

SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA D, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FUNÇÃO HEPÁTICA EM MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES MELLITUS TIPO 2

VITAMIN D SUPPLEMENTATION, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND LIVER FUNCTION IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS

1. Mestre em Alimentos e Nutrição pela Universidade Federal do Piauí

E-mail: neusacamilla@gmail.com

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1300551292286763>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8531-5199>

2. Doutora em Alimentos e Nutrição pela Universidade Federal do Piauí

E-mail: amandasuellenn@hotmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3303-4234>

3. Doutoranda em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí

E-mail: joycelopes385@gmail.com

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6755238900237393>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9980-3388>

4. Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí

Centro Universitário - UNI-CET Teresina

E-mail: anaksbrito@gmail.com

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6004719292446370>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9575-2103>

5. Doutora em Estomatopatologia pela Universidade Estadual de Campinas

Universidade Estadual do Piauí

E-mail: lucielmasalmito@ccs.uespi.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6181801128009373>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8766-8593>

6. Doutorando em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí

Universidade Estadual do Piauí

E-mail: jziltonsantos@ccs.uespi.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3338784653704461>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9877-1994>

7. Doutora em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo

Universidade Federal do Piauí

E-mail: adriananunes@ufpi.edu.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2436050983063870>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6880-0683>

8. Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí

E-mail: daniel.arcanjo@ufpi.edu.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0537823822525075>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7021-2744>

9. Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco

Universidade Federal do Piauí

E-mail: carminhamartins@ufpi.edu.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3855844764232542>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9107-2485>

Neusa Camilla Cavalcante Andrade Oliveira ¹

Amanda Suellenn da Silva Santos Oliveira ²

Joyce Lopes Macedo ³

Ana Karolinne da Silva Brito ⁴

Lucielma Salmito Soares Pinto ⁵

José Zilton Lima Verde Santos ⁶

Adriana Maria Viana Nunes ⁷

Daniel Dias Rufino Arcanjo ⁸

Maria do Carmo de Carvalho e Martins ⁹

RESUMO: O estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com vitamina D sobre a atividade antioxidante e a função hepática em modelo experimental de diabetes mellitus semelhante ao tipo 2 em humanos. Foi conduzido um ensaio com 35 ratos machos Wistar para indução de DM2 por dieta hiperlipídica e normoproteica, seguida de administração de estreptozotocina (30 mg/kg i.p.). Após confirmação do diabetes, os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de 7 animais tratados durante 28 dias: Controle Normal (CN), Controle Diabético (CD), diabéticos tratados com metformina (150 mg/kg) e diabéticos suplementados com vitamina D nas doses de 0,25 µg/kg/dia e 0,50 µg/kg/dia. O controle normal recebeu apenas tampão citrato. Os grupos tratados com vitamina D apresentaram valores de glicemia de jejum significativamente menores em relação ao grupo CD. Além disso, os grupos com suplementação de vitamina D apresentaram médias significativamente maiores de atividade da enzima antioxidante Superóxido Dismutase (SOD) e de conteúdo de Grupos Sulfidrílicos Não Proteicos (GSHNP) no fígado em comparação ao grupo CD, sem diferenças quanto à atividade da catalase. Quanto aos marcadores de função hepática, o grupo tratado com vitamina D 0,50 µg/kg apresentou valores significativamente menores de conteúdo de colesterol no fígado e de concentrações séricas de Aspartato Aminotransferase (AST) quando comparados ao grupo CD. A análise histopatológica revelou células binucleadas no fígado nos grupos tratados com vitamina D, o que indica possível regeneração hepática, enquanto no grupo CD foi identificada presença de esteatose e de degeneração de hepatócitos. Portanto, a análise dos resultados evidencia que a suplementação com vitamina D por 28 dias contribuiu para a redução da glicemia, aumento da atividade antioxidante e proteção hepática em modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2. **Palavras-chave:** diabetes mellitus tipo 2; Vitamina D; controle glicêmico; atividade antioxidante.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the effect of vitamin D supplementation on antioxidant activity and liver function in an experimental model of type 2 diabetes mellitus in humans. A trial was conducted with 35 male Wistar rats for induction of T2DM by a high-fat, normal-protein diet, followed by administration of streptozotocin (30 mg/kg i.p.). After confirmation of diabetes, the animals were randomly distributed into five groups of seven animals treated for 28 days: normal control (NC), diabetic control (DC), diabetics treated with metformin (150 mg/kg), and diabetics supplemented with vitamin D at doses of 0.25 µg/kg/

Recebido em: 19/07/2024

Aceito em: 21/12/2025



day and 0.50 µg/kg/day. The normal control received only citrate buffer. The vitamin D-treated groups had significantly lower fasting blood glucose levels than the CD group. Furthermore, the vitamin D-supplemented groups had significantly higher mean activity of the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) and non-protein sulfhydryl group (NPSG) content in the liver compared to the CD group, with no differences in catalase activity. Regarding markers of liver function, the group treated with vitamin D 0.50 µg/kg had significantly lower liver cholesterol content and serum aspartate aminotransferase (AST) concentrations compared to the CD group. Histopathological analysis revealed binucleated liver cells in the vitamin D-treated groups, indicating possible liver regeneration, while the CD group demonstrated steatosis and hepatocyte degeneration. Therefore, the analysis of the results shows that vitamin D supplementation for 28 days contributed to the reduction of glycemia, increased antioxidant activity and liver protection in an experimental model of type 2 diabetes mellitus.

Keywords: type 2 diabetes; Vitamin D; glycemic control; antioxidants.

INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é um grupo de doenças metabólicas caracterizado por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. De acordo com a *11th edition IDF Diabetes Atlas* (International Diabetes Federation, 2025), o DM apresenta-se como um importante e crescente problema de saúde pública em nível global, sendo o número estimado de pessoas com DM no mundo igual a 589 milhões, com previsão de atingir, até 2050, um total de 853 milhões de pessoas, ampliando ainda mais o impacto global desta condição. O Brasil destaca-se como o sexto país com o maior número de casos, com mais de 16 milhões de diagnósticos confirmados (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2023).

A etiopatogenia do Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2), forma mais comum da doença, envolve sinalização defeituosa da insulina, que impede a translocação do transportador de glicose (GLUT) para a membrana celular, resultando no acúmulo de glicose no sangue (Fernández *et al.*, 2022). Em longo prazo, a hiperglicemia crônica aumenta a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), resultando em estresse oxidativo e inflamação crônica (Rochette *et al.*, 2018; Amato *et al.*, 2019). Como consequência dos elevados níveis de ERO, ocorrem lesões às células parenquimatosas do fígado (Li *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2022).

A relação patogênica entre função hepática e DM2 é complexa e ainda não totalmente compreendida. A resistência à insulina promove a liberação de ácidos graxos pelo tecido adiposo, que se acumula no hepatócito, aumentando o depósito de triglicerídeos no fígado. Esse acúmulo causa esteatose hepática e lipotoxicidade, resultando em aumento da produção de radicais livres, inflamação crônica, apoptose celular e necrose, sendo um fator de risco para as doenças hepáticas, como a Doença Hepática Gordurosa Não Alcolólica (DHGNA) (Targher *et al.*, 2021; Ott-Fontes; Neto; Goldoni, 2020; Shibabaw *et al.*, 2019).

O tratamento do DM2 inclui a utilização de hipoglicemiantes orais e modificação no estilo de vida, que compreende alimentação saudável e prática regular de exercício físico, condutas essenciais para um bom controle metabólico e diminuição do risco de suas complicações (Ruze *et al.*, 2023). A suplementação de micronutrientes para prevenção e controle do DM2 e de suas complicações tem sido objeto de estudo de numerosas pesquisas, em que tem sido utilizada suplementação com vitaminas e minerais, destacando-se a vitamina D (Pittas *et al.*, 2019; Cojic *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2021).

A vitamina D tem despertado interesse devido à presença do receptor de vitamina D (VDR) em várias células e tecidos, incluindo células β do pâncreas, adipócitos e tecido muscular, além de ter ação anti-inflamatória, suprimindo ERO que causam danos oxidativos, e possui ação antifibrótica (Fathi *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2019). Ademais, estudos correlacionam a deficiência de vitamina D à gravidade de

doenças hepáticas. Isso sugere que a vitamina D participa de processos como proliferação de linfócitos, síntese de citocinas inflamatórias, retardo da senescência celular e síntese e secreção de insulina (Carlberg; Racyk; Zawrotna, 2023).

Por essas razões, o objetivo do presente estudo é avaliar o efeito da suplementação de vitamina D na atividade antioxidante e na função hepática em modelo experimental de DM tipo 2 em humanos.

MÉTODOS

Animais e aspectos éticos

Rattus norvegicus Wistar, machos, com idade entre 08 e 12 semanas e peso corporal entre 180 e 200 g, foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno (4 a 5 ratos/caixa), com ração padrão (ração Nuvilab®) e água *ad libitum*, em sala climatizada com temperatura ambiente de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, durante a fase de aclimação e ao longo de todo o período experimental.

Todos os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPI (número 660/2020). Os procedimentos seguiram os princípios éticos previstos pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal) e a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA/16).

Indução do diabetes e protocolo experimental

A indução do diabetes experimental foi realizada por meio de protocolo com oferta de ração hiperlipídica e normoproteica (DHLNP) *ad libitum*, combinada com administração de estreptozotocina (STZ) 30 mg/Kg, dissolvida em tampão citrato 10 mM e pH 4,5, por via intraperitoneal (adaptado de Oliveira *et al.*, dados não publicados). Após período de 5 semanas de manutenção com DHLNP, foi feita a administração de STZ. Nas primeiras 24 horas após administração de STZ, foi fornecida aos animais uma solução de glicose a 10% para evitar hipoglicemia.

A confirmação do diabetes ocorreu 72 horas após a injeção de STZ, com glicemia de jejum de 12 horas medida por tiras reagentes OnCall Plus®. Valores de glicemia iguais ou superiores a 250 mg/dL foram considerados indicativos de diabetes (Basha; Sankaranarayan, 2015).

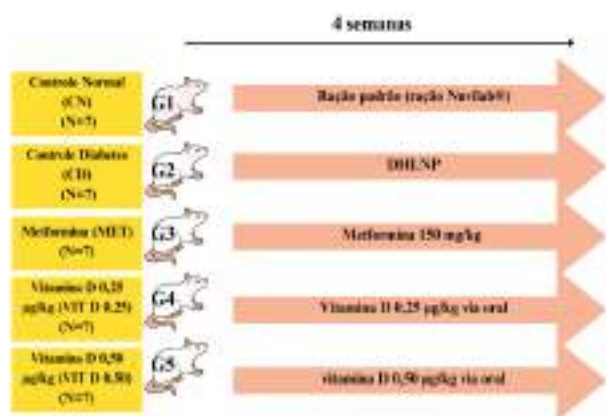
Ao longo do período experimental, todos os animais com diabetes confirmados foram mantidos com DHLNP e, a cada 7 dias, foram realizadas determinações de glicemia capilar aleatória, realizadas no turno da manhã, em horário entre 9h e 11h. Diariamente foi realizada a determinação de peso corporal e consumo alimentar e, ao final de 28 dias, os animais

de todos os grupos foram eutanasiados por administração intraperitoneal inicial de lidocaína 10 mg/kg e 150 mg/kg de tiopental. Amostras de sangue venoso foram obtidas para as dosagens bioquímicas de controle glicêmico e dos marcadores de função hepática, e o fígado foi coletado para avaliação da atividade antioxidante e análise histológica.

Grupos experimentais

Os animais utilizados no estudo foram inicialmente divididos de forma aleatória em dois grupos, sendo o primeiro constituído por 7 animais para o grupo controle normal e o outro com 28 animais para indução do diabetes. Os animais com DM2 confirmado foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 7 animais, assim distribuídos: 1. grupo controle não diabético (CN); 2. grupo controle diabético (CD); 3. grupo diabético tratado com metformina 150 mg/kg (MET) via oral (dissolvida em água destilada); 4 e 5. Grupos diabéticos tratados, via oral, com vitamina D em óleo de girassol, respectivamente, nas doses de 0,25 µg/kg/dia (Vit D 0,25) e 0,50 µg/kg/dia (Vit D 0,50) (Figura 01). Os grupos CN e CD receberam apenas o veículo (óleo de girassol) utilizado para dissolver a vitamina D.

Figura 1 – Descrição dos grupos experimentais utilizados na pesquisa.



Fonte: autoria própria, 2025

Determinação das concentrações séricas de glicose de jejum e do percentual de hemoglobina glicada

A análise das concentrações de glicose de jejum foi conduzida pelo método enzimático colorimétrico com analisador automático Zybion Z3CRP, usando kits Biosystem. O percentual de hemoglobina glicada foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC), utilizando analisador automático *Trinity Biotech* HB9210 e kits de reagentes da mesma empresa.

Avaliação dos marcadores de função hepática

A avaliação dos marcadores de função hepática foi realizada pela determinação das concentrações séricas de Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT), sendo os resultados expressos em U/mL. Avaliou-se ainda as concentrações séricas de albumina, sendo os resultados encontrados expressos em g/dL. Todas as análises foram realizadas com kits Labtest seguindo as especificações do fabricante.

Avaliação do conteúdo de gordura no tecido hepático

Para quantificação do conteúdo de Triglicerídeos (TG) e Colesterol Total (CT), utilizou-se o método de Trinh *et al.* (1998) e Barbosa *et al.* (2016). Posteriormente, foi realizada a dosagem de CT e TG utilizando kits de reagentes Labtest, conforme especificações do fabricante. Os resultados encontrados foram expressos em mg/g de tecido.

Avaliação da atividade antioxidante no fígado

Preparo de homogenato do fígado

Os fígados foram colocados em microtubos contendo solução tampão igual a dez vezes a massa do tecido. Posteriormente, foram homogeneizados em banho de gelo.

Determinação da atividade da enzima catalase no fígado

A atividade da catalase tecidual foi determinada segundo o método descrito por Beers e Sizer (1952). Para a leitura, foram anotados os valores de absorbância inicial e após 6 minutos. O resultado foi expresso em unidades de atividade da catalase por mg de tecido. Determinação da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) no fígado

A medida da atividade da SOD foi baseada na habilidade de consumir o radical O₂⁻, diminuindo a razão de auto-oxidação do pirogalol (1,2,3-trihidroxibenzeno) (Furtado *et al.*, 2022). A absorbância foi lida a 560 nm no espectrofotômetro Glomax® Discover Microplate Reader. Uma unidade de SOD (U SOD) evita a auto-oxidação de 50% de pirogalol do padrão. O resultado foi expresso em unidades de atividade da SOD por mg de tecido.

Quantificação dos grupos sulfidrílicos não protéicos no tecido hepático (GSHNP)

Para quantificação dos GSHNP, utilizou-se o método de Moron, Depierre e Mannervik (1979). A leitura foi realizada em até 5 minutos no espectrofotômetro Bioespectro SP220, ajustado para 412 nm, com um branco (1 mL de água destilada,

2 mL de tampão Tris e 100 µL de DNTB 0,01 M). O conteúdo em mM/mg de tecido de grupamentos sulfidril não protéicos foi calculado multiplicando a absorbância pelo fator 317,8.

Avaliação histopatológica do fígado

O fígado foi removido e preservado em formol tamponado a 10% por 48 horas. Foram obtidas secções transversais, sendo selecionados três cortes por amostra do fígado de cada animal. Nessas secções foram aplicadas técnicas histológicas habituais com inclusão em parafina para obtenção de cortes de 5 µm de espessura. Posteriormente, foram preparadas lâminas com os cortes histológicos, que foram corados com hematoxilina-eosina (HE).

As lâminas com cortes histológicos foram analisadas por microscopia de luz (Olympus CX31, Japão) e fotografadas nas objetivas de 4x e 10x com uma câmera digital (Moticam Wi-Fi X, Motic Microscópios, Richmond, VA) acoplada a um computador.

Análise estatística

Os dados foram representados como média ± erro padrão da média. Para comparação entre os grupos, foi utilizada a

Análise de Variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey. Foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism 8.0.1 (Graphpad Software, Inc., San Diego, CA, EUA). O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

RESULTADOS

Efeito da suplementação com vitamina D sobre o controle glicêmico em modelo experimental de DM2

Em relação à glicemia de jejum, os grupos tratados com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/kg/dia apresentaram valores médios significativamente menores ($p < 0,05$) do que os do grupo CD, apesar de serem significativamente maiores em relação a CN. Quanto ao efeito da suplementação com vitamina D sobre o controle glicêmico, avaliado pela porcentagem de hemoglobina glicada, não houve diferenças entre os grupos (Tabela 1). No entanto, pode-se observar que os grupos tratados com vitamina D apresentaram valores médios de hemoglobina glicada $< 7,0\%$.

Tabela 1 – Glicemia de jejum (mg/dL) e hemoglobina glicada (%) em animais diabéticos após 28 dias de tratamento com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/Kg e Metformina 150 mg/Kg.

GRUPOS	CN (N=07)	CD (N=07)	MET (N=07)	VIT D 0,25 (N=07)	VIT D 0,50 (N=07)
Glicemia de jejum (mg/dL)	99,29±2,35	513,90±17,98 ^a	459,00±9,55 ^a	410,60±28,55 ^{a,b}	403,90±31,68 ^{a,b}
Hemoglobina glicada (%)	5,87 ±0,52	7,95±1,49	7,37±1,65	5,70±0,44	6,10±0,43

Nota: Média ± EPM (Erro Padrão da Média). One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. As diferenças significativas são apresentadas como: ap<0,05 quando comparado ao CN; bp<0,05 quando comparado ao CD; cp<0,05 quando comparado ao MET. CN = controle normal; CD = controle diabético; MET = grupo diabético tratado com metformina; VIT D 0,25 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg/dia; VIT D 0,50 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg/dia.

Efeito da suplementação com vitamina D sobre marcadores de função hepática em modelo experimental de DM2

Quanto aos marcadores bioquímicos de função hepática, os valores de AST foram significativamente menores ($p < 0,05$) no grupo VIT D 0,50 µg/kg em relação ao grupo CD. Não houve diferença significativa entre os grupos diabéticos com e sem tratamento ao avaliar-se as concentrações de ALT e albumina. Destaca-se que todos os grupos de animais diabéticos apresentaram valores significativamente maiores ($p < 0,05$) de AST e ALT quando comparados com CN (Tabela 2). Efeito da suplementação com vitamina D sobre o peso do fígado e conteúdo de gordura hepática em modelo experimental de DM2

Tabela 2 – Marcadores bioquímicos de função hepática após 28 dias de tratamento com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/Kg e Metformina 150 mg/Kg em ratos Wistar diabéticos.

Marcadores	CN (N=07)	CD (N=07)	MET (N=07)	VIT D 0,25 (N=07)	VIT D 0,50 (N=07)
AST (U/mL)	60,00±6,73	114,10±3,58 ^a	112,70±8,57 ^a	108,40±3,8 ^a	93,14±2,34 ^{a,b}
ALT (U/mL)	65,57±3,62	107,00±5,32 ^a	98,71±5,01 ^a	97,33±3,81 ^a	105,90±4,29 ^a
Albumina (g/dL)	25,86±0,96	28,57±1,61	26,29±1,01	30,71±1,62	30,43±0,78

Nota: Média ± EPM (Erro Padrão da Média). One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. As diferenças significativas são apresentadas como: ap<0,05 quando comparado ao CN; bp<0,05 quando comparado ao CD; cp<0,05 quando comparado ao MET. CN = controle normal; CD = controle diabético; MET = grupo diabético tratado com metformina; VIT D 0,25 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg/dia; VIT D 0,50 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg/dia.

Efeito da suplementação com vitamina D sobre marcadores de atividade antioxidante no fígado de ratos diabéticos

Quanto aos marcadores de atividade antioxidante no tecido hepático, os grupos tratados com ambas as doses de vitamina D apresentaram valores médios significativamente maiores (p<0,05) de atividade da enzima SOD quando comparados a CD, sem diferenças na atividade da enzima catalase. E o grupo tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg apresentou conteúdo de GSHNP significativamente maior (p<0,05) quando comparado a CD (Tabela 3).

Tabela 3 – Marcadores de atividade antioxidante no fígado de animais diabéticos após 28 dias de tratamento com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/Kg e Metformina 150 mg/Kg.

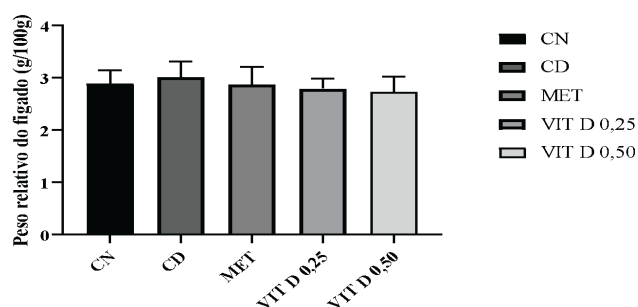
Marcadores	CN (N=07)	CD (N=07)	MET (N=07)	VIT D 0,25 (N=07)	VIT D 0,50 (N=07)
CAT (U/mg)	241,80±46,42	119,90±6,98 ^a	196,80±17,49	189,00±16,98	179,20±7,30
SOD (U/mg)	272,5±11,67	94,98±29,20 ^a	133,3±15,90 ^a	234,7±8,78 ^{b,c}	226,8±24,25 ^{b,c}
GSHNP (mM/mg)	183,60±15,09	82,06±6,28 ^a	174,70±19,03 ^b	138,70±10,97 ^b	92,37±8,29 ^{a,c}

Nota: Média ± EPM (Erro Padrão da Média). One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. As diferenças significativas são apresentadas como: ap<0,05 quando comparado ao CN; bp<0,05 quando comparado ao CD; cp<0,05 quando comparado ao MET. CN = controle normal; CD = controle diabético. CN = controle normal; CD = controle diabético; MET = grupo diabético tratado com metformina; VIT D 0,25 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg/dia; VIT D 0,50 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg/dia.

Efeito da suplementação com vitamina D sobre o peso do fígado e conteúdo de gordura hepática em modelo experimental de DM2

Quanto a suplementação com vitamina D sobre o peso de órgãos, não houve diferença entre os grupos quanto ao peso relativo do fígado (g/100) de peso corporal (Figura 2).

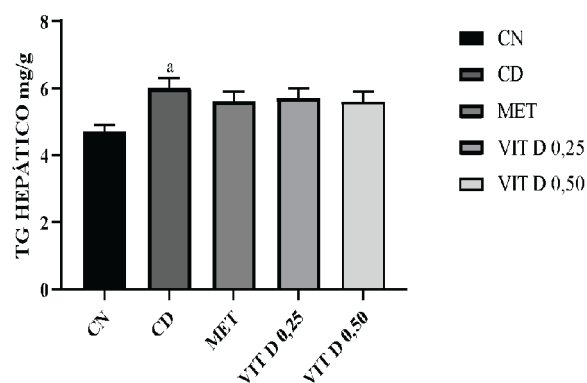
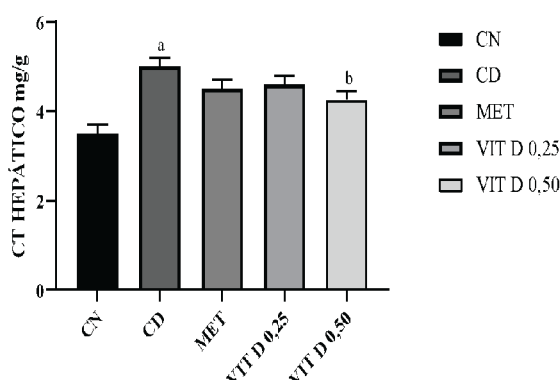
Figura 2 – Efeito da administração diária de vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/kg e Metformina 150 mg/kg sobre o peso relativo do fígado (g/100) de ratos Wistar com DM2 após 28 dias de tratamento.



Nota: Média ± EPM (Erro Padrão da Média). One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. CN = controle normal; CD = controle diabético. CN = controle normal; CD = controle diabético; MET = grupo diabético tratado com metformina; VIT D 0,25 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg/dia; VIT D 0,50 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg/dia.

No que se refere ao conteúdo de lipídios no fígado, o grupo que recebeu suplementação com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg durante 28 dias apresentou conteúdo de colesterol significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparado com o grupo CD. Não houve diferenças entre os grupos em relação ao conteúdo de triglicerídeos no fígado (Figura 3).

Figura 3 – Conteúdo de colesterol e triglicerídeos em tecido hepático após 28 dias de tratamento com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/Kg e Metformina 150 mg/Kg em animais diabéticos.

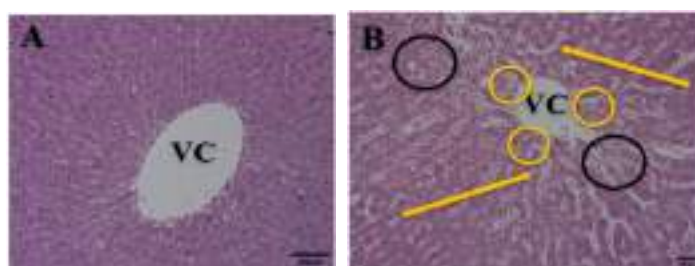


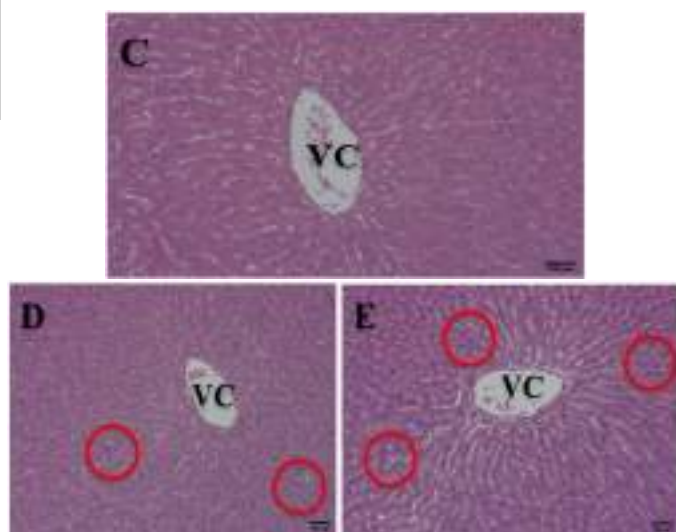
Nota: One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. As diferenças significativas são apresentadas como: ap<0,05 quando comparado ao CN; bp<0,05 quando comparado ao CD; cp<0,05 quando comparado ao MET. CN = controle normal; CD = controle diabético. CN = controle normal; CD = controle diabético; MET = grupo diabético tratado com metformina; VIT D 0,25 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg/dia; VIT D 0,50 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg/dia.

Efeito da suplementação com vitamina D em modelo experimental de DM2 sobre a histologia do fígado

Quanto à análise histológica, o fígado dos animais nos grupos CN e nos grupos de animais diabéticos tratados com metformina e com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/kg apresentava aspectos histológicos compatíveis com situação normal. Contudo, nas lâminas de fígado de animais do grupo CD foram encontrados hepatócitos em degeneração e presença de esteatose. Adicionalmente, os sinusóides encontravam-se dilatados, e foi identificada a presença de células de defesa ao redor da veia central, caracterizando um infiltrado inflamatório perivascular (Figura 4B). Destaca-se que, nas lâminas de animais dos grupos tratados com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/kg (Figuras 4D e E), foi identificada a presença de células binucleadas, o que indica a ocorrência de divisão celular.

Figura 4 – Fotomicrografias representativas dos achados histológicos em tecido hepático de ratos Wistar diabéticos após 28 dias de tratamento com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/Kg e Metformina 150 mg/Kg.





Os grupos são mostrados a seguir: Grupo CN (A), Grupo CD (B), Grupo MET (C), Grupo VIT D 0,25 (D) e Grupo VIT D 0,50 (E). CN = controle normal; CD = controle diabético. CN = controle normal; CD = controle diabético; MET = grupo diabético tratado com metformina; VIT D 0,25 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,25 µg/kg/dia; VIT D 0,50 = grupo diabético tratado com vitamina D na dose de 0,50 µg/kg/dia. VC: Veia Central; Setas amarelas indicam hepatócitos em degeneração; Círculos pretos indicam esteatose; Círculos vermelhos indicam hepatócitos binucleados; Círculos amarelos indicam células de defesa perivasculares. Barra de escala: 100 µm.

DISCUSSÃO

Neste estudo foi investigado o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico e, considerando as diferentes funções desempenhadas pelo fígado, foram avaliados marcadores funcionais da função deste órgão, as concentrações séricas de albumina e de enzimas de citólise hepática, além da atividade antioxidante da SOD e catalase e o conteúdo de grupamentos sulfidrílicos não protéicos, além de investigação de alterações estruturais no tecido hepático e o conteúdo de lipídios.

A suplementação com vitamina D em animais diabéticos, nas duas doses utilizadas, durante quatro semanas resultou em menores valores de glicemia capilar em jejum em comparação com os ratos diabéticos sem tratamento. Os efeitos da vitamina D na diminuição da glicemia de jejum encontrados neste estudo foram parecidos com os achados de Yalcin *et al.* (2023), utilizando um modelo experimental de diabetes induzido por administração de estreptozotocina 50 mg/Kg por via intraperitoneal e suplementação com vitamina D diária de 1,25 µg/Kg durante 8 semanas, dose e tempo de tratamento maiores que os utilizados no presente estudo.

Os efeitos da vitamina D na diminuição da glicemia podem ser explicados pela presença de receptores de vitamina D (VDR) em diversos tipos de células, incluindo as células β das ilhotas

pancreáticas, adipócitos e células musculares (Fathi *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2019). Essa vitamina pode atuar na regulação da síntese, secreção e sensibilidade à insulina e na modulação da sensibilidade dos tecidos à insulina, facilitando a captação de glicose e reduzindo o estresse oxidativo (Chagas *et al.*, 2012; Barchetta *et al.*, 2013).

Entretanto, ao analisar o efeito da suplementação com vitamina D durante 28 dias no percentual de glicação da hemoglobina, marcador de controle glicêmico de longo prazo, não foram encontradas diferenças em relação ao grupo diabético sem tratamento. Redução de valores de hemoglobina glicada foi demonstrados por Moharir *et al.* (2020) utilizando tratamento de 3 semanas com dose diária de vitamina D de 100 µg/kg em modelo experimental de diabetes induzido por dieta hiperlipídica durante 3 semanas e dose intraperitoneal de STZ 35 mg/Kg em ratos Wistar.

Entretanto, a ausência de mudança no percentual de HbA1c neste estudo pode ser explicada, ao menos em parte, pelas baixas doses combinadas ao curto período de suplementação aqui utilizados. A HbA1c é um marcador que reflete o controle glicêmico dos três a quatro meses anteriores ao exame, em que um maior tempo de hiperglicemia sustentada resulta em maior glicação da hemoglobina (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2023).

A hiperglicemia crônica é a base fisiopatológica de muitas complicações do DM2, e esse estado hiperglicêmico contribui para a disfunção das células β pancreáticas, com agravamento da resistência insulínica e glicotoxicidade. O aumento sustentado da glicemia contribui para a ocorrência de estresse oxidativo e inflamação, os quais geram lesão celular e tecidual (Monickaraj *et al.*, 2013).

Em contrapartida, o aumento da atividade do sistema antioxidante por aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como a SOD e a CAT, pode ajudar a diminuir a ocorrência de lesão oxidativa, pois a SOD protege o corpo contra as ERO, eliminando o excesso de ânion superóxido com formação de peróxido de hidrogênio, enquanto a catalase é uma enzima que catalisa a decomposição das moléculas de H₂O₂ em H₂O e O₂ (Godoy-Lugo *et al.*, 2022; Nandi *et al.*, 2019; Saif-Elnasr; Ibrahim; Alkady, 2017).

No presente estudo, os grupos tratados com vitamina D apresentaram maior atividade da enzima SOD no tecido hepático em comparação com o grupo de animais diabéticos sem tratamento, sem diferença na atividade da enzima catalase. De modo diferente, a suplementação oral por 4 semanas com vitamina D (2.000 UI/kg/dia de vitamina D combinada com 500 mg/kg/dia de cálcio) em ratos Wistar com diabetes induzido por estreptozotocina (45 mg/Kg por via intraperitoneal) apresentou maior atividade das enzimas catalase e SOD em comparação com o grupo não tratado (Alatawi, Faridi e Alatawi, 2018).

As enzimas antioxidantes são importantes constituintes do sistema de defesa contra danos oxidativos, e sua atividade aumenta em situações em que a atividade oxidativa está au-

mentada, como ocorre no diabetes. O aumento da atividade pró-oxidante no diabetes pode estar relacionado ao fato de que a hiperglicemia pode levar ao aumento da produção de ERO por meio da glicação de proteínas, auto-oxidação de glicose e oxidação de ácidos graxos (Kono; Fridovich, 1982).

O mecanismo pelo qual a vitamina D pode aumentar a atividade de enzimas antioxidantes é por meio da estimulação da síntese de proteínas transportadoras de íons metálicos, levando ao aumento na biodisponibilidade desses íons na célula, os quais atuam como cofatores para a atividade de enzimas antioxidantes (Silva *et al.*, 2016).

Ademais, os animais do grupo que recebeu suplementação de vitamina na dose de 0,25 µg/kg apresentaram conteúdo de GSHNP mais elevado em comparação com o grupo de animais diabéticos sem tratamento. GSHNP é um produto da Glutathione reduzida (GSH), e o aumento no seu conteúdo pode indicar que a vitamina D pode ter um efeito protetor contra o estresse oxidativo induzido pelo DM2, ajudando a restaurar as concentrações de GSH e, conseqüentemente, a capacidade antioxidante do fígado. A glutathione reduzida (GSH) desempenha um importante papel na proteção dos grupos sulfidril na membranas, auxiliando na proteção da célula contra a ação de radicais livres, o que é importante no DM, doença que tem o estresse oxidativo envolvido na sua patogênese (Ammon *et al.*, 1989).

Resultados semelhantes aos encontrados neste estudo foram descritos por Della Nera *et al.* (2023), os quais referiram que a vitamina D pode modular a expressão de enzimas antioxidantes e anti-inflamatórias, o que pode contribuir para a redução dos danos hepáticos.

Conforme discutido anteriormente, a hiperglicemia, juntamente com a hiperinsulinemia, pode induzir lesão hepática, com resposta inflamatória, esteatose e fibrose hepática como consequência do aumento da produção de ERO (Kim *et al.*, 2021). A análise das concentrações séricas de AST e ALT, enzimas de citólise, é utilizada como marcadores de dano hepático (Miyauchi *et al.*, 2019). A ALT é considerada um indicador mais sensível de hepatotoxicidade do que a AST, pois a AST é encontrada em todos os tecidos corporais, enquanto a ALT é encontrada principalmente no fígado e, em pequenas quantidades, nos rins e no coração (Teixeira *et al.*, 2009).

Além disso, a hiperglicemia e a hiperinsulinemia impulsionam o aumento da conversão hepática de carboidratos em ácidos graxos, e o seu acúmulo no fígado está associado à diminuição da sensibilidade à insulina, condição comum em pacientes com doenças hepáticas, como a Doença Hepática Gordurosa Não Alcolica (DHGNA), os quais possuem um risco duas vezes maior de desenvolver DM2 (Ferguson; Finck, 2021; Smith *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2019).

Neste estudo, os valores de AST foram menores no grupo VIT D 0,50 µg/kg em relação ao grupo CD. Resultados parecidos

foram encontrados por Abdel-Rehim *et al.* (2019) em estudo com suplementação de vitamina D (0,1 µg/kg/dia), combinada ou não ao tratamento com metformina 200 mg/kg/dia durante 30 dias em modelo experimental de diabetes induzido por dieta rica em gordura durante 4 semanas, seguido de injeção intraperitoneal de 55 mg/kg de estreptozotocina em ratos *Sprague Dawley*.

As menores concentrações séricas de AST no grupo que recebeu suplementação de vitamina D (0,50 µg/kg) podem estar relacionadas às ações antidiabéticas e hepatoprotetoras da vitamina D, que pode proporcionar melhora do metabolismo hepático por meio da modulação de citocinas inflamatórias (Harrinarayan, 2014). Importante destacar que todos os grupos de animais diabéticos apresentaram maiores valores de AST e ALT quando comparados com os animais normais (grupo controle normal). O aumento desses marcadores pode estar relacionado a complicações hepáticas associadas ao DM, bem como ao possível dano hepático decorrente do modelo experimental de diabetes utilizado neste estudo. De fato, em animais com diabetes induzido por estreptozotocina, tal efeito pode ocorrer como consequência do efeito hepatotóxico do fármaco (El-Demerdash *et al.*, 2005).

Ainda em relação ao fígado, no presente estudo não foram observadas diferenças no peso do órgão entre os grupos avaliados. No entanto, em modelo experimental de diabetes induzido por dieta hiperlipídica e hiperglicídica durante 8 semanas e injeção intraperitoneal de estreptozotocina 35 mg/kg, Ning *et al.* (2015) demonstraram que a administração oral de vitamina D 0,03 µg/kg/dia durante 8 semanas resultou em peso do fígado menor quando comparado ao grupo controle diabético. A partir desses resultados, os autores sugeriram que um período mais prolongado de suplementação com vitamina D poderia contribuir para atenuar o aumento do peso hepático em modelos experimentais de diabetes.

No que se refere ao conteúdo de lipídios no fígado, neste estudo o grupo tratado com vitamina D 0,50 µg/kg/dia apresentou menor conteúdo de colesterol do que os animais diabéticos sem tratamento. Nesse sentido, Leung (2016) já havia sugerido que a vitamina D pode reduzir o acúmulo hepático de lipídios por meio de ativação da sinalização da proteína quinase β dependente de Ca²⁺/calmodulina (CaMKKβ) ativada pela Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina (AMPK) sob condições de resistência à insulina. O envolvimento da sinalização da AMPK nessas condições pode ocorrer porque a AMPK é um alvo da adiponectina e de medicamentos antidiabéticos que atuam na diminuição da resistência à insulina (Jeon, 2016).

Em relação à análise histológica, os fígados de ratos diabéticos sem tratamento apresentaram hepatócitos em degeneração com sinusóides dilatados, células de defesa perivasculares e presença de esteatose, enquanto nos grupos de animais diabéticos tratados com vitamina D nas doses de 0,25 e 0,50 µg/kg/dia houve presença de hepatócitos binucleados, indicando

divisão celular nos grupos tratados com vitamina D e alterações menos intensas no tecido hepático. Achados parecidos foram encontrados por Hassan *et al.* (2020) em ratos diabéticos sem tratamento em estudo utilizando modelo de diabetes experimental induzido por dieta hiperlipídica durante duas semanas e injeção intraperitoneal de estreptozotocina 30 mg/Kg, em que houve dano hepático com presença de focos necróticos e/ou inflamatórios nos animais diabéticos sem tratamento, enquanto no grupo tratado com vitamina D 3.300 UI/Kg (dose equivalente a 82,5 µg/Kg) durante 6 semanas as alterações morfológicas encontradas foram menos graves em comparação com o grupo diabético sem tratamento.

A presença de hepatócitos em divisão celular pode representar um processo de regeneração de lesão, pois, quando o fígado sofre danos, os hepatócitos podem entrar em ciclo celular e proliferar para substituir as células danificadas (Bangru; Kalsotra, 2020). Ao relacionar o achado sugestivo de presença de divisão celular associado à suplementação de vitamina D com os menores valores séricos de AST encontrados, embora sem diminuição de ALT, é possível afirmar a hipótese de que o tratamento com vitamina D exerceu efeito hepatoprotetor para preservar a integridade dos hepatócitos, o que pode ter limitado o extravasamento de ALT para a corrente sanguínea, apesar das mudanças estruturais detectadas. Adicionalmente, a duração do protocolo experimental pode ter sido insuficiente para produzir alterações mensuráveis na enzima ALT, de modo que avaliações mais prolongadas ou complementares poderiam ser necessárias para possibilitar uma compreensão mais clara do impacto da suplementação com vitamina D sobre a atividade da ALT.

A vitamina D pode exercer efeitos positivos no tratamento de doenças hepáticas, pois apresenta propriedades anti-inflamatórias que auxiliam na redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, consideradas como mediadores-chave na inflamação hepática associada ao diabetes. Além disso, a vitamina D pode modular a autofagia, um processo celular que remove proteínas e organelas danificadas, ajudando na remoção de hepatócitos em degradação, melhorando a integridade celular e reduzindo a degeneração hepática (Bergamin *et al.*, 2023).

Contudo, é importante mencionar as limitações do presente estudo, incluindo o fato de que a duração do tratamento com vitamina D possivelmente tenha sido insuficiente para impactar no controle glicêmico em longo prazo e, assim, no percentual de glicação da hemoglobina glicada, bem como na atividade da catalase, enzima antioxidante. Nesse contexto, para futuras pesquisas, recomenda-se considerar a mensuração de citocinas pró-inflamatórias no plasma e em nível tecidual, assim como realizar a determinação da secreção de insulina, a fim de fornecer uma compreensão mais abrangente dos mecanismos envolvidos.

Por outro lado, um dos pontos fortes do presente trabalho foi a demonstração de efeito da vitamina na melhora da

glicemia de jejum, acompanhada de efeito hepatoprotetor evidenciado pela análise histológica e de marcadores bioquímicos de função hepática.

CONCLUSÃO

A suplementação com vitamina D durante 28 dias, nas doses utilizadas, em modelo experimental de diabetes, com características clínicas parecidas com as do DM2 em humanos, melhorou a glicemia de jejum e demonstrou um efeito protetor no fígado de animais diabéticos, evidenciado pela redução das concentrações de AST e pela presença de células binucleadas nos grupos tratados, indicando uma possível regeneração celular hepática. Esses resultados destacam o potencial da vitamina D como recurso nutracêutico para a proteção e regeneração do fígado no DM2.

Sobre a atividade das enzimas antioxidantes, o aumento da atividade da enzima superóxido dismutase sugere a ocorrência de uma resposta adaptativa para neutralizar o aumento da produção de radicais livres e pode indicar um mecanismo de defesa antioxidante da vitamina D.

Por fim, destaca-se a necessidade de estudos adicionais utilizando períodos de suplementação mais longos, além de outras doses, de maneira a caracterizar de forma mais completa os efeitos dessa vitamina no controle glicêmico em longo prazo e em parâmetros de atividade antioxidante e de função hepática. Além disso, deve ser investigados os mecanismos específicos relacionados com as ações dessa vitamina, de modo a fornecer evidências robustas para a condução de ensaios clínicos que examinem a qualidade, segurança e eficácia terapêutica desse micronutriente como um recurso nutracêutico no tratamento do DM2 e proteção hepática.

NOTA

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa no Piauí (FAPEPI) / Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde - SUS (PPSUS) - CHAMADA FAPEPI/SESAPI/MS-Decit/CNPq Nº 004/2020.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-REHIM, W. M. *et al.* *The possible antidiabetic effects of vitamin D receptors agonist in rat model of type 2 diabetes. Molecular and cellular biochemistry*, v. 450, p. 105-112, 2019.
- ALATAWI, F. S.; FARIDI, U. A.; ALATAWI, M. S. *Effect of treatment with vitamin D plus calcium on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Saudi pharmaceutical journal*, v. 26, n. 8, p. 1208-1213, 2018.

- AMATO, A. A. *et al.* Avaliação do Estresse oxidativo e Lipoperoxidação (LPO) em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) tratados no Hospital Universitário de Brasília (HUB) = *Evaluation of oxidative stress and lipoperoxidation (OLP) in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2) treated at the University Hospital of Brasília (HUB)*. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 5, p. 4236-4256, 2019.
- AMMON, H. P. T. *et al.* A possible role of plasma glutathione in glucose-mediated insulin secretion: In vitro and in vivo studies in rats. **Diabetologia**, v. 32, n. 11, p. 797-800, 1989.
- BANGRU, S.; KALSOTRA, A. *Cellular and molecular basis of liver regeneration*. In: *Seminars in cell & developmental biology*. **Academic Press**, 2020. p. 74-87.
- BARCHETTA, I. *et al.* Hypovitaminosis D is independently associated with metabolic syndrome in obese patients. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e68689, 2013.
- BASHA, R. H; SANKARANARAYANAN, C. B. Caryophyllene, a natural sesquiterpene lactone attenuates hyperglycemia mediated oxidative and inflammatory stress in experimental diabetic rats. **Chemico-Biological Interactions**. v.245, p 50-58. 2015.
- BEERS, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J Biol Chem**, v. 195, n. 1, p. 133-140, 1952.
- BERGAMIN, M. F. K. *et al.* Doença hepática gordurosa não alcoólica-revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 6, p. 33349-33357, 2023.
- CARLBERG, C.; RACZYK, M.; ZAWROTHA, N. Vitamin D: A master example of nutrigenomics. **Redox Biology**, p. 102695, 2023.
- CHAGAS, C. E. A. *et al.* Focus on vitamin D, inflammation and type 2 diabetes. **Nutrients**, v. 4, n. 1, p. 52-67, 2012.
- COJIC, M. *et al.* The effects of vitamin D supplementation on metabolic and oxidative stress markers in patients with type 2 diabetes: a 6-month follow up randomized controlled study. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, p. 610893, 2021.
- DELLA NERA, G. *et al.* Vitamin D determinants, status, and antioxidant/anti-inflammatory-related effects in cardiovascular risk and disease: not the last word in the controversy. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 948, 2023.
- FATHI, F. E. Z. M. *et al.* Vitamin D regulates insulin and ameliorates apoptosis and oxidative stress in pancreatic tissues of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 60, p. 90219-90229, 2022.
- FERGUSON, D.; FINCK, B. N. Emerging therapeutic approaches for the treatment of NAFLD and type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 8, p. 484-495, 2021.
- FERNÁNDEZ, C. I. J. *et al.* Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2: revisión de literatura. **Nova**, v. 20, n. 38, p. 65-103, 2022.
- FURTADO, M. M. *et al.* Effects of ω -3 PUFA-rich oil supplementation on cardiovascular morphology and aortic vascular reactivity of adult male rats submitted to an hypercholesterolemic diet. **Biology**, v. 11, n. 2, p. 202, 2022.
- GODOY-LUGO, J. A. *et al.* Glucose Increases Hepatic Mitochondrial Antioxidant Enzyme Activities in Insulin Resistant Rats Following Chronic Angiotensin Receptor Blockade. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 18, p. 10897, 2022.
- HARINARAYAN, C. V. *et al.* Improvement in Pancreatic β -Cell Function with Vitamin D and Calcium Supplementation in Vitamin D-Deficient Nondiabetic Subjects. **Endocrine Practice**, v. 20, n. 2, p. 129-138, 2014.
- HASSAN, F. *et al.* Vitamin D dietary supplementation ameliorates the complications associated with type 2 diabetes induced by streptozotocin. **Comparative Clinical Pathology**, v. 29, p. 591-598, 2020.
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas 2025**. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/>. Acesso em: 21 jun. 2025.
- JEON, S. M. Regulation and function of AMPK in physiology and diseases. **Experimental & molecular medicine**, v. 48, n. 7, p. e245-e245, 2016.
- KIM, H. *et al.* Metabolic spectrum of liver failure in type 2 diabetes and obesity: from NAFLD to NASH to HCC. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 9, p. 4495, 2021.
- KONO, Y.; FRIDOVICH, I. Superoxide radical inhibits catalase. **Journal of Biological Chemistry**. v. 257, n. 10, p. 5751-4, 1982.

- LEUNG, P. S. *The potential protective action of vitamin D in hepatic insulin resistance and pancreatic islet dysfunction in type 2 diabetes mellitus*. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 147, 2016.
- LI, S. *et al. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases*. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 11, p. 26087-26124, 2015.
- LIU, S. *et al. Association between vitamin D status and non-alcoholic fatty liver disease: a population-based study*. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 65, n. 4, p. 303-308, 2019.
- MAGALHÃES, D. A. *et al. High-fat diet and streptozotocin in the induction of type 2 diabetes mellitus: a new proposal*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n.1, 2019.
- MIYAUCHI, S. *et al. Insulin-like growth factor-1 is inversely associated with liver fibrotic markers in patients with type 2 diabetes mellitus*. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 10, n. 4, p. 1083-1091, 2019.
- MOHARIR, G. *et al. Effect of vitamin on blood sugar, HbA1c and serum insulin levels in streptozotocin-induced diabetic rats*. **Maedica**, v. 15, n. 3, p. 327, 2020.
- MONICKARAJ, F. *et al. Accelerated fat cell aging links oxidative stress and insulin resistance in adipocytes*. **Journal of biosciences**, v. 38, p. 113-122, 2013.
- MORAES, A. *et al. Novos tratamentos para o Diabetes Mellitus tipo 2*. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos**, v. 16, n. 2, p. 89-97, 2021.
- MORON, M. S.; DEPIERRE, J. W.; MANNERVIK, B. *Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver*. **Biochim Biophys Acta**, v. 582, n. 1, p. 67-78, 1979.
- NANDI, A. *et al. Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases*. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, n. 1, p. 9613090, 2019.
- NING, C. *et al. Lipid metabolism and inflammation modulated by Vitamin D in liver of diabetic rats*. **Lipids in health and disease**, v. 14, p. 1-9, 2015.
- OTT-FONTES, P. R.; NETO, J. A. D.; GOLDONI, M. B. *Comparação da gravidade da doença hepática gordurosa não alcoólica de pacientes obesos diabéticos e não diabéticos*. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 47, 2020.
- PITTAS, A. G. *et al. Vitamin D Supplementation and Prevention of Type 2 Diabetes*. **New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 6, p. 520-530, 2019.
- RIBEIRO, T. M. A. *et al. Associação entre os níveis séricos de vitamina D e doença hepática gordurosa não alcoólica*. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 1, p. 3799-3811, 2022.
- ROCHETTE, L. *et al. Redox functions of heme oxygenase-1 and biliverdin reductase in diabetes*. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 29, n. 2, p. 74-85, 2018.
- RUZE, R. *et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments*. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, p. 1161521, 2023.
- SAIF-ELNASR, M.; IBRAHIM, I. M.; ALKADY, M. M. *Role of Vitamin D on glycemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus*. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 22, n. 1, p. 22, 2017.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**. 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/>. Acesso em: 11 jan. 2024.
- SHIBABAW, T. *et al. Assessment of liver marker enzymes and its association with type 2 diabetes mellitus in Northwest Ethiopia*. **BMC research notes**, v. 12, p. 1-5, 2019.
- SILVA, N. M. G. *et al. Liver function and risk of type 2 diabetes: bidirectional Mendelian randomization study*. **Diabetes**, v. 68, n. 8, p. 1681-1691, 2019.
- SILVA, T. C. *et al. Vitamin D3 transactivates the zinc and manganese transporter SLC30A10 via the Vitamin D receptor*. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 163, p. 77-87, 2016.
- SINGH, A. *et al. Mechanistic insight into oxidative stress-triggered signaling pathways and type 2 diabetes*. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 950, 2022.
- SMITH, G. I. *et al. Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease*. **The Journal of clinical investigation**, v. 130, n. 3, p. 1453-1460, 2020.
- TARGHER, G. *et al. The complex link between NAFLD and type 2 diabetes mellitus—mechanisms and treatments*. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 18, n. 9, p. 599-612, 2021.

TEIXEIRA, L. T. A. *et al.* Avaliação de efeitos toxicológicos e comportamentais da *Hypericum perforatum* e da *Piper methys-ticum* em ratos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 22, n.1-2, p. 42-49, 2009.

TRINH, K. Y. *et al.* Perturbation of fuel homeostasis caused by overexpression of the glucose-6-phosphatase catalytic subunit in liver of normal rats. **J Biol Chem**, v. 273, n. 47, p. 31615-20, 1998.

YALCIN, M. H. *et al.* Vitamin D supplementation alleviates diabetic complications by increasing the amount of irisin in testicular tissues and blood of rats with experimental diabetes. **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 2, 2023.