



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Efeito da suplementação de eriocitrina no perfil
lipídico, capacidade antioxidante e peroxidação lipídica
em indivíduos com pré-diabetes**

Aluno: **Jeane Fan**

Orientadora: **Profa. Dra. Thais Borges Cesar**

Coorientadora: **Fernanda Maria Manzini Ramos**

Araraquara

2021

Jeane Fan

**Efeito da suplementação de eriocitrina no perfil
lipídico, capacidade antioxidante e peroxidação lipídica
em indivíduos com pré-diabetes**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Graduação do curso de Farmácia-Bioquímica da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de
Araraquara, da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau
de Farmacêutica-Bioquímica.

Orientadora: **Profa. Dra. Thais Borges Cesar**

Coorientadora: **Fernanda Maria Manzini Ramos**

Araraquara

2021

F671e Fan, Jeane.
Efeito da suplementação de eriocitrina no perfil lipídico, capacidade antioxidante e peroxidação lipídica em indivíduos com pré-diabetes / Jeane Fan. – Araraquara: [S.n.], 2021.
35 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia Bioquímica) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Thais Borges Cesar.
Coorientadora: Fernanda Maria Manzini Ramos.

1. Eriocitrina. 2. Flavonoides. 3. Pré-diabetes. 4. Diabetes. 5. Glicemia. 6. Capacidade antioxidante. 7. Peroxidação lipídica. I. Cesar, Thais Borges, orient. II. Ramos, Fernanda Maria Manzini, coorient. III. Título.

Agradecimentos

Quem diria que este dia finalmente chegaria, o dia que eu defenderia o trabalho de conclusão de curso, carinhosamente apelidado de TCC, da graduação. E essa jornada começou aos meus 18 anos em fevereiro de 2014, quando comecei a frequentar a Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCFAR) da UNESP, no campus de Araraquara, cursando, até então, o curso denominado Farmácia-Bioquímica.

Hoje, após vivenciar todos esses anos de graduação e estágio curricular supervisionado, chego em uma fase da vida que é importante entender que é preciso encerrar alguns ciclos que foram maravilhosos para poder iniciar outros. E é claro, que ao longo dessa jornada, conheci pessoas incríveis e vivi experiências que me tornaram a pessoa e profissional que sou hoje, por isso que eu não poderia deixar de agradecer por todos os momentos e memórias que ficarão guardados com muito carinho e saudade.

Agradeço primeiramente aqueles que foram essenciais para que esse meu sonho de cursar uma universidade pública se tornasse realidade e que não mediram esforços para me apoiar e suportar até aqui: a minha família. À minha mãe e ao meu pai, por toda dedicação e luta diária a fim de proporcionar a mim e as minhas irmãs o que não tiveram oportunidade, mas sempre incentivaram: o acesso ao ensino superior de qualidade. Às minhas irmãs, Delise e Lisa, por todo o período de ajuda e motivação, principalmente no ano em que eu estava no cursinho me preparando para o vestibular, foram essenciais para que eu pudesse me dedicar integralmente aos estudos enquanto elas faziam a minha parte nas tarefas diárias de casa.

Agradeço também aos meus colegas da turma 85 do curso de Farmácia-Bioquímica Integral por tudo que passamos e conquistamos e desejo muito sucesso e realizações a todos em suas caminhadas. Especialmente aos meus queridos amigos Matheus Marques, Renata Taniguchi, Cintia Marchi, Marina Lamoglie, Bárbara Siqueira, Amanda Silveira, Isabelli Rossanessi, Priscila Franco e Marina Mazon por nossos caminhos terem se cruzado e por optarmos por seguir com esses laços além da graduação. Sou extremamente grata por tudo que vivemos e aprendemos uns com os outros.

Agradeço a todos os docentes que eu tive o prazer de compartilhar as salas da FCFAR e que compartilharam e incentivaram com os seus conhecimentos a nos

tornarmos profissionais cada vez mais capacitados. Em especial, a Prof^a. Dra. Thais Borges Cesar por ter me aceitado com orientanda de iniciação científica em seu laboratório. Agradeço imensamente também a Fernanda Ramos, por ser minha coorientadora neste trabalho, por todo apoio, paciência, dedicação desde o início e por todas as correções, análises e sugestões do desenvolvimento até a entrega final, e a todos os momentos vivido no laboratório de nutrição junto com os colegas Carolina Ribeiro, Renata Benassi, Danielli Baeta e Olivia Ponce. Deixo minha admiração por cada profissional e grata de ter tido a oportunidade de participar desse projeto!

Agradeço com muita saudade e orgulho as entidades estudantis e projetos que participei ao longo da graduação. Dentre elas, destaco duas que foram transformadoras na minha vida: A Jornada Farmacêutica da UNESP por todos esses anos como voluntária, desde o primeiro ano de graduação até o penúltimo e como congressista no último ano, pude consagrar ao longo dos anos esses incríveis eventos, o Congresso Farmacêutico da UNESP e a Jornada de Bioengenharia e Biotecnologia. Foram muitos aprendizados, erros e superações que tive o prazer de viver ao lado de um time formado inteiramente por estudantes da graduação. Obrigada por me mostrarem o poder de um time colaborativo e que é possível sim, trabalhar em um time totalmente heterogêneo. Com carinho especial ao Paulo, o melhor parceiro de coordenação que eu poderia ter, a Renata, por ter confiado a mim esse trabalho e aos meus companheiros de gestão: Victor, Ana Paula, Letícia, Camila, Letícia, Pedro, Thais, Livia, Giovanna e Ornella. Ao Programa de Assistência Farmacêutica Estudantil (PAFE) por tudo o que significa não só para a faculdade, como para a sociedade com os seus trabalhos voluntários a fim de gerar conscientização para a população de Araraquara. É extremamente gratificante ter participado por todos esses anos como voluntária e por fim, coordenadora de estande do CrianSAFE da XX edição da Semana de Assistência Farmacêutica Estudantil (SAFE) e saber que os conhecimentos adquiridos em sala de aula podem e devem ser compartilhados em prol da democratização da saúde. Obrigada, PAFE, por me mostrar que o profissional farmacêutico pode fazer a diferença na vida das pessoas e que o farmacêutico é extremamente importante na saúde perante a sociedade.

Por fim, agradeço e honro todas as pessoas que tiveram direta ou indiretamente contribuído nesta minha jornada rumo a este momento.

Resumo

Introdução: A suplementação com bioflavonoides cítricos (hesperidina, naringina, diosmina e eriocitrina, entre outros) tem sido associada a melhora do perfil glicídico e lipídico, redução da resistência à insulina e inflamação sistêmica, além da diminuição do dano endotelial. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da suplementação de eriocitrina no perfil lipídico, capacidade antioxidante e peroxidação lipídica de indivíduos pré-diabéticos. **Métodos:** 50 indivíduos pré-diabéticos (47 ± 12 anos) foram divididos aleatoriamente em dois grupos paralelos: (1) Eriocitrina: 25 indivíduos receberam dose diária de 800 mg de eriocitrina; (2) Controle: 25 indivíduos receberam dose diária de placebo. Marcadores bioquímicos (glicose de jejum, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos), capacidade antioxidante (ABTS) e peroxidação lipídica (TBARS) foram analisados ao longo de 12 semanas. **Resultados:** A suplementação com eriocitrina após 12 semanas promoveu redução nos níveis de glicemia (-4%, $p < 0,05$), aumento da capacidade antioxidante (+6%, $p < 0,05$) e redução da peroxidação lipídica (-13%, $p < 0,05$). Não houve diferenças significativas nos parâmetros de lipídeos sanguíneos: colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL e triglicerídeos. **Conclusão:** A suplementação de eriocitrina na dosagem de 800mg diárias por 12 semanas demonstrou sua capacidade de atuar como aliada no controle ao pré-diabetes através da redução dos valores de glicemia de jejum, melhorou a capacidade antioxidante e reduziu a peroxidação lipídica em indivíduos pré-diabéticos, porém não apresentou diferenças significativas na redução de lipídeos sanguíneos.

Palavras chave: eriocitrina, flavonoides, pré-diabetes, diabetes, glicemia, capacidade antioxidante, peroxidação lipídica.

Abstract

Introduction: Supplementation with citrus bioflavonoids (hesperidin, naringin, diosmin and eriocitrin, among others) has been associated with improved glucose and lipid profiles, reduced insulin resistance and systemic inflammation, as well as decreased endothelial damage. **Objective:** To evaluate the effects of eriocitrin supplementation on the lipid profile, antioxidant capacity and lipid peroxidation of pre-diabetic individuals. **Methods:** 50 pre-diabetic patients (47 ± 12 years) were randomly divided into two parallel groups: (1) Eriocitrin: 25 subjects received a daily dose of 800 mg of eriocitrin; (2) Control: 25 subjects received a daily dose of placebo. Biochemical markers (fasting glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides), antioxidant capacity (ABTS) and lipid peroxidation (TBARS) were analyzed over 12 weeks. **Results:** Eriocitrin supplementation after 12 weeks reduced blood glucose levels (-4%, $p < 0.05$), increased antioxidant capacity (+6%, $p < 0.05$) and reduced lipid peroxidation (-13 %, $p < 0.05$). There were no significant differences in blood lipid parameters: total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides. **Conclusion:** Eriocitrin supplementation at a dosage of 800mg daily for 12 weeks demonstrated its ability to act as an ally in the control of pre-diabetes by reducing fasting blood glucose values, improving antioxidant capacity and reducing lipid peroxidation in pre-diabetic subjects. diabetic patients, but did not show significant differences in the reduction of blood lipids.

Key words: eriocitrin, flavonoids, prediabetes, diabetes, glycemia, antioxidant capacity, lipid peroxidation.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	8
2. Objetivo.....	12
2.1 Objetivos Específicos	12
3. Metodologia	12
4. Resultados e Discussão	15
5. Conclusão.....	23
6. Referências.....	24
ANEXOS.....	30

1. Introdução

O Diabetes *mellitus* (DM) é uma doença crônica, caracterizada por hiperglicemia persistente em decorrência de deficiência na produção de insulina, ou seja, há uma produção muito baixa ou inexistente de insulina decorrente da destruição de células pancreáticas, ou, resistência à insulina (SBEM, 2021). A regulação da glicemia é realizada pela insulina e glucagon, conforme Figura 1. A hiperglicemia persistente também está associada a complicações crônicas macro e microvasculares, aumento da morbidade, redução da qualidade de vida e elevação da taxa de mortalidade (SBD, 2021).

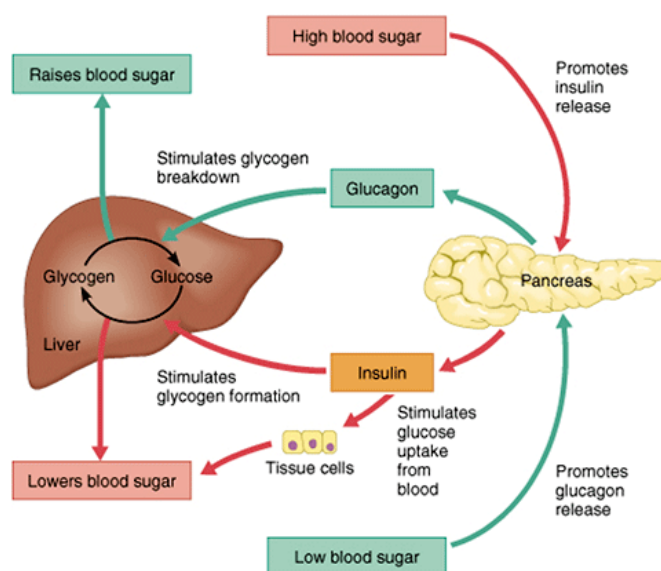


Figura 1 – Regulação de glicose no sangue. Adaptado de Atrain Education (2018).

Existem diversos tipos de diabetes, como o diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional, entre outros. O diabetes tipo 1 é caracterizado pela destruição de células beta pancreáticas por células T do sistema imune, que produzem anticorpos contra ele mesmo, sendo, portanto, autoimune. Tal situação resulta em produção de insulina praticamente inexistente (BURRACK et al., 2017). Já no diabetes tipo 2 há produção de insulina pelas células beta pancreáticas, porém sua ação é dificultada, caracterizando um quadro de resistência à mesma, levando a um aumento de produção na insulina para compensar os níveis de glicose sanguínea. O diabetes gestacional ocorre temporariamente durante a gravidez e pode implicar em um risco aumentado do desenvolvimento posterior de diabetes para a mãe e o bebê (SBD, 2021).

Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) (2021), há um grupo de indivíduos cujo os níveis de glicose não estão dentro dos critérios para diabetes, mas são altos demais para serem considerados normais, sendo conhecido como pré-diabetes. A American Diabetes Association (ADA) (2018), classifica como pré-diabetes, valores de glicemia de jejum entre 100 e 125 mg/dL e/ou valores de tolerância à glicose entre 140 a 199 mg/dL, duas horas após sobrecarga de glicose, além da hemoglobina glicada com valores entre 5,7 e 6,4%. O pré-diabetes não deve ser visto como uma entidade clínica por si só, mas sim um risco aumentado de desenvolver diabetes e complicações como doenças cardiovasculares (ADA, 2018).

O número total de indivíduos diagnosticados com DM atualmente corresponde a 536,6 milhões de pessoas, o que equivale a 10,5% da população mundial. Estima-se um aumento de 12,2% na prevalência de diabetes em 2045, o que corresponde a 783,2 milhões de pessoas (IDF, 2021). O Brasil ocupa o 5º lugar entre os 10 países com maior número de indivíduos com diabetes. No período de 2006 a 2019, o número de brasileiros diabéticos aumentou de 5,5% para 7,4%, sendo mulheres as mais atingidas (7,8%) (VIGITEL, 2019). O Brasil tem cerca de 40 milhões de pré-diabéticos e em 5 anos, estima-se que 25% deles serão diabéticos, de acordo com o Hospital Alemão Oswaldo Cruz (2019).

O estresse oxidativo é um dos fatores que influencia na progressão e complicação do diabetes levando a distúrbios no perfil lipídico e tornando as células mais susceptíveis à peroxidação lipídica (TIWARI et al., 2018). O estresse oxidativo é uma condição biológica que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a remoção insuficiente dessas moléculas altamente reativas. Pacientes com diabetes apresentam aumento da produção de radicais livres ou capacidade antioxidante prejudicada, levando a complicações patológicas como doença arterial coronariana, neuropatia, nefropatia diabética, aterosclerose e entre outras. Um biomarcador crítico de estresse oxidativo é a peroxidação lipídica quando se trata de EROs (POUVREAU et al., 2018).

O tratamento medicamentoso para indivíduos com diabetes tipo 1, se dá através da aplicação diária de insulina para manter os níveis de glicose nos valores considerados normais, abaixo de 100 mg/dL. Já para indivíduos com diabetes tipo 2 e pré-diabéticos, o tratamento pode ser medicamentoso, com o uso de medicamentos da classe das biguanidas, inibidores de DPP-4 e GLP 1, inibidores de alfa glucosidase,

sulfonilureias e meglitinidas e entre outros. Além disso, também pode ser aliado um tratamento não medicamentoso, que consiste em alimentação saudável e balanceada e prática de exercícios físicos ao menos 3 vezes por semana (SBD, 2019). Para o pré-diabetes, a mudança nos hábitos alimentares está intimamente relacionada a melhora do perfil glicêmico e a possível reversão do caso clínico.

Outra alternativa ao tratamento medicamentoso, através da alimentação, são os flavonoides, uma classe que apresenta a capacidade de atuar no controle glicêmico, processos inflamatórios, dislipidemia e resistência à insulina. Os flavonoides são um grupo de metabólitos secundários da classe dos polifenóis, encontrados em vegetais e frutas e possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e efeitos protetores ao sistema renal, cardiovascular e hepático. (SHASHANK, 2013; ISLAM, 2020).

A eriocitrina (Figura 2), é um flavonoide da classe das flavanonas, encontrada principalmente na casca de frutas cítricas como o *Citrus lemon* e limas cítricas, que após ingerida é metabolizada e hidrolisada por bactérias intestinais para a sua forma aglicona, o eriodictiol (Figura 3). Na forma de aglicona, o eriodictiol é absorvido e após metabolizado pelo fígado, exerce sua atividade biológica. (MIYAKE et al., 2003).

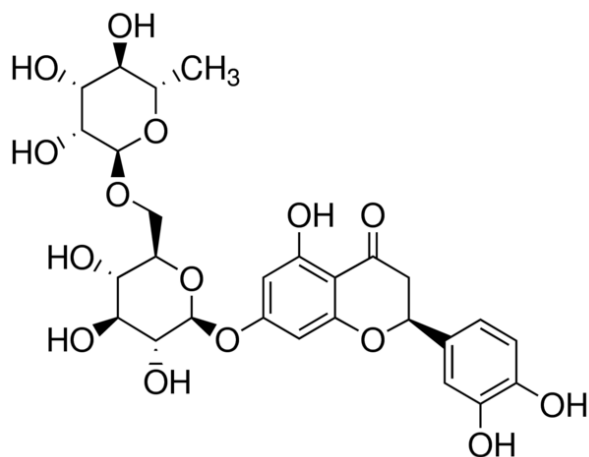


Figura 2 – Estrutura molecular da eriocitrina (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavanone-7-O-rutinoside). Adaptado de Sigma-Aldrich, (2018).

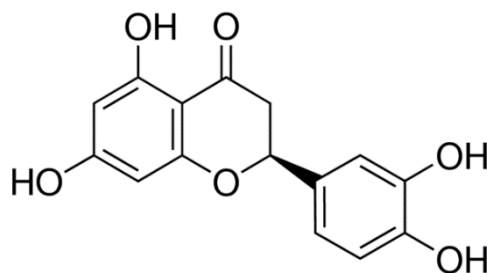


Figura 3 – Estrutura molecular do eriodictiol (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavanone). Adaptado de Sigma-Aldrich, (2018).

Um estudo realizado por Hiramitsu et al. (2014) demonstrou benefícios da ingestão de eriocitrina, em relação à melhora da capacidade antioxidante, diminuição de marcadores inflamatórios e diminuição da peroxidação lipídica no sangue, rim e fígado de ratos suplementados com a flavanona.

Em outro estudo realizado por Lv et al. (2019) em células ganglionares da retina de ratos, os quais receberam alta concentração de glicose associada à 5, 10 e 20 μM de eriodictiol, foi observado uma diminuição na glicemia (dose dependente), além de redução da concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx).

Finalmente, um terceiro estudo realizado em ratos induzidos a infarto do miocárdio que foram previamente tratados com eriodictiol nas doses de 50mg, 100mg e 200mg/Kg, mostrou uma diminuição significativa nos produtos de peroxidação lipídica no plasma e no coração e aumento nos níveis de antioxidantes (HARIHARAN et al., 2017).

2. Objetivo

Avaliar os efeitos da suplementação de eriocitrina no perfil lipídico, capacidade antioxidante e peroxidação lipídica em indivíduos pré-diabéticos, verificando também a segurança e efetividade do composto.

2.1 Objetivos Específicos

Avaliar a suplementação de eriocitrina em relação aos seguintes parâmetros:

- a) **Marcadores bioquímicos:** Glicose de jejum, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos.
- b) **Capacidade antioxidante:** ABTS.
- c) **Peroxidação lipídica:** TBARS.

3. Metodologia

Indivíduos

Foram selecionados indivíduos com idade entre 35 a 60 anos, com pelo menos um entre os critérios a seguir: (1) glicemia de jejum aumentada, de 100 a 125 mg/dL, (2) tolerância à glicose diminuída, 140 a 199 mg/dL, e (3) hemoglobina glicada com valores entre 5,7 e 6,4%. Os critérios de exclusão foram: uso de medicamentos hipoglicêmicos, hipolipidêmicos, de suplementos alimentares (vitaminas, sais minerais, flavonoides, probióticos, simbióticos ou outros compostos bioativos), medicamentos de uso contínuo, histórico de abuso de álcool e drogas, praticar exercício físico intenso (mais de 10h/semana), gravidez, fumar e apresentar histórico de doenças cardiovasculares, DM, doença hepática, renal ou da tireoide.

O projeto foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa com o protocolo 2.107.173 e submetido na plataforma Clinical Trials (NCT03215043). Antes de iniciar o estudo, todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

O tamanho da amostra foi estimado com base em um estudo clínico semelhante (MOHAMMADI et al., 2015). O desfecho primário analisado neste ensaio clínico foi a glicose sérica e o tamanho amostral foi calculado estatisticamente ($N =$

$(\frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) + (Z_\alpha + Z_\beta)^2}{(\mu_2 - \mu_1)^2})$, com nível de significância de 5% e poder de 80%. Desse modo, o tamanho mínimo amostral estimado foi de 24 indivíduos por grupo e considerando uma taxa de desistência de 15%, foram considerados 30 indivíduos no total.

Desenho experimental

Fundamentado em ensaios clínicos anteriores realizados com a hesperidina (MOHAMMADI et al., 2015), foi realizado um estudo clínico com desenho paralelo, duplo-cego, randomizado e placebo/controlado com duração de 12 semanas para avaliar a eficácia da eriocitrina no tratamento da hiperglicemia e reversão da condição de pré-diabetes com três doses distintas: 200mg, 400mg e 800mg (RIBEIRO et al., 2019). Todos os indivíduos do ensaio (n=120) foram randomizados e separados aleatoriamente em quatro grupos de 30 indivíduos que suplementaram com: grupo 1) placebo, grupo 2) 200mg de eriocitrina, grupo 3) 400mg de eriocitrina e grupo 4) 800mg de eriocitrina. Os indivíduos e o investigador principal permaneceram cegos ao tratamento até que todas as análises fossem concluídas (RIBEIRO et al., 2019).

Com base no estudo clínico realizado por Ribeiro et. al., 2019, para esse estudo, foi selecionado especificamente o grupo 4, indivíduos que suplementaram com 800mg de eriocitrina, para avaliar os efeitos da suplementação de eriocitrina no perfil lipídico, capacidade antioxidante e peroxidação lipídica em indivíduos pré-diabéticos, seguindo a metodologia descrita no ensaio clínico.

Os participantes foram convidados a comparecer em jejum de 12h para medirem os níveis de glicose capilar e realizar a entrevista individual para confirmar a elegibilidade de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. (RIBEIRO et al., 2019).

Dessa forma, para os parâmetros analisados neste estudo, os indivíduos selecionados foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos através de programa gerador de números aleatórios. O grupo Eriocitrina (n = 25) recebeu uma dose de 800mg/d de eriocitrina; o grupo Controle (n = 25) recebeu placebo com excipiente de amido de milho. Todas as doses foram embaladas em Farmácia de Manipulação e foram do mesmo tipo, cor e tamanho. Os indivíduos foram orientados a ingerir regularmente uma cápsula após o jantar durante 12 semanas. A eriocitrina foi obtida pela “Ingredients by Nature TM”, Montclair, CA, EUA (RIBEIRO et al., 2019).

Avaliação de Adesão e evento adverso

Os indivíduos foram orientados a comparecer ao laboratório de nutrição a cada duas semanas para receber um novo frasco de cápsula e devolver as cápsulas que restaram. Em cada visita regular, os pacientes eram questionados sobre eventos adversos, que foi definido como qualquer desconforto durante a intervenção (RIBEIRO et al., 2019).

A adesão foi avaliada contando as cápsulas não utilizadas em cada visita. Os participantes que consumiram mais de 90% dos comprimidos e completaram todas as avaliações tiveram boa adesão e foram incluídos na análise estatística (RIBEIRO et al., 2019).

Coleta de sangue

Duas coletas de 30mL sangue em jejum cada, foram obtidas antes da intervenção e na décima segunda semana no Laboratório de Análises Clínicas por técnicos treinados e habilitados. O sangue foi centrifugado (3.000 rpm/10 min) para obtenção do soro, que foi congelado a - 80°C até posterior realização das análises bioquímicas descritas a seguir:

1) Análise dos marcadores bioquímicos: A glicose de jejum, colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos foram avaliados por meio do kit GODTrinder®, Labtest. O colesterol LDL foi calculado através da fórmula de Friedwald (FRIEDWALD et al., 1972).

2) Análise da peroxidação lipídica (TBARS): Foi avaliada por meio da reação de substâncias presentes no soro que reagem com o ácido tiobarbitúrico produzindo derivados lipoperóxidos (TBARS), destacando-se o malondialdeído, produzindo uma base de Schiff de coloração rosácea. Foi também mensurado em amostra de soro a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH·) de acordo com a metodologia de Chrzczanowicz (CHRZCZANOWICZ et al., 2008), para detectar a presença de substâncias antioxidantes. Ambas as análises foram realizadas em triplicatas, utilizando-se a média como o resultado final.

3) Análise da capacidade antioxidante (ABTS): Foi avaliado em amostra de soro a capacidade de sequestrar o radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS+). O método se baseia na adição de um antioxidante que em contato com o radical ABTS+ é reduzido e estabilizado a ABTS, por meio da reação com

persulfato de potássio, promovendo a mudança de coloração de verde-escuro para verde-claro, de acordo com a metodologia de Janaszewska et al. (2002). Com a perda de cor, a análise de inibição do ABTS+ é determinada em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. As amostras foram lidas por um espectrofotômetro na absorbância 734nm.

Análise estatística

A normalidade e homogeneidade foram avaliadas por Kolmogorov-Smirnov e testes de levine, respectivamente. Para avaliação das alterações dentro dos grupos, nas amostras normais foi utilizado teste t para amostras relacionadas e para as amostras não normais Wilcoxon.

4. Resultados e Discussão

Marcadores bioquímicos

O acompanhamento de marcadores bioquímicos como a glicemia de jejum, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos é clinicamente importante, pois os seus valores alterados podem indicar a condição clínica pré-diabética e neste caso, possibilitar a reversão do caso clínico (CHEHADE et al., 2013).

O desfecho primário avaliado neste estudo foi o impacto na glicemia de jejum com a suplementação de eriocitrina (800mg). Ao final das 12 semanas foi observado uma redução dos níveis séricos de glicose em jejum, porém sem alterações nos lipídeos sanguíneos. (Tabela 1).

Tabela 1: Marcadores bioquímicos dos voluntários pré-diabéticos submetidos a suplementação de eriocitrina por 12 semanas.

Marcadores bioquímicos		Período	
		Semana 0 (Média ± desvio padrão)	Semana 12 (Média ± desvio padrão)
Glicose jejum, mg/dL	Controle	104 ± 10	105 ± 16*
	Eriocitrina (800 mg)	103 ± 13	99 ± 11*
Colesterol Total, mg/dL	Controle	193 ± 32	195 ± 27
	Eriocitrina (800 mg)	184 ± 40	182 ± 40
Colesterol HDL, mg/dL	Controle	47.3 ± 11.3	47.6 ± 10.7
	Eriocitrina (800 mg)	46.0 ± 10.9	44.0 ± 10.7
Colesterol LDL, mg/dL	Controle	116 ± 19	117 ± 23
	Eriocitrina (800 mg)	106 ± 35	103 ± 25
Triglicerídeos, mg/dL	Controle	146 ± 78	150 ± 81
	Eriocitrina (800 mg)	162 ± 93	153 ± 65

Teste t para amostras relacionadas (amostras normais) e Wilcoxon (amostras não normais).
(*) diferença entre os tempos dentro do grupo.

Observou-se redução de 4% na glicemia de jejum nos indivíduos do grupo que suplementaram com eriocitrina (800mg) após 12 semanas, enquanto o grupo controle apresentou aumento nos níveis de glicose no sangue em jejum. Em contrapartida, nos lipídeos sanguíneos, não foi observado redução no colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL e triglicerídeos durante e ao final das 12 semanas entre o grupo suplementado com eriocitrina (800mg) e o grupo placebo. (Tabela 1).

A diminuição da glicemia de jejum em indivíduos suplementados com eriocitrina é esperada assim como foi visto em estudos *in vitro* e *in vivo* anteriores realizados por Bucolo et al. (2012), Zhang et al. (2012) e Ribeiro et al. (2019).

Um dos mecanismos no qual os polifenóis, presentes nas flavanonas, regulam o metabolismo da glicose é através da inibição da dipeptidil peptidase-4 (DPP4), aumentando assim a meia vida do hormônio secretado pelas células L, o peptídeo 1 semelhante ao glucagon (GLP-1), que estimula a secreção pós-prandial de insulina e

inibe a liberação de glucagon, reduzindo dessa forma os níveis de glicose plasmática. (DOMÍNGUEZ et al., 2017).

Outro estudo realizado por Zhang et al. (2012), demonstrou que o eriodictiol, metabólito da eriocitrina, aumentou a captação de glicose em células de carcinoma hepatocelular humano (HepG2) e no tecido adiposo. Foi observado nas células HepG2 com resistência à insulina, a reativação da via PI3-quinase/Akt, através da fosforilação de Akt induzida pela PI3-quinase, importante para a resposta celular à insulina, aumentando assim a expressão de GLUT-4 (Figura 4). Já nos adipócitos, a melhora da resistência à insulina foi evidenciada pelo aumento da expressão da proteína PPAR- γ 2, que é um receptor nuclear capaz de proporcionar o aumento da expressão e translocação dos transportadores GLUT-1 e GLUT-4.

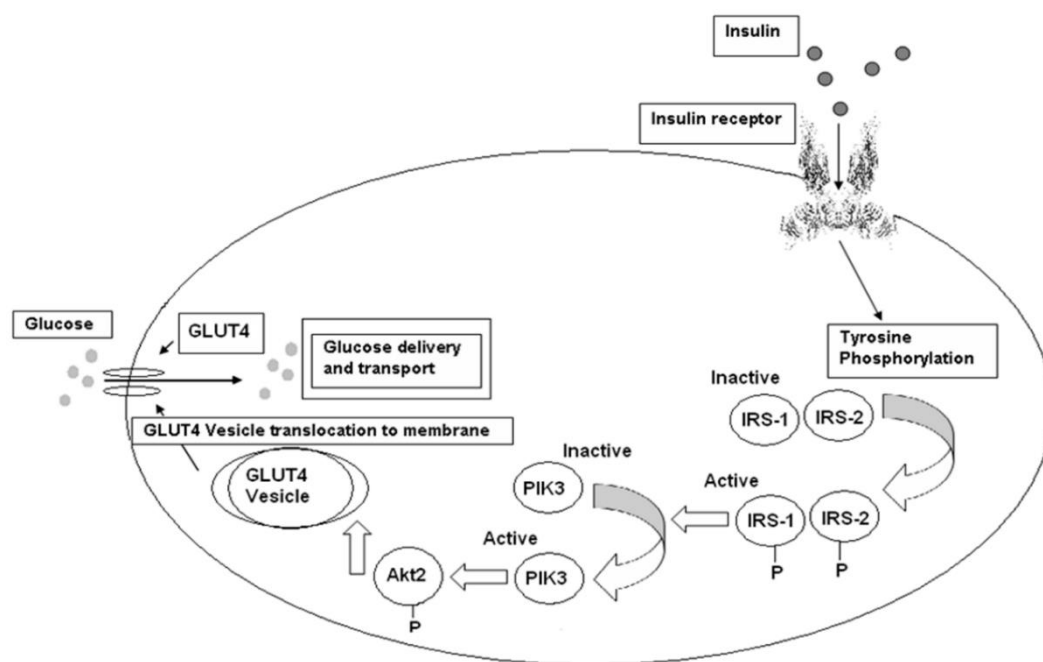


Figura 4 – Via de transdução do sinal da insulina. Adaptado de Chakraborty (2011).

Em relação aos lipídeos sanguíneos, a tabela 2 mostra os valores de referência de acordo com a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas.

Tabela 2: Valores de referência de lipídeos sanguíneos. Adaptado de Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (2016).

<i>Perfil Lipídico</i>	<i>Valores de referência</i>
<i>Colesterol total</i>	< 190mg/dL
<i>Colesterol LDL</i>	< 130mg/dL
<i>Colesterol HDL</i>	> 40mg/dL
<i>Triglicerídeos</i>	< 150mg/dL

Os resultados ao final das 12 semanas não apresentaram redução em nenhum dos parâmetros lipídicos analisados. Um estudo realizado com peixes-zebra, devido grande similaridade genética com os humanos, de obesidade induzida por dieta e suplementados com dosagem de 23mg/kg de eriocitrina durante 4 semanas, foi observado melhoria no metabolismo lipídico reduzindo os níveis de triglicerídeos sérico e no fígado, além de redução de acúmulo de gordura em células HepG2. (HIRAMITSU et al., 2014).

Com base no estudo acima, uma possível hipótese para não ter apresentado resultados nos parâmetros lipídicos com a suplementação de eriocitrina (800mg) durante 12 semanas, pode ser devido ao fato de que, doses muito menores de eriocitrina sejam mais eficazes na melhoria do metabolismo lipídico do que doses maiores. Além disso, a duração do estudo pode ser um fator de impacto nos resultados. E ainda de acordo com Hiramitsu et al. (2014), foi observado no estudo que até 2g/kg/dia de eriocitrina pode ser administrado durante 4 semanas sem causar quaisquer alterações fenotípicas toxicológicas, como parâmetros bioquímicos e hematológicos, peso corporal e urina, sugerindo assim, que a ação hipolipemiante da eriocitrina possa ser limitada na regulação lipídica. Dessa forma, talvez a dosagem de eriocitrina (800mg), possa ter atingido o limite na regulação dos parâmetros lipídicos, não apresentando assim resultados significativos.

Capacidade antioxidante

O estresse oxidativo contribui para a progressão de muitas condições patológicas e doenças, incluindo o diabetes, além de estimular a geração de mediadores inflamatórios e a inflamação, por sua vez, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (OGUNTIBEJU, 2019). Os flavonoides, por conta de sua ação antioxidante, desempenham um papel contra o estresse oxidativo atenuando danos celulares e enzimáticos, podendo ser um aliado na melhoria da hiperglicemia.

Foi avaliado a capacidade antioxidante no plasma sanguíneo de voluntários pré-diabéticos e os resultados estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Capacidade antioxidante (μM) dos voluntários pré-diabéticos submetidos a suplementação de eriocitrina por 12 semanas

ABTS		Período	
		Semana 0 (Média $\pm$ desvio padrão)	Semana 12 (Média $\pm$ desvio padrão)
Capacidade antioxidante, μM	Controle	1.87 $\pm$ 0.03	1.88 $\pm$ 0.03
	Eriocitrina (800 mg)	1.87 $\pm$ 0.09 *	1.98 $\pm$ 0.03 *

Teste t para amostras relacionadas (amostras normais) e Wilcoxon (amostras não normais).
(*) diferença entre os tempos dentro do grupo.

Foi observado que o grupo que suplementou com eriocitrina (800mg) apresentou um aumento de 6% da capacidade antioxidante após 12 semanas de suplementação. Em contrapartida, os indivíduos do grupo controle não apresentaram os mesmos resultados.

Tais resultados reforçam dados de estudos anteriores que observaram um aumento na capacidade antioxidante juntamente com a diminuição da peroxidação lipídica devido a redução do estresse oxidativo. (MIYAKE et al., 1998; FERREIRA et al., 2016).

Em indivíduos com hiperglicemia, a resistência à insulina pode estar atrelada ao estresse oxidativo causando disfunção nas células beta pancreáticas,

responsáveis pela produção de insulina e manutenção da homeostase normal da glicose, devido à baixa defesa do sistema antioxidante dessas células (GERBER et al., 2017).

Outra possível causa está associada as vias de sinalização inflamatórias, como IKK e JNK, que ativam mediadores inflamatórios como o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), que por sua vez, promove a produção de citocinas pró-inflamatórias entre elas, TNF- α e IL-6, que estão em concentrações aumentadas em indivíduos diabéticos e também potencializada pelo estresse oxidativo (HAJIAGHAALIPOUR et. al., 2015). Segundo Sireesh et al. (2018), a estimulação da ativação do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), promove uma diminuição de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , e conseqüentemente, melhora a secreção de insulina, prejudicada em células beta pancreáticas.

De acordo com Li et al. (2016), o eriodictiol, metabólito da eriocitrina, apresentou proteção contra lesão renal através da ativação de Nrf2, que é considerado um dos mais importantes fatores reguladores da resposta antioxidante do organismo, diminuindo o dano oxidativo (Figura 5). Além disso, o eriodictiol também demonstrou proteção contra doença vascular (LEE et al., 2015) e diabetes (MIYAKE et al., 1998; RIBEIRO et al., 2018; SIREESH et al., 2018).

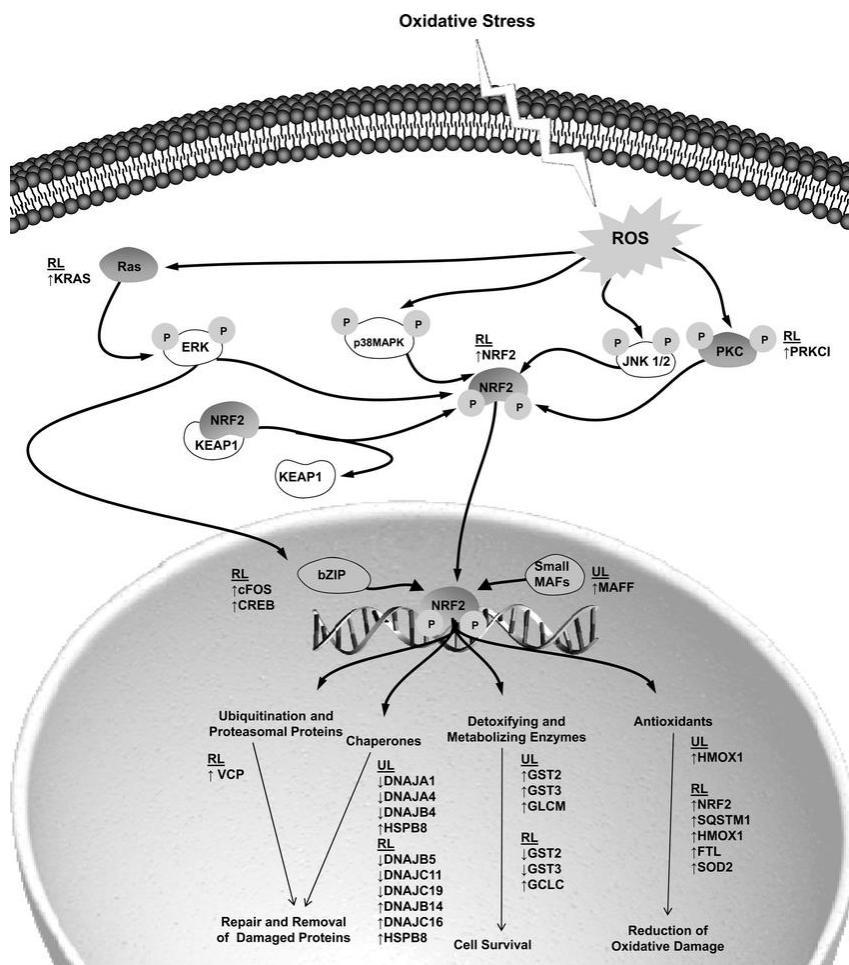


Figura 5 – Expressão de Nrf2 mediado por estresse oxidativo. Adaptado de Reich, K.A. (2010).

Os flavonoides são conhecidos por serem potentes eliminadores de radicais livres devido sua estrutura química contendo um grupo de substâncias fenólicas hidroxiladas. De acordo com Sarian et al. (2017), as hidroxilas presentes no anel B do eriodictiol são determinantes para eliminação das espécies reativa de oxigênio, conferindo uma potente atividade antioxidante.

Peroxidação lipídica

As espécies reativas de oxigênio (EROs) favorecem o estado oxidante levando à peroxidação lipídica, alterando a integridade das membranas celulares e o rearranjo de sua bicamada lipídica, o que leva a inativação de receptores e enzimas ligadas à membrana, aumentando a permeabilidade do tecido. (BIRBEN et al., 2012). Em

indivíduos com hiperglicemia há um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, elevando os níveis de marcadores de danos de DNA induzidos por estresse oxidativo, como os produtos da peroxidação lipídica - malondialdeído (MDA) e aldeídos insaturados, que são capazes de inativar proteínas celulares.

A tabela 4 apresenta a peroxidação lipídica no plasma sanguíneo dos voluntários pré-diabéticos.

Tabela 4: Peroxidação lipídica (mM) dos voluntários pré-diabéticos submetidos a suplementação de eriocitrina por 12 semanas

TBARS		Período	
		Semana 0 (Média ± desvio padrão)	Semana 12 (Média ± desvio padrão)
Peroxidação lipídica, mM	Controle	1.77 ± 0.91	1.76 ± 0.94
	Eriocitrina (800 mg)	1.77 ± 0.82 *	1.54 ± 0.84 *

Teste t para amostras relacionadas (amostras normais) e Wilcoxon (amostras não normais).
(*) diferença entre os tempos dentro do grupo.

Observou-se que o grupo que suplementou com eriocitrina (800mg) apresentou redução de 13% na peroxidação lipídica após 12 semanas de suplementação, enquanto que no grupo controle não foi observado mudanças significativas. O resultado foi previsto tendo em vista que foi observado um aumento da capacidade antioxidante em indivíduos que suplementaram com eriocitrina (800mg). Dessa forma, é esperado uma redução no biomarcador peroxidação lipídica devido a ação dos antioxidantes juntamente com a redução do estresse oxidativo.

Este resultado corrobora com estudos anteriores que relataram que os antioxidantes atenuam o estresse oxidativo e consequentemente reduzem a peroxidação lipídica (HARIHARAN et al., 2017; BUCOLO et al., 2012). Segundo Johnson et al. (2009), o eriodictiol pode modular várias vias de sinalização celular e induzir a expressão de proteínas de fase II, que protegem contra o estresse oxidativo, catalisando uma ampla variedade de reações que neutralizam espécies reativas de oxigênio e consequentemente, reduzem a peroxidação lipídica, aumentando assim a resistências das células epiteliais pigmentares da retina humana (ARPE-19) ao estresse oxidativo.

Eventos adversos:

A segurança da eriocitrina foi avaliada com base no questionário de eventos adversos. Ao longo do experimento quatro casos de eventos adversos foram relatados, incluindo dois no grupo 800 mg e dois casos no grupo placebo. Os eventos adversos incluíram: distúrbios digestivos (3 casos) e dor de cabeça (1 caso). No geral, a suplementação com eriocitrina foi bem tolerada, sem principais efeitos adversos.

5. Conclusão

A suplementação de eriocitrina na dosagem de 800mg diárias por 12 semanas mostrou ser eficaz na redução dos valores de glicemia de jejum, melhorou a capacidade antioxidante e reduziu a peroxidação lipídica em indivíduos pré-diabéticos. Entretanto, não apresentou diferenças significativas na redução de lipídeos sanguíneos.

Esse composto pode ser um aliado no tratamento do DM, embora mais estudos sejam necessários para explorar os mecanismos de ação e vias metabólicas da eriocitrina, a efetividade de diferentes doses em pacientes diabéticos e sua segurança em relação as outras moléculas e fármacos já extensivamente utilizados na farmacoterapia do diabetes. Além disso, também é importante acompanhar as interações medicamentosas e eventos adversos e investigar a segurança em pacientes de grupos específicos (gestantes e idosos).

6. Referências

1. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). **Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes**, Jan; 41 (Supplement 1): S13-S27, 2018. <https://doi.org/10.2337/dc18-S002>.
2. ATRAIN EDUCATION. EUA: Atrain Education. **Regulation of blood glucose**, 2018. Disponível em: <https://www.atrainceu.com/content/4-regulation-blood-glucose>. Acessado em 10/10/21.
3. BUCOLO, C.; LEGGIO, G. M.; DRAGO, F., & SALOMONE, S. Biochemical pharmacology. **Eriodictyol prevents early retinal and plasma abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats**, 84(1), p. 88–92, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.03.019>.
4. BIRBEN, E.; SAHINER, U. M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S., & KALAYCI, O. The World Allergy Organization journal. **Oxidative stress and antioxidant defense**, 5(1), p. 9–19, 2012. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>.
5. BURRACK, A. L.; MARTINOV, T., & FIFE B. T. Frontiers in endocrinology. **T Cell-Mediated Beta Cell Destruction: Autoimmunity and Alloimmunity in the Context of Type 1 Diabetes**, 8, p. 343, 2017. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00343>.
6. CHAKRABORTY C.; ROY S.S.; HSU M.J.; AGORAMOORTHY G. **Landscape Mapping of Functional Proteins in Insulin Signal Transduction and Insulin Resistance: A Network-Based Protein-Protein Interaction Analysis**, PLoS ONE 6(1): e16388, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016388>.
7. CHEHADE, J. M.; GLADYSZ, M., & MOORADIAN, A. D. **Dyslipidemia in type 2 diabetes: prevalence, pathophysiology, and management**, Drugs, 73(4), p. 327–339, 2013. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0023-5>.
8. CHRZCZANOWICZ J.; GAWRON A.; ZWOLINSKA A. Clin Chem Lab Med. **Simple method for determining human serum 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity - possible application in**

- clinical studies on dietary antioxidants, 46(3):342-349, 2008. doi:10.1515/CCLM.2008.062.
9. DOMÍNGUEZ AVILA, J.A.; RODRIGO GARCÍA J.; GONZÁLEZ AGUILAR G.A.; DE LA ROSA L.A. **The Antidiabetic Mechanisms of Polyphenols Related to Increased Glucagon-Like Peptide-1 (GLP1) and Insulin Signaling.** *Molecules*, 22, p. 903, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22060903>.
 10. FERREIRA P. S.; SPOLIDORIO L. C.; MANTHEY J. A., & CESAR, T. B. **Citrus flavanones prevent systemic inflammation and ameliorate oxidative stress in C57BL/6J mice fed high-fat diet.** *Food & function*, 7(6), p. 2675–2681, 2016. <https://doi.org/10.1039/c5fo01541c>.
 11. FRIEDWALD W.T.; LEVY R.I. & FRIEDRICKSON D.S. *Química Clínica. Estimativa da concentração de colesterol LDL no plasma sem preparação ou ultracentrifugação*, 18, p. 499-502, PMID: 4337382, 1972.
 12. GERBER P. A. & RUTTER G. A. Antioxidants & redox signaling. **The Role of Oxidative Stress and Hypoxia in Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes Mellitus**, 26(10), p. 501–518, 2017. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6755>.
 13. HAJIAGHAALIPOUR F.; KHALILPOURFARSHBAFI M. & ARYA A. *International journal of biological sciences. Modulation of glucose transporter protein by dietary flavonoids in type 2 diabetes mellitus*, 11(5), p. 508–524, 2015. <https://doi.org/10.7150/ijbs.11241>.
 14. HARIHARAN P. & PALANI; MARIYAPPAN & VAIYAPURI; MANJU. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research. An Evaluation of Antioxidant Potential of Flavonoid Eriodictyol in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats*, 51. p. 603-612, 2017. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.4.90>.
 15. HIRAMITSU M.; SHIMADA Y.; KUROYANAGI J. *et al.* **Eriocitrin ameliorates diet-induced hepatic steatosis with activation of mitochondrial biogenesis.** *Sci Rep* 4, 3708, 2014. <https://doi.org/10.1038/srep03708>.
 16. HOSPITAL OSWALDO CRUZ (HOC) – São Paulo: Hospital Oswaldo Cruz. **Diabetes tipo 2 cresce no Brasil**, 2019. Disponível em

<https://www.hospitaloswaldocruz.org.br/imprensa/noticias/diabetes-tipo-2-cresce-no-brasil/>. Acessado em 30/08/21.

17. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas 10th edition**, 2021. Disponível em <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>. Acessado em 10/12/21.
18. ISLAM, A.; ISLAM, M. S.; RAHMAN M. K.; UDDIN M. N. & AKANDA M. R. **The pharmacological and biological roles of eriodictyol**. Archives of pharmacal research, 43(6), p. 582–592, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01243-0>.
19. JANASZEWSKA A. & BARTOSZ G. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. **Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma**, 62(3), p. 231–236, 2002. <https://doi.org/10.1080/003655102317475498>.
20. JOHNSON J.; MAHER P. & HANNEKEN A. Investigative ophthalmology & visual science. **The flavonoid, eriodictyol, induces long-term protection in ARPE-19 cells through its effects on Nrf2 activation and phase 2 gene expression**, 50(5), p. 2398–2406, 2009. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-2088>.
21. LEE S. E.; YANG H.; SON G. W.; PARK H. R.; PARK C. S.; JIN Y. H. & PARK Y. S. International journal of molecular sciences. **Eriodictyol Protects Endothelial Cells against Oxidative Stress-Induced Cell Death through Modulating ERK/Nrf2/ARE-Dependent Heme Oxygenase-1 Expression**, 16(7), p. 14526–14539, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms160714526>.
22. LI C.Z.; JIN H.H.; SUN H.X.; ZHANG Z.Z.; ZHENG J.X.; LI S.H.; HAN S.H. European Journal Pharmacology. **Eriodictyol attenuates cisplatin-induced kidney injury by inhibiting oxidative stress and inflammation**. 772:124–130, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.12.042>.
23. LV P.; YU J.; XU X.; LU T. & XU F. Journal of cellular biochemistry. **Eriodictyol inhibits high glucose-induced oxidative stress and inflammation in retinal ganglial cells**. 120(4), p. 5644–5651, 2019. <https://doi.org/10.1002/jcb.27848>.
24. MERCK, SIGMA-ALDRICH®. Catálogo. **Eriocitrin (molecular structure)**. São Paulo: Merck: Sigma-Aldrich®, 2018. Disponível em:

- <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sigma/45714>. Acessado em 01/03/18.
25. MERCK, SIGMA-ALDRICH®. Catálogo. **Eriodictyol (molecular structure)**. São Paulo: Merck: Sigma-Aldrich®, 2018. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/substance/eriodictyol288254049381?context=product>. Acessado em 01/03/18.
26. MIYAKE Y.; YAMAMOTO K.; TSUJIHARA N. & OSAWA T. **Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats**. *Lipids*, 33(7), p. 689–695, 1998. <https://doi.org/10.1007/s11745-998-0258-y>
27. MIYAKE K.; MINATO K.; FUKUMOTO S.; YAMAMOTO K.; KATO Y.; SHIMOMURA Y. & OSAWA T. *Life sciences*. **Lemon flavonoid, eriocitrin, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver**, 72(14), p. 1609–1616, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)02443-8](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)02443-8).
28. MOHAMMADI M.; EGHTESADI S.; VAFA M.; HAGHIGHIAN H.K.; HEYDARI I.; *et al.* **Efeitos da suplementação de hesperidina no controle glicêmico, perfil lipídico e marcadores inflamatórios em pacientes com diabetes tipo 2: um ensaio clínico randomizado duplo cego placebo controlado**. Artigo de pesquisa, *Acta Biologica Indica*, 4 , p. 75–83. eISSN 2279–0160, 2015.
29. OGUNTIBEJU OO. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. **Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links**, 11(3):45-63. PMID: 31333808; PMCID: PMC6628012, 2019.
30. POUVREAU C.; DAYRE A.; BUTKOWSKI E. G.; DE JONG B. & JELINEK H. F. *Journal of inflammation research*. **Inflammation and oxidative stress markers in diabetes and hypertension**, 11, 61–68, 2018. <https://doi.org/10.2147/JIR.S148911>.
31. REICH K. A.; CHEN Y. W.; THOMPSON P. D.; HOFFMAN, E. P. & CLARKSON P. M. *Journal of applied physiology*. **Forty-eight hours of unloading and 24 h of reloading lead to changes in global gene expression patterns related to ubiquitination and oxidative stress in humans**, (Bethesda, Md.: 1985), 109(5), 1404–1415, 2010. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00444.2010>.

32. RIBEIRO C.B.; RAMOS F.M.; MANTHEY J.A.; CESAR T.B. *Phytotherapy Research*. **Effectiveness of Eriomin® in managing hyperglycemia and reversal of prediabetes condition: A double-blind, randomized, controlled study**, 33: p. 1921– 1933, 2019. <https://doi.org/10.1002/ptr.6386>.
33. SARIAN M.N.; AHMED Q.U.; MAT SO'AD S.Z.; ALHASSAN A.M.; MURUGESU S.; PERUMAL V.; SYED MOHAMAD S.N.A.; KHATIB A.; LATIP J. *Biomed Research International*. **Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study**, 2017:8386065. doi: 10.1155/2017/8386065. Epub Nov 28, 2017. PMID: 29318154; PMCID: PMC5727842.
34. SHASHANK K.; ABHAY K.P. *The Scientific World Journal*. **Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview**, vol. 2013, Article ID 162750, 16 pages, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>.
35. SIREESH D.; DHAMODHARAN U.; EZHILARASI K. et al. *Scientific Reports* 8. **Association of NF-E2 Related Factor 2 (Nrf2) and inflammatory cytokines in recent onset Type 2 Diabetes Mellitus**, 5126, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22913-6>.
36. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS (SBAC). **Normatização da determinação laboratorial do perfil lipídico**, p. 3, 2016. Disponível em: http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/consenso_jejum_dez2016_final.pdf. Acessado em 22/10/21.
37. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). **Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes**, p. 179, 235, 2019-2020. Disponível em <http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/02/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-2020.pdf>. Acessado em 30/08/21.
38. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). **Tipos de Diabetes**. 2021. Disponível em <https://diabetes.org.br/tipos-de-diabetes/>. Acessado em 13/08/2021.
39. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA (SBEM). **O que é Diabetes**, 2021. Disponível em <https://www.endocrino.org.br/o-que-e-diabetes/>. Acessado em 30/08/21.

40. TIWARI, B. K.; PANDEY K. B.; ABIDI A. B. & RIZVI S. I. Journal of biomarkers. **Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus**, 378790, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/378790>.
41. **VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO (VIGITEL BRASIL)**., pág. 105-108, 2019. Disponível em https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf. Acessado em 17/08/21.
42. ZHANG W.Y.; LEE J.J.; KIM Y. *et al.* Journal of Agricultural and Food Chemistry. **Effect of eriodictyol on glucose uptake and insulin resistance in vitro**, Aug;60(31):7652-7658, 2012. DOI: 10.1021/jf300601z. PMID: 22809065.

ANEXOS

Anexo A - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Nome:.....RG.....
.....estado civil....., nascimento ____/____/____, residente
....., cidade.....
telefones de contato declaro ter sido orientado e esclarecido sobre o protocolo de pesquisa a seguir:

O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa em que o objetivo é orientá-lo sobre a suplementação da eriocitrina combinado a uma alimentação equilibrada por Nutricionista. A Eriocitrina é um antioxidante presente na casca e suco do limão A equipe de pesquisa irá esclarecer os procedimentos que serão realizados durante o estudo, os quais são descritos a seguir. Em quatro ocasiões distintas ao longo das 12 semanas do nosso estudo (início do estudo, semana 4, 8 e 12), o Senhor (a) participará das seguintes avaliações: (1) Avaliação bioquímica, que inclui a colheita de 30 mL de sangue a ser realizada por técnicos treinados e habilitados do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas de Araraquara, permanecendo aproximadamente por 30 minutos em sala específica para exames clínicos laboratoriais, ambiente com temperatura confortável, revistas e TV para entretenimento (2) Avaliação antropométrica (início do estudo, semana 3, 5, 7, 9 e 11), onde serão coletados dados de peso (kg); estatura (m); circunferência da cintura (cm), circunferência abdominal (cm) e do quadril (cm), massa muscular (kg/%) e percentual de gordura por meio de equipamento de bioimpedância no Lab. de Antropometria da FCFAR-UNESP. Tudo será feito com horários marcados em consultas com duração de 30 minutos. Nosso laboratório possui ar condicionado, mesas e cadeiras adequadas para a entrevista, garantindo sua privacidade. A avaliação dietética será feita por meio de Recordatório Alimentar de 24h, Registro Alimentar de 3 dias e Questionário de Frequência de Consumo Alimentar. A sua participação na pesquisa será voluntária e livre de qualquer ônus. O (A) Senhor (a) será ressarcido (a) para o transporte (coletivo), quando houver necessidade de deslocamento para avaliações bioquímicas e antropométricas e, também receberá alimentação (café da manhã) nos dias das colheitas de sangue. É necessário informá-lo que durante a pesquisa o (a) Senhor (a) não poderá estar sob tratamento medicamentoso, ou fazendo suplementação com vitaminas, minerais ou bioflavonoides e, se necessitar de medicamentos ou suplementos, deverá informar imediatamente o pesquisador sobre esta nova condição de saúde. Os riscos que o (a) Senhor (a) será submetido(a) ao participar desta pesquisa são médios, apenas terá o desconforto das colheitas de sangue que serão realizados com material descartável, buscando o menor desconforto possível com equipamentos que minimizem a punção venosa, como por exemplo agulhas ultrafinas, e a possibilidade de hematomas (roxo) na região da punção. As avaliações antropométricas e dietéticas consistem em métodos simples e não invasivos, não ocasionando nenhum risco de ordem física ou psicológica. Os procedimentos aos quais será submetido (a) não provocarão danos físicos ou financeiros, porém, se ocorrer algum transtorno decorrente da pesquisa, este será encaminhado ao serviço público de saúde e, se eventuais gastos decorrentes, será assegurada a indenização por parte da equipe e/ou instituição responsável. Para assegurar sua privacidade, o seu nome será mantido em sigilo antes, durante e após a pesquisa, e se desejar, receberá informações sobre o resultado da pesquisa. O (A) Senhor (a) poderá desistir da pesquisa em qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou penalização, mas deverá avisar os pesquisadores se isto ocorrer; deverá notificar

qualquer situação de anormalidade relacionada à pesquisa e para tanto deverá entrar em contato com o pesquisador responsável pelo telefone: (16) 3301-6927. Este termo trata-se de um documento que será emitido em duas vias, sendo uma via para o pesquisador e a outra para o participante. Para outros esclarecimentos e reclamações, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Rodovia Araraquara-Jaú, km 1, Araraquara, São Paulo, telefone: (16) 3301-4627. Pelo presente esclarecimento, o (a) Senhor (a) concorda em participar deste estudo “Avaliação de parâmetros metabólicos e moleculares em indivíduos com hiperglicemia intermediária suplementados com eriocitrina: Ensaio clínico paralelo, duplo-cego, randomizado, placebo-controlado” sob responsabilidade da pesquisadora Profa. Dra. Thais Borges Cesar.

Araraquara, ____/____/____

Assinatura do Participante

Dra. Thais Borges Cesar

Anexo B - Questionário de seleção de participação

Nome: _____ Telefone: _____

WhatsApp: _____ E-mail: _____

Profissão: _____ Escolaridade: _____

Qual sua disponibilidade de horários para as consultas quinzenais com a nutrição na Unesp? (Pode selecionar mais de uma opção, se for o caso). Em seguida coloque a hora que lhe é conveniente:

Manhã () Horário _____ Tarde () Horário _____

Final da tarde/noite () Horário _____

Qual sua disponibilidade para a coleta de sangue mensal (Serão 4 coletas). A coleta inicia às 7:00h no Laboratório São Lucas da rua Feijó.

Seg () Terça () Quarta () Quinta () Sexta () Sábado ()

Qual sua disponibilidade para a curva glicêmica (Esse exame começa às 6:30h até 10:00h).

Sim () Não ()

I- Antropometria

Peso _____ Altura _____ IMC _____

Perdeu peso nos últimos 3 meses? () Não () Sim

Se sim, quanto? _____

II- História Clínica

Glicemia em jejum do último exame _____ (valor) _____ (data)

Glicemia em jejum do penúltimo exame _____ (valor) _____ (data)

1 – Você tem ou teve alguma destas doenças citadas abaixo:

() Colesterol elevado () Triglicerídeos elevado () Derrame () Diabetes

() Hipertensão () Câncer () Hepática () Renal

() Hipotireoidismo () Hepatite () HIV

Outras:

2 – (Apenas para mulheres). Você está atualmente grávida ou amamentando?

() Não () Sim (grávida) () Sim (amamentando)

3 - Você faz uso de algum remédio?

() Não () Sim. Qual (s): _____

Quanto tempo: _____

4 – Você tem alguma alergia a remédios, alimentos ou outras substâncias?

() Não () Sim. Qual (s): _____

5 – Você fuma ?

() Não () Sim. Quantos cigarros (ou outro tipo de fumo) por dia? _____

6 – Você consome álcool?

() Não () Sim. Qual (s): _____ Quantidade por semana: _____

7- Você pratica atividade física regular?

() Não () Sim. Qual (s): _____

Tempo por dia: _____

Dias por semana: _____

8 - Como é o seu funcionamento intestinal?

() regular () irregular

III – Informações Dietéticas

9 – Você está atualmente seguindo alguma dieta?

() Não

() Sim. Qual tipo: _____

() prescrita por profissional de nutrição ou médico

() prescrita por você mesmo

10 – Você utiliza alguma forma de suplemento alimentar? (ex: vitaminas, minerais, proteínas, etc.)

() Não

() Sim

Anexo C - Questionário de efeitos colaterais

Nome: _____

Data: ____ / ____ / ____

Marque (+) naquelas reações que você apresentou:

Reações	Ocorrência (+)
Gastrointestinais	
Náuseas	
Vômitos	
Falta de apetite	
Diarreia	
Cólicas intestinais	
Boca seca	
Prisão de ventre	
Cardiovasculares	
Palpitações	
Queda da pressão	
Aumento da pressão	
Dor no peito	
Psiquiátricas	
Ansiedade	
Sonolência	
Desorientação	
Insônia	
Irritabilidade	
Neurológicos	
Dor de cabeça	
Formigamento	
Zumbidos	
Tonturas	
Cutâneos	
Manchas	
Coceiras	
Outros	

Começou a fazer uso de algum medicamento? (Qual? Quanto tempo?)
