

Avaliação da indução de hiperlipidemia em ratos por dexametasona e óleo de coco

Evaluation of induced hyperlipidemia in rats by dexamethasone and coconut oil

Izabel Cristina CELESKI¹, Jaqueline Kock FERGUTZ¹,
Eduardo Manoel PEREIRA², Melissa ZÉTOLA²,
Giovana Carolina BAZZO², Bianca Ramos PEZZINI
Curso de Farmácia. Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE,
Rua Paulo Malschitzki, 10. Campus Universitário – Zona Industrial.
CEP 89219-710 – Joinville/SC. Email: pezzinibia@hotmail.com

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are an increasingly worldwide relevant death cause, and dyslipidemia constitute a crucial risk factor to their development. Once dyslipidemia cannot be directly monitored by the patient, its complications evolve insidiously. Thus, the therapeutical management of this condition includes, besides dietary changes, the prevention of the long term cardiovascular complications that may appear as a result of persistent hyperlipidemia. Hence, this study aimed to standardize a model of hyperlipidemia in rats in order to test furtherly the effect of medicines used to reduce lipid levels. Male Wistar rats were given dexamethasone (Dex) intraperitoneally (i.p.) for 30 days or with coconut oil per os (p.o.) for 14 days and the total cholesterol levels and its fractions were doses in the animals' serum. Coconut oil administration promoted significant hyper triglyceridemia, but no significant hypercholesterolemia was observed. A similar trend was noted after chronic administration of Dex, but, besides this hyperlipemiant effect, the prolonged exposition to Dex was also associated with hair and weight loss, apathy and death of some rats. Animals that were given Dex and also coconut oil showed even higher mortality rates. Thus, the treatment with coconut oil was standardized to further evaluate the effect of new pharmaceutical formulations containing fibrates, the class of hipolipemiant drugs that are more effective in lowering triglyceride levels..

Keywords: hyperlipidemia; fibrates; coconut oil.

RESUMO

As doenças cardiovasculares são causa crescente e relevante de óbitos em todo o mundo e as dislipidemias constituem importantes fatores de risco para seu desencadeamento. Uma vez que não são passíveis de monitoramento direto pelo paciente, as complicações das dislipidemias surgem de forma insidiosa. Assim, a conduta terapêutica envolve, além de mudanças de hábitos alimentares, a prevenção das complicações cardiovasculares em longo prazo que podem ser advindas da permanência de níveis aumentados de lipídios. Assim, este estudo teve como propósito realizar a padronização de um modelo de indução de hiperlipidemia para posterior avaliação da atividade hipolipemiante de medicamentos. Ratos machos *Wistar* foram tratados com dexametasona (Dex) por via intraperitoneal (i.p.) por 30 dias e/ou com óleo de coco *per os* (p.o.) durante 14 dias e os níveis de colesterol total e frações e de triglicérides foram dosados no soro dos animais. A administração do óleo de coco mostrou-se promotora de hipertrigliceridemia significativa, mas que não foi acompanhada de hipercolesterolemia. Resultado semelhante foi obtido através da administração de Dex durante um mês. Porém, a exposição crônica à Dex conduziu à perda de pelos, emagrecimento, apatia e morte dos animais. Animais que receberam óleo de coco associado à Dex apresentaram maior taxa de mortalidade em relação à administração isolada de Dex. Então, o tratamento de ratos *Wistar* com óleo de coco durante 14 dias foi padronizado para a avaliação de formulações farmacêuticas contendo fibratos, que são os fármacos mais eficazes em reduzir os níveis de triglicérides.

Palavras Chave: hiperlipidemia; fibratos; óleo de coco.

LISTA DE ABREVIACÕES:

CMC	solução aquosa de carboximetilcelulose 0,5% - 0,1 mL/100 g
CT	colesterol total
Dex	dexametasona
EPM	erro padrão da média
HDL-c	lipoproteína de alta densidade colesterol i.p. – via intraperitoneal
LDL-c	lipoproteína de baixa densidade colesterol p.o – <i>per os</i>
s.c.	subcutânea
t_{1/2}	tempo de meia vida
TG	triglicerídeos

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de óbitos no mundo. Entre os fatores de risco para essas doenças, está a dislipidemia, ou hiperlipidemia, caracterizada por concentrações sanguíneas anormais de lipídios ou lipoproteínas (1,2).

O tratamento da hiperlipidemia faz-se necessário, uma vez que a elevação crônica dos níveis de colesterol predispõe à aterosclerose, que é uma doença degenerativa progressiva dos vasos sanguíneos, devida à deposição de colesterol LDL (3). Esse processo tem progressão de caráter insidioso e, conforme evolui, a oclusão de vasos de importância mais crítica pode levar à miocardiopatia isquêmica e a infartos ou acidentes vasculares cerebrais (4,2).

O tratamento da hiperlipidemia pode ser realizado por meio de medidas terapêuticas farmacológicas e não farmacológicas. Os medicamentos disponíveis para essa finalidade podem apresentar maior atuação sobre os níveis de colesterol total e frações ou de triglicerídeos (5). Dentre aqueles que atuam sobre o colesterol, as estatinas, tais como a sinvastatina, são os fármacos de primeira escolha, por apresentarem alta eficácia redutora de hiperlipidemia (ou do colesterol LDL) e por serem bem toleradas (6,7). Nas situações em que há predomínio de elevação dos níveis de triglicerídeos, recorre-se com frequência à classe dos fibratos, tais como a genfibrozila, que apresenta maior eficácia sobre essa categoria de dislipidemia (7). Sendo assim, a grande relevância terapêutica desses fármacos justifica a realização de estudos científicos que levem à obtenção de novas formulações farmacêuticas.

Modelos animais são importantes para o desenvolvimento de medicamentos, sendo imprescindível sua adequada seleção. Nesse contexto, Jun et al. (2007) induziram hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia em ratos Sprague-Dawley, mediante a ad-

ministração crônica de óleo de coco *per os* (p.o.), e avaliaram o efeito hipolipemiante de uma preparação contendo sinvastatina (8).

O óleo de coco é um óleo comestível, extraído da semente ou da carne de cocos maduros colhidos a partir do coqueiro (*Cocos nucifera*). É constituído por uma mistura de triglicéridos e ácidos graxos saturados de cadeia curta e cadeia média (92%) e ácidos graxos insaturados (8%) (9).

Por outro lado, em um estudo acerca do efeito do exercício físico aeróbio sobre alterações cardiometabólicas, Pinheiro et al. (2009) relataram a indução de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia em ratos *Wistar*, decorrente da administração crônica de dexametasona (Dex) por via intraperitoneal (i.p.) (10). Dex é um fármaco glicocorticoide, utilizado no tratamento de doenças inflamatórias e imunológicas, incluindo dermatites, artrite reumatoide e alguns tipos de câncer. Apresenta boa biodisponibilidade oral, é metabolizada no fígado e tem seus metabólitos excretados pelo rim. Possui tempo de meia vida (t_{1/2}) plasmática de 300 minutos e t_{1/2} biológica de 36 a 72 horas. São inúmeros os efeitos adversos descritos para a Dex, cuja ocorrência está associada principalmente à sua ação metabólica, quando usada sistemicamente, durante um período prolongado ou em altas doses (11).

O objetivo do presente estudo foi verificar se uma modificação dos métodos de Jun et al. (2007) (8) e Pinheiro et al. (2009) (10) poderia ser padronizada para induzir hiperlipidemia em ratos *Wistar*. Esse objetivo vem ao encontro de uma necessidade do nosso grupo de pesquisa, que é determinar a atividade hipolipemiante da sinvastatina e da genfibrozila veiculadas em microesferas poliméricas, em relação aos fármacos não encapsulados.

MATERIAL E MÉTODO

Aspectos éticos

O presente trabalho está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE, conforme ofício de número 307/2010 - PRPPG/CEP, emitido em 22 de outubro de 2010 (protocolo de aprovação nº 01/0910).

Animais

Ratos albinos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia), machos, com 2 meses de idade e peso entre 190 e 220 g, foram utilizados neste estudo. Os animais foram alojados em número de seis por gaiola e mantidos em ciclo claro-escuro de 12

horas, a uma temperatura ambiente de 20 ± 2 °C. Foram alimentados com ração padrão para roedores (Nuvilab CR®, Nuvital Nutrientes S/A, Colombo PR.) e receberam água *ad libitum*.

Protocolo experimental

Os animais foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos de seis. Cada grupo recebeu um tratamento crônico diferenciado, de modo que os animais do grupo 1 receberam solução de carboximetilcelulose (CMC) 0,5% na dose de 0,1 mL/100 g p.o. e solução salina 0,9% na dose de 0,1 mL/100 g i.p. durante 1 mês, constituindo o grupo controle. Os animais do grupo 2 receberam Dex na dose de 0,5 mg/kg/dia i.p. e solução de CMC p.o. durante 1 mês. Os animais do grupo 3 receberam 2 mL de óleo de coco p.o. durante 15 dias. Os animais do grupo 4 foram tratados com Dex na dose de 0,5 mg/kg/dia i.p. durante 15 dias e, finalizado esse período, passaram a receber Dex 0,5 mg/kg/dia i.p. e 2 mL de óleo de coco p.o. por mais quinze dias.

Vinte e quatro horas após o último dia de administração, os animais foram eutanasiados por decapitação e o sangue foi coletado para determinação dos níveis séricos de colesterol total (CT), de lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-c), de lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-c) e de triglicerídeos (TG). As determinações foram realizadas por espectrofotometria (CT e TG - 500 nm; HDL-c - 600 nm), empregando-se os kits Colesterol Liquiform, Triglicérides Liquiform e HDL LE (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil). A concentração de LDL-c foi calculada pela equação de Friedewald:

$$\text{LDLc} = \text{CT} - \left(\text{HDLc} + \frac{\text{TG}}{5} \right) \text{Equação 1}$$

Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), e a comparação entre os grupos foi realizada pelo teste estatístico de análise de variância (*one-way* ANOVA) combinado ao pós-teste de Tukey. Consideraram-se significativos os valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os animais do grupo 1 (controle) completaram o período de experimentação, ao passo que houve a morte de animais nos grupos 2 a 4 durante esse período. Na Tabela 1 e Figura 1, são apresentados os níveis séricos de CT, HDL-c, LDL-c e TG obtidos para os animais sobreviventes dos grupos 1 a 4, enquanto a taxa de mortalidade em cada grupo é apresentada na Tabela 1.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os valores de CT, HDL-c e LDL-c apresentados pelos animais do grupo 2, tratados com Dex i.p., ou do grupo 3, tratados com óleo de coco p.o., em relação ao grupo 1 (controle). Os animais do grupo 3 apresentaram níveis semelhantes de CT e HDL-c ($p > 0,05$) em relação ao grupo 2 ($p < 0,05$), porém, maior concentração de LDL-c. Os tratamentos com Dex e óleo de coco induziram hipertrigliceridemia nos animais dos grupos 2 e 3, respectivamente, em relação ao controle ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os níveis de TG dos animais dos grupos 2 e 3 ($p > 0,05$).

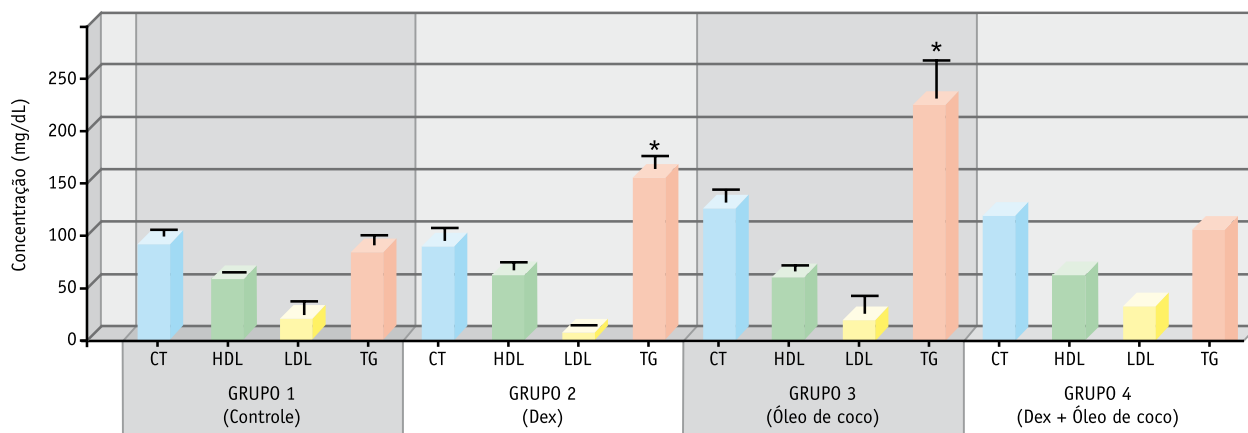
Tabela 1 - Níveis séricos de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-c), lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-c) e triglicerídeos (TG), obtidos para ratos Wistar machos tratados com dexametasona 0,5 mg/kg/dia (Dex) via intraperitoneal (i.p) e/ou óleo de coco 2 ml per os (p.o.), e taxa de mortalidade em função de cada tratamento.

Grupos	Tratamento	CT* (mg/dL)	LDL-c* (mg/dL)	HDL-c* (mg/dL)	TG * (mg/dL)	Mortalidade (%)
1 (controle)	CMC v.o. + salina i.p. (1 mês)	77,03 \pm 7,22	17,52 \pm 8,95	48,04 \pm 2,24	69,72 \pm 8,50	0
2	CMC v.o. + Dex i.p. (1 mês)	76,35 \pm 8,28	7,47 \pm 1,05	50,98 \pm 6,13	130,6 \pm 11,30	50
3	Óleo de coco 2 ml v.o. (15 dias)	105,0 \pm 9,86	16,71 \pm 14,13	50,50 \pm 4,47	188,90 \pm 30,16	33
4	Dex i.p. (15 dias). Depois, Dex i.p. + óleo de coco 2 ml v.o. (15 dias)	98,90	28,40	52,70	89,60	83

*Resultados expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), exceto para o grupo 4, cujos resultados foram obtidos para o único animal que sobreviveu ao tratamento.

CMC (solução aquosa de carboximetilcelulose 0,5% - 0,1 mL/100 g); salina (solução salina 0,9% - 0,1 mL/100 g).

Figura 1 - Níveis séricos de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-c), lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-c) e triglicerídeos (TG) obtidos para ratos *Wistar* machos, após tratamento crônico com dexametasona e/ou óleo de coco: grupo 1 (controle) - solução de carboximetilcelulose 0,5% 0,1 ml/100 g [CMC] *per os* (p.o.) e solução salina 0,9% 0,1 ml/100 g intraperitoneal (i.p.) durante 1 mês; grupo 2 - dexametasona 0,5 mg/kg/dia [Dex] i.p. e CMC p.o. durante 1 mês; grupo 3 - 2 ml de óleo de coco p.o. durante 15 dias; grupo 4 - Dex i.p. durante 15 dias e, finalizado esse período, Dex i.p. e 2 ml de óleo de coco p.o. por mais 15 dias. * = diferença significativa ($p < 0,05$).



A análise estatística dos resultados do grupo 4 (animais tratados com Dex i.p. associada ao óleo de coco p.o.) não foi possível, pois apenas um animal sobreviveu ao tratamento. O tratamento com Dex debilitou os animais dos grupos 2 e 4, causando apatia, perda de pelos e redução de peso. A evolução do peso dos animais dos grupos 1 a 4 durante o período de experimentação é apresentada na Figura 2.

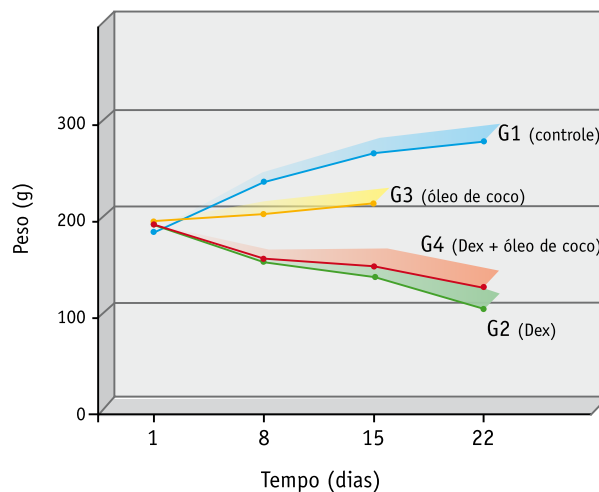
DISCUSSÃO

Segundo Jun et al. (2007), o óleo de coco é uma rica fonte de ácidos graxos saturados e sua administração em excesso leva à biossíntese de colesterol no fígado, causando hipercolesterolemia (8). Baseados nesse fato, tais autores trataram ratos Sprague-Dawley com óleo de coco p.o. durante 14 dias, o que resultou no aumento dos níveis séricos de CT e, principalmente, de TG (incremento de 56% e 908%, respectivamente, porcentagens essas, que foram calculadas a partir dos resultados originalmente apresentados em mg/dL). Ao submetemos ratos *Wistar* a um tratamento semelhante, observamos uma elevação acentuada de TG séricos (171%), mesmo que bastante inferior à relatada para os ratos Sprague-Dawley, porém sem incremento significativo dos níveis de CT, ou qualquer alteração significativa nos níveis de LDL-c e HDL-c.

Os resultados obtidos demonstram que o tratamento crônico de ratos *Wistar* com óleo de coco v.o. é adequado para induzir hipertrigliceridemia, possibilitando a avaliação do efeito da genfibrozila sobre níveis séricos aumentados de TG. Por outro lado, um modelo animal

capaz de induzir hipercolesterolemia, além de hipertrigliceridemia, seria mais apropriado à avaliação da atividade hipolipemiante da sinvastatina, pois, embora ela também atue sobre os TG sanguíneos, seu efeito principal se dá sobre o colesterol total e suas frações.

Figura 2 - Evolução do peso (g) de ratos *Wistar* machos após tratamento crônico com dexametasona e/ou óleo de coco: grupo 1 (controle) - solução de carboximetilcelulose 0,5% 0,1 mL/100 g [CMC] *per os* (p.o.) e solução salina 0,9% 0,1 mL/100 g intraperitoneal (i.p.) durante 1 mês; grupo 2 - dexametasona 0,5 mg/kg/dia [Dex] i.p. e CMC p.o. durante 1 mês; grupo 3 - 2 ml de óleo de coco p.o. durante 15 dias; grupo 4 - Dex i.p. durante 15 dias e, finalizado esse período, Dex i.p. e ml de óleo de coco p.o. por mais 15 dias.



Pinheiro et al. (2009), por sua vez, relataram que a administração de Dex i.p., na dose de 0,5 mg/kg/dia, durante 1 mês, gerou hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia em ratos *Wistar* (10). O modelo, que foi usado pelos autores para induzir alterações cardiometabólicas, se fundamenta na resistência à insulina causada pela Dex, que resulta em dislipidemia, esteatose hepática, diabetes, hipertensão arterial e perda de peso corporal. Os gráficos do trabalho original demonstram uma elevação pronunciada dos níveis séricos de CT (\cong 200%), LDL-c (\cong 833%), TG (\cong 42%), e redução no HDL-c (\cong 33%), sugerindo que o modelo poderia ser empregado para testar o efeito de formulações contendo fármacos hipolipemiantes.

Ao reproduzirmos o método, evidenciamos um aumento significativo nos níveis de TG séricos nos animais tratados com Dex (87%), porém sem redução de HDL-c ou aumento de CT e LDL-c. Além disso, os animais perderam bastante peso, como descrito por Pinheiro et al. (2009) (10), apresentando também outros sinais de debilitação e elevada taxa de mortalidade, acerca dos quais

não foram feitas considerações no estudo dos referidos autores.

Avaliamos, ainda, em nosso estudo, a associação da Dex i.p. ao óleo de coco p.o., buscando induzir hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, a fim de padronizar um modelo único para avaliar o efeito da genfibrozila e da sinvastatina. Porém, a associação levou a uma taxa de mortalidade dos animais ainda superior à observada no grupo que recebeu somente Dex.

Por essas razões, definimos os modelos baseados no tratamento com Dex (associada ou não ao óleo de coco) como insatisfatórios ao nosso propósito, embora tenha havido indução de hipertrigliceridemia.

Com o intuito de compreender a elevada mortalidade dos animais tratados com Dex, observada ao reproduzirmos o método de Pinheiro et al. (2009) (10), revisamos as referências citadas no trabalho, as quais descreviam o uso de Dex nas dosagens, vias de administração e tempos de duração do tratamento apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Tratamentos com Dex em ratos *Wistar* empregados em estudos referenciados no artigo de Pinheiro et al. (2009) (10).

Autoria	Dose diária de Dex	Via de administração	Duração do tratamento
Kimura et al. (2000) (12)	0,5 mg/kg	Subcutânea (s.c.)	7 dias
Ruzzin e Jensen (2005) (13)	1 mg/kg	Intraperitoneal (i.p.)	12 dias
Saad et al. (1993) (14)	1 mg/kg	Não informada	5 dias
Severino et al. (2002) (15)	5 µg/kg*	Subcutânea (s.c.)	4 semanas

* Originalmente expresso como duas administrações diárias de 1 µg de Dex em 75 µL de salina por rato de 400 g.

O protocolo de tratamento dos animais empregado por Pinheiro et al. (2009) (10) foi atribuído ao trabalho de Kimura et al. (2000) (12), porém, observamos que, apesar da mesma dose ter sido empregada, a via e o tempo de administração da Dex foram modificados: via s.c. substituída por via i.p. e duração do tratamento alterada de 7 para 30 dias.

Dessa forma, acreditamos que uma maior absorção decorrente da administração via i.p. e um prolongado tempo de exposição à Dex causaram a intensa toxicidade e a elevada taxa de mortalidade dos animais do nosso estudo.

CONCLUSÕES

O tratamento de ratos *Wistar* com óleo de coco v.o. durante 14 dias foi padronizado neste estudo para induzir hipertrigliceridemia e avaliar o efeito hipolipemiantes de formulações farmacêuticas contendo fármacos da classe dos fibratos, tais como a genfibrozila.

Por outro lado, os modelos que empregavam Dex em ratos *Wistar* durante 1 mês (via i.p., na dose de 0,5 mg/kg/dia, associada ou não ao óleo de coco) causaram elevada taxa de mortalidade dos animais, mostrando-se inadequados. Assim, faz-se necessária a padronização de uma alternativa mais eficaz, reprodutível e menos agressiva, que possibilite testar o efeito de fármacos sobre níveis sanguíneos aumentados de colesterol, sendo uma possibilidade a administração de Dex subcutânea (s.c.) associada ao óleo de coco p.o.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos pelo apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e pela bolsa de Iniciação Tecnológica concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

1. Silva ARA, Dourado KF, Pereira PB, Lima DSC, Fernandes AO, Andrade AM, Henriques, MAM. Razão TG/HDL-c e indicadores antropométricos preditores de risco para doença cardiovascular. *Rev Bras Cardiol.* 2012; 25(1):41-49.
2. Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol.* 2013; 100(1Supl.3):1-40.
3. Houston DK, Jing D, Lee JS, Garcia M, Kanaya AM, Tylavski FA, Newman AB, Visser M, Kritchevski SB. Dietary fat and cholesterol and risk of cardiovascular disease in older adults: The Health ABC study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2011; 21(6):430-437.
4. Mendis S, Nordet P, Fernandez-Britto JE, Sternby N. Atherosclerosis in children and young adults: An overview of the World Health Organization and International Society and Federation of Cardiology study on Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth study (1985–1995). *Prevention and Control.* 2005; 1(issue1):3–15.
5. Braga MB, Langer A, Leiter LA. Recommendations for management of dyslipidemia in high cardiovascular risk patients. *Exp Clin Cardiol.* 2008; 13(2):71-74.
6. Campo V L, Carvalho I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. *Quim. Nova.* 2007; 30(2):425-430.
7. Elikir GD. Oportunidades y desafíos en el manejo de las dislipidemias. *Salud(i)Ciencia,* 2010; 18(1):62-66.
8. Jun SW, Kim M, Kim J, Park HJ, Lee S, Woo J, Hwang S. Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; 66(3):413-421.
9. El-Anany AM, Ali RFM. Studies on the hypolipidemic effects of Coconut oil when blended with Tiger nut oil and fed to albino rats. *Grasas y Aceites.* 2012; 63(3):303-312.
10. Pinheiro CH, Wilson MSF, Oliveira JN, Marinho MJF, Motta RN, Smith MMRL, Silva CAB. Exercício físico previne alterações cardiometabólicas induzidas pelo uso crônico de glicocorticóides. *Arq Bras Cardiol.* 2009; 93(4):400-408.
11. Torres RC, Insuela DBR, Carvalho VF. Mecanismos celulares e moleculares da ação antiinflamatória dos glicocorticóides. *Corpus et Scientia.* 2012; 8(2):36-51.
12. Kimura M, Daimon M, Tominaga M, Manaka H, Sasaki H, Kato T. Thiazolidinediones exert different effects on insulin resistance between dexamethasone-treated rats and wistar fatty rats. *Endocr J.* 2000; 47(1):21-28.
13. Ruzzin J, Jensen J. Contraction activates glucose uptake and glycogen synthase normally in muscles from dexamethasone-treated rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 289(2):E241-250.
14. Saad MJ, Folli F, Kahn JA, Kahn CR. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *J Clin Invest.* 1993; 92(4):2065-2072.
15. Severino C, Brizzi P, Solinas A, Secchi G, Maioli M, Tonolo G. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 283(2):E367-373.