

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 07/03/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Avaliação de parâmetros metabólicos em indivíduos
pré-diabéticos suplementados com flavonoides cítricos:
Ensaio clínico paralelo, duplo-cego, randomizado,
placebo-controlado**

CAROLINA BARBOSA RIBEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Alimentos e Nutrição para obtenção do título
de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Thais Borges Cesar

Araraquara

2019

**Avaliação de parâmetros metabólicos em indivíduos
pré-diabéticos suplementados com flavonoides cítricos:
Ensaio clínico paralelo, duplo-cego, randomizado,
placebo-controlado**

CAROLINA BARBOSA RIBEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Alimentos e Nutrição para obtenção do título
de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências Nutricionais

Araraquara

2019

R485a

Ribeiro, Carolina Barbosa.

Avaliação de parâmetros metabólicos em indivíduos pré-diabéticos suplementados com flavonoides cítricos: Ensaio clínico paralelo, duplo-cego, randomizado, placebo-controlado / Carolina Barbosa Ribeiro. – Araraquara, 2019.
68 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação Em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração em Ciências Nutricionais.

Orientadora: Thaís Borges Cesar.

1. Pré-diabetes. 2. Resistência à insulina. 3. Flavonoides cítricos. I. Cesar, Thaís Borges, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



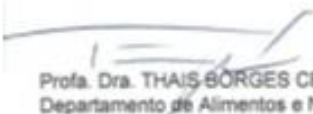
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Avaliação de parâmetros metabólicos em indivíduos pré-diabéticos suplementados com flavanoides cítricos: Ensaio clínico paralelo, duplo-cego, randomizado, placebo-controlado

AUTORA: CAROLINA BARBOSA RIBEIRO

ORIENTADORA: THAIS BORGES CESAR

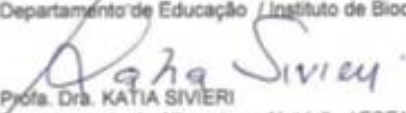
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área de conhecimento: Nutrição pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. THAIS BORGES CESAR
Departamento de Alimentos e Nutrição / FCFAR - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. CAMILA CREMONEZI JAPUR
Curso de Nutrição e Metabolismo / Faculdade de Medicina - Ribeirão Preto - USP

Profa. Dra. CAROLINE DÁRIO CAPITANI
Faculdade de Ciências Aplicadas / Universidade Estadual de Campinas

Profa. Dra. THÁBATA KOESTER WEBER
Departamento de Educação / Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu


Profa. Dra. KÁTIA SIVERI
Departamento de Alimentos e Nutrição / FCFAR - UNESP - Araraquara

Araraquara, 07 de março de 2019

AGRADECIMENTOS

À orientadora Prof^a. Dr^a. Thais Cesar pela competência, paciência e carinho com que sempre me ensinou.

À Fernanda Ramos pela ajuda no recrutamento e atendimentos nutricionais.

Aos estudantes de iniciação científica Mateus e Jeane pela ajuda na coleta de dados.

Ao John Manthey pela revisão cuidadosa do artigo e pelos ensinamentos.

Aos voluntários, pela disposição e generosidade.

À secretária Renata do Departamento de Alimentos e Nutrição pelo suporte e atenção.

Aos docentes do Departamento de Alimentos e Nutrição pelo ensino e dedicação.

Às funcionárias da Pós-graduação e da Biblioteca pela atenção e competência.

Aos professores integrantes da comissão examinadora pelas valiosas sugestões ao trabalho.

À empresa *Ingredientes By Nature* pelo convênio firmado e financiamento do projeto.

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas, em especial ao Sérgio Valadão, pelo suporte durante os procedimentos de coleta das amostras.

À farmácia Bandeirantes, em especial ao Evandro pelo suporte durante a pesquisa.

À Secretaria da Saúde e SESA pela autorização na coleta de dados nas Unidades de Saúde.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

Tenho muito a agradecer por ter chegado até aqui. Ninguém chega ao final de uma jornada como essa sem o apoio de muita gente.

Primeiramente, a Deus pela força e discernimento a mim concedidos em todos os momentos de alegria e tristeza.

Aos meus pais, Wanda e Marcelo, por todo amor, carinho, dedicação, e por serem meus maiores incentivadores. Vocês são a minha vida!

Ao meu namorado, Michel, pelo carinho, companheirismo, incentivo e paciência.

À minha mãe do coração Gilvana pelo cuidado, amor e carinho dedicado.

À minha amada família, por todo apoio, torcida e inspiração. São muitos, por isso não citarei nomes, mas cada um sabe a importância que tem na minha vida. Amo vocês!

Aos meus amigos de Laboratório, Paula, Melaine, Renata, Fernanda, Olívia, Beatriz, Marina, Marília, Danielle, Sara e Danielli, pela convivência, amizade e auxílio durante todos esses anos. Muito obrigada por tornarem meus dias mais leves e divertidos.

Às pessoas especiais que a pós-graduação me presenteou: Wanderson Silva, Moema Santana, Mariana Tacin e Juliana Campos.

À minha orientadora, Profa. Thais Cesar por permitir o meu crescimento profissional e por acreditar no meu trabalho.

As minhas amigas, pela compreensão nos momentos de ausência, pela parceria e estímulo durante essa caminhada.

OBRIGADA!

*“Por vezes, sentimos que aquilo que fazemos não é, senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

(Madre Teresa de Calcutá)

Resumo

Objetivo: Foi avaliar os efeitos da suplementação de flavonoides cítricos nos parâmetros bioquímicos, inflamatórios e metabólicos de indivíduos pré-diabéticos durante 12 semanas. **Métodos:** 103 indivíduos pré-diabéticos (49 ± 10 anos) foram divididos aleatoriamente em quatro grupos paralelos: (1) *Placebo*: 25 indivíduos receberam dose diária de 400 mg de placebo; (2) *Eriomin 200 mg*: 26 indivíduos receberam dose diária de 200 mg de Eriomin; (3) *Eriomin 400 mg*: 27 indivíduos receberam dose diária de 400 mg de Eriomin; (4) *Eriomin 800 mg*: 25 indivíduos receberam dose diária de 800 mg de Eriomin. Eriomin® é um bioflavonoide cítrico, composto por principalmente por eriocitrina, hesperidina, naringenina e didimina. A avaliação da composição corporal, dos marcadores bioquímicos, inflamatórios, metabólicos, renais, hepáticos e do consumo alimentar foram analisados ao longo de 12 semanas. **Resultados:** O tratamento após 12 semanas com todas as doses de Eriomin (200, 400, 800 mg) mostrou redução similar nos níveis de glicemia (-5%, $p \leq 0,001$), HbA1c (-2%, $p < 0,05$), HOMA-IR (-7%, $p < 0,05$), glicemia 2 horas (-7%, $p < 0,05$), glucagon (-6.5%, $p < 0,001$), peptídeo C (-5%, $p < 0,001$), PCRus (-12%, $p < 0,05$), IL-6 (-13%, $p = 0,03$), TNF- α (-11%, $p = 0,04$), peroxidação lipídica (-17%, $p < 0,01$) e pressão arterial sistólica (-8%, $p < 0,05$), e aumento nos níveis de GLP-1 (+15%, $p < 0,001$), adiponectina (+19%, $p < 0,05$) e capacidade antioxidante (6%, $p = 0,03$). **Conclusão:** A suplementação com Eriomin por 12 semanas em indivíduos pré-diabéticos melhorou os parâmetros bioquímicos, inflamatórios e metabólicos que constituem os fatores de risco para o desenvolvimento do diabetes *mellitus* tipo 2.

Palavras Chave: pré-diabetes; resistência à insulina; flavonoides cítricos

Abstract

Objective: To evaluate the effects of citrus flavonoid supplementation on the biochemical, inflammatory and metabolic parameters of pre-diabetic subjects for 12 weeks. **Methods:** 103 pre-diabetic subjects (49 ± 10 years) were randomly divided into four parallel groups: (1) *Placebo*: 25 subjects received a daily dose of 400 mg placebo; (2) *Eriomin 200 mg*: 26 subjects received 200 mg daily dose of Eriomin; (3) *Eriomin 400 mg*: 27 subjects received 400 mg daily dose of Eriomin; (4) *Eriomin 800 mg*: 25 subjects received a daily dose of 800 mg Eriomin. Eriomin® is a citric bioflavonoid composed of eriocitrin, hesperidin, naringenin and didymin. Evaluation of body composition, biochemical, inflammatory, metabolic, renal, hepatic and food markers were analyzed during 12 weeks of intervention. **Results:** Treatment with all doses of Eriomin (200, 400, 800 mg) after 12 weeks showed similar reduction in glycemia levels (-5%, $p \leq 0.001$), HbA1c (-2%, $p < 0.05$) (-7%, $p < 0.05$), glycemia 2 hours (-7%, $p < 0.05$), glucagon (-6.5%, $p < 0.001$), peptide C (-5%, $p < 0.05$) (-12%, $p < 0.05$), IL-6 (-13%, $p = 0.03$), TNF- α (-11%, $p = 0.04$), lipid peroxidation ($P < 0.01$), and systolic blood pressure (-8%, $p < 0.05$), and increased GLP-1 (+ 15%, $p < 0.001$), adiponectin (+ $p < 0.05$) and antioxidant capacity (6%, $p = 0.03$). **Conclusion:** Supplementation with Eriomin for 12 weeks in pre-diabetic individuals improved the biochemical, inflammatory and metabolic parameters that constitute the risk factors for the development of type 2 diabetes.

Keywords: pre-diabetes; insulin resistance; citrus flavonoids

Lista de Tabelas e Quadros

Introdução

Quadro 1. Critérios diagnósticos para pré-diabéticos recomendados pela ADA.....	11
Tabela 1: Efeitos das flavanonas em estudos <i>in vivo</i>	20
Tabela 2: Efeitos das flavanonas em estudos clínicos	21

Sumário

Resumo.....	8
Abstract	9
Lista de Tabelas e Quadros	10
Introdução	12
Considerações Finais.....	23
Referências	24

Introdução

Nos últimos anos, as doenças crônicas não transmissíveis, como as doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, doenças pulmonares e cânceres se tornaram uma pandemia emergente em todo o mundo, com taxas mais altas nos países em desenvolvimento (González et al, 2017). O aumento da incidência do diabetes *mellitus* tipo 2 está associado a diversos fatores, como: transição nutricional, estilo de vida sedentário, excesso de peso, e envelhecimento (SDB, 2017). De acordo, com a Sociedade Brasileira de Diabetes, em 2017, 15 milhões de brasileiros tinham diabetes *mellitus* tipo 2 e cerca de 40 milhões de brasileiros eram pré-diabéticos, no entanto, grande parte ainda desconheça que estejam nessas condições (SDB, 2017).

O pré-diabetes caracteriza-se por alteração da glicemia de jejum e/ou da tolerância diminuída à glicose, sendo definido como um estado intermediário entre normoglicemia e diabetes *mellitus* tipo 2 (ADA, 2018). Os critérios de diagnóstico para pré-diabéticos recomendados pela Associação Americana de Diabetes (ADA) estão descritos no Quadro 1.

Glicemia de jejum	Glicemia 2 h após TOTG	HbA1c
100 a 125 mg/dL	140- 199mg/dL	5,7% e 6,4%

Quadro 1. Critérios diagnósticos para pré-diabéticos recomendados pela ADA, 2018.

A glicemia de jejum é diagnosticada pela glicemia após 8 horas de jejum. A tolerância à glicose é obtida por meio do teste de tolerância à glicose oral, o qual é realizado após duas horas de ingerir uma solução contendo 75g de glicose. A medida da

HbA1c deve ser realizada utilizando-se um método certificado pelo Programa Nacional de Padronização de Hemoglobina Glicada e padronizado conforme as referências do Controle de Diabetes e Complicações (ADA, 2011). A HbA1c é resultado da reação entre a glicose do sangue e a proteína (hemoglobina) contida na hemácia ou glóbulo vermelho, refletindo a glicemia média de um indivíduo durante dois a três meses, e para seu diagnóstico não é necessário jejum (Faerch et al, 2009). No entanto, é necessária cautela ao avaliar isoladamente os resultados de HbA1c, pois ela pode estar alterada em certas condições. Por exemplo, na deficiência de vitamina B 12 e de folato os níveis de HbA1c podem estar elevados e, na gravidez, na anemia hemolítica e insuficiência renal terminal os níveis de HbA1c podem estar diminuídos (Radin, 2014).

A causa exata do pré-diabetes é desconhecida, mas histórico familiar, genética inatividade física e excesso de gordura corporal, parecem desempenhar um papel importante no seu desenvolvimento. De acordo com a Associação Americana de Diabetes, indivíduos adultos com excesso de peso, e que tenham um ou mais dos seguintes fatores (parente de primeiro grau com diabetes *mellitus* tipo 2; mulheres que foram diagnosticadas com diabetes *mellitus* gestacional; história de doença cardiovascular; hipertensão; colesterol HDL < 35 mg / dL e / ou triglicerídeos > 250 mg / dL; mulheres com síndrome do ovário policístico; inatividade física) apresentam alto risco para desenvolvimento do pré-diabetes (ADA, 2018).

A fisiopatologia do pré-diabetes é complexa e envolve a combinação de múltiplas alterações nos mecanismos implicados na homeostase da glicose. Semelhante ao diabetes *mellitus* tipo 2, o pré-diabetes está associado ao aumento dos níveis de glicose, diminuição da função das células beta, diminuição da sensibilidade a insulina, aumento das citocinas inflamatórias e alteração das respostas as incretinas (Brannick et al, 2016). Os hormônios incretinas, o polipeptídeo inibitório gástrico (GIP) e o peptídeo-1 semelhante ao glucagon

(GLP-1), são peptídeos intestinais, sendo secretados em resposta à ingestão de nutrientes e desempenham um papel essencial na regulação pós-prandial da glicose ao potencializar a secreção de insulina estimulada pela glicose (Nauck & Meier, 2018). Em pessoas saudáveis, 70% da secreção de insulina estimulada pela ingestão de glicose ocorre através da liberação das incretinas (Ahmadiéh & Azar, 2014).

A resistência à insulina em vários tecidos do corpo é a principal anormalidade metabólica encontrada em pacientes com pré-diabetes, sendo definida como uma condição na qual a concentração normal de insulina não produz adequadamente uma resposta nos tecidos alvos periféricos, como tecido adiposo e músculo (Wilson, 2017). Essa falta de resposta leva à diminuição da captação de glicose nesses tecidos e aumento dos níveis de glicose circulantes. A hiperglicemia resultante faz com que as células betas secretem mais insulina para superar a resistência. Inicialmente, as células betas são capazes de manter a euglicemia, mas com o tempo, a função das células beta diminui e o nível de glicose começa a aumentar. A resistência à insulina no fígado leva a uma superprodução de glicose hepática, que é estimulada pelo processo de gliconeogênese (Wilson, 2017).

A resistência à insulina está associada a níveis séricos elevados de citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR), e concentrações baixas de adiponectina (Tateya et al, 2013).

O TNF- α é uma citocina inflamatória que atua no metabolismo de lipídeos e na sinalização da insulina. O TNF- α tem um papel importante no desenvolvimento da resistência à insulina, pois induz a ativação das proteínas c-jun N-terminal kinase e Ikappa kinase, causando a fosforização do IRS-1 em serina e promovendo menor ativação da enzima fosfatidilinositol 3-quinase, resultando em redução no transporte de glicose

estimulada pela insulina (Zou et al, 2008; Hajiaghaalipour et al, 2015). Além disso, o aumento da secreção de TNF- α promove a secreção da IL-6 e PCR (Emanuela et al, 2012).

A IL-6 também é uma citocina inflamatória que possui múltiplas funções no metabolismo, sendo liberada pelo tecido adiposo e pelo músculo esquelético. Além do seu papel nos estados inflamatórios, ela também está envolvida na regulação da sensibilidade à insulina e tolerância à glicose. Indivíduos pré-diabéticos apresentam concentrações séricas elevadas dessa citocina (Aguilar-Valles et al, 2015). Estudos demonstraram que níveis elevados de PCR estão associados com hiperglicemia, resistência à insulina, e diabetes *mellitus* tipo 2 (Hribal et al, 2014).

A adiponectina é secretada pelos adipócitos e atua como adipocina anti-inflamatória, regulando a ingestão alimentar, o gasto energético, o metabolismo da glicose e o catabolismo de ácidos graxos. As suas ações de sensibilização à insulina devem-se a diminuição dos níveis de glicemia, através da supressão da gliconeogênese no fígado e aumento da sinalização de insulina nos músculos (Turer & Scherer, 2012).

Além disso, indivíduos pré-diabéticos apresentam alterações nas concentrações circulantes de incretinas (Holst & Gromada, 2004). GLP-1 é um peptídeo intestinal secretado pelas células L enteroendócrinas localizadas na mucosa intestinal em resposta a nutrientes ingeridos (carboidratos, proteínas e gorduras). O GLP-1 contribui para a manutenção da homeostase da glicose através da redução da secreção de glucagon, desaceleração do esvaziamento gástrico e regulação da saciedade. (Gastaldelli et al, 2017). Em indivíduos saudáveis os níveis de GLP-1 em jejum variam entre 5 a 10 pmol/L e aumentam cerca de 2 a 3 vezes após a ingestão de nutrientes, dependendo da quantidade e do conteúdo da refeição (Gastaldelli et al, 2017). No entanto, em indivíduos diabéticos e pré-diabéticos os níveis de GLP-1 encontram-se diminuídos, ocasionando redução da

secreção de insulina estimulada pela ingestão de nutrientes, ocasionando uma hiperglicemia pós-prandial (Gastaldelli et al, 2017).

Além da insulina, a secreção de glucagon pelas células α pancreáticas têm um papel importante na homeostasia da glicose. Do mesmo modo que as incretinas aumentam a secreção de insulina, pelas células β , inibem, concomitantemente, a secreção de glucagon pelas células α (Bagger et al, 2011). O glucagon é um hormônio que é rapidamente secretado na hipoglicemia e é suprimido pela hiperglicemia (Habegger et al, 2010). Em indivíduos saudáveis, os níveis de glucagon diminuem em resposta a uma refeição reduzindo, desta forma, a produção hepática de glicose. Por outro lado, indivíduos pré-diabéticos apresentam níveis elevados de glucagon plasmático em jejum e não são capazes de diminuir a sua concentração de forma adequada após a refeição, ocasionando hiperglicemia em jejum (Bagger et al, 2014).

O peptídeo-C consiste no fragmento liberado quando a pro - insulina passa por clivagem, dando origem à insulina. É um peptídeo secretado pelas células β pancreáticas em concentrações equimolares às da insulina. Além de ter meia-vida mais longa (30 minutos), o que implica em menor flutuação de níveis séricos, não sofre metabolização hepática significativa e possui clearance mais previsível, quando comparado com a insulina. Por essa razão, tem sido bastante utilizado na prática clínica para avaliação da resposta secretora das células β pancreáticas (Kim, et al, 2016; Venkatesh et al, 2018).

Indivíduos com pré-diabetes têm um risco aumentado (até 70%) de desenvolver diabetes *mellitus* tipo 2 (ADA, 2018). Além disso, estudos sugerem que as complicações crônicas do diabetes mellitus tipo 2, como, retinopatia, microalbuminúria, neuropatia e doença cardiovascular começam a se desenvolver durante o estado pré-diabético. O pré-diabetes geralmente não apresenta sinais ou sintomas, por essa razão a

detecção precoce é importante, pois pode prevenir ou retardar a progressão para o diabetes *mellitus* tipo 2 (Wasserman et al, 2018; Pratelly, 2013).

O tratamento do pré-diabetes, tem como objetivo restaurar os níveis de glicemia ao normal, isto é, menor ou igual a 99 mg/dL. Para que esse objetivo seja alcançado, é importante que haja mudanças no estilo de vida como educação alimentar, dieta equilibrada e aumento da atividade física, e se necessário uso de medicamentos hipoglicemiantes, como as biguanidas (Acarbose, Metformina e Pioglitazona), sulfonilureias (Glimepirida, Glibenclamida e Clorpropamida), e gliptinas (Sitagliptina e Vildagliptina) (Roberts et al, 2018; Domingues Avila et al, 2017). Estudos epidemiológicos e metanálises mostraram relação inversa entre o consumo de dietas ricas em flavonoides e a ocorrência de doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus* tipo 2, mostrando que os flavonoides foram capazes de reduzir estados de hiperglicemia, dislipidemia, resistência à insulina e processos inflamatórios sistêmicos (Testa et al, 2015; Vinayagam & Xu, 2015).

Os flavonoides pertencem a uma classe de compostos fenólicos de baixo peso molecular que são amplamente distribuídos no reino vegetal. Os flavonoides são importantes para as plantas para o seu crescimento, desenvolvimento e defesa contra o ataque de insetos e microrganismos, além de serem protetores da radiação ultravioleta (Panche, Diwan, Chandra 2016). Os flavonoides (Figura 1) apresentam 15 átomos de carbonos, que consistem em dois anéis benzênicos (A e B) ligado ao anel pirano (C), podendo ser subdivididos em diferentes subgrupos, dependendo do carbono do anel C no qual o anel B está ligado e do grau de instauração e oxidação do anel de acordo em flavanonas, flavonóis, flavonas, catequinas, isoflavonas e antocianinas (Tripoli et al, 2007).

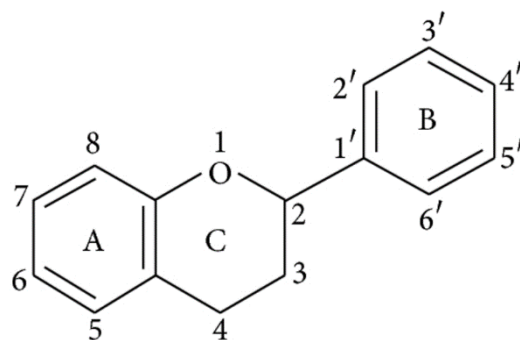


Figura 1. Estrutura geral do flavonoide (Kurmar et al, 2013).

A classe mais comum de flavonoides são as flavanonas (hesperidina, naringina, eriocitrina) que estão naturalmente presentes nas frutas cítricas ligadas a moléculas ramnoglicosídeas, como a hesperitina-7-O-rutinosídeo, naringenina-7-O-rutinosídeo e o eriodictiol-7-O-rutinosídeo (Manach et al, 2004). A hesperidina e a naringina são encontradas principalmente nas laranjas (*Citrus Sinensis*); e a eriocitrina é encontrada principalmente no limão siciliano (*Citrus Lemon*) e lima (*Citrus Limettiodes*). Um copo de 250 mL de suco de laranja contém aproximadamente 30 mg de hesperidina e 5 mg de naringenina (USDA, 2008) e um copo de 250 mL de suco de limão contém 55 mg de eriocitrina (Gattuso et al, 2007).

Quando ingerida, a hesperidina, naringina e eriocitrina são deglicosiladas no lúmen intestinal por ação das β -glicosidases ou bactérias intestinais. Os compostos não hidrolisados no pequeno intestino, são transportados na sua forma intacta em direção ao cólon, onde são hidrolisados pela α -ramnosidase, produzida pela microbiota do local, liberando a forma aglicona. Uma vez absorvidas, as flavanonas agliconas (hesperitina, naringenina e eriodictiol) são conduzidas ao fígado pela circulação entero-hepática. No fígado, são conjugadas por meio de metilação, sulfatação e/ou glicuronidação, e posteriormente são liberadas na circulação e distribuídas entre vários órgãos, como rins,

pâncreas, baço, músculo, coração e tecido adiposo, onde podem exercer atividade biológica. Alguns dos conjugados do fígado podem ser excretados como componentes biliares (recirculação entero-hepática) e/ ou pela urina. Os metabólitos não absorvidos são eliminados pelas fezes. Estudos mostraram que esses metabolitos são eliminados do plasma dentro de 5 a 8 horas, enquanto na urina eles são eliminados dentro de 24 horas. Os metabólitos conjugados, como a hesperitina, naringenina e eriodictiol produzidos endogenamente são responsáveis pelos efeitos sistêmicos das flavanonas (Miyake et al, 2006; 2009; Gattuso, et al 2007).

As flavanonas cítricas apresentam propriedades anti-hiperglicêmica, anti-inflamatória e antioxidante (Assini et al, 2013; Mulvihill et al, 2012; Tripoli et al, 2007). Alguns efeitos das flavanonas podem ser observados na Tabela 1 e 2. Os mecanismos subjacentes de ação para um efeito hipolipemiante, hipoglicemiante e anti-inflamatório dos flavonoides cítricos ainda não foram totalmente estabelecidos. Várias hipóteses foram propostas com base em dados obtidos de estudos *in vitro* e em animais

A ação hipoglicemiante das flavanonas pode ser decorrente: (1) da redução da apoptose das células β pancreáticas, ocasionado melhora na sua proliferação e promovendo secreção de insulina; (2) da regulação no metabolismo da glicose nos hepatócitos e subsequente melhora da hiperglicemia; (3) do aumento da captação de glicose no músculo esquelético e nos tecidos adiposos (Hajiaghaalipour et al, 2015). Estudo *em vitro* mostrou que a concentração de 5 e 25 μ M de eriodictiol promoveu a captação de glicose estimulada por insulina e aumentou a expressão de receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama 2 (PPAR γ 2) em adipócitos 3T3-L1 (Zang et al, 2012). Além disso, a suplementação com naringenina (25 mg / kg) em ratos diabéticos durante 45 dias reduziu hiperglicemia, hiperinsulinemia e modulou as expressões de GLUT-4 (David et al, 2015).

Tabela 1. Efeitos das flavanonas em estudos *in vivo*

Estudos	Flavanona	Doses	Duração	Resultados	Referências
Camundongos C57BL / 6J	Eriocitrina	200 mg/kg de peso corporal	4 semanas	Aumentou a capacidade antioxidante total do soro e restringiu a elevação da IL-6, MCP-1 e PCR-us	Ferreira et al, 2016
Ratos Sprague-Dawley	Eriocitrina	0,35%	21 dias	Promoveu efeito redutor do colesterol total, VLDL + LDL e triglicérides no soro de ratos alimentados com dieta rica em gordura e colesterol	Miyake et al, 2006
Ratos Wistar machos	Eriocitrina	600 mg/kg de peso corporal	Agudo	Suprimiu os aumentos dos níveis de TBARS causados pela peroxidação lipídica durante o exercício agudo, além de manter os níveis de glutathione redutase	Minato et al, 2003
Ratos Wistar diabéticos com infarto do miocárdio	Hesperidina	100 mg/kg de peso corporal	4 semanas	Normalizou os níveis de glicose sanguínea alterando a atividade das enzimas reguladoras da glicose	Rekha et al, 2019
Ratos Wistar tratados com alto teor de gordura / estreptozotocina (HFD/STZ)	Hesperidina	50 mg/kg de peso corporal	30 dias	Atenuou o estresse oxidativo mediado pela hiperglicemia e a produção de citocinas pró-inflamatórias	Zhang, et al 2012
Camundongos C57BL / KsJ-db / db	Hesperidina	0, 2 g/kg de peso corporal	5 semanas	Reduziu a glicemia de jejum, além disso, reduziu a expressão do GLUT-2 no hepatócito e aumentou o GLUT-4 no adipócito	Jung, et al, 2006
Ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina	Naringenina	0,05%	24 semanas	Aumentou a expressão dos GLUT 1 e 3	Sandeep et al, 2017
Ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina	Naringenina	5 a 10 mg / kg de peso corporal	6 semanas	Diminuiu os níveis de malonaldeído e as atividades de superóxido dismutase, catalase e enzima glutathione.	Ren, et al, 2016
Ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina	Naringenina	25 e 50 mg / kg de peso corporal	5 semanas	Diminui alterações induzidas por diabetes como os níveis de glicose sérica, insulina e citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa, IL-1beta e IL-6). Diminuiu biomarcadores de estresse oxidativo	Al-Rejaie, et al, 2015

Tabela 2. Efeitos das flavanonas em estudos clínicos

<i>Indivíduos</i>	<i>Flavanona</i>	<i>Desenho</i>	<i>Dose</i>	<i>Duração</i>	<i>Resultados</i>	
60 indivíduos com diabetes mellitus tipo 2	Hesperidina	Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, ensaio paralelo	500 mg / dia	6 semanas	Melhorou a capacidade antioxidante e controle glicêmico, reduzindo danos oxidativos ao DNA e peroxidação lipídica	Homayouni, et al 2017
48 indivíduos com diabetes mellitus tipo 2	Hesperidina	Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, ensaio paralelo	500 mg/dia	8 semanas	Reduziu os níveis da glicemia em jejum e hemoglobina A1c	Mohammadi, 2015
75 indivíduos com infarto do miocárdio	Hesperidina	Estudo randomizado, duplo-cego controlado, ensaio paralelo	600 mg/dia	4 semanas	Diminuiu os níveis séricos de E-selectina e aumentou as concentrações de adiponectina e colesterol HDL-C	Haidari, et al 2015
24 indivíduos com Síndrome Metabólica	Hesperidina	Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, ensaio crossover	450 mg / d	3 semanas	Reduziu os marcadores de inflamação (PCRus, E-selectina)	Riza et al, 2012

Dentre as ações anti-inflamatórias pode se citar que as flavanonas são capazes de suprimir a produção de mediadores pró-inflamatórios, principalmente TNF- α e IL-6, devido a inativação do fator de transcrição NF κ B (Yoshida et al, 2010). Estudo realizado em camundongos mostrou que a suplementação com eriocitrina reduziu os níveis sanguíneos de IL-6, MCP-1 e PCRus (Ferreira, et al, 2016). Outro estudo realizado com indivíduos com síndrome metabólica mostrou que a suplementação de 500 mg/dia hesperidina reduziu os níveis de PCRus, amiloide sérica e E-selectina após 3 semanas (Rizza, et al, 2011).

Em relação a ação antioxidante, as flavanonas tem a capacidade de promover a ativação do Nrf2, que é considerado regulador chave da resposta antioxidante do organismo, sendo responsável por induzir a expressão de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase e catalase (Hu et al, 2012; Lee et al, 2015; Parhiz et al, 2015). Em indivíduos diabéticos, a ativação do Nrf2 protege as células β pancreáticas contra vários insultos, mantendo a homeostase da glicose e aumentando a sensibilidade à insulina (Sireesh et al, 2018). Estudo *in vivo*, mostrou que a suplementação com eriocitrina aumentou as enzimas catalase e glutathione no fígado e diminuiu a peroxidação lipídica no sangue, fígado e rins de ratos diabéticos (Minato et al, 2003). Além disso, estudo realizado com 64 diabéticos tipo 2 mostrou que a suplementação com 500 mg/ dia de hesperidina por 6 semanas aumentou os níveis de capacidade antioxidante e reduziu os níveis de malonaldeído (Homayouni et al, 2017).

Assim, com base nas evidências que mostraram ações benéficas dos flavonoides cítricos na resistência à insulina e normalização da glicose sanguínea, a hipótese desse estudo foi que a suplementação de flavonoides cítricos reduz a hiperglicemia e a resistência insulínica, além de exercer ações benéficas no perfil lipídico, nos biomarcadores inflamatórios, hepáticos e renais.

Considerações Finais

A suplementação com flavonoides cítricos por 12 semanas promoveu efeito hipoglicêmico, anti-inflamatório e antioxidante, sugerindo têm ação benéfica no controle glicêmico de indivíduos pré-diabéticos.

Referências

1. Aguilar-Valles A, Inoue W, Rummel C, Luheshi GN. Obesity, adipokines and neuroinflammation. *Neuropharmacology*. 2015; 96:124-34. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.12.023.
2. Ahmadiéh H, Azar ST. The role of incretin-based therapies in prediabetes: a review. *Prim Care Diabetes*. 2014;8(4):286-94. doi: 10.1016/j.pcd.2014.02.005.
3. Al-Rejaie SS, Aleisa AM, Abuhashish HM, Parmar MY, Ola MS, Al-Hosaini AA, Ahmed MM. Naringenin neutralises oxidative stress and nerve growth factor discrepancy in experimental diabetic neuropathy. *Neurol Res*. 2015;37(10):924-33. doi: 10.1179/1743132815Y.0000000079.
4. American Diabetes Association - ADA. Position Statement/ Standards of Medical Care in Diabetes - 2011. *Diabetes Care*. 2011;34(1): S11-S61.
5. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 2018; 41 (1): S13-27. doi:https://doi.org/10.2337/dc18-S002.
6. Assini, JM, Mulvihill, EE, Huff MW. Citrus flavonoids and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2013; 24:34-40.
7. Bagger JI, Knop FK, Lund A, Holst JJ, Vilsbøll T. Glucagon responses to increasing oral loads of glucose and corresponding isoglycaemic intravenous glucose infusions in patients with type 2 diabetes and healthy individuals. *Diabetologia*. 2014;57(8):1720-5.
8. Bagger JI, Knop FK, Lund A, Vestergaard H, Holst JJ, Vilsbøll T. Impaired regulation of the incretin effect in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(3):737-45. doi: 10.1210/jc.2010-2435.
9. Brannick B, Wynn A, Dagogo-Jack S. Prediabetes as a toxic environment for the initiation of microvascular and macrovascular complications. *Experimental Biology and Medicine*. 2016;241(12):1323-1331. doi:10.1177/1535370216654227.
10. 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*. 2017; 22, 903.
11. David H P, Murugesan J, Kavitha T, Flavanone naringenin: An effective antihyperglycemic and antihyperlipidemic nutraceutical agent on high fat diet fed streptozotocin induced type 2 diabetic rats. *journal of functional foods*. 2015; 363–373.
12. Emanuela F, Grazia M, Marco de R, Maria Paola L, Giorgio F, Marco B. Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. *J Nutr Metab*. 2012. doi: 10.1155/2012/476380.
13. Faerch K, Borch-Johnsen K, Holst JJ, Vaag A. Pathophysiology and an etiology of impaired fasting glycaemia and impaired glucose tolerance: does it matter for prevention and treatment of type 2 diabetes? *Diabetologia*. 2009;52(9):1714-23. doi: 10.1007/s00125-009-1443-3.
14. Ferreira PS, Spolidorio LC, Manthey JA, Cesar TB. Citrus flavanones prevent systemic inflammation and ameliorate oxidative stress in C57BL/6J mice fed high-fat diet. *Food Funct*. 2016; 7:2675-81. doi: 10.1039/c5fo01541c.
15. Gastaldelli A, Gaggini M, DeFronzo R. Glucose kinetics: an update and novel insights into its regulation by glucagon and GLP-1. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017;20(4):300-309. doi: 10.1097/MCO.0000000000000384.

16. Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C. Flavonoid composition of Citrus juices. *Molecules*. 2007;12(8):1641-73. Review. PMID: 17960080.
17. González K, Fuentes J, Márquez JL. Physical Inactivity, Sedentary Behavior and Chronic Diseases. *Korean Journal of Family Medicine*. 2017;38(3):111-115. doi:10.4082/kjfm.2017.38.3.111.
18. Habegger KM, Heppner KM, Geary N, Bartness TJ, DiMarchi R, Tschöp MH. The metabolic actions of glucagon revisited. *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6(12):689-97. doi: 10.1038/nrendo.2010.187.
19. Haidari F, Heybar H, Jalali MT, Ahmadi Engali K, Helli B, Shirbeigi E. Hesperidin supplementation modulates inflammatory responses following myocardial infarction. *J Am Coll Nutr*. 2015;34(3):205-11. doi:10.1080/07315724.2014.891269.
20. Hajiaghaalipour F, Khalilpourfarshbafi M, Arya A. Modulation of glucose transporter protein by dietary flavonoids in type 2 diabetes mellitus. *Int J Biol Sci*. 2015;11(5):508-24. doi: 10.7150/ijbs.11241.
21. Holst JJ, Gromada J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;287(2):E199-206. PMID: 15271645.
22. Homayouni F, Haidari F, Hedayati M, Zakerkish M, Ahmadi K. Hesperidin Supplementation Alleviates Oxidative DNA Damage and Lipid Peroxidation in Type 2 Diabetes: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Phytother Res*. 2017;31(10):1539-1545. doi: 10.1002/ptr.5881.
23. Hribal ML, Fiorentino TV, Sesti G. Role of C reactive protein (CRP) in leptin resistance. *Curr Pharm Des*. 2014;20(4):609-15. PMID: 23688010.
24. Hu Q, Zhang DD, Wang L, Lou H, Ren D. Eriodictyol-7-O-glucoside, a novel Nrf2 activator, confers protection against cisplatin-induced toxicity. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(6):1927-32.
25. Jung UJ, Le, MK, Park, YB., Kang, M.A., Choi, M.S. (2006). Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol*, 38 (7) ,1134-45. PMID:16427799.
26. Kim JD, Kang SJ, Lee MK, Park SE, Rhee EJ, Park CY, Oh KW, Park SW, Lee WY. C-Peptide-Based Index Is More Related to Incident Type 2 Diabetes in Non-Diabetic Subjects than Insulin-Based Index. *Endocrinol Metab*. 2016;31(2):320-7. doi: 10.3803/EnM.2016.31.2.320.
27. Lee SE, Yang H, Son GW, et al. Eriodictyol Protects Endothelial Cells against Oxidative Stress-Induced Cell Death through Modulating ERK/Nrf2/ARE-Dependent Heme Oxygenase-1 Expression. Battino M, ed. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(7):14526-14539. doi:10.3390/ijms160714526.
28. Manach C; Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004; 70 (5):727-747.
29. Minato K, Miyake Y, Fukumoto S, Yamamoto K, Kato Y, Shimomura Y, Osawa T. Lemon flavonoid, eriocitrin, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver. *Life Sci*. 2003;72(14):1609-16. PubMed PMID: 12551749.
30. Miyake Y, Shimoi K, Kumazawa S, Yamamoto K, Kinae N, Osawa T. Identification and antioxidant activity of flavonoid metabolites in plasma and urine of eriocitrin-treated rats. *J Agric Food Chem*. 2000; 48(8),3217-24. PMID: 10956094.

31. Miyake Y, Suzuki E, Ohya S, Fukumoto S, Hiramitsu M, Sakaida K, Osawa T, Furuichi Y. Lipid-Lowering Effect of Eriocitrin, the Main Flavonoid in Lemon Fruit, in Rats on a High-Fat and High-Cholesterol Diet. *Journal Food Science*. 2006; 71, S633-S637. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00192.x>.
32. Mulvihill EE, Huff MW. Protection from Metabolic Dysregulation, Obesity, and Atherosclerosis by Citrus Flavonoids: Activation of Hepatic PGC1 α Mediated Fatty Acid Oxidation. *PPAR Res*. 2012.
33. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obes Metab*. 2018;20(1):5-21. doi: 10.1111/dom.13129. Review
34. Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F, Rezaee R, Iranshahi M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytother Res*. 2015;29(3):323-31. doi: 10.1002/ptr.5256.
35. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016; 29. doi: 10.1017/jns.2016.41.
36. Pratley RE. The early treatment of type 2 diabetes. *Am J Med*. 2013;126(9): S2-9. doi: 10.1016/j.amjmed.2013.06.007.
37. Radin MS. Pitfalls in hemoglobin A1c measurement: when results may be misleading. *J Gen Intern Med*. 2014;29(2):388-94. doi: 10.1007/s11606-013-2595-x.
38. Ren B, Qin W, Wu F, Wang S, Pan C, Wang L, Zeng B, Ma S, Liang J. Apigenin and naringenin regulate glucose and lipid metabolism, and ameliorate vascular dysfunction in type 2 diabetic rats. *Eur J Pharmacol*. 2016;15(73):13-23. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.01.002.
39. Rekha SS, Pradeepkiran JA, Bhaskara M. Bioflavonoid hesperidin possesses the anti-hyperglycemic and hypolipidemic property in STZ induced diabetic myocardial infarction (DMI) in male Wistar rats. 2019;15: 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.jnim.2018.12.004>
40. Rizza S, Muniyappa R, Iantorno M, Kim JA, Chen H, Pullikotil P, Senese N, Tesaro M, Lauro D, Cardillo C, Quon MJ. Citrus polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(5): E782-92. doi: 10.1210/jc.2010-2879.
41. Roberts S, Craig D, Adler A, McPherson K, Greenhalgh T. Economic evaluation of type 2 diabetes prevention programmes: Markov model of low- and high-intensity lifestyle programmes and metformin in participants with different categories of intermediate hyperglycaemia. *BMC Medicine*. 2018; 16:16. doi:10.1186/s12916-017-0984-4.
42. Sandeep MS, Nandini CD. Influence of quercetin, naringenin and berberine on glucose transporters and insulin signalling molecules in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed. Pharmacother*. 2017; 94: 605–611.
43. Sireesh D, Dhamodharan U, Ezhilarasi K, Vijay V, Ramkumar KM. Association of NF-E2 Related Factor 2 (Nrf2) and inflammatory cytokines in recent onset Type 2 Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*. 2018; 8:5126.
44. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes sociedade brasileira de diabetes 2017-2018. São Paulo. Editora Clannad, 2017.
45. Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013; 4:93. doi: 10.3389/fendo.2013.00093.

46. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, De Nigris V, Ceriello A. The Possible Role of Flavonoids in the Prevention of Diabetic Complications. *Nutrients*. 2016;8(5):310. doi:10.3390/nu8050310.
47. Tripoli E, Guardia ML, Giammanco S, Majo DD, Giammanco M. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*. 2007; 104:466–479.
48. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia*. 2012;55(9):2319-26. doi: 10.1007/s00125-012-2598-x.
49. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference. Release 2008. Disponível em: Acesso em: 19 mai. 2018
50. Wasserman DH, Wang TJ, Brown NJ. The Vasculature in Prediabetes. *Circ Res*. 2018;122(8):1135-1150. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.311912.
51. Venkatesh P, Jayasingh K, Srikanth K, Siva R. Cross sectional study of microalbuminuria, C-peptide and fundal changes in pre-diabetics. *International Journal of Advances in Medicine*. 2018; 5 (2): 271-275. <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3933.ijam20180943>.
52. Vinayagam R, Xu B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & Metabolism*. 2015; 12:60. doi:10.1186/s12986-015-0057-7.
53. Wilson ML. Prediabetes: Beyond the Borderline. *Nurs Clin North Am*. 2017;52(4):665-677. doi: 10.1016/j.cnur.2017.07.011.
54. Yoshida H, Takamura N, Shuto T, Ogata K, Tokunaga J, Kawai K, Kai H. The citrus flavonoids hesperetin and naringenin block the lipolytic actions of TNF-alpha in mouse adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;394(3):728-32. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.03.060.
55. Zhang WY, Lee JJ, Kim Y, Kim IS, Han JH, Lee SG, Ahn MJ, Jung SH, Myung CS. Effect of eriodictyol on glucose uptake and insulin resistance in vitro. *J Agric Food Chem*. 2012. 8;60(31):7652-8. doi: 10.1021/jf300601z.
56. Zhang, R. Tsao, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects *Current Opinion in Food Science*. 2016; 33-42. doi: 10.1016/j.cofs.2016.02.002
57. Zou C, Shao J. Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. *J Nutr Biochem*. 2008;19(5):277-86. PMID: 18054218.