

MELHORA DO ESTRESSE OXIDATIVO APÓS DUODENOJEJUNOSTOMIA EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETE MELITO TIPO 2

Improvement in oxidative stress after duodenojejunosomy in an experimental model of type 2 diabetes mellitus

Cacio Ricardo **WIETZYCOSKI**, João Caetano Dallegre **MARCHESINI**,
Sultan **AL-THEMYAT**, Fabiola Shons **MEYER**, Manoel Roberto Maciel **TRINDADE**

Trabalho realizado no Curso de Mestrado em Ciências Cirúrgicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

DESCRITORES: Diabetes Mellitus tipo 2. Estresse oxidativo. Estreptozocina

Correspondência:
Cacio Ricardo Wietzycoski
E-mail: wietzycoski@hotmail.com

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 07/01/2016
Aceito para publicação: 05/04/2016

HEADINGS - Diabetes Mellitus, type 2. Oxidative stress. Streptozotocin.

RESUMO - Racional: Diabetes melito tipo 2 é síndrome multifatorial com complicações graves. O estresse oxidativo é aceito como um fator causal de complicações crônicas. **Objetivo:** Demonstrar alterações no estresse oxidativo após a cirurgia metabólica. **Métodos:** Foram utilizados 24 ratos Wistar de dois dias de idade. Em 16, diabetes melito tipo 2 foi induzida por 100 mg/kg de injeção de estreptozotocina. O desenvolvimento do diabetes foi confirmado após 10 semanas, utilizando teste oral de tolerância à glicose. Oito ratos diabéticos compuseram o grupo cirúrgico diabético; os oito restantes constituíram o grupo diabético. Oito animais em que não foi induzido o diabetes formaram o grupo controle clínico. A técnica de Marchesini foi utilizada no grupo cirúrgico diabético. Após 90 dias, os ratos foram sacrificados, e os marcadores de estresse oxidativo foram medidos. **Resultados:** Ácido tiobarbitúrico, superóxido dismutase e catalase foram significativamente reduzidos no grupo cirúrgico diabético quando comparado ao grupo diabético. **Conclusão:** O duodenojejunostomia foi eficaz no controle do estresse oxidativo exacerbado presente em ratos diabéticos.

ABSTRACT - Background: Type 2 Diabetes Mellitus is a multifactorial syndrome with severe complications. Oxidative stress is accepted as a causal factor of chronic complications. **Aim:** To demonstrate alterations in oxidative stress after metabolic surgery. **Methods:** Twenty-four 2-day-old Wistar rats were used. In 16, Type 2 Diabetes Mellitus was induced by 100 mg/kg streptozotocin injection. The development of diabetes was confirmed after 10 weeks using an oral glucose tolerance test. Eight diabetic rats composed the diabetic surgical group; the remaining eight composed the diabetic group. Eight animals in which diabetes was not induced formed the clinical control group. The Marchesini technique was used in the diabetic surgical group. After 90 days, the rats were sacrificed, and the oxidative stress markers were measured. **Results:** Thiobarbituric acid reactive substances, superoxide dismutase and catalase were significantly reduced in the diabetic surgical group compared to the diabetic group. **Conclusion:** The duodenojejunosomy was effective in controlling the exacerbated oxidative stress present in diabetic rats.

INTRODUÇÃO

Diabetes melito (DM) é doença com alta incidência e prevalência em muitas partes do mundo especialmente nos Estados Unidos e na Europa. No Brasil e em outros países em desenvolvimento o número de pacientes com DM está aumentando consideravelmente²⁸. O aumento da incidência no Brasil é importante problema de saúde pública, porque a doença afeta vários sistemas do corpo, com complicações frequentes decorrentes de alterações teciduais e vasculares tal como se manifesta na doença vascular periférica, doença isquêmica do coração e doenças cerebrovasculares. O número de pessoas com DM é estimado aumentar de 150 milhões em 2000 para 220 milhões em 2010 e 300 milhões em 2025²⁶. Além disso, a estimativa da prevalência diabética no mundo para público em geral foi de 2,8% em 2000 e é projetada para ser 4,4 % em 2030²⁶. Se a prevalência de obesidade para de aumentar e permanece estável até 2030, o que é improvável, o número de pessoas com DM será mais do que o dobro do número de hoje devido ao envelhecimento e urbanização da população. É provável que estes dados sejam subestimativa dos valores reais; dados da Federação Internacional de Diabetes indicam que cerca de 246 milhões de pessoas no mundo têm DM, tornando-se uma das doenças²⁴ não transmissíveis mais comum. No Brasil, de acordo com dados do MS e Sistema de Informação de Hipertensão Arterial Sistêmica do Ministério da Saúde, seis milhões de diabéticos são estimados a existir, metade dos quais acompanhados nas unidades de saúde básica⁴. Há interesse crescente na pesquisa experimental com objetivo de investigar os principais caminhos fisiopatológicos no DM, particularmente aqueles que contribuem para as complicações crônicas da doença^{2,11,17,21}.

O estresse oxidativo é aceito como um fator causal das complicações crônicas e pode ser medida com base nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

(TBARS) e a atividade da catalase. Recentemente, a cirurgia metabólica tem atraído interesse crescente como opção eficaz para o tratamento do DM tipo 2^{13,14,22}. A sua remissão após operação metabólica pode ser explicada por teorias, tais como a exclusão de passagem de alimentos através do duodeno e a parte proximal do jejuno, conhecida como a teoria intestino anterior. Por outro lado, o desvio do intestino delgado proximal expõe o íleo distal prematuramente aos nutrientes, aumentando a secreção do peptídeo-1 e de peptídeos do tipo glucagon YY²². Este estímulo precoce de alimentos no íleo, levando à produção de hormônios intestinais locais, é a chamada teoria do intestino posterior. Técnicas cirúrgicas desenvolvidas para o tratamento do diabetes, com base nestas duas teorias, querem tanto remover o duodeno do trânsito intestinal como permitir que o alimento alcance ao íleo mais rapidamente, ou usando ambos os mecanismos. Estas técnicas devem ser de fácil realização e seguras para o paciente^{7,25}.

Este estudo teve por objetivo avaliar da repercussão de uma operação metabólica (duodenojejunosomia terminolateral descrita por Marchesini⁷) em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina durante o período neonatal e seus efeitos sobre o nível de estresse oxidativo promovido pela duodenojejunosomia.

MÉTODOS

Animais experimentais

O estudo foi realizado na Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil seguindo as diretrizes do Código de Ética OMS para Experimentação Animal e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição. Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, de aproximadamente dois dias de idade, criados na unidade de experimentação. Após o desmame, eles foram mantidos em ciclo de claro/escuro (12/12 h) em ambiente de temperatura controlada (22±2° C) com alimentação específica para ratos (Purina Rat Chow®) e água ad libitum.

Indução do diabetes melito tipo 2

Em 16 animais, 100 mg/kg de estreptozotocina em tampão de citrato, pH 4,5, foi injectado por via intraperitoneal. Após 10 semanas, a indução foi confirmada por teste de tolerância à glicose, utilizando 2 g/kg de glucose por via intraperitoneal e a medição subsequente de glicemia por punção da cauda do rato e a recuperação de sangue suficiente para ser examinado com tira de glucose, de um medidor de glucose capilar MediSense Optium (Abbott diabetes Care, Inc., Alameda - CA) a 0, 30, 60, 90 e 120 min. Animais com hiperglicemia (≥200 mg/dl) de glucose, depois injectados por via intraperitoneal e hiperglicemia persistente após 120 min foram considerados diabéticos. Nos outros oito, foi administrado somente injeção intraperitoneal de citrato tampão, pH 4,5, e o mesmo teste de tolerância à glicose foi feito 10 semanas depois.

Protocolo experimental

Após o teste de tolerância à glicose já descrito, os animais diabéticos foram divididos aleatoriamente em dois grupos. Em um deles, oito foram submetidos à operação metabólica e compuseram o Grupo Diabético Operado (DM+OP), e os oito restantes, Grupo DM, foram submetidos somente ao acompanhamento clínico. Finalmente, os oito animais em que apenas citrato tampão sem estreptozotocina foi injetado compuseram o Grupo Controle (CO). Após 12 semanas de vida, os ratos do grupo DM+OP foram submetidos a uma duodenojejunosomia terminolateral para controlar seus níveis de glicemia.

Técnica cirúrgica

Os experimentos foram realizados com supervisão de um perito animal experimental. A indução anestésica foi feita

com mistura de oxigênio e 0,5% de isoflurano através de máscara facial adequada. Uma dose única intramuscular de 5 mg/kg de enrofloxacin (Baytril, Bayer, Shawnee Mission, KS) foi administrada antes do procedimento. Os animais foram submetidos à laparotomia mediana mínima, identificação duodenal e a sua secção a 1 cm do piloro. O coto duodenal foi fechado com Prolene 6-0 (Ethicon®). O local da anastomose foi identificado a meio caminho entre o ângulo duodenojejunal e da válvula ileocecal. Em seguida, uma incisão longitudinal foi feita na alça, e anastomose contínua duodenojejunal terminolateral foi realizada em plano único com magnificação de imagem. Este procedimento foi realizado como modificação técnica originalmente descrita por Rubino¹⁵ (Figura 1).

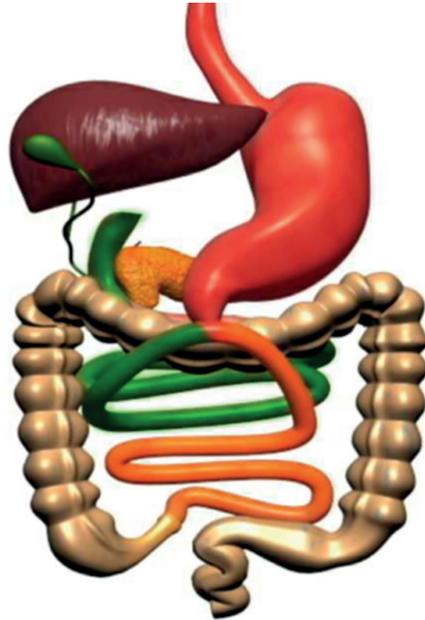


FIGURA 1 - Duodenojejunosomia terminolateral com alça biliopancreática meio-a-meio para o tratamento de diabetes tipo 2, descrito por Marchesini⁷

Seguimento pós-experimento

Os animais foram acompanhados por 90 dias após a operação, e seu peso corporal foi medido com balança digital eletrônica no dia do procedimento (dia zero) e a cada 30 dias após. No dia pós-operatório 90, os animais de ambos os grupos foram submetidos à eutanásia por anestesia profunda. Foram colhidas amostras de sangue, pulmões e fígado.

Exames bioquímicos

Amostras de sangue venoso foram colhidas através de punção cardíaca e centrifugado a 4.000 rpm por 15 min. Após centrifugação, o soro foi separado e congelado a -80°C. As amostras de soro foram usadas para realizar os seguintes testes.

Avaliação da lipoperoxidação

A medição indirecta da peroxidação lipídica foi realizada por medição de TBARS. A concentração obtida foi expressa em nmol/mg de proteína³.

Atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade desta enzima foi definida como a sua capacidade para inibir um sistema de detecção que reage com O². A técnica de SOD é baseada na inibição da presente reação⁹.

Atividade da catalase

A enzima catalase catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A atividade da catalase foi medida por espectrofotometria, e a concentração foi expressa em pmol/g de tecido¹.

Análise estatística

Os dados são expressos como a média±erro-padrão. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Statistical Package for o software de Ciências Sociais, versão 17 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Diferenças entre as médias foram avaliadas utilizando ANOVA seguida de post hoc de Tukey ou Student Newman-Keuls. O nível de significância foi considerado $p < 0,05$.

RESULTADOS

Peso corporal

Depois de avaliar o peso corporal dos animais, observou-se redução significativa dele a partir dos grupos DM (462 ± 28 ; $p < 0,01$) e DM+OP (370 ± 55 ; $p < 0,001$) em comparação com o CO (497 ± 2 , Figura 2).

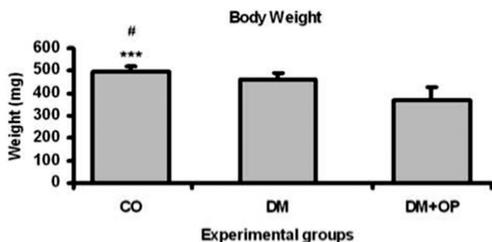


FIGURA 2 - Peso corporal (g) dos diferentes grupos experimentais no final da experiência, com diferença significativa no peso corporal dos animais do CO, quando comparado com os animais dos grupos DM (# $p < 0,01$) e DM+OP (** $p < 0,001$).

O estresse oxidativo - peroxidação lipídica

Usando TBARS como medição da peroxidação de lipídeos no tecido pulmonar, foi observado aumento significativo dele nos animais DM ($3,072 \pm 0,31$) em comparação com o CO ($1,416 \pm 0,07$) e DM+OP ($0,815 \pm 0,08$). Após duodenojejunostomia redução significativa foi observada na peroxidação lipídica do tecido pulmonar, demonstrando o efeito protetor da operação contra o estresse oxidativo (Figura 3A).

Na análise da peroxidação lipídica do tecido hepático, observou-se resultados semelhantes aos descritos no tecido pulmonar; houve aumento significativo no grupo DM ($4,379 \pm 0,17$) em comparação com os animais do CO ($1,699 \pm 0,12$), e foi observada redução significativa após duodenojejunostomia nos animais DM+OP ($2,915 \pm 0,13$). Os animais DM+OP exibiram diferença significativa em comparação com o CO (Figura 3B).

No sangue, foi observado aumento na peroxidação lipídica nos animais DM ($1,573 \pm 0,30$) em comparação com os CO ($0,646 \pm 0,14$), e diminuição significativa após a operação nos animais DM+OP ($0,993 \pm 0,13$), apoiando ainda mais o papel protetor da operação em animais diabéticos. O DM+OP apresentou diferença significativa em comparação com o CO (Figura 3C).

Foi avaliada a atividade da enzima antioxidante SOD no tecido pulmonar e observou-se aumento significativo nos animais DM ($24,792 \pm 0,25$) em comparação com os CO ($21,776 \pm 0,38$) e redução significativa após a operação no DM+OP ($18,077 \pm 0,40$). Estas mudanças demonstram, no grupo DM, a presença de danos oxidativos e a subsequente tentativa de minimizar os danos do aumento da atividade das enzimas antioxidantes. O mesmo entendimento pode ser aplicado aos animais DM+OP, em que diminuiu o dano oxidativo e diminuição da atividade SOD (Figura 4A).

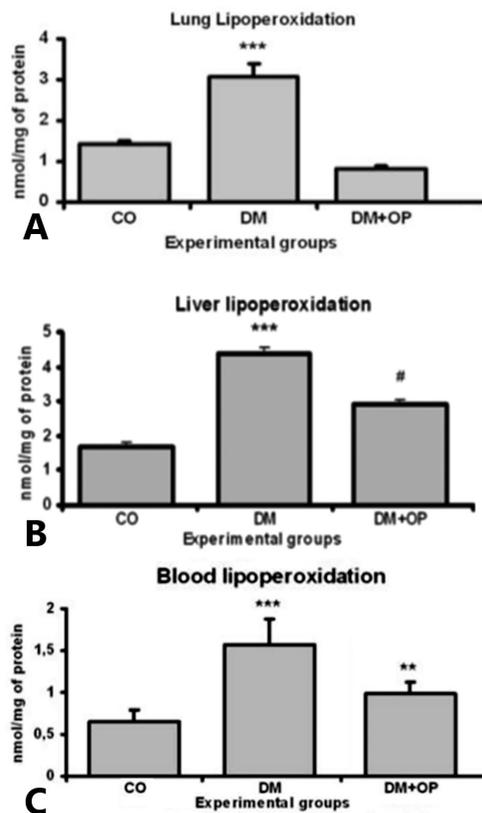


FIGURA 3 - A) Análise da peroxidação lipídica pulmonar de TBARS (nmol/mg de proteína) com aumento significativo nos animais DM (** $p < 0,001$) em comparação com CO e DM+OP; B) análise de peroxidação lipídica hepática de TBARS (nmol/mg de proteína) com aumento significativo observado nos animais DM (** $p < 0,001$) em comparação com o CO e DM+OP, e diferença significativa entre o animais DM+OP e CO (# $p < 0,01$); C) análise de peroxidação lipídica no sangue em TBARS (nmol/mg de proteína) sendo observada diferença significativa entre animais dos grupos DM (** $p < 0,001$) e CO e DM+OP, e também foi observada diferença significativa entre DM+OP (** $p < 0,01$) e CO

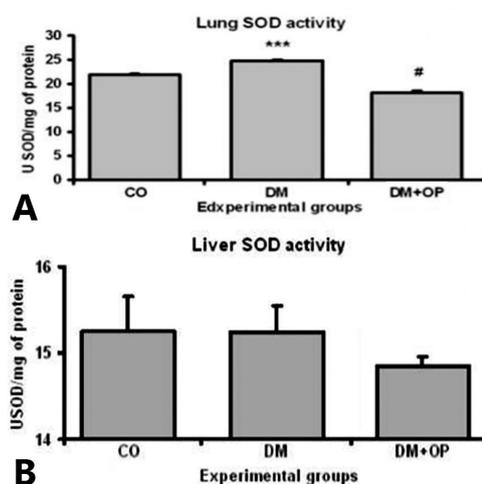


FIGURA 4 - A) Análise da atividade antioxidante enzimático SOD (USOD/mg de proteína) no tecido pulmonar mostra diferença significativa entre o DM (** $p < 0,001$) e CO e DM+OP, e também diferença significativa entre o DM+OP (# $p < 0,001$) e CO; B) análise da atividade enzimática de SOD antioxidante (USOD/mg de proteína) no tecido hepático e não houve diferença significativa entre os grupos

No tecido hepático não foram observadas diferenças significativas entre DM ($15,23 \pm 0,31$), CO ($15,246 \pm 0,40$) e DM+OP ($14,848 \pm 0,11$). A ausência de qualquer diferença em tecido hepático pode ser devida ao anion do radical superóxido, que já tinha sido dismutado pela enzima e convertido em peróxido de hidrogênio (Figura 4B).

Quando se analisou a atividade da enzima antioxidante catalase no tecido pulmonar, foi observado aumento significativo entre os animais DM ($2,436 \pm 0,24$) e CO ($0,787 \pm 0,21$) e DM+OP ($0,939 \pm 0,24$) (Figura 5A).

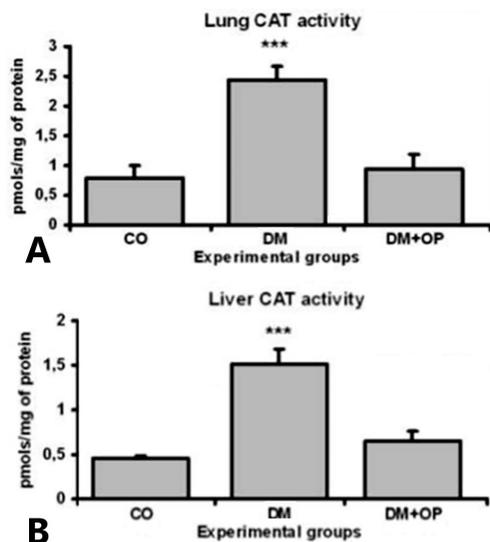


FIGURA 5 - A) Análise da atividade enzimática antioxidante da catalase (pmol/mg de proteína) no tecido pulmonar onde foi observada diferença significativa entre o DM (***) e os grupos CO e DM+OP; **B)** análise da atividade enzimática antioxidante catalase (pmol/mg de proteína) no tecido hepático observando-se diferença significativa entre o grupo DM (***) e CO e DM+OP

Este aumento confirma uma tentativa de defesas antioxidantes contra o estresse gerado pela formação de radicais livres importante no diabetes. Os animais no grupo de pacientes diabéticos nos quais a duodenojejunosomia foi realizada exibiu diminuição da atividade enzimática antioxidante porque esses animais já tinham sido protegidos contra a formação de radicais livres, tal como confirmado pela análise da peroxidação lipídica.

Atividade enzimática semelhante foi observada no tecido hepático, com aumento significativo na atividade da catalase no grupo DM ($1,516 \pm 0,17$) em comparação com os CO ($0,46 \pm 0,03$) e DM + OP ($0,658 \pm 0,10$, Figura 5B).

DISCUSSÃO

Anteriormente outros autores encontraram animais diabéticos apresentando diminuição do ganho de peso quando comparados à controles²⁰, como neste estudo. A diminuição do ganho de peso é devida à ação tóxica de hiperglicemia nos animais durante o período da puberdade (7-8 semanas), conduzindo à diminuição da taxa de crescimento neste estágio. Além disso, a operação leva à perda de peso inicial, quer devido ao trauma cirúrgico ou à redução inicial da ingestão de alimentos; mas, o peso estabiliza duas semanas após a operação. A manutenção do peso pós-cirúrgico nos animais do grupo DM+OP sinaliza a eficácia da presente técnica na prevenção da progressão da obesidade, que é típico em pacientes diabéticos obesos. Apesar da observação da perda de peso significativa em ratos operados em relação aos controles, os animais que não foram submetidos à operação permaneceram eutróficos.

Estes dados confirmam a hipótese de que esta técnica cirúrgica não resulta em perda de peso significativa, o que permite seu uso em pacientes não-obesos.

Há evidência crescente, tanto em estudos experimentais quanto clínicos que sugerem papel importante para o estresse oxidativo na patogênese do DM^{8,19,27}. Estudos demonstraram aumento importante na atividade de TBARS no sangue e nos tecidos pulmonares e hepáticos em ratos diabéticos em comparação com a sua atividade nos controles. Além disso, a duodenojejunosomia resultou em diminuição na atividade de TBARS a níveis significativamente mais baixos em comparação com ratos diabéticos não operados. As suas medições no pulmão foram significativamente menores após a operação, mesmo quando comparadas com as medidas em controles não-diabéticos. Estes resultados demonstraram que este procedimento reduz a peroxidação lipídica e diminui o estresse oxidativo anteriormente observado em animais diabéticos. O fígado desempenha papel importante na homeostase da glicose do sangue. Ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina que exibem aumento na concentração de produtos de peroxidação de lipídios, tais como TBARS, mostram prova indireta da produção de radicais livres intensificada⁸. Reforça este modelo que, após duodenojejunosomia, os seus níveis em ratos diabéticos voltaram para níveis semelhantes aos observados nos ratos não diabéticos, sugerindo diminuição importante na peroxidação de lipídios e a diminuição resultante de radicais livres. O aumento nos produtos de peroxidação de lipídios no fígado indica que, em DM, o fígado é susceptível à peroxidação lipídica, que em DM é devida ao aumento do estresse oxidativo nas células resultantes da diminuição dos sistemas antioxidantes. Estudos já demonstraram aumento significativo na peroxidação lipídica em ratos expostos à estreptozotocina e sugeriram que as substâncias de proteção, tais como o ácido gálico, pode diminuir esta peroxidação exagerada. Estes resultados sugerem a existência de um papel protetor para antioxidantes, devido à sua capacidade de limpar radicais livres¹². Um estudo nacional com modelo de DM2 semelhante não observou aumento no TBARS em ratos diabéticos¹⁹. Os autores sugeriram que o modelo era insuficiente para aumentar a glicemia para alterar TBARS. No entanto, o tempo de seguimento (quatro meses) também pode ter sido demasiado curto para observar o resultado esperado. Neste modelo, apesar de glicemia em jejum não ter sido suficientemente elevada, após período de seis meses de seguimento, aumento de TBARS foi evidente e altamente significativo. Isso pode estar relacionado ao maior tempo de exposição, como aqui acompanhamento que foi de dois meses a mais, o que representa aumento de 50% acima do referido estudo.

Os dados SOD e catalase obtidos neste estudo são um tanto conflituosos. Atividade SOD significativamente elevada foi observada no tecido pulmonar de ratos diabéticos em comparação com os controles. No entanto, no tecido hepático, os valores eram essencialmente os mesmos, e ratos operados exibiram níveis inferiores de SOD pulmonar do que os ratos não operados. No entanto, estes resultados não eram exclusivos para este estudo; a literatura pertinente é conflitante^{10,16,19,23}. A enzima SOD é responsável pela neutralização de superóxido, e os relatos na literatura de sua relação com DM são também conflitantes. Embora os autores do estudo acima referido sobre TBARS relatasse nenhuma alteração na atividade da SOD de ratos com diabetes induzida por estreptozotocina¹⁹, o que é consistente com outros estudos^{10,23}, há evidências de que os animais com diabetes aloxânico-induzida apresentam diminuição dos níveis de SOD²³. Nos seres humanos, tanto em pacientes do tipo 1 como tipo 2 de DM, o aumento da SOD plasmático é observado¹⁸. Em modelo experimental de diabetes tipo 1 induzida por estreptozotocina, foi observado aumento do estresse oxidativo pulmonar, bem como redução da atividade da SOD em ratos diabéticos em comparação com controles⁵. Estes dados confirmam os achados de outros autores, que

demonstraram aumento do estresse oxidativo e diminuição na atividade da SOD nos pulmões de ratos diabéticos. Estes autores também demonstraram aumento na expressão de síntese de óxido nítrico no tecido pulmonar de animais diabéticos⁶. A outra enzima antioxidante testada neste estudo, a atividade da catalase, é significativamente aumentada em animais diabéticos, mas é diminuída após a operação em comparação com ratos diabéticos não operados. Estes resultados foram observados tanto no fígado e no pulmão. Como mencionado anteriormente, o diabetes é processo patológico conhecido por estar relacionado ao desequilíbrio de produção nas espécies reativas ao oxigênio (ROS), tais como o radical hidroxila (HO[•]), radical superóxido (O₂^{•-}) e H₂O₂. Portanto, as células devem ser protegidas contra esta lesão oxidativa por enzimas antioxidantes. Este é o motivo mais provável para o aumento da atividade da catalase observado em ratos diabéticos em comparação com os controles. Da mesma forma, quando o estresse oxidativo diminui após duodenojejunostomia, como observado no presente estudo, a atividade antioxidante tende a diminuir, com um componente de infraregulação de enzimas antioxidantes. Este efeito tem sido observado anteriormente em outro modelo experimental, no qual um aumento semelhante na atividade da catalase e níveis de ROS foram observados nos ratos diabéticos tratados com insulina²⁷. Estes dados sugerem alteração no equilíbrio oxidante-antioxidante em ratos diabéticos que pode ser pelo menos parcialmente restabelecido através da cirurgia metabólica.

Mais dados de estudos em curso podem correlacionar esses achados com alterações intestinais hormonais (incretinas) e status de inflamação.

CONCLUSÃO

A duodenojejunostomia foi eficaz na modulação do estresse oxidativo presente neste modelo de rato diabético.

REFERÊNCIAS

1. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-126.
2. Borges Mde C, Terra GA, Takeuti TD, Ribeiro BM, Silva AA, Terra-Júnior JA, Rodrigues-Júnior V, Crema E. Immunological evaluation of patients with type 2 diabetes mellitus submitted to metabolic surgery. *Arq Bras Cir Dig*. 2015 Nov-Dec;28(4):266-9.
3. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Meth Enzymol* 1978;52:302-310.
4. DATASUS: Ministério da Saúde. Taxa de prevalência de Diabetes Mellitus no Brasil. [Internet]. 2009 [accessed on 20 nov. 2010]. Available: www.datasus.br. 2009.
5. Forgiarini LA Jr, Kretzmann NA, Porawski M, Dias AS, Marroni MA. Experimental diabetes mellitus: oxidative stress and changes in lung structure. *J Bras Pneumol* 2009;35(8):788-791.
6. Hürdağ C, Uyaner I, Gürel E, Utkusavas A, Atukeren P, Demirci C. The effect of alpha-lipoic acid on NOS dispersion in the lung of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Diabetes Complications* 2008;22(1):56-61.
7. Marchesini JC. End-to-side duodeno-jejunosomy with half-and-half biliopancreatic limb for the treatment of type 2 diabetes: a proposal for a simpler technique. *Obes Surg* 2007;1:138-139.
8. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicology* 2003;17:24-38.
9. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972;247:3170-3175.
10. Muruganandan S, Gupta S, Kataria M, Lal J, Gupta PK. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats. *Toxicology* 2002;176(3):165-173.
11. Oliveira LF, Tissot CG, Silvano DM, Campos CM, Nascimento RR. Glycemic behavior in 48 hours postoperative period of patients with type 2 diabetes mellitus and non diabetic submitted to bariatric surgery. *Arq Bras Cir Dig*. 2015;28 Suppl 1:26-30.
12. Punithavathi VR, Stanely Mainzen Prince P, Kumar MR, Selvakumari CJ. Protective Effects of Gallic Acid on Hepatic Lipid Peroxide Metabolism, Glycoprotein Components and Lipids in Streptozotocin-Induced Type II Diabetic Wistar Rats. *J Biochem Molecular Toxicology* 2011;2:68-76.
13. Rubino F, Gagner M. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2002;5:554-559.
14. Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2010;3:399-405.
15. Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg*. 2004;239(1):1-11.
16. Sailaja Devi MM, Suresh Y, Das UN. Preservation of the antioxidant status in chemically-induced Diabetes mellitus by melatonin. *J Pineal Res* 2000;29(2):108-115.
17. Sampaio-Neto J, Nassif LS, Branco-Filho AJ, Bolfarini LA, Loro LS, de Souza MP, Bianco T. External validation of the diarem score as remission predictor of diabetes mellitus type 2 in obese patients undergoing roux-en-y gastric bypass. *Arq Bras Cir Dig*. 2015;28 Suppl 1:19-22.
18. Seghrouchni I, Drai J, Bannier E, et al. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 Diabetes mellitus: insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta* 2002;321(1-2):89-96.
19. Sinzato YK, Lima PH, Campos KE, Kiss ACI, Rudge MV, Damasceno DC. Neonatally-induced diabetes: lipid profile outcomes and oxidative stress status in adult rats. *Rev Assoc Med Bras* 2009;4:384-388.
20. Takada J, Machado MA, Peres SB, et al. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. *Metabolism* 2007;56:977-984.
21. Takeuti TD, Terra GA, da Silva AA, Terra JA Jr, da Silva LM, Crema E. Effect of the ingestion of the palm oil and glutamine in serum levels of GLP-1, PYY and glycemia in diabetes mellitus type 2 patients submitted to metabolic surgery. *Arq Bras Cir Dig*. 2014;27 Suppl 1:51-5.
22. Thaler JP, Cummings DE. Hormonal and Metabolic Mechanisms of Diabetes Remission After Gastrointestinal Surgery. *Endocrinology* 2009;6:2518-2525.
23. Tormo MA, Romero de Tejada A, Morales I, et al. Orally administered tryptophan and experimental type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem* 2004;261(1-2):57-61.
24. Unwin N, Gan D, Whiting D. The IDF Diabetes Atlas: providing evidence, raising awareness and promoting action. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;1:2-3.
25. Wietzcoski CR, Von Diemen V, Trindade MRM. *Cirurgia Metabólica*. In: Rohde L, Osvaldt AB. *Conduitas em Cirurgia Digestiva*. 2nd ed. Porto Alegre: ARTMED; 2010.
26. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27:1047-53.
27. Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. *Diabetes* 1987;36:1014-1018.
28. World Health Organization. *The World Health Report*. Press release; 1998.