



Efeito do sulfato de vanadil sobre o comprometimento metabólico muscular induzido pela imobilização de membro posterior de ratos

Gabriel Borges Delfino¹, João Luiz Quagliotti Durigan², Karina Maria Cancelliero³ e Carlos Alberto da Silva⁴

RESUMO

A proposta deste trabalho foi avaliar o efeito do sulfato de vanadil (SV) no perfil metabólico muscular de membro posterior imobilizado de ratos. Ratos *Wistar* foram divididos nos grupos ($n = 6$): controle (C), imobilizado em posição neutra do tornozelo (I), tratado com sulfato de vanadil (SV, 0,25mM, VO) e imobilizado tratado com SV (I + SV) durante sete dias. Após o período experimental, foram avaliadas as reservas de glicogênio (RG) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio branco (GB) e vermelho (GV), tibial anterior (TA) e extensor longo dos dedos (ELD), além do peso do S e ELD. A análise estatística foi realizada pela ANOVA seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). No grupo SV, os resultados mostraram elevação significativa nas RG (S 110%, GB 71%, GV 85%, TA 125%, EDL 108%) e no peso (S 9%, EDL 11%). A imobilização reduziu significativamente as RG (S 31,6%, GB 56,6%, GV 39,1%, ELD 41,7%, TA 45,2%) e peso (S 34,2% e ELD 27%); já no grupo I + SV, houve o aumento das RG em todos os músculos (S 211%, GB 115%, GV 148%, ELD 161,9%, TA 147%), além de impedir a perda de peso do S (75%) e ELD (46%). O tratamento com sulfato de vanadil promoveu elevação nas reservas de glicogênio do grupo controle e imobilizado, além de impedir a perda de peso, demonstrando que seu efeito insulino-mimético é representado pela ação glicogênica associado a uma possível ação anticatabólica.

ABSTRACT

Effect of the vanadyl sulphate on the muscular metabolic compromising induced by immobilization of posterior limb of rats

The purpose of this study was to evaluate the metabolic performance of immobilized skeletal muscle in rats treated with vanadyl sulphate. Male Wistar rats were divided in groups ($n = 6$): control (C), immobilized (I), treated with vanadyl sulphate (VS, 0,25 mM) and immobilized treated with vanadyl sulphate (I + VS) during seven days. The concentration of vanadyl sulphate diluted in water was 0,25 mM. After experimental stage, the glycogen content (GC) was evaluated in soleus (S), white gastrocnemius (WG), red gastrocnemius (RG), tibialis anterior (TA) and extensor digitorum longus (EDL) muscles, besides S and EDL weight. The statistical anal-

1. Discente do Curso de Fisioterapia e bolsista de iniciação científica CNPq – Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP.

2. Mestre em Fisioterapia – Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP.

3. Mestra em Fisioterapia – Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP e Doutoranda em Fisioterapia – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

4. Professor Doutor do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP.

Recebido em 15/12/05. Versão final recebida em 28/4/06. Aceito em 10/6/06.

Endereço para correspondência: Gabriel Borges Delfino, Rua João Batista Calmazine, 10, Bairro Parque Cidade Nova – 13840-000 – Mogi Guaçu, SP. E-mail: delfinogb@gmail.com

Palavras-chave: Desuso muscular. Compostos de vanádio. Reabilitação.

Keywords: Muscular disuse. Vanadium compounds. Rehabilitation.

Palabras-clave: Desuso muscular. Compuestos de vanadio. Rehabilitación.

ysis was realized by the ANOVA followed by Tukey test ($p < 0,05$). In VS group, the results showed a significant increase in GC (S 110%, WG 71%, RG 85%, TA 125%, EDL 108%) and in the weight (S 9%, EDL 11%). The immobilization reduced significantly the GC (S 31.6%, WG 56.6%, RG 39.1%, EDL 41.7%, TA 45.2%) and weight (S 34.2% and ELD 27%), and in I + VS group, there was an increase of the GC in all muscles (S 211%, WG 115%, RG 148%, EDL 161.9%, TA 147%), besides hindering the weight loss in S (75%) and EDL (46%). The vanadyl sulphate treatment promoted an increase in the glycogen content of control and immobilized groups, besides hindering the weight loss, showing that the insulino-mimetic effect is represented by glycolytic action associated to a possible anti-catabolic action.

RESUMEN

Efecto del sulfato de vanadil sobre comprometimiento metabólico muscular inducido por la inmovilización del miembro posterior en ratones

La propuesta de este trabajo ha sido la de evaluar el efecto del sulfato de vanadil (SV) en el perfil metabólico muscular de miembro posterior inmovilizado de ratones. Ratones Wistar fueron divididos en grupos ($n = 6$): control (C), inmovilizado en posición neutra de tobillo (I), tratado con sulfato de vanadil (SV, 0,25mM, VO) e inmovilizado tratado con SV (I + SV) durante 7 días. Después del período experimental, fueron evaluadas las reservas de glicógeno (RG) de los músculos sóleo (S), gastrocnemio blanco (GB) y colorado (GV), tibial anterior (TA) y extensor largo de los dedos (ELD), además del peso de S y ELD. El análisis estadístico fue realizado por ANOVA seguido del test de Tukey ($p < 0,05$). En el grupo SV, los resultados mostraron elevación significativa en las RG (S 110%, GB 71%, GV 85%, TA 125%, EDL 108%) y en el peso (S 9%, EDL 11%). La inmovilización redujo significativamente las RG (S 31,6%, GB 56,6%, GV 39,1%, ELD 41,7%, TA 45,2%) y peso (S 34,2% e ELD 27%), por otro lado en el grupo I + SV, hubo aumento de las RG en todos los músculos (S 211%, GB 115%, GV 148%, ELD 161,9%, TA 147%), además de impedir la pérdida de peso de S (75%) y ELD (46%). El tratamiento con sulfato de vanadil promovió una elevación en las reservas de glicógeno del grupo control e inmovilizado, además de impedir la pérdida de peso, lo que demuestra que su efecto insulina mimético está representado por la acción glicogénica asociado a una posible acción anticatabólica.

INTRODUÇÃO

A imobilização é uma condição clássica de desuso muscular encontrada na prática clínica da fisioterapia, principalmente em situações de rupturas ligamentares, fraturas ósseas, lesões mus-

culares e medulares, patologias degenerativas musculares e articulares, inflamações, cirurgias, entre outras, nas quais deve haver a restrição de um segmento corporal. Esta condição não favorece a manutenção do balanço dinâmico das reações anabólicas e catabólicas, as quais contribuem para a homeostasia muscular, levando a alterações de caráter trófico, morfológico e quimiometabólico, que convergem para a hipotrofia muscular.

A hipotrofia do músculo esquelético pode ser definida como a perda ou decréscimo de massa muscular, além de diminuição da disponibilidade de substratos energéticos, sendo estes importantes na manutenção do equilíbrio metabólico muscular. Diversos são os fatores que contribuem para o grau da hipotrofia muscular, como a idade, sexo, tempo de imobilização, tipo de fibra, comprimento no qual o músculo é imobilizado e grupo muscular (extensor/flexor)⁽¹⁾.

Na literatura, o quadro de resistência à insulina é estudado na condição de desuso muscular. Neste sentido, Hirose *et al.*⁽²⁾ estudaram a via sinalizadora da insulina em ratos que tiveram a pata esquerda imobilizada por sete dias e verificaram redução na transdução do sinal intracelular estimulado pelo hormônio, sugerindo déficit na ativação do IR (receptor de insulina) e nas moléculas ativadas a partir deste, incluindo a fosforilação do IRS-1 (substrato do receptor um da insulina) e a ativação da PI3-K (fosfatidilinositol-três-quinase). A não ativação da via PI3-K resulta no comprometimento de vários mecanismos, entre eles, a síntese protéica, a síntese de glicogênio e a translocação dos transportadores GLUT4 (transportadores de glicose tipo quatro) para a membrana da célula.

Tem sido proposto que diversas substâncias como o clenbuterol, a metformina, a creatina e a glutamina podem auxiliar na manutenção ou na melhora das condições metabólicas da musculatura esquelética durante o período de desuso muscular, visando principalmente à manutenção ou elevação das reservas de glicogênio, além da inibição da redução de peso muscular⁽³⁻⁵⁾.

Estudos têm sugerido que compostos inorgânicos como molibdato, pervanadato, tungstato e vanádio auxiliam no metabolismo tecidual da glicose, além de serem utilizados como elementos potenciais com aplicabilidade anticatabólica e metabotrófica nas áreas de endocrinologia e medicina ortomolecular⁽⁶⁾.

O vanádio é um elemento-traço encontrado em condições fisiológicas nas concentrações de 10^{-10} e 10^{-9} M, e acredita-se que este seja importante para a regulação da atividade das enzimas reguladoras das vias metabólicas celulares⁽⁷⁻⁸⁾.

Clark *et al.*⁽⁹⁾ demonstraram que o vanádio no músculo esquelético altera o metabolismo de glicose de modo semelhante ao da insulina. Esse elemento aumenta a entrada de glicose, síntese de glicogênio e glicólise em amplitude menor que a insulina. Vale destacar, que no século XVIII, Lyonnet *et al.*⁽¹⁰⁾ evidenciaram o efeito insulino-mimético dos compostos de vanádio, antes mesmo da descoberta da insulina.

Resultados mais expressivos, envolvendo compostos de vanádio, foram relatados com a utilização do composto sulfato de vanadil (VOSO_4), possivelmente, pelo fato de o vanadil ser a forma intracelular ativa do vanádio^(7-8,11). O sulfato de vanadil é a forma oxidativa do vanádio que *in vitro* e em modelos animais de diabetes promoveu uma redução na hiperglicemia e na resistência à insulina⁽¹²⁾.

Como o desuso muscular é uma condição freqüente na prática clínica da reabilitação muscular esquelética e a busca por terapias durante o período de limitação cinético-funcional é constante, tornou-se sugestiva a utilização do sulfato de vanadil, o qual apresenta ações insulino-miméticas, já que o desuso muscular é um modelo de resistência à insulina.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do sulfato de vanadil sobre o perfil metabólico muscular de membro posterior de ratos submetidos à imobilização articular durante sete dias.

MÉTODOS

Ratos albinos *Wistar*, com idade variando de três a quatro meses com peso de $286,6 \pm 17$ g, foram alimentados com água e ração à vontade, sendo submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro, sob temperatura controlada ($23^\circ\text{C} \pm 2$). Os animais foram tratados segundo recomendações do *Guide for Care Use of Laboratory Animals*⁽¹³⁾.

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais ($n = 6$): controle, imobilizado, tratado com sulfato de vanadil e imobilizado tratado com sulfato de vanadil. Tanto o período de imobilização quanto o de tratamento foram de sete dias.

Para a imobilização, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/kg), tendo a pata posterior esquerda imobilizada com órtese de resina acrílica, a qual manteve a articulação do tornozelo em posição neutra (90°), deixando as articulações do joelho e quadril livres (figura 1).

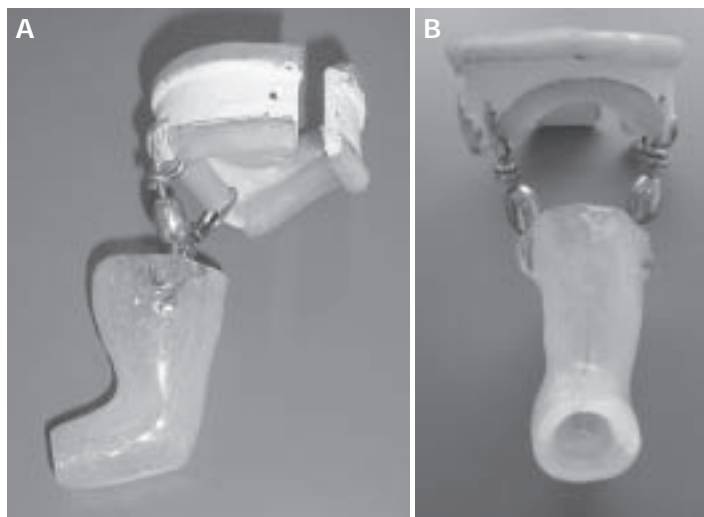


Figura 1 – Órtese de resina acrílica: vista lateral (A) e vista anterior (B)

O tratamento com sulfato de vanadil foi realizado pela administração da substância diluída em água na concentração de 0,25mM, sendo disponibilizado na água para beber durante 24 horas por dia, em frascos de âmbar para evitar fotólise.

Após o período experimental, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e amostras dos músculos sóleo, gastrocnêmio vermelho, gastrocnêmio branco, tibial anterior e extensor longo dos dedos foram isoladas, retiradas e encaminhadas para a determinação do conteúdo de glicogênio muscular pelo método fenol sulfúrico⁽¹⁴⁾. O método consiste na digestão das amostras musculares em KOH a 30% a quente e a precipitação do glicogênio a partir da passagem por etanol a quente. Entre uma fase e outra da precipitação, as amostras foram centrifugadas a 3.000rpm durante 15 minutos e o glicogênio precipitado foi submetido à hidrólise ácida na presença de fenol. Os valores foram expressos em mg/100mg de peso úmido. Realizou-se também a avaliação do peso dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos por meio de balança analítica.

A análise estatística de todas as variáveis foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de homocedasticidade (critério de Barlett). Após a observação de que as variáveis contemplaram a metodologia paramétrica, foi utilizada a ANOVA seguida do teste de Tukey. Para todos os cálculos, foi estabelecido um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Inicialmente, foi observado que a imobilização promoveu alteração metabólica na musculatura esquelética durante sete dias,

representada por redução significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de glicogênio (mg/100mg) de todos os músculos analisados, sendo de 31,6% no sóleo (média \pm epm, C: $0,38 \pm 0,03$ e I: $0,26 \pm 0,02$), 56,6% no gastrocnêmio branco (C: $0,46 \pm 0,02$ e I: $0,20 \pm 0,02$),

39% no gastrocnêmio vermelho (C: $0,41 \pm 0,01$ e I: $0,25 \pm 0,03$), 41,7% no extensor longo dos dedos (C: $0,36 \pm 0,03$ e I: $0,21 \pm 0,02$) e 45,2% no tibial anterior (C: $0,31 \pm 0,03$ e I: $0,17 \pm 0,02$, figura 2).

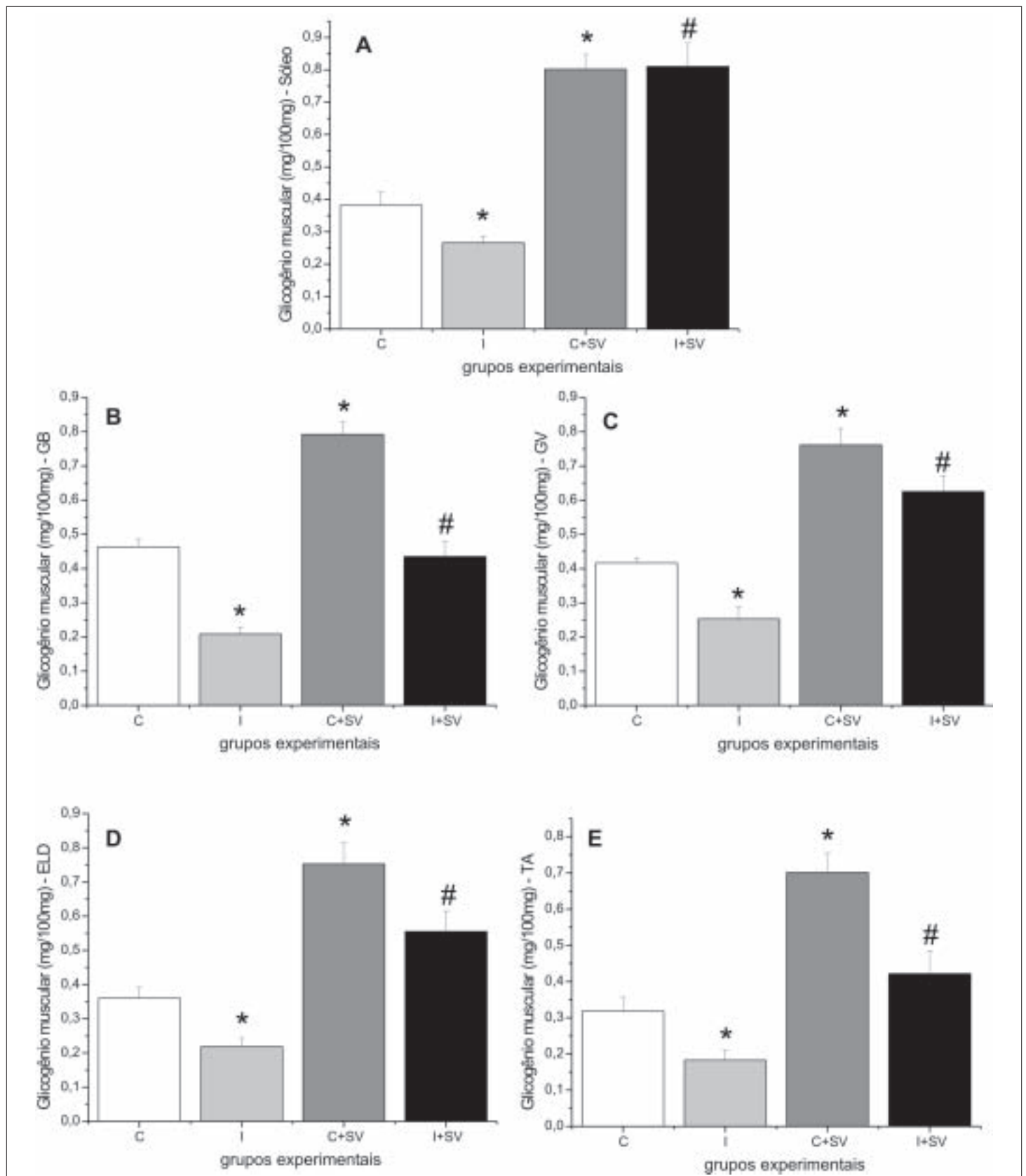


Figura 2 – Valor da média \pm epm da concentração de glicogênio (mg/100mg) dos músculos: sóleo (A), gastrocnêmio branco (B), gastrocnêmio vermelho (C), extensor longo dos dedos (D), tibial anterior (E) dos grupos controle (C), imobilizado (I), controle tratado com sulfato de vanadil (C + SV) e imobilizado tratado com sulfato de vanadil (I + SV).

n = 6, $p < 0,05$. * comparado com o controle e # comparado com o imobilizado.

A imobilização também promoveu alteração do peso muscular (mg) caracterizada pela redução significativa tanto no sóleo (34%), quanto no extensor longo dos dedos (27%) (tabela 1).

TABELA 1

Valor da média \pm epm do peso muscular (mg) dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos, dos grupos controle, imobilizado, controle tratado com sulfato de vanadil e imobilizado tratado com sulfato de vanadil

	S	ELD
Controle	123,5 \pm 2,1	120,6 \pm 8,5
Imobilizado	81,3 \pm 1,89*	88,1 \pm 7,8*
Controle + sulfato de vanadil	135 \pm 4,6	134 \pm 5,2
Imobilizado + sulfato de vanadil	143 \pm 9,76#	128,6 \pm 7,2#

n = 6, p < 0,05, * comparado com o controle e # comparado com o imobilizado.

Com relação ao grupo tratado com sulfato de vanadil observou-se a elevação significativa nas reservas de glicogênio de todos os músculos analisados, sendo 110% no sóleo (média \pm epm, C: 0,38 \pm 0,03 e SV: 0,80 \pm 0,04, p < 0,05), 71% no gastrocnêmio branco (C: 0,46 \pm 0,02 e SV: 0,79 \pm 0,03, p < 0,05), 85% no gastrocnêmio vermelho (C: 0,41 \pm 0,01 e SV: 0,76 \pm 0,04, p < 0,05), 108% no extensor longo dos dedos (C: 0,36 \pm 0,03 e SV: 0,75 \pm 0,06, p < 0,05) e 125% no tibial anterior (C: 0,31 \pm 0,03 e SV: 0,70 \pm 0,05, p < 0,05) (figura 2). Com relação ao peso dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos, o tratamento com sulfato de vanadil não promoveu nenhuma alteração significativa (tabela 1).

Entretanto, quando administrado o tratamento com sulfato de vanadil no grupo imobilizado, observou-se sua eficácia em impedir a redução do peso muscular nos músculos analisados (tabela 1), bem como a redução nas reservas de glicogênio, elevando-as em 211% no músculo sóleo (I: 0,26 \pm 0,02 e I + SV: 0,81 \pm 0,07, p < 0,05), 115% no gastrocnêmio branco (I: 0,20 \pm 0,02 e I + SV: 0,43 \pm 0,04), 148% no gastrocnêmio vermelho (I: 0,25 \pm 0,03 e I + SV: 0,62 \pm 0,04), 161,9% no extensor longo dos dedos (I: 0,21 \pm 0,02 e I + SV: 0,55 \pm 0,05), e 147% no tibial anterior (I: 0,17 \pm 0,02 e I + SV: 0,42 \pm 0,06) (figura 2).

DISCUSSÃO

As ações da insulina sobre o metabolismo das proteínas e dos aminoácidos convergem no sentido de reações anabólicas. A insulina, após interação com o receptor de membrana, estimula os transportadores de glicose (GLUT-4), facilitando a entrada da hexose na célula, e exerce ação anabólica sobre o metabolismo protéico.

A imobilização é uma condição caracterizada pela diminuição da força e no tamanho do músculo, sendo um procedimento amplamente utilizado em lesões como: fraturas ósseas, rupturas ligamentares ou doenças degenerativas das articulações⁽¹⁵⁾. Em decorrência deste procedimento, no tecido muscular ocorre a inversão no balanço metabólico, em que as reações catabólicas superam as anabólicas, causando hipotrofia e principalmente perda de peso⁽¹⁶⁾.

Os eventos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos desencadeados pela imobilização têm sido foco de diversos estudos⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Neste contexto, tem sido demonstrada a diminuição da resposta do tecido muscular à insulina no período de imobilização, apresentando alterações no metabolismo da glicose^(2,20-21).

Nossos resultados acompanham os estudos que sugerem redução nas reservas de glicogênio dos músculos imobilizados, demonstrando as relações funcionais entre a contração muscular e o aporte e metabolismo de glicose, destacando que a porção branca do músculo gastrocnêmio foi a mais comprometida, dadas as menores reservas energéticas. Estas observações mostram que no modelo de imobilização utilizado neste estudo, as fibras brancas (tipo II) foram as mais afetadas corroborando Herbisson *et al.*⁽²²⁾, Jaffe *et al.*⁽²³⁾ e Mcdougall *et al.*⁽²¹⁾. Destaca-se ainda que,

além das alterações metabólicas, também houve redução no peso, que pode sugerir redução no número e/ou tamanho das fibras, expressão condizente com um balanço protéico negativo^(16,24).

A fisioterapia no âmbito experimental tem buscado alternativas que visam a melhora no perfil energético da musculatura imobilizada, com o objetivo de melhorar a condição fisiológica desta musculatura e aperfeiçoando a metodologia da intervenção fisioterapêutica, de forma que possa minimizar o tempo de reabilitação. Assim, tem sido demonstrado que a suplementação é uma opção viável que auxilia na manutenção de um padrão energético diferenciado⁽³⁻⁴⁾.

Por meio desta viabilidade de suplementação no período de imobilização muscular, há necessidade de estudar compostos contendo o elemento-traço vanádio, que em estudos demonstraram exercer efeitos insulino-miméticos, dentre eles o aumento do transporte de glicose, oxidação da glicose e síntese de glicogênio, além de impedir a lipólise e gliconeogênese⁽²⁵⁻²⁸⁾. Destaca-se ainda que um dos efeitos de maior importância dos sais de vanádio é a translocação do transportador GLUT4 do seu compartimento intracelular, para a superfície da célula, aumentando assim a captação de glicose⁽²⁹⁾.

Dentre os diferentes compostos de vanádio, preconizou-se neste estudo a utilização do sulfato de vanadil por terem sido atribuídos a este resultados mais significativos^(7-8,11).

Ao avaliarmos as reservas de glicogênio do grupo tratado com sulfato de vanadil, observamos a elevação das reservas de glicogênio e também no peso, dados que corroboram estudos que evidenciaram elevação na glicogênese frente ao tratamento com sulfato de vanadil⁽³⁰⁻³¹⁾. Destaca-se que esta elevação das reservas de glicogênio foi significativa quando comparado com o grupo controle, mas, quando comparado com os músculos do grupo tratado entre si, notou-se a inexistência de diferença significativa entre eles, evidenciando não haver especificidade com relação ao tipo de fibra dos músculos analisados.

Já nos resultados relacionados com a musculatura imobilizada tratada, o comportamento metabólico foi diferenciado pelo tipo de fibra, uma vez que os músculos com fibras do tipo-1 (oxidativas) apresentaram maior sensibilidade, representada pelo aumento das reservas de glicogênio. Uma possível explicação para essa diferença na resposta pode residir no fato de estes músculos apresentarem maior número de receptores de insulina, havendo necessidade de maiores estudos para a distinção do tipo de fibra muscular mais sensível ao tratamento com sulfato de vanadil.

Destaca-se ainda que há escassez de estudos envolvendo a associação de modelos de desuso muscular ao tratamento com compostos inorgânicos, principalmente relacionado ao sulfato de vanadil.

CONCLUSÃO

O tratamento com sulfato de vanadil promoveu elevação das reservas de glicogênio muscular tanto no grupo controle quanto no imobilizado, além de impedir a redução do peso muscular. Desse modo, este estudo sugere a manutenção de um padrão nutricional diferenciado no tecido muscular em desuso, melhorando as condições para o período de reabilitação.

Todos os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

- Appell HJ. Muscular atrophy following immobilization: a review. *Sports Med.* 1990;10:42-58.
- Hirose M, Kaneki M, Sugita H, Yasuhara S, Martyn J. Immobilization depresses insulin signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279:1235.

3. Cancelliero KM. Estimulação elétrica neuromuscular associada ao clembuterol melhora o perfil metabólico muscular de membro imobilizado de ratos. Tese de mestrado, PPG Fisioterapia, UNIMEP, 2004.
4. Silva CA, Guirro RRJ, Polacow MLO, Silva HC, Tanno AP, Rodrigues D. Efeito da metformina e eletroestimulação sobre as reservas de glicogênio do músculo sóleo normal e desnervado. *Revista Brasileira de Fisioterapia*. 1999;3(2):55-60.
5. Taliari KRS. Perfil energético do músculo esquelético de ratos imobilizados: avaliação da suplementação com creatina associada ou não a estimulação elétrica. Tese de mestrado, PPG Fisioterapia, UNIMEP, 2004.
6. Matsumoto J. Vanadate, molybdate and tungstate for orthomolecular medicine. *Med Hypotheses*. 2004;43(3):177-82.
7. Shechter Y, Shisheva A. Vanadium salts and the future of treatment of diabetes. *Endeavour*. 1993;17:27-31.
8. Thompson, K. Vanadium and diabetes. *BioFactors*. 1999;10:43-51.
9. Clark AS, Fagan JM, Mitch WE. Selectivity of the insulin-like actions of vanadate on glucose and protein metabolism in skeletal muscle. *Biochem J*. 1985;232:273-6.
10. Lyonnet B, Martz M, Martin E. L'emploi thérapeutique des derives du vanadium. *Presse Med*. 1899;32:191-2.
11. Shaver A, Ng J, Hall D, Posner B. The chemistry of peroxovanadium compounds relevant to insulin-mimesis. *Mol Cell Biochem*. 1995;153:5-15.
12. Cusi K, Cukier RA, DeFronzo M, Torres FM. Vanadyl sulfate improves hepatic and muscle insulin sensitivity in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2001;86:1410-7.
13. National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC, USA: National Academy Press, 1996.
14. Siu Lo, Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970;28(2):234-6.
15. Appell HJ. Skeletal muscle atrophies during immobilization. *Int J Sports Med*. 1986;7:1-5.
16. Zdanowicz M, Teichberg S. Effects on insulin-like growth factor-1/binding protein-3 complex on muscle atrophy in rats. *Exp Biol Med*. 2003;228(8):9891-7.
17. Vanderborne K, Elliot MA, Abdus S, Okereke E, Sgaffer M, Tahernia D, et al. Longitudinal study of skeletal muscle adaptations during immobilization and rehabilitation. *Muscle Nerve*. 1998;21:1006-12.
18. Muccacchia XJ, Stefen JM, Fell RD. Disuse atrophy of skeletal muscle: animal models. *Exerc Sport Sci Rev*. 1988;16:61-87.
19. Zarzhevsky N, Coleman R, Volpin G, Fuchs D, Stein H, Reznick AZ. Muscle recovery after immobilization by external fixation. *J Bone Joint Surg*. 1999;81:896-901.
20. McDougall JD, Ward GR, Sale DC, Sutton JR. Biochemical adaptations of skeletal muscle to heavy resistance training and immobilization. *J Appl Physiol*. 1977;43:700-3.
21. McDougall JD, Elder GCB, Sale DC, Sutton JR. Effects of strength training and immobilization on human muscle fibers. *Eur J Appl Physiol*. 1980;43:25-34.
22. Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunni JF. Muscle fiber atrophy after cast immobilization in the rat. *Arch Phys Med Rehabil* 1978;59:301-5.
23. Jaffe DM, Terry RD, Spiro AJ. Disuse atrophy of skeletal muscle. A morphometric study using image analysis. *J Neurol Sci*. 1978;35:189-200.
24. Mitch W, Goldberg A. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med*. 1996;335:1897-905.
25. Shechter Y, Karlsh SJ. Insulin-like stimulation of glucose oxidation in rats adipocytes by vanadyl (IV) ions. *Nature* 1980;284:556-8.
26. Tolman EL, Barris E, Burns M, Passini A, Partridge R. Effects of vanadium on glucose metabolism in vitro. *Life Sci*. 1979;25:1159-64.
27. Green A. The insulin-like effect of sodium vanadate on adipocyte glucose transport is mediated at post insulin receptor level. *Biochem J*. 1986;238:663-9.
28. Tamura S, Brown TA, Whipple JH, Fujita-Yamaguchi Y, Dubler RE, Cheng K, et al. A novel mechanism for the insulin-like effect of vanadate on glycogen synthase in rat adipocytes. *J Biol Chem*. 1984;259:6650-8.
29. Pâquet MR, Romanek, RJ, Sargeant RJ. Vanadate induces the recruitment of glut-4 glucose transporter to the plasma membrane of rat adipocytes. *Mol Cell Biochem*. 1992;109:149-55.
30. Semiz S, Mcneil JH. Oral treatment with vanadium of Zucker fatty rats activates muscle glycogen synthesis and insulin-stimulated protein phosphatase-1 activity. *Mol Cell Biochem*. 2002;236:123-31.
31. Cohen N, Halberstam M, Shlimovich P. Oral vanadyl sulfate improves hepatic and peripheral insulin sensitivity in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1995;95:2501-9.