

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 26/02/2028.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

Vinícius Soares Barco

**REPERCUSSÕES INTERGERACIONAIS DA
VITAMINA D COMBINADA À INSULINA EM RATAS
COM DIABETE PRÉ-GESTACIONAL**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Tocoginecologia.

(Área de Concentração: Ciências da Saúde)

Orientadora: **Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno**

Coorientadora: **Profa. Dra. Franciane Quintanilha Gallego Souza**

**Botucatu
2026**

Vinícius Soares Barco

**REPERCUSSÕES INTERGERACIONAIS DA VITAMINA
D COMBINADA À INSULINA EM RATAS COM DIABETE
PRÉ-GESTACIONAL**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Tocoginecologia.

(Área de Concentração: Ciências da Saúde)

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno

Coorientadora: Profa. Dra. Franciane Quintanilha Gallego Souza

**Botucatu
2026**

B244r Barco, Vinícius Soares
Repercussões intergeracionais da vitamina D combinada à insulina em ratas com diabetes pré-gestacional / Vinícius Soares Barco. -- Botucatu, 2026
107 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientadora: Débora Cristina Damasceno
Coorientadora: Franciane Quintanilha Gallego Souza

1. Hiperglicemia. 2. Ratos como animais de laboratório. 3. Pancreas. 4. Desenvolvimento fetal. 5. Vitamina D. I. Título.

RESUMO DO ESTUDO PARA A SOCIEDADE

Este estudo foi desenvolvido com animais de laboratório (ratas) com diabetes para testar se a vitamina D, junto com a insulina, poderia trazer maiores benefícios para os diabéticos. A pesquisa acompanhou a saúde das ratas-mães e dos seus filhotes durante a gravidez e quando os filhotes ficaram adultos. Os resultados mostraram que, quando as mães diabéticas já estavam em tratamento com insulina, a adição de vitamina D não trouxe melhorias extras. Isso quer dizer que a vitamina D não trouxe outras vantagens, demonstrando que a vitamina D só deve ser tomada como suplemento por pessoas que realmente têm falta dessa vitamina no corpo porque tomar sem necessidade, especialmente durante a gravidez, não ajuda a controlar o diabetes. Filhas de ratas diabéticas nasceram com maior risco de ter problemas de açúcar e gordura no sangue, mesmo quando a mãe foi tratada durante a gravidez. O tratamento da rata-mãe com insulina ajudou a melhorar parte dos problemas, mas não evitou totalmente o aparecimento do diabetes nas filhas quando adultas. Além disso, a suplementação de vitamina D junto do tratamento com insulina para ratas-mães diabéticas não trouxe contribuições relevantes em comparação ao tratamento com insulina isoladamente. Destacamos que é muito importante a consulta a médicos para que haja um planejamento da gravidez, cuidados e tratamentos com a supervisão de muitos especialistas.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A tese apresenta resultados inéditos ao verificar o tratamento do diabetes com insulina, combinada à vitamina D, utilizando modelo com ratas de laboratório para avaliação da homeostase glicêmica, parâmetros bioquímicos, desempenho reprodutivo materno, morfologia das ilhotas pancreáticas e do músculo esquelético e de proteínas musculares relacionadas à via de sinalização da insulina de ratas-mães ao final da prenhez e no processo de saúde-doença na vida adulta de filhas de ratas diabéticas. Ao demonstrar que a suplementação com vitamina D não interferiu na maioria dos desfechos maternos avaliados, futuras estratégias terapêuticas deverão ser elaboradas para que a suplementação com vitamina D seja realizada em indivíduos com deficiência dessa vitamina. Para a sociedade, este estudo contribui para conscientizar de que o uso indiscriminado de vitamina D não deve ser empregado. É necessário combater a automedicação e a crença de que mais vitamina é sempre melhor, visando direcionar a promoção de terapias mais seguras e direcionadas com a ajuda de especialistas, especialmente para gestantes diabéticas. Economicamente, esta pesquisa demonstra que a suplementação com vitamina D só deve ser indicada em casos de deficiência, evitando gastos públicos com terapias que apresentam achados inconclusivos. Além disso, ao otimizar o tratamento do diabetes gestacional e reduzir o risco de diabetes para os futuros descendentes, o sistema público de saúde poderá economizar recursos significativos com o manejo de doenças crônicas.

Vinícius Soares Barco

Repercussões intergeracionais da vitamina D combinada à insulina em ratas com diabetes pré-gestacional

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, para obtenção do título de Grau acadêmico de Doutor(a) em Tocoginecologia.

Área de Concentração: Ciências da Saúde.

Data da defesa: 26/02/2026

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Débora Cristina Damasceno
UNESP - Faculdade de Medicina - Campus de Botucatu

Prof. Dr. Sebastián San Martín
UVCL – Universidad de Valparaíso, Chile – Campus de Viña del Mar

Prof. Dra. Graziela Scialanti Ceravolo
UEL – Universidade Estadual de Londrina

Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato
UNESP - Faculdade de Medicina - Campus de Botucatu

Prof. Dra. Daniela Carvalho dos Santos
UNESP – Instituto de Biociências – Campus de Botucatu

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, por
todo o amor, carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Alexandra Oliveira Soares Barco** e **Gilberto Barco**, agradeço por me apoiarem em toda a minha trajetória dentro e fora da Pós-Graduação. Sem vocês, não estaria onde estou. Agradeço por todo o amor e carinho que nunca me faltaram.

Aos meus irmãos, **Maria Fernanda Soares Barco** e **Victor Hugo Soares Barco**, obrigado pelo companheirismo de toda a vida. Obrigado pela força que só vocês conseguem me proporcionar.

À minha família, que me apoiou em todos esses anos dentro da Universidade. Agradeço aos meus **avós, tios(as) e primos(as)** por sempre estarem ao meu lado.

À minha namorada, **Livia L. Bakanovas**, agradeço pelo amor e carinho durante todos os dias em minha trajetória de Doutorado. Sou grato por sempre me ouvir e me apoiar, tanto nos momentos bons quanto nas situações difíceis. Obrigado por toda a ajuda, por me auxiliar nos experimentos e por ser um porto seguro em nosso dia a dia.

À **Profa. Débora C. Damasceno**, agradeço profundamente pela orientação e companheirismo durante estes quase 9 anos de laboratório. Sua presença no dia a dia e orientação científica foram fundamentais para o desenvolvimento desta Tese e para o meu crescimento profissional e pessoal. Sou grato por todas as oportunidades concedidas e pelo apoio em momentos desafiadores.

Ao professor **Dr. Gustavo Tadeu Volpato** (Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT), agradeço a ajuda e contribuição nas discussões de trabalhos durante esses anos, além do companheirismo em congressos.

Ao **peçoal do LAPGO**, muito obrigado pelos trabalhos que realizamos juntos, pelo companheirismo e pelo clima agradável no laboratório. À **Franciane Quintanilha Gallego**, pela coorientação, ensinamentos e apoio durante toda a minha Pós-Graduação. À **Maysa Rocha de Souza, Verônyca Gonçalves Paula, Maria Eduarda P. Gomes** e alunos(as) de Iniciação Científica que passaram pelo laboratório, agradeço a amizade e disposição em ajudar nos experimentos.

À Coordenação da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) e aos assistentes técnicos acadêmicos (ASA), em especial ao **Sr. Danilo Chaguri**, pelo companheirismo, amizade, manutenção dos biotérios e organização de nosso laboratório, e ao **Sr. Jurandir Antônio**, pelos cuidados com os animais, limpeza e manutenção dos biotérios.

À equipe do Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, especialmente ao **Prof. José Eduardo Corrente**, agradeço pelos cálculos de tamanho amostral e análises estatísticas do estudo.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da FMB/Unesp, pelo auxílio concedido

durante a realização do doutorado, em especial à **Sra. Solange S. Cagliari** (secretária do Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia).

Ao **Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNIPEX e Biblioteca**, pela oportunidade do uso das instalações que possibilitaram o desenvolvimento deste estudo.

Agradeço imensamente aos laboratórios parceiros, que foram verdadeiros presentes de Deus em minha trajetória acadêmica.

Ao **laboratório do Prof. Dr. Luis Antônio Justulin Jr.**, do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), meu muito obrigado por disponibilizar a infraestrutura para a realização das análises de *Western Blotting*. Ao **Dr. Matheus Naia Fioretto**, agradeço sua generosidade e disponibilidade para a realização das quantificações de proteínas.

Ao **Prof. Dr. Sebastián San Martín**, da Universidad de Valparaíso/Chile, agradeço a oportunidade de ter experienciado uma vivência internacional na Pós-Graduação e pela disponibilidade para a realização de estágio em seu laboratório. Agradeço também ao **Laboratório de Ciências Morfológicas**, em especial ao **Dr. Claudio Córdova Lepe**, por todo o apoio durante minha estadia em Viña del Mar/Chile e pelos ensinamentos de análises histológicas utilizando linguagem de programação e inteligência artificial, que possibilitam análises rápidas e precisas.

Ao **laboratório do Prof. Dr. Emanuel Carrilho**, da USP/São Carlos, meu sincero agradecimento pela análise, por *HPLC*, da vitamina D utilizada na tese, que possibilitou uma discussão mais acurada dos resultados deste estudo.

Aos **professores membros das bancas** do Exame Geral de Qualificação e desta Tese de Doutorado, pelo aceite em participar, cuidado na leitura e ajuda científica para tornar os materiais com mais entendimento e qualidade para divulgação.

A todo o pessoal da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da FMB/Unesp, por ter me auxiliado quando precisei, aos assistentes de suporte acadêmico: **Leandro Alves dos Santos, Denise Perone, Renata C. Capela, Vickeline Namba Androcioli e Dijon S. Campos**. Agradeço também à **Profa. Camila R. Camacho Corrêa e sua equipe** pela parceria e por terem sido tão solícitas.

Às agências de fomento pelas bolsas de doutorado e auxílio financeiro à pesquisa, **FAPESP** (Bolsa de Doutorado - Processo No. 2022/15499-0) e **CAPES**.

Aos **animais** que participaram do trabalho. Sem eles eu não poderia realizar este trabalho.

BIOGRAFIA DO ALUNO

Graduado no curso de Ciências Biomédicas pelo Instituto de Biociências de Botucatu (IBB/UNESP) no ano de 2021. Realizou atividades de Iniciação Científica no Laboratório de Pesquisa Experimental em Ginecologia e Obstetrícia (LAPGO), lotado na Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP), no período de 2018 a 2020, com bolsa financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob a orientação da Profa. Dra. Débora C. Damasceno. Desenvolveu o projeto intitulado *“Biodistribuição de nanopartículas magnéticas em ratas prenhes e seus recém-nascidos”*. Durante a graduação, participou da Comissão de Apoio do 20º e 25º Encontro Nacional de Biomedicina (ENBM) e da Comissão Organizadora do 21º, 22º e 23º ENBM. Participou como *trainee*, assessor e diretor da Empresa Júnior do IBB nas gestões 2017-2019. Vencedor do Projeto HUB - Desafio Empreenda Botucatu de 2017. Recebeu o título de Mestre em Tocoginecologia pelo Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP) no ano de 2022, com o projeto de pesquisa intitulado *“Exposição ao diabetes intrauterino e dieta hiperlipídica pós-natal: Efeitos sobre o pâncreas endócrino de ratas descendentes fêmeas adultas”*, sob a orientação da Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno. Este trabalho foi publicado na revista internacional *Life Sciences* (Fator de Impacto 5.1) no ano de 2022. Em 2022, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia (nível: Doutorado) pela Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP) para desenvolvimento do projeto intitulado *“Repercussões intergeracionais da vitamina D combinada à insulina em ratas com diabetes pré-gestacional”*, com bolsa de doutorado financiada pela FAPESP, no Laboratório de Pesquisa Experimental em Ginecologia e Obstetrícia (LAPGO), sob a orientação da Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno. Durante o desenvolvimento de seu Doutorado, realizou outros projetos de pesquisa e extensão, participou e apresentou trabalhos relacionados ao diabetes e prenhez em congressos locais, nacionais e internacionais. Nesta etapa, auxiliou alunos de Mestrado e de Iniciação Científica no desenvolvimento técnico de projetos científicos e redigiu diversos artigos para publicação. No período de 2022 a 2026, publicou 15 artigos científicos, sendo 11 indexados no PUBMED. Estes artigos foram publicados em importantes revistas internacionais de grande relevância para a área e tiveram a participação de colaboradores do exterior. Foi membro suplente da representação discente no Conselho do Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia (2022) e membro titular da representação discente no mesmo Conselho (2023). Desenvolve pesquisas com modelos animais para avaliar as repercussões do diabetes materno em sucessivas gerações de ratas, especialmente com estudos voltados para o pâncreas. É membro do Grupo de Pesquisa do CNPq Estresse oxidativo e Anomalias congênitas liderado pela Profa. Débora C. Damasceno. Fez estágio com financiamento FAPESP na *Universidad de Valparaíso*, sob a supervisão do Dr. Sebastián SanMartín, em Viña Del Mar/Chile.

PUBLICAÇÕES

1. CRUZ, L. L.; SINZATO, Y. K.; PAULA, V. G.; FIORETTO, M. N.; GALLEG0, F. Q.; **BARCO, V. S.**; CAMARGO, A. C. L.; CORRENTE, J. E.; JUSTULIN, L. A.; RODRIGUES, T.; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. Maternal hyperglycemia and postnatal high-fat diet impair metabolic regulation and autophagy response in the liver of adult female rats. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease* **JCR**, v. 16, p. e11, 2025. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 2](#) | [SCOPUS1](#)
2. GALLEG0, F. Q.; CRUZ, L. L.; PAULA, V. G.; SOUZA, M. R.; **BARCO, V. S.**; DAMASCENO, D. C. Analysis of the endocrine pancreas in adulthood in rats born with intrauterine growth restriction. *RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT*, v. 14, p. e3414749197, 2025.
3. CRUZ, L. L.; GALLEG0, F. Q.; SOUZA, M. R.; GOMES, M. E. P.; PAULA, V. G.; **BARCO, V. S.**; SILVA, I. R.; DAMASCENO, D. C. Evaluation of senescence, proliferation, and cell death mechanisms in the liver of pregnant rats exposed to a high-fat diet. *RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT*, v. 14, p. e8214649072, 2025.
4. **BARCO, V. S.**; GALLEG0, F. Q.; MIRANDA, C. A.; SOUZA, M. R.; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. Hyperglycemia influences the cell proliferation and death of the rat endocrine pancreas in the neonatal period. *LIFE SCIENCES* **JCR**, v. 351, p. 122854, 2024. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 1](#)
5. QUINTANILHA F. Q.; **BARCO, V. S.**; SINZATO, Y. K.; PAULA, V. G.; DE SOUZA, M. R.; CRUZ, L. L.; ROY, S.; CORRENTE, J. E.; DAMASCENO, D. C. Effect of transgenerational diabetes via maternal lineage in female rats. *HELIYON* **JCR**, v. 10, p. e31049, 2024. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 4](#) | [SCOPUS3](#)
6. SINZATO, Y. K.; RODRIGUES, T.; CRUZ, L. L.; **BARCO, V. S.**; SOUZA, M. R. ; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. Assessment of Oxidative Stress Biomarkers in Rat Blood. *BIO-PROTOCOL* **JCR**, v. 13, p. e4626, 2023. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 12](#) | [SCOPUS5](#)
7. SOUZA, M. R.; BRITO, E. C. B.; FURTADO, L. S.; **BARCO, V. S.**; CRUZ, L. L.; MORAES-SOUZA, R. Q.; MONTEIRO, G. C.; LIMA, G. P. P.; DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T. Maternal-fetal toxicity of Strychnos pseudoquina extract treatment during pregnancy. *JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY* **JCR** v. 311, p. 116459, 2023. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 7](#) | [SCOPUS7](#)
8. CRUZ, L. L.; **BARCO, V. S.**; PAULA, V. G.; GALLEG0, F. Q.; SOUZA, M. R.; CORRENTE, J. E.; ZAMBRANO, E.; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. Severe Diabetes Induction as a Generational Model for Growth Restriction of Rat. *Reproductive Sciences* **JCR**, v. 30, p. 2416-2428, 2023. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 4](#) | [SCOPUS3](#)
9. KLÖPPEL, E.; SOUZA, M. R.; **BARCO, V. S.**; GALLEG0, F. Q.; SINZATO, Y. K.; CORRENTE, J. E.; RODRIGUES, T.; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. Calcium Supplementation on Glucose Tolerance, Oxidative Stress, and Reproductive Outcomes of Diabetic Rats and Their Offspring. *Reproductive Sciences* **JCR**, v. 30, p. 2813-2828, 2023. **Citações:** [WEB OF SCIENCE " 1](#) | [SCOPUS1](#)

10. CRUZ, L. L.; **BARCO, V. S.**; PAULA, V. G.; SOUZA, M. R.; GALLEG0, F. Q.; MONTEIRO, G. C.; LIMA, G. P. P.; DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T. Toxicological effects of the Curatella americana extract in embryo development of female pups from diabetic rats. Reproductive Biology **JCR**, v. 23, p. 100819, 2023. **Citações:** [WEB OF SCIENCE = 1](#) | [SCOPUS1](#)

11. DI DOMIZIO, L. M. J.; GOMES, M. E. P.; PAULA, V. G.; SOUZA, M. R.; GALLEG0, F. Q.; **BARCO, V. S.**; DAMASCENO, D. C. Influence of maternal hyperglycemia on rat daughters and granddaughters. RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT, v. 12, p. e0812641798, 2023.

12. GOMES, M. E. P.; DIDOMIZIO, L. M.J.; SINZATO, Y. K.; PAULA, V. G.; SOUZA, M. R.; GALLEG0, F. Q.; **BARCO, V. S.**; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. Influence of maternal periuterine and periovarian fat on reproductive performance and fetal growth in rats. ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS **JCR**, v. 95, p. e20230079, 2023. **Citações:** [WEB OF SCIENCE = 1](#) | [SCOPUS1](#)

13. **BARCO, V. S.**; GALLEG0, F. Q.; PAULA, V. G.; SINZATO, Y. K.; Cruz, L. L.; SOUZA, M. R.; IESSI, I. L.; KARKI, B.; CORRENTE, J. E.; Volpato, G. T.; DAMASCENO, D. C. Exposure to intrauterine diabetes and post-natal high-fat diet: Effects on the endocrine pancreas of adult rat female pups. LIFE SCIENCES **JCR** v. 310, p. 121108, 2022. **Citações:** [WEB OF SCIENCE = 6](#) | [SCOPUS6](#)

14. **BARCO, V. S.**; GALLEG0, F. Q.; PAULA, V. G.; Cruz, L. L.; KARKI, B.; Volpato, G. T.; DAMASCENO, D. C. Effects of diabetes between generations on the pre-embryos of rats. ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS **JCR**, v. 94, p. e20220717, 2022. **Citações:** [WEB OF SCIENCE = 1](#) | [SCOPUS1](#)

15. VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; GOMES, M. E. P.; SILVA, I.; CAMACHO, C. R. C.; SOUZA, M. R.; GALLEG0, F. Q.; **BARCO, V. S.**; VIEIRA, T.; GRANDINI, N. Evaluation of glucose tolerance in obese rats treated with citrus bergamia fruit extract. REVISTA ELETRÔNICA INTERDISCIPLINA, v. 16(3), 2024.

MANUSCRITOS SUBMETIDOS

16. GELALETI, R. B.; **BARCO, V. S.**; SOARES, G. A.; MIRANDA, J. R. A.; DAMASCENO, D. C. Biodistribution of magnetic nanoparticles in pregnant rats and their newborns. Submetido ao periódico: ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS.

17. ZAMBRANO, E.; **BARCO, V. S.**; SOUZA, M. R.; FIORETTO, M. N.; PORTELA, L. M. F.; JUSTULIN, L. A.; DAMASCENO, D. C. Science in Latin America: In search of strategies to produce with excellence. Submetido ao periódico: ARCHIVES OF MEDICAL RESEARCH.

"Para examinar a verdade, é necessário, uma vez na vida, colocar todas as coisas em dúvida o máximo possível."

— *René Descartes, Princípios da Filosofia (1644)* —

EFFECTS OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION ON GLUCOSE HOMEOSTASIS IN DIABETIC RATS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

ABSTRACT OF CHAPTER 1

Context: Diabetes is considered one of the major global epidemics of the 21st century, posing a significant public health problem. Although vitamin D has been investigated as a potential therapeutic agent for this disease, no systematic review and meta-analysis have yet comprehensively assessed its effects on glucose homeostasis in diabetic rats. **Objective:** To determine whether treatment with vitamin D influences glucose homeostasis in hyperglycemic male and female rats. **Data Sources:** A systematic literature search was performed with PubMed, EMBASE, Web of Science, and CINAHL databases. **Data Extraction:** The study characteristics, including study design, population, intervention, outcome, and risk of bias, were analyzed. **Data Analysis:** Six experimental studies were included in a systematic review and quantitative meta-analysis. Investigations in humans are limited by uncontrolled variables, including nutrition, genetics, and ethical issues. Therefore, the use of animal models to study human diseases is part of preclinical research. Vitamin D supplementation reduced blood glucose levels and increased circulating insulin levels in diabetic rats as compared with untreated controls. No effects of vitamin D supplementation were observed in diabetic rats for either HOMA-IR, TyG, or QUICKI indexes as compared with untreated controls. Meta-regression analyses showed no effects of different intervention periods and vitamin D doses on blood glucose levels in diabetic rats that received vitamin D. **Conclusion:** Vitamin D supplementation effectively increases circulating insulin levels and reduces blood glucose levels in diabetic rats, which suggests a relevant beta-pancreatic cell protective effect. However, these metabolic improvements were not sufficient to reverse systemic insulin resistance when determined by HOMA-IR and QUICKI indexes.

Systematic Review Registration: PROSPERO registration No. CRD42024574875.

Keywords: calcidiol, calcitriol, hyperglycemia, insulin resistance, laboratory animals.

EFEITOS DA ASSOCIAÇÃO ENTRE VITAMINA D E INSULINA NA REGULAÇÃO DA HOMEOSTASE GLICÊMICA E DO DESEMPENHO REPRODUTIVO DE RATAS DIABÉTICAS AO FINAL DA PRENHEZ

RESUMO DO CAPÍTULO 2

Diabetes mellitus é uma doença crônica que acomete mais de 580 milhões de adultos no mundo todo e pode afetar negativamente o desenvolvimento embriofetal, resultando na vulnerabilidade a doenças na vida adulta de descendentes. A fim de melhorar a insulinoterapia durante a gravidez, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com insulina associada à vitamina D sobre a homeostase glicêmica, desempenho reprodutivo materno e morfologia pancreática e muscular de ratas diabéticas ao final da prenhez. Para esse estudo, foi calculado o tamanho amostral de 5 ratas/grupo. Ratas fêmeas Sprague-Dawley normoglicêmicas (Controle) e diabéticas (DMod) foram utilizadas. O diabetes foi induzido quimicamente pela droga beta-citotóxica *Streptozotocin*. As ratas diabéticas foram tratadas com insulina (DMod+Ins), vitamina D (DMod+VitD) ou ambas (DMod+VitD e Ins) por 15 dias na fase adulta e durante a prenhez. Após 15 dias de tratamento, foram feitos o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e o acasalamento com machos normoglicêmicos. Ao final da prenhez, foi determinado o desempenho reprodutivo e realizada a coleta de sangue, pâncreas e músculo sóleo. Todos os procedimentos foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 1409/2022). $P < 0,05$ foi considerado como limite de significância estatística. Os grupos que receberam insulina, isolada ou combinada à vitamina D, apresentaram redução da glicemia pré-gestacional e da glicemia de jejum ao final da prenhez comparados ao grupo DMod. No desempenho reprodutivo materno, grupos tratados com insulina apresentaram aumento do número de corpos lúteos, implantações, fetos vivos e peso de ninhada, além da redução de mortes embrionárias em relação aos demais grupos experimentais. Os grupos DMod e DMod+Ins apresentaram aumento do peso fetal em relação ao grupo Controle, enquanto o grupo DMod+VitD apresentou peso fetal maior quando comparado com os demais grupos experimentais. Todos os grupos diabéticos, tratados ou não, apresentaram menor peso de placentas em comparação com o grupo Controle. Nas análises histológicas, os grupos DMod e DMod+Ins apresentaram redução da área das ilhotas pancreáticas comparados com os grupos Controle e DMod+VitD. O grupo DMod+VitD apresentou aumento da porcentagem de células β -pancreáticas em proliferação em comparação com os demais grupos diabéticos. O grupo DMod+VitD e Ins apresentou redução da porcentagem de células β -pancreáticas em proliferação em comparação com o grupo Controle. Portanto, o tratamento de ratas diabéticas com insulina e vitamina D antes e durante a prenhez mostrou resultados semelhantes aos de ratas diabéticas tratadas somente com insulina, não apresentando benefícios substanciais no tratamento do diabetes após a adição da vitamina D.

Palavras-chave: DOHaD, hiperglicemia, roedores, pâncreas, via de sinalização da insulina.

EFFECTS OF THE VITAMIN D AND INSULIN THERAPY ON GLUCOSE HOMEOSTASIS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF PREGNANT DIABETIC RATS

ABSTRACT OF CHAPTER 2

Diabetes mellitus is a chronic disease that affects more than 580 million adults worldwide and can negatively impact embryofetal development, resulting in vulnerability to diseases in the offspring's adult life. To improve insulin therapy during pregnancy, this study aimed to evaluate the effects of insulin treatment combined with vitamin D on glycemic homeostasis, maternal reproductive performance, and pancreatic and muscle morphology in pregnant diabetic rats. A sample size of 5 rats/group was calculated. Normoglycemic (control) and diabetic (DMod) female Sprague-Dawley rats were used. Diabetes was chemically induced by the beta-cytotoxic drug Streptozotocin. Diabetic rats were treated with insulin (DMod+Ins), vitamin D (DMod+VitD), or both (DMod+VitD and Ins) for 15 days in adulthood and during pregnancy. After 15 days of treatment, an oral glucose tolerance test (OGTT) was performed, and mating with normoglycemic males was carried out. At the end of pregnancy, reproductive performance was determined, and blood, pancreas, and soleus muscle samples were collected. All procedures were authorized by the Ethics Committee on the Use of Animals (#1409/2022). $P < 0.05$ was considered the limit of statistical significance. Groups that received insulin, alone or combined with vitamin D, showed a reduction in pre-gestational blood glucose and fasting blood glucose levels at the end of pregnancy compared to the DMod group. Regarding reproductive performance, groups treated with insulin showed an increase in the number of corpora lutea, implantation sites, live fetuses, and litter weight, and a reduction in embryonic deaths compared to the other experimental groups. DMod and DMod+Ins groups showed increased fetal weight compared to the Control group, while the DMod+VitD group showed higher fetal weight when compared to all groups. All diabetic groups, treated or not, showed lower placental weight compared to the Control group. In histological analyses, the DMod and DMod+Ins groups showed a reduction in pancreatic islet area compared to the Control and DMod+VitD groups. The DMod+VitD group showed an increase in the percentage of proliferating pancreatic β -cells compared to the other diabetic groups. DMod+VitD and Ins group showed a reduction in the percentage of proliferating pancreatic β -cells compared to the Control group. Therefore, treating diabetic rats with insulin and vitamin D before and during pregnancy showed similar outcomes to those of diabetic rats treated with insulin alone, showing no substantial benefits in the treatment of diabetes after addition of vitamin D.

Keywords: DOHaD, hyperglycemia, rodents, pancreas, insulin signaling pathway.

EFEITOS INTERGERACIONAIS DO TRATAMENTO DE RATAS DIABÉTICAS COM INSULINA E VITAMINA D SOBRE A REGULAÇÃO DA HOMEOSTASE GLICÊMICA DE DESCENDENTES ADULTAS

RESUMO DO CAPÍTULO 3

Fatores maternos e ambientais, como o *Diabetes mellitus*, podem atuar no início da vida e influenciar na vulnerabilidade a doenças e no processo da saúde na vida adulta do indivíduo ou de animais. A fim de trazer benefícios no processo de saúde de descendentes adultos de diabéticas, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do tratamento de ratas diabéticas com insulina combinada à vitamina D sobre a homeostase glicêmica e morfologia pancreática de descendentes na fase adulta. Ratas fêmeas Sprague-Dawley normoglicêmicas (Controle) e diabéticas (DMod) foram utilizadas. O diabetes foi induzido quimicamente pela droga beta-citotóxica *Streptozotocin*. As ratas diabéticas foram tratadas com insulina (DMod+Ins), vitamina D (DMod+VitD) ou ambas (DMod+VitD e Ins) por 15 dias na fase adulta. O cálculo de tamanho amostral foi de 5 ratas/grupo. Após 15 dias de tratamento, foi feito o acasalamento com machos normoglicêmicos e o tratamento continuou durante a prenhez. As ratas tiveram parto vaginal e as descendentes fêmeas foram distribuídas em cinco grupos: descendentes de mães Controle (FC), mães diabéticas (FDMod), mães diabéticas tratadas com insulina (FDMod+Ins), vitamina D (FDMod+VitD) ou ambas (FDMod+VitD e Ins). Aos 115 dias de vida, as ratas foram submetidas ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e, aos 120 dias de vida, foi feita a eutanásia para a coleta de sangue e tecido pancreático. Todos os procedimentos foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais local (Protocolo Número: 1409/2022). $P < 0,05$ foi considerado como limite de significância estatística. As descendentes de mães diabéticas, independentemente do tratamento, apresentaram aumento dos níveis glicêmicos em comparação com o grupo FC. Os grupos FDMod e FDMod+VitD apresentaram aumento das concentrações séricas de triglicerídeos e do índice TyG. Não foi observada alteração na área das ilhotas pancreáticas e na relação entre fibras musculares e o peso do músculo sóleo entre os grupos experimentais. No entanto, o grupo FDMod apresentou aumento da porcentagem de células β -pancreáticas em proliferação em comparação com os demais grupos. Portanto, o tratamento materno com insulina promoveu a diminuição das concentrações séricas de triglicerídeos das filhas adultas, atenuando o quadro de resistência à insulina. Entretanto, a suplementação de vitamina D para ratas-mães diabéticas não foi capaz de promover a normoglicemia de descendentes na fase adulta e trazer outras contribuições.

Palavras-chave: descendentes, DOHaD, hiperglicemia, roedores, pâncreas.

INTERGENERATIONAL EFFECTS OF INSULIN AND VITAMIN D THERAPY IN DIABETIC RATS ON GLYCEMIC HOMEOSTASIS OF ADULT OFFSPRING

ABSTRACT OF CHAPTER 3

Maternal and environmental factors, such as *Diabetes mellitus*, can act early in life and may impact on the vulnerability to disease and the health process in adulthood of individuals and animals. To improve the health of adult offspring, this study aimed to evaluate the effects of insulin and vitamin D therapy in diabetic rats on glycemic homeostasis and pancreatic morphology of adult offspring. A sample size of 5 rats/group was calculated. Normoglycemic (control) and diabetic (DMod) female Sprague-Dawley rats were used. Diabetes was chemically induced by the beta-cytotoxic drug Streptozotocin. Diabetic rats were treated with insulin (DMod+Ins), vitamin D (DMod+VitD), or both (DMod+VitD and Ins) for 15 days in adulthood. After 15 days of treatment, mating with normoglycemic males was performed, and treatment continued during pregnancy. The rats had vaginal deliveries, and the female pups were allocated into 5 groups: female pups from control dams (FC), diabetic dams (FDMod), diabetic dams given insulin (FDMod+Ins), vitamin D (FDMod+VitD), or both (FDMod+VitD e Ins). On day 115, an oral glucose tolerance test (OGTT) was performed, and on day 120, euthanasia was performed for the collection of blood and pancreatic tissue. All procedures were authorized by the local Ethics Committee on the Use of Animals (#1409/2022). $P < 0.05$ was considered the limit of statistical significance. Female pups from diabetic dams, regardless of treatment, showed increased blood glucose levels compared to the FC group. FDMod and FDMod+VitD groups showed increased serum triglyceride concentrations and TyG index. No changes were observed regarding the area of the pancreatic islets, nor in the ratio of muscle fibers to the weight of the soleus muscle between the experimental groups. However, the FDMod group showed an increased percentage of proliferating pancreatic β -cells compared to the other groups. Therefore, maternal insulin treatment promoted a decrease in serum triglyceride concentrations of adult female offspring, attenuating insulin resistance. However, vitamin D supplementation for diabetic rat mothers promotes no normoglycemia in adult offspring nor provides other benefits.

Keywords: DOHaD, hyperglycemia, offspring, pancreas, rodents.

Sumário

Objetivos

OBJETIVO GERAL	23
Objetivos Específicos	23

Capítulo 1

INTRODUCTION	25
METHODS	26
RESULTS	29
DISCUSSION	35
CONCLUSION	39
REFERENCES	40

Capítulo 2

INTRODUÇÃO	44
MATERIAIS E MÉTODO	47
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	65
CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

Capítulo 3

INTRODUÇÃO	76
MATERIAIS E MÉTODO	78
RESULTADOS	84
DISCUSSÃO	89
CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

Anexos

ANEXO I – Aprovação pela CEUA/FMB_Unesp	96
ANEXO II – Resultados estudo piloto	97
ANEXO III – Comprovante de submissão de manuscrito	98
ANEXO IV – Histórico escolar	99
ANEXO V – Declaração professor bolsista	102
ANEXO VI – Termo de outorga FAPESP	103
ANEXO VII – Análise quantitativa da vitamina D por HPLC	104

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar se ratas diabéticas suplementadas com vitamina D, combinada à insulina, terão repercussões menos comprometedoras no pâncreas e musculatura esquelética e se suas descendentes estarão livres de doenças relacionadas à resistência à insulina e diabetes na vida adulta.

Objetivos Específicos

Capítulo 1 (Revisão Sistemática e Meta-análise): *To determine whether treatment with vitamin D influences glucose homeostasis in hyperglycemic male and female rats.*

Capítulo 2 (Resultados Maternos): Avaliar os efeitos do tratamento com insulina associada à vitamina D sobre a homeostase glicêmica, desempenho reprodutivo materno e morfologia pancreática e muscular de ratas diabéticas ao final da prenhez.

Capítulo 3 (Resultados de Descendentes Adultas): Avaliar os efeitos do tratamento de ratas diabéticas com insulina combinada à vitamina D sobre a homeostase glicêmica e morfologia pancreática de descendentes na fase adulta.

CAPÍTULO 1

EFFECTS OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION ON GLUCOSE HOMEOSTASIS IN DIABETIC RATS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Este capítulo (Revisão Sistemática) foi submetido ao periódico internacional *British Journal of Nutrition* (Fator de Impacto = 3,0).

INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease characterized by impaired carbohydrate metabolism, resulting in hyperglycemia (ADA, 2025). This disease affects over 580 million adults worldwide, with health expenditure exceeding one trillion dollars for the first time in 2024, and its prevalence is expected to rise to 853 million adults by 2050 (IDF ATLAS, 2025). Moreover, diabetes was responsible for 3.4 million deaths in 2024, approximately 1 death every 9 seconds (IDF ATLAS, 2025). Diabetes can be classified into Type 1 Diabetes mellitus (T1DM), an autoimmune process that results in insulin deficiency, or Type 2 Diabetes mellitus (T2DM), characterized by an initial insulin resistance followed by inadequate insulin synthesis over time (IDF ATLAS, 2025).

Because diabetes is considered one of the major global epidemics of the 21st century and a public health problem, screening and treatment are essential. Increased blood glucose levels and clinical conditions associated with insulin resistance are some of the criteria for T2DM screening (ADA, 2025). Monitoring blood glucose is one of the outcomes that allows the evaluation of individual responses to diabetes therapy and assesses if glycemic goals are being achieved (ADA, 2025). Regarding treatments, lifestyle intervention and hypoglycemic drugs are the primary interventions for T2DM, while insulin is the classic pharmacotherapy for T1DM (ADA, 2025). Additionally, certain vitamin supplements, such as vitamin D, have been utilized in the treatment of T2DM (LI *et al.*, 2018). However, inconclusive findings in the literature regarding the treatment of T2DM with vitamin D, particularly concerning blood glucose and insulin levels, as well as insulin resistance, have been observed in clinical studies (SACERDOTE *et al.*, 2019; KAWAHARA *et al.*, 2024).

Pathophysiological mechanisms related to diabetes, as well as new therapeutic approaches, need to be clarified, but studies in humans are limited by uncontrolled variables such as nutrition, genetics, and ethical issues. Therefore, the use of animal models to study human diseases is part of preclinical research and has been of great importance in understanding the mechanisms by which vitamin D could improve glucose homeostasis in diabetes (LIU *et al.*, 2023). The use of streptozotocin (STZ) to induce diabetes is well characterized and is the main choice for diabetes induction in animals (WARD *et al.*, 2001; DAMASCENO *et al.*, 2014). This beta-cytotoxic drug causes hyperglycemia in adult rats that received it during the perinatal period, reproducing glycemic levels of human T2DM (ELEAZU *et al.*, 2013; DAMASCENO *et al.*, 2014; GOYAL *et al.*, 2016; SINZATO *et al.*, 2021), which allows translational studies to be carried out and the implementation of findings in clinical practice.

Vitamin D supplementation in diabetic rodents seems to present controversial effects on glucose homeostasis. While some studies show that the use of vitamin D can reduce blood glucose levels and improve insulin sensitivity in diabetic animals (LIU *et al.*, 2023; ODETAYO *et al.*, 2024), others showed no beneficial effects on glycemic levels (NING *et al.*, 2015; AKAGAWA *et al.*, 2018). Different doses and periods of intervention of vitamin D supplementation are employed among studies (AKAGAWA *et al.*, 2018; KLÖPPEL *et al.*, 2023; LIU *et al.*, 2023; ODETAYO *et al.*, 2024), which suggests that there is no consensus involving vitamin D

supplementation. Moreover, despite the considerable number of studies that evaluate vitamin D supplementation in diabetic rodents, often without separate analysis for sex, no systematic review with meta-analysis has comprehensively quantified its effects on glucose homeostasis in diabetic rats. The literature remains inconsistent regarding optimal doses, period of supplementation, and glucose metabolism improvement in both preclinical and clinical studies. This lack of consensus underscores the need for a systematic synthesis of evidence. Therefore, this review aims to determine whether treatment with vitamin D influences glucose homeostasis in hyperglycemic male and female rats.

REFERENCES

- Altieri B, Grant WB, Della Casa S, *et al.* Vitamin D and pancreas: The role of sunshine vitamin in the pathogenesis of diabetes mellitus and pancreatic cancer. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017;57(16):3472-3488. doi: 10.1080/10408398.2015.1136922.
- Ammälä C, Ashcroft FM, Rorsman P. Calcium-independent potentiation of insulin release by cyclic AMP in single beta-cells. *Nature.* 1993;363(6427):356-8. doi: 10.1038/363356a0.
- Argano C, Natoli G, Mularo S, *et al.* Impact of Diabetes Mellitus and Its Comorbidities on Elderly Patients Hospitalized in Internal Medicine Wards: Data from the RePoSi Registry. *Healthcare (Basel).* 2022;10(1):86. doi: 10.3390/healthcare10010086.
- Benedik E. Sources of vitamin D for humans. *Int J Vitam Nutr Res.* 2022;92(2):118-125. doi: 10.1024/0300-9831/a000733.
- Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol.* 2014;21(3):319-29. doi: 10.1016/j.chembiol.2013.12.016.
- Borissova AM, Tankova T, Kirilov G, Dakovska L, Kovacheva R. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Int J Clin Pract.* 2003;57(4):258-61.
- Boucher BJ, Mannan N, Noonan K, Hales CN, Evans SJ. Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in east London Asians. *Diabetologia.* 1995;38(10):1239-45. doi: 10.1007/BF00422375.
- Burda BU, O'Connor EA, Webber EM, Redmond N, Perdue LA. Estimating data from figures with a Web-based program: Considerations for a systematic review. *Res Synth Methods.* 2017;8(3):258-262. doi: 10.1002/jrsm.1232.
- d'Emden MC, Dunlop M, Larkins RG, Wark JD. The in vitro effect of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on insulin production by neonatal rat islets. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;164(1):413-8. doi: 10.1016/0006-291x(89)91735-x.
- Doyle ME, Egan JM. Pharmacological agents that directly modulate insulin secretion. *Pharmacol Rev.* 2003;55(1):105-31. doi: 10.1124/pr.55.1.7.
- Forouhi NG, Luan J, Hennings S, Wareham NJ. Incidence of Type 2 diabetes in England and its association with baseline impaired fasting glucose: the Ely study 1990-2000. *Diabet Med.* 2007;24(2):200-7. doi: 10.1111/j.1464-5491.2007.02068.x.
- Fuentes-Barría H, Aguilera-Eguía R, Flores-Fernández C, *et al.* Vitamin D and Type 2 Diabetes Mellitus: Molecular Mechanisms and Clinical Implications-A Narrative Review. *Int J Mol Sci.* 2025;26(5):2153. doi: 10.3390/ijms26052153.
- Fujita T, Sakagami Y, Tomita T, Okamoto Y, Oku H. Insulin secretion after oral calcium load. *Endocrinol Jpn.* 1978;25(6):645-8. doi: 10.1507/endocrj1954.25.645.

- Gedik O, Zileli MS. Effects of hypocalcemia and theophylline on glucose tolerance and insulin release in human beings. *Diabetes*. 1977;26(9):813-9. doi: 10.2337/diab.26.9.813.
- Heshmat R, Tabatabaei-Malazy O, Abbaszadeh-Ahranjani S, *et al.* Effect of vitamin D on insulin resistance and anthropometric parameters in Type 2 diabetes; a randomized double-blind clinical trial. *Daru*. 2012;20(1):10. doi: 10.1186/2008-2231-20-10.
- Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, *et al.* Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.5 (updated August 2024). Cochrane, 2024. Available from: www.training.cochrane.org/handbook.
- Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14:43. doi: 10.1186/1471-2288-14-43.
- Inomata S, Kadowaki S, Yamatani T, Fukase M, Fujita T. Effect of 1 alpha (OH)-vitamin D3 on insulin secretion in diabetes mellitus. *Bone Miner*. 1986;1(3):187-92. PMID: 3334207.
- Johnson JA, Grande JP, Roche PC, Kumar R. Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)2D3 receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *Am J Physiol*. 1994;267(3 Pt 1):E356-60. doi: 10.1152/ajpendo.1994.267.3.E356.
- Kawahara T, Okada Y, Tanaka Y. Vitamin D efficacy in type 1 and type 2 diabetes. *J Bone Miner Metab*. 2024;42(4):438-446. doi: 10.1007/s00774-024-01509-3.
- Kumar PT, Antony S, Nandhu MS, Sadanandan J, Naijil G, Paulose CS. Vitamin D3 restores altered cholinergic and insulin receptor expression in the cerebral cortex and muscarinic M3 receptor expression in pancreatic islets of streptozotocin induced diabetic rats. *J Nutr Biochem*. 2011;22(5):418-25. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.03.010.
- Kumar S, Davies M, Zakaria Y, *et al.* Improvement in glucose tolerance and beta-cell function in a patient with vitamin D deficiency during treatment with vitamin D. *Postgrad Med J*. 1994;70(824):440-3. doi: 10.1136/pgmj.70.824.440.
- Li X, Liu Y, Zheng Y, Wang P, Zhang Y. The Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2018;10(3):375. doi: 10.3390/nu10030375.
- Liu Y, Gong R, Ma H, *et al.* Dietary Magnesium Intake Level Modifies the Association Between Vitamin D and Insulin Resistance: A Large Cross-Sectional Analysis of American Adults. *Front Nutr*. 2022;9:878665. doi: 10.3389/fnut.2022.878665.
- Md Isa Z, Amsah N, Ahmad N. The Impact of Vitamin D Deficiency and Insufficiency on the Outcome of Type 2 Diabetes Mellitus Patients: A Systematic Review. *Nutrients*. 2023;15(10):2310. doi: 10.3390/nu15102310.
- Milner RD, Hales CN. The role of calcium and magnesium in insulin secretion from rabbit pancreas studied in vitro. *Diabetologia*. 1967;3(1):47-9. doi: 10.1007/BF01269910.
- Mitrašinović-Brulić M, Dervišević A, Začiragić A, *et al.* Vitamin D3 attenuates oxidative stress and regulates glucose level and leukocyte count in a semi-chronic streptozotocin-induced diabetes model. *J Diabetes Metab Disord*. 2021;20(1):771-779. doi: 10.1007/s40200-021-00814-2.
- Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(2):486-94. doi: 10.3945/ajcn.111.011684.
- Mitri J, Pittas AG. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014;43(1):205-32. doi: 10.1016/j.ecl.2013.09.010.
- Nikooyeh B, Neyestani TR, Farvid M, *et al.* Daily consumption of vitamin D- or vitamin D + calcium-fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(4):764-71. doi: 10.3945/ajcn.110.007336.
- Office of Dietary Supplements, 2024. Vitamin D: Fact Sheet for Health Professionals. U.S. Department of Health and Human Services. Available from: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/>.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71.
- Peeyush KT, Savitha B, Sherin A, Anju TR, Jes P, Paulose CS. Cholinergic, dopaminergic and insulin receptors gene expression in the cerebellum of streptozotocin-induced diabetic rats: functional regulation with Vitamin D3 supplementation. *Pharmacol Biochem Behav*. 2010;95(2):216-22. doi: 10.1016/j.pbb.2010.01.008.
- Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, *et al.* The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2020;18(7):e3000410. doi: 10.1371/journal.pbio.3000410.

- Pittas AG, Dawson-Hughes B, Sheehan P, *et al.* Vitamin D Supplementation and Prevention of Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2019;381(6):520-530. doi: 10.1056/NEJMoa1900906.
- Pittas AG, Dawson-Hughes B, Sheehan PR, *et al.* Rationale and design of the Vitamin D and Type 2 Diabetes (D2d) study: a diabetes prevention trial. *Diabetes Care.* 2014;37(12):3227-34. doi: 10.2337/dc14-1005.
- Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B. The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes Care.* 2007a;30(4):980-6. doi: 10.2337/dc06-1994.
- Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007b;92(6):2017-29. doi: 10.1210/jc.2007-0298.
- Rafiq S, Jeppesen PB. Vitamin D Deficiency Is Inversely Associated with Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance. *Nutrients.* 2021;13(12):4358. doi: 10.3390/nu13124358.
- Rasouli N, Brodsky IG, Chatterjee R, *et al.* Effects of Vitamin D Supplementation on Insulin Sensitivity and Secretion in Prediabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107(1):230-240. doi: 10.1210/clinem/dgab649.
- Sacerdote A, Dave P, Lokshin V, Bahtiyar G. Type 2 Diabetes Mellitus, Insulin Resistance, and Vitamin D. *Curr Diab Rep.* 2019;19(10):101. doi: 10.1007/s11892-019-1201-y.
- Sadek KM, Shaheen H. Biochemical efficacy of vitamin D in ameliorating endocrine and metabolic disorders in diabetic rats. *Pharm Biol.* 2014;52(5):591-6. doi: 10.3109/13880209.2013.854812.
- Santos RKF, Brandão-Lima PN, Tete RMDD, Freire ARS, Pires LV. Vitamin D ratio and glycaemic control in individuals with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev.* 2018;34(3). doi: 10.1002/dmrr.2969.
- Scragg R. Vitamin D and type 2 diabetes: are we ready for a prevention trial? *Diabetes.* 2008;57(10):2565-6. doi: 10.2337/db08-0879.
- Sergeev IN, Rhoten WB. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic beta-cell line. *Endocrinology.* 1995;136(7):2852-61. doi: 10.1210/endo.136.7.7789310.
- Sharifzadeh M, Esmaeili-Bandboni A, Emami MR, Naeini F, Zarezadeh M, Javanbakht MH. The effects of all trans retinoic acid, vitamin D3 and their combination on plasma levels of miRNA-125a-5p, miRNA-34a, and miRNA-126 in an experimental model of diabetes. *Avicenna J Phytomed.* 2022;12(1):67-76. doi: 10.22038/AJP.2021.18598.
- Sooy K, Schermerhorn T, Noda M, *et al.* Calbindin-D(28k) controls [Ca(2+)](i) and insulin release. Evidence obtained from calbindin-d(28k) knockout mice and beta cell lines. *J Biol Chem.* 1999;274(48):34343-9. doi: 10.1074/jbc.274.48.34343.
- Soric MM, Renner ET, Smith SR. Effect of daily vitamin D supplementation on HbA1c in patients with uncontrolled type 2 diabetes mellitus: a pilot study. *J Diabetes.* 2012;4(1):104-5. doi: 10.1111/j.1753-0407.2011.00164.x.
- Sun H, Shi Y, Shang Y, Chen X, Xia F. MicroRNA-378d inhibits *Glut4* by targeting *Rsb1* in vitamin D deficient ovarian granulosa cells. *Mol Med Rep.* 2021;23(5):369. doi: 10.3892/mmr.2021.12008.
- Takiishi T, Gysemans C, Bouillon R, Mathieu C. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):419-46, table of contents. doi: 10.1016/j.ecl.2010.02.013.
- Wu J, Atkins A, Downes M, Wei Z. Vitamin D in Diabetes: Uncovering the Sunshine Hormone's Role in Glucose Metabolism and Beyond. *Nutrients.* 2023;15(8):1997. doi: 10.3390/nu15081997.
- Xu P, Lin B, Deng X, Huang K, Zhang Y, Wang N. VDR activation attenuates osteoblastic ferroptosis and senescence by stimulating the Nrf2/GPX4 pathway in age-related osteoporosis. *Free Radic Biol Med.* 2022;193(Pt 2):720-735. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.013.
- Začiragić A, Muzika V, Valjevac A, *et al.* The protective effects of vitamin D3 on histopathology of pancreas and liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Res. Pharm.* 2022;26(2):325-333. doi: 10.29228/jrp.130.