptake, glucose oxidation, and glucose storage in man. **Diabetes**, v. 31 n. 11, p. 957-963, 1982.

VASAK, M. Metallothioneins: chemical and biological challenges. **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 16, n. 7, p. 975-976, 2011.

VERAS, K.; ALMEIDA, F. N.; NACHBAR, R. T.; DE JESUS, D. S.; CAMPOREZ, J. P.; CARPINELLI, A. R.; GOEDECKE, J. H.; DE OLIVEIRA-CARVALHO, C. R. DHEA supplementation in ovariectomized rats reduces impaired glucose-stimulated insulin secretion induced by a high-fat diet. **FEBS Open Bio.**, v. 18, n. 4, p. 141-146, 2014.

VIKTORÍNOVÁ, A.; TOSEROVÁ, E.; KRIZKO, M.; DURACKOVÁ, Z. Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus. **Metabolism.**, v. 58, n. 10, p. 1477-1482, 2009.

WATSON, R. T.; PESSIN, J. E. Glut translocation: the last 200 nanometers. **Cell Signal**, v. 19, n. 11, p. 2209-2217, 2007.

WEST, D. B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 67, n. 3, p. 505-512, 1998.

XU, J.; WANG, J.; CHEN, B. SLC30A8 (ZnT8) variations and type 2 diabetes in the Chinese Han population. **Genet. Mol. Res.**, v. 11, n. 2, p. 1592-1598, 2012.

YAMASAKI, S.; SAKATA-SOGAWA, K.; HASEGAWA, A.; SUZUKI, T.; KABU, K.; SATO, E.; KUROSAKI, T.; YAMASHITA, S.; TOKUNAGA, M.; NISHIDA, K.; HIRANO, T. Zinc is a novel intracellular second messenger. **J. Cell. Biol.**, v. 177, n. 4, p. 637-645, 2007.

YANG, J.; CHERIAN, M. G. Protective effects of metallothionein on streptozotocin-induced diabetes in rats. **Life Sci.**, v. 55, n. 1, p. 43-51, 1994.

YANG, Y.; CHANG, B. H.; SAMSON, S. L.; LI, M. V.; CHAN, L. The Krüppel-like zinc finger protein Glis3 directly and indirectly activates insulin gene transcription. **Nucleic. Acids. Res.**, v. 37, n. 8, p. 2529-2538, 2009.

YOSHIKAWA, Y.; UEDA, E.; KOJIMA, Y.; SAKURAI, H. The action mechanism of zinc(II) complexes with insulinomimetic activity in rat adipocytes. **Life Sci.**, v. 75, n. 6, p. 741-751, 2004.

YU, Y. Y.; KIRSCHKE, C. P.; HUANG, L. Immunohistochemical analysis of ZnT1, 4, 5, 6, and 7 in the mouse gastrointestinal tract. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 55, p. 223-234, 2007.

ZHANG, Y. Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional of the mouse obese gene and its human homolog. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425-432, 1994.