UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Efeito da administração de sucos de laranja, cvs. Pera e Moro, sobre o estresse oxidativo e perfil de lipídios do plasma em indivíduos obesos com resistência à insulina.

Karina Gama dos Santos

Dissertação para obtenção do título de Mestre
Orientadora: Prof.ª Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto

São Paulo
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Efeito da administração de sucos de laranja, cvs. Pera e Moro, sobre o estresse oxidativo e perfil de lipídios do plasma em indivíduos obesos com resistência à insulina.

Karina Gama dos Santos

Versão Corrigida da Dissertação conforme
Resolução CoPGr 6018/2011

Dissertação para obtenção do título de Mestre
Orientadora: Prof.ª Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto

São Paulo
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletronico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Santos, Karina Gama dos
S237e Efeito da administração de sucos de laranja, cvs. Pera e Moro, sobre o estresse oxidativo e perfil de lipídios do plasma em indivíduos obesos com resistência à insulina / Karina Gama dos Santos. - São Paulo, 2019.
102 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Hassimotto, Neuza Mariko Aymoto

1. estresse oxidativo. 2. lipídeos. 3. obesidade. 4. resistência à insulina. 5. laranja. I. T. II. Hassimotto, Neuza Mariko Aymoto, orientador.

Karina Gama dos Santos

Efeito da administração de sucos de laranja, cvs. Pera e Moro, sobre o estresse oxidativo e perfil de lipídios do plasma em indivíduos obesos com resistência à insulina.

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

_____
Profa. Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto (Orientadora/ Presidente)

_____
1º examinador

_____
2º examinador

_____
3º examinador

São Paulo, ____, _____, 2019.

DEDICATÓRIA

A Deus, por me conceder saúde e força para realizar esta jornada.

Aos meus pais, por serem a base de tudo e meu apoio nos momentos de dificuldades.

AGRADECIMENTOS

"À Deus,
Que nos deu o dom da vida,
Nos presenteou com a liberdade,
Nos abençoou com a inteligência,
Nos deu a graça de lutarmos para a conquista de realizações,
A Ele cabem o louvor e a glória.
A nós só cabe agradecer". (autor desconhecido)

Minha orientadora, Profª Drª Neuza, pela oportunidade e todas as orientações na execução deste projeto, certamente foi fundamental para a minha evolução acadêmica e profissional;

Ao Prof. Franco Lajolo, pelas valiosas contribuições no desenho, execução e análises do projeto;

Ao Food Research Center (FoRC) pelo suporte científico e financeiro;

Aos meus superiores, Drª. Cristiane Kovacs e Dr. Daniel Magnoni do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, por acreditarem no meu trabalho e me encorajar na vida acadêmica;

À Gisele, chefe do laboratório do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, e toda a equipe da coleta, pela colaboração durante a aplicação do protocolo;

Ao Prof. Ronaldo Thomatieli da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) por disponibilizar seu laboratório e apoio técnico durante a coleta de dados e à toda equipe de técnicas do Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (AFIP), em especial à Diva, pelas orientações e apoio diário;

À Prof.ª Dra. Sayuri Miyamoto, Dr. Marcos Yukio Yoshinaga e Dr. Adriano de Britto Chaves Filho, pela parceria na execução da análise lipidômica e todo o apoio na interpretação dos dados e redação;

Aos amigos e colegas que o “Sushibar” me trouxe de presente: Aline, Jéssica, Alessandra, Sara, Jacqueline, Manuela, Tiago e Layanne, que durante este período me ajudaram e ensinaram muito;

Agradeço em especial a Aline, pela parceria durante toda a aplicação do protocolo, sua amizade foi um grande presente que ganhei durante o mestrado.

Também merece um agradecimento especial a Jéssica, que me ajudou muito nas análises de atividade enzimática e toda essa proximidade fortaleceu uma amizade sincera que quero levar ao longo da minha vida;

Agradeço às técnicas Lúcia, Aline, Luciene, Tânia, na execução das análises e por todo o apoio, sempre foram solícitas e fazem seu trabalho com amor;

Aos meus pais, Carlos e Josenete, que me acompanham a cada passo e me dão forças sempre que preciso;

Aos meus irmãos Claudio e Alex, pelas mensagens que me lembram que podemos contar uns com os outros;

Ao meu noivo Jeferson, por me entender nos dias em que não pude estar presente e pelas palavras de encorajamento nos momentos que mais preciso;

Aos meus amigos de faculdade, profissão e da vida, Aline e Cezar, pela paciência em ouvir meus desabafos e pelas palavras que sempre me animaram nos momentos de dificuldades;

Aos colegas e amigos do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, que me deram apoio e orientação nesta jornada, em especial à equipe do ambulatório, Catharina, Priscila e Renata.

Às amigas Marlene, Márcia e Daniela, pessoas sábias, que me aproximam de Deus e com quem adoro conversar e aprender lições de vida;

À todas as pessoas que direta ou indiretamente ajudaram na realização deste trabalho.

“Depois de termos conseguido subir a uma grande montanha, só descobrimos que existem ainda mais grandes montanhas para subir”.

(Nelson Mandela)

RESUMO

SANTOS, K.G. **Efeito da administração dos sucos de laranja, cvs. Pera e Moro, sobre o estresse oxidativo e lipídios plasmáticos em indivíduos obesos com resistência à insulina.** Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A obesidade é um dos principais fatores etiológicos do desenvolvimento da resistência à insulina, e ambos são responsáveis, em parte, pelo aumento do estresse oxidativo e diabete mellitus tipo 2. Vários estudos têm mostrado os benefícios de uma dieta rica em vegetais e frutas, devido à ação dos compostos bioativos sobre os parâmetros clínicos e estresse oxidativo. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos dos sucos de laranja, obtido das variedades Pera e Moro, sobre os marcadores bioquímicos e de estresse oxidativo, em indivíduos com resistência à insulina, classificados através do índice HOMA-IR. Os voluntários foram suplementados durante 15 dias com os sucos de laranja em um ensaio crossover, com washout de 40 dias. Nos dias 0 e 16 de cada ensaio, foram registrados parâmetros antropométricos e de consumo alimentar, e coletadas amostras de sangue e urina pra análises bioquímicas e de estresse oxidativo. A composição de flavonoides entre as variedades de suco foi similar, diferindo no conteúdo de ácido ascórbico e antocianinas do suco de laranja Moro. Não foram observadas mudanças nos parâmetros de estresse oxidativo após a administração dos sucos de laranja, com exceção do 8-OHdG urinário, um marcador de dano oxidativo ao DNA que apresentou-se reduzido após ambas as intervenções. Dados clínicos não foram significativamente modificados, entretanto, observou-se grande variabilidade interindividual nos valores de pressão arterial e lipídios séricos. A partir desta premissa, foi realizada a análise lipidômica do plasma com amostras do ensaio com o suco de laranja cv. Pera e observaram-se reduções significativas nos triglicérides, principalmente aqueles compostos de ácidos graxos saturados ou monoinsaturados, ou contendo ao menos uma cadeia de ácido linoleico, além do aumento de espécies de acilcarnitinas de cadeia longa. O consumo de ambos os sucos de laranja parece exercer um efeito protetor contra o dano oxidativo ao DNA, provavelmente por ação não-enzimática. A análise lipidômica do plasma sugere que o suco de laranja cv. Pera pode modular o metabolismo de lipídios, relacionados à lipogênese de novo e beta-oxidação.

Palavras-chave: resistência à insulina, obesidade, estresse oxidativo, *Citrus sinensis*, análise lipidômica.

ABSTRACT

SANTOS, K. G. **Effect of orange juice administration, cvs. Pera and Moro, on oxidative stress and plasma lipid profile in obese individuals with insulin resistance.** Dissertation (Master's degree) - School of Pharmaceutical Science, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

Obesity is one of the main etiological factors of insulin resistance development, and both are responsible, in part, for the increase on oxidative stress and Diabetes mellitus type 2 development. Several studies have showed the benefits of a diet rich in vegetables and fruits, due to the action of bioactive compounds on biochemical and oxidative stress parameters. The aim of this study was to study the effects of orange juices obtained by varieties Pera and Moro on oxidative stress and clinical biomarkers, in obese subjects with insulin resistance, classified through the HOMA-IR index. The volunteers consumed both orange juices for 15 days with in a crossover design, with 40-day washout period. On days 0 and 16 of each trial, anthropometric and food consumption parameters were registered, and blood and urine samples were collected to analyze biochemical parameters and oxidative stress biomarkers. The flavonoids content of both juices was similar, but only orange juice from Moro variety contained anthocyanins and higher ascorbic acid content. No changes in oxidative stress markers were found after juice administration, except for urinary 8-OHdG, an oxidative DNA damage marker, which was reduced after both interventions. Clinical data were not significantly modified, but a high interindividual difference was observed in blood pressure and serum lipids. From this point of view, plasma lipidomic analysis was performed with samples of clinical trial with orange juice cv. Pera and showed significant decrease in triglycerides, mainly those with saturated or monounsaturated fatty acids, or containing at least one linoleic acid (related with inflammatory processes), besides the increase of long chain acylcarnitines. The intake of both orange juices appears to have a protective effect against DNA damage, probably by non-enzymatic action. Plasma lipidomic analysis suggests that Pera orange juice can modulate lipid metabolism related to de novo lipogenesis and fatty acid beta-oxidation.

Key words: insulin resistance, obesity, oxidative stress, *Citrus sinensis*, lipidomic analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Laranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), cvs. Pera e Moro	**27**
Figura 2	Principais flavanonas identificadas em laranjas	**28**
Figura 3	Principais antocianinas identificadas na laranja sanguínea	**29**
Figura 4	Fluxograma da avaliação, inclusão e acompanhamento dos pacientes no estudo clínico	**37**
Figura 5	Desenho experimental da suplementação de sucos de laranja cvs. Pera e Moro	**38**
Figura 6	Capacidade antioxidante dos sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro, avaliados pelos métodos ORAC (A) e DPPH (B)	**44**
Figura 7	Valores de Delta do perfil lipídico em indivíduos obesos com resistência à insulina, após a intervenção com os sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera (A ao E) e Moro (F ao J)	**48**
Figura 8	Valores de Delta da pressão arterial sistólica e diastólica em indivíduos obesos com resistência à insulina, após a intervenção com os sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera (A e B) e Moro (C e D)	**50**
Figura 9	Capacidade antioxidante plasmática de indivíduos obesos com resistência à insulina, após a intervenção com sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro	**51**
Figura 10	Atividade das enzimas Glutationa Peroxidase e Superóxido Dismutase no plasma (A e B) e células mononucleares do sangue periférico (C e D) após a intervenção com os sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro em indivíduos obesos com resistência à insulina	**51**
Figura 11	8-isoprostano urinário antes e após a ingestão dos sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro, em indivíduos obesos com resistência à insulina	**52**
Figura 12	8-OHdG urinário antes e após a ingestão dos sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro, em indivíduos obesos com resistência à insulina	**53**
Figura 13	Análise multivariada por Análise Discriminante Ortogonal de Mínimos Quadrados Parciais (oPLS-DA) do lipidoma plasmático de pacientes com obesidade e resistência à insulina, antes (G1) e depois	**66**

(G2) da intervenção com suco de laranja

Figura 14 Gráfico Volcano do lipidoma do plasma comparando os indivíduos após (G2) e antes (G1) da intervenção com suco de laranja. **67**

Figura 15 Comparação entre lipidômica (soma das concentrações entre uma subclasse de lipídios) e análises clínicas tradicionais pelas análises de Volcano Plot (G2 versus G1) e Pattern Hunter. **68**

Figura 16 Redução nos níveis de TAG circulantes em indivíduos através do valor de Delta das concentrações, antes (G1) e após (G2) a intervenção com suco de laranja. **69**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização química dos sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro	**43**
Tabela 2	Conteúdo de flavonoides dos sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro	**44**
Tabela 3	Parâmetros bioquímicos e índice HOMA-IR dos indivíduos inclusos no ensaio clínico	**45**
Tabela 4	Consumo de energia e macronutrientes antes e após a intervenção com sucos de laranja em indivíduos obesos com resistência à insulina	**46**
Tabela 5	Variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas antes e após a intervenção com sucos de laranja em indivíduos obesos com resistência à insulina	**47**
Tabela 6	Padrões internos usados na análise lipidômica	**63**
Tabela 7	Espécies de lipídios plasmáticos encontrados, respectivas classes, subclasses e padrões internos utilizados para quantificação, em indivíduos obesos com resistência à insulina suplementados com suco de laranja	**64**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Grau Celsius
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
8-OHdG	8-hidroxi-2’-deoxiguanosina
ACar	Acilcarnitina
ARE	Elementos de Resposta Antioxidante
CA	Circunferência Abdominal
CAT	Catalase
CE	Colesterol Éster
Cer	Ceramida
Chol	Colesterol Livre
CLAE	Cromatógrafo Líquidos de Alta Eficiência
cm	Centímetro
cv.(s)	Cultivar (es)
Da	Dalton
DAG	Diacilglicerol
dL	Decilitro
DM	Diabetes Mellitus
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DPPH	α,α-difenil-β-picrilhidrazina
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra Acético
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
ePC	Monoéster de Fosfatidilcolina
ePE	Monoéster de Fosfatidiletanolamina
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FC	Fold Change
FFA	Ácido Graxo Livre
FUNDECITRUS	Fundo de Defesa da Citricultura
g	Grama

GJ	Glicemia de Jejum
GPx	Glutationa Peroxidase
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
HDAC	Histona Desacetilase
HO•	Radical Hidroxila
HOMA-IR	Modelo de Avaliação da Homeostase-Resistência à Insulina
IJ	Insulina de Jejum
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
kcal	Quilocaloria
Keap1	Proteína Kelch-1 associada à ECH
kg	Quilograma
kV	Quilovolt
L	Litro
LC	Cromatografia Líquida
LysoPC	Lisofosfatidilcolina
m	Metro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
mmHg	Milímetro de Mercúrio
mmol	Mol
mRNA	MicroRNA
MS	Espectrometria de Massas
NADH	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NBT	Azul de Nitrotetrazólio
NF-kB	Fator Nuclear kappa-B
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
NO•	Óxido Nítrico
Nrf2	Fator Nuclear Eritróide 2

O_2•-	Ânion Superóxido
ONOO-	Peroxinitrito
oPLS-DA	Análise Discriminante Ortogonal de Mínimos Quadrados Parciais
ORAC	Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PBMC	Células Mononucleares do Sangue Periférico
PC	Fosfatidilcolina
PE	Fosfatidiletanolamina
PMS	Metossulfato de Fenazina
pH	Potencial Hidrogeniônico
PI	Fosfatidilinositol
pm	Picômetro
psi	Libra-Força por Polegada Quadrada
PVDF	Fluoreto de Polivinilideno
RI	Resistência à Insulina
SM	Esfingomielina
SOD	Superóxido Dismutase
SREBP-1c	Elemento Regulador de Esterol Ligado à proteína 1c
TAG	Triacilglicerol
TLR	Receptores Toll-Like
Tr	Traço
TSS	Teor de Sólidos Solúveis
UA	Unidade de Atividade
UTN	Universal Trial Number
V	Volt
v.	Versão
VIGITEL	Vigilância de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 26

1.1. Obesidade e tecido adiposo 26

1.2. Suco de laranja: compostos bioativos e ações na saúde 27

2. OBJETIVO 30

2.2. Objetivo Geral 30

2.2. Objetivos Específicos 30

SEÇÃO 1: Efeito do consumo a médio prazo de sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro, sobre os biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos obesos com resistência à insulina. 31

3. INTRODUÇÃO 31

4. MATERIAL E MÉTODOS 34

4.1. Material 34

4.2. Métodos 34

4.2.1. Caracterização química dos sucos de laranja 34

4.2.2. Aprovação do Comitê de Ética 36

4.2.3. População de Estudo 36

4.2.4. Desenho do Estudo 37

4.2.5. Consumo alimentar e medidas antropométricas 39

4.2.6. Parâmetros bioquímicos e marcadores de estresse oxidativo 39

4.2.7. Análise Estatística 41

5. RESULTADOS 43

5.1. Caracterização química dos sucos de laranja 43

5.2. Parâmetros bioquímicos, clínicos e dietéticos 45

5.3. Marcadores de Estresse Oxidativo 50

6. DISCUSSÃO 54

7. CONCLUSÃO 58

SEÇÃO 2: Análise lipidômica do plasma de indivíduos obesos com resistência à insulina, após a administração de suco de laranja cv. Pera.....59

8. INTRODUÇÃO 59

9. MATERIAL E MÉTODOS 61

9.1. Material..... 61

9.2. Métodos 61

9.2.1. Análise Lipidômica..... 61

9.3. Análise Estatística 63

10. RESULTADOS 64

11. DISCUSSÃO 71

12. CONCLUSÃO.....75

13. CONCLUSÃO GERAL 76

14. RFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 77

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA 87

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO 89

ANEXO 3 – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS 92

ANEXO 4 – RECORDATÓRIO DE 24 HORAS 94

ANEXO 5 – FICHA DO ALUNO (JANUS).....95

ANEXO 6 – CURÍCULO LATTES 97

1. INTRODUÇÃO

1.1. Obesidade e tecido adiposo

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, resultado de um balanço energético positivo crônico, que pode levar a níveis capazes de afetar a saúde dos indivíduos (GLOBAL BURDEN OF DISEASE, 2017; SOLINAS; BORÉN; DULLOO, 2015). Sua incidência tem aumentado em todo o mundo, atingindo cerca de 12% da população adulta (GLOBAL BURDEN OF DISEASE, 2017). No Brasil, de acordo com os dados do último VIGITEL (Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por Inquérito Telefônico), este número pode atingir 18,9% entre a população adulta (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Constitui um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, contribuindo para a epidemia global de doenças crônicas, como as doenças cardiovasculares, doença hepática gordurosa não alcoólica, diabetes mellitus (DM) tipo 2, certos tipos de câncer e desordens musculoesqueléticas (GLOBAL BURDEN OF DISEASE, 2017; GOOSSENS, 2017).

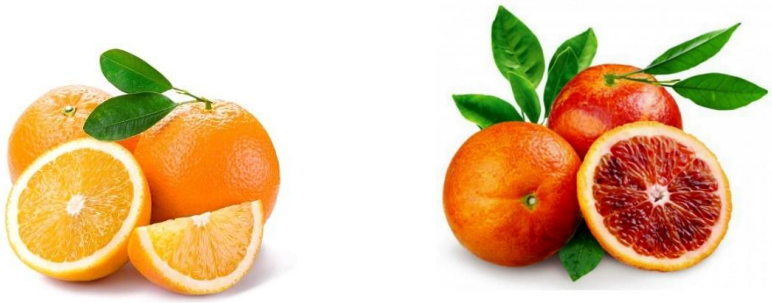
O tecido adiposo, responsável pela deposição de gordura corporal e formado basicamente por adipócitos, pré-adipócitos, macrófagos, células endoteliais e células do sistema imune, tem sido reconhecido como um órgão endócrino envolvido na regulação metabólica sistêmica. Numa condição de obesidade, ocorre hipertrofia do tecido adiposo e alterações na produção de adipocinas, que resultam em desordens metabólicas (LUO; LIU, 2016). De acordo com a localização do tecido adiposo (visceral ou subcutâneo), existem diferenças em sua estrutura e funcionalidade, sendo que o tecido adiposo visceral apresenta grande relação com inflamação e estresse oxidativo, estado metabólico que predispõe ao desenvolvimento de doenças crônicas (SAM; MAZZONE, 2014).

O tratamento da obesidade inclui mudanças no estilo de vida, como dieta, atividade física, terapia cognitivo-comportamental, e em alguns casos, intervenções farmacológicas ou cirúrgicas. Entretanto, mudanças nos hábitos alimentares são um dos

principais alvos, não somente pela restrição calórica, mas por mudanças qualitativas que considerem a adequada distribuição de macro e micronutrientes e o incentivo ao consumo de alimentos *in natura*. O consumo de vegetais e frutas, como parte de uma dieta balanceada, pode promover benefícios à saúde e reduzir o risco de doenças metabólicas associadas à obesidade (FALLICO et al., 2017).

1.2. Suco de laranja: compostos bioativos e ações na saúde

As laranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) podem ser classificadas em dois grupos, de acordo com a sua coloração (BITTERS, 1961). O primeiro grupo refere-se às laranjas douradas, as quais variam entre a coloração amarela e alaranjada e incluem variedades como a Pera (Figura 1), Lima e Valência. O outro grupo, das laranjas sanguíneas, apresenta coloração vermelha intensa (violácea) devido à presença das antocianinas. A laranja sanguínea é uma variedade de laranja doce, pigmentada, típica da Sicília Oriental (localizada no Sul da Itália), Califórnia e Espanha (GROSSO et al., 2013). Existem três tipos mais comuns de laranjas sanguíneas: a Tarocco, a Moro (Figura 1) (ambas originárias da Itália) e a Sanguinello (nativa da Espanha) (FABRONI et al., 2016; FALLICO et al., 2017; GROSSO et al., 2013).



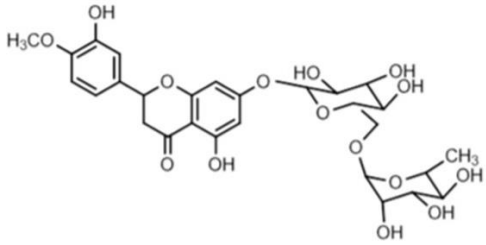
Laranja cv. Pera Laranja cv. Moro

Figura 1. Laranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), cvs. Pera e Moro

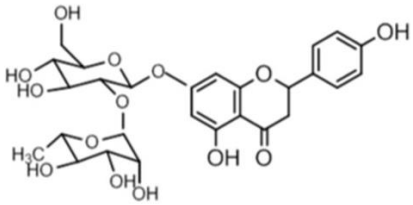
O suco de laranja tem sido alvo de estudos por conter elevadas quantidades de compostos bioativos com potencial na promoção à saúde, tais como o ácido ascórbico,

carotenoides e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos podem ser classificados como fenóis simples ou polifenóis, de acordo com o número de unidades de fenóis na molécula, onde os flavonoides são os mais comumente estudados (GROSSO et al., 2013).

Dentre os flavonoides encontrados em frutas cítricas, as flavanonas hesperidina (hesperitina-7-*O*-rutinosídeo, variando entre 200-600 mg/L), e narirutina (naringenina-7-*O*-rutinosídeo, entre 16-84 mg/L), são os compostos majoritários (Figura 2). Estes dois compostos apresentam propriedades antifúngica, antioxidante, antibacteriana, antiviral, anticancerígena, antialérgica, anti-inflamatória e analgésica (BARRECA et al., 2017; GARDANA et al., 2007). Além das flavanonas, também são encontradas as polimetoxiflavonas, subclasse de flavonoides de citrus, presentes principalmente na casca e que podem ser transferidas para o suco dependendo do processo tecnológico de obtenção do suco de laranja (GATTUSO et al., 2007).



Hesperitina-7-*O*-rutinosídeo



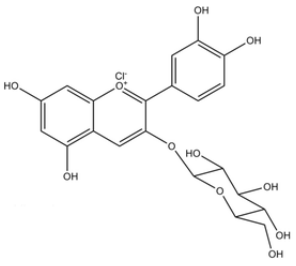
Naringenina-7-*O*-rutinosídeo

Figura 2. Principais flavanonas identificadas em laranjas.

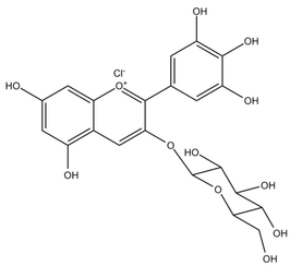
Além das flavanonas, a variedade de laranjas sanguíneas apresenta antocianinas em sua composição (FALLICO et al., 2017; GROSSO et al., 2013), o que pode conferir um efeito adicional de promoção à saúde, quando comparadas a outras laranjas claras. Antocianinas são uma classe de flavonoides que conferem tonalidades que variam do vermelho ao azul a diversas frutas, vegetais, cereais e flores. No gênero Citrus, as antocianinas estão tipicamente presentes na polpa das frutas e, especificamente no grupo das laranjas sanguíneas (FABRONI et al., 2016; GIORDANO et al., 2012).

As principais antocianinas identificadas na laranja sanguínea são a cianidina-3-*O*-glucosídeo, delfinidina-3-*O*-glucosídeo e cianidina-3(6”-malonil)-glucosídeo (Figura

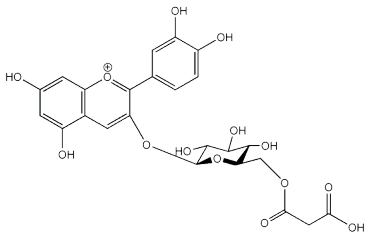
3). O conteúdo de antocianinas varia de acordo com a ordem: laranja cv. Moro > cv. Sanguinello > cv. Tarocco (FALLICO et al., 2017; GIORDANO et al., 2012). Este pigmento tem sido alvo de diversos estudos, devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório, e relacionado à redução do risco de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes mellitus e suas complicações, artrite e câncer (FABRONI et al., 2016; FALLICO et al., 2017). Alguns estudos relatam efeitos sobre a composição corporal, como redução do peso e do tecido adiposo, mas as evidências ainda são controversas (AZZINI; GIACOMETTI; RUSSO, 2017).



Cianidina-3-glucosídeo



Delfinidina-3-glucosídeo



Cianidina-3(6’’-malonil)-glucosídeo

Figura 3. Principais antocianinas identificadas na laranja sanguínea.

Devido ao elevado conteúdo de flavonoides no gênero citrus, a ingestão destes compostos pelo consumo regular da fruta *in natura* ou do suco, pode trazer benefícios ao organismo como a melhora de biomarcadores relacionados a doenças crônicas associadas à obesidade e consequentemente a redução no desenvolvimento destas.

2. OBJETIVO

2.2. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do consumo regular de suco de laranja, obtido dos cvs. Pera e Moro, nos biomarcadores de estresse oxidativo e lipídios do plasma em indivíduos com obesidade e resistência à insulina.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterização química e perfil de flavonoides dos sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro;
- Avaliação dos parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos antes e após a administração dos sucos;
- Investigar a lipidômica do plasma antes e após a administração do suco cv. Pera.

SEÇÃO 1: Efeito do consumo a médio prazo de sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro, sobre os biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos obesos com resistência à insulina.

3. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo é definido como o desequilíbrio entre os agentes antioxidantes e as espécies reativas de oxigênio (EROs) e/ou nitrogênio (ERNs), (FIORENTINO et al., 2013; RUSKOVSKA; BERNLOHR, 2013). As EROs e ERNs são moléculas instáveis e altamente reativas, produtos do metabolismo aeróbico normal da célula (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012; STYSKAL et al., 2012) e consistem de formas radicalares, tais como radical hidroxila (HO•), ânion superóxido (O_2•-) e óxido nítrico (NO•), e não radicalares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ânion peroxinitrito (ONOO-) (RUSKOVSKA; BERNLOHR, 2013).

As EROs e ERNs são subprodutos de importantes atividades biológicas, como produção de energia e proteção contra infecções, porém, sua produção excessiva e prolongada, pode resultar em danos estruturais e funcionais a proteínas, lipídios, carboidratos e ao DNA (ácido desoxirribonucleico) (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012; STYSKAL et al., 2012). Os produtos da oxidação dessas macromoléculas podem ser utilizados como marcadores biológicos para avaliar o estresse oxidativo. Os isoprostanos e o malonaldeído, por exemplo, podem ser usados como marcadores de peroxidação lipídica; e a 8-hidroxideoxiguanosina (8-OHdG) reflete o dano oxidativo ao DNA (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016).

Os antioxidantes são substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos para proteger as células contra os efeitos nocivos das espécies reativas e manter o estado de equilíbrio denominado balanço redox (MATSUDA; SHIMOMURA, 2013; ROCHETTE et al., 2014; RUSKOVSKA; BERNLOHR, 2013). A defesa antioxidante envolve mecanismos enzimáticos pela ação de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutationa peroxidase (GPX) e não enzimáticos, antioxidantes de natureza endógena como a glutationa, e os exógenos, entre eles o ácido ascórbico, o tocoferol e os flavonoides (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012;

ROCHETTE et al., 2014; STYSKAL et al., 2012).

Além da ação direta sobre as EROs/ERNs, os antioxidantes exógenos podem influenciar a resposta antioxidante celular pela via do Nrf2-ARE (fator nuclear eritróide 2 – elementos de resposta antioxidante), a qual modula a ativação de centenas de genes que expressam as enzimas antioxidantes em resposta à condições de estresse (ROCHETTE et al., 2014).

Na obesidade (principalmente visceral) e / ou resistência à insulina (RI), onde existe uma inflamação crônica, a maior ativação da via NF-kB (Fator Nuclear kappa-B) pode interferir na via do Nrf2, por diferentes mecanismos: (1) ao competir pela ligação ao coativador do fator de transcrição; (2) recrutamento da enzima HDAC (histona desacetilase), que desacetila o Nrf2 e reduz sua sinalização; (3) e pela redução da transcrição de genes dependentes do ARE (AHMED et al., 2017; BELLEZZA et al., 2018; MATSUDA; SHIMOMURA, 2013).

Além da redução na expressão de enzimas antioxidantes, é observado o aumento na produção de EROs e expressão de NADPH (nicotinamida adenina nucleotídeo fosfato) oxidase em ratos obesos. O aumento na produção de EROs pode ser proveniente das mitocôndrias durante o processo de produção de energia, devido ao aumento na ingestão de carboidratos e gorduras, e pelas células imunes, em resposta ao aumento do NADPH (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012; RUSKOVSKA; BERNLOHR, 2013; STYSKAL et al., 2012).

O diabetes mellitus tipo 2 é outra doença relacionada com o estresse oxidativo (SILVEIRA; DOURADO; CESAR, 2015); a hiperglicemia e RI, características desta condição, podem também promover o aumento de EROs através de diferentes mecanismos, como o aumento do fluxo de glicose na via do poliol, aumento na formação de produtos de glicação avançada e redução das defesas antioxidantes intracelulares (FIORENTINO et al., 2013).

Indivíduos com sobrepeso / obesidade e eutróficos que receberam suplementação com suco de laranja (750 mL / dia) apresentaram maiores concentrações séricas de vitamina C e folato, e aumento na capacidade antioxidante sérica após 8 dias consecutivos de suplementação, sugerindo um efeito protetor contra a oxidação por sinergia entre os nutrientes e compostos bioativos (SILVEIRA; DOURADO; CESAR,

2015). Rangel-Huerta et al. (2015) também observaram aumento na atividade antioxidante enzimática e redução de marcadores de lipoperoxidação e dano oxidativo ao DNA em um ensaio crossover em indivíduos com sobrepeso ou obesidade suplementados com 500 mL de suco de laranja, com concentrações normais ou elevadas (enriquecido) de polifenóis. Os autores também sugerem que os efeitos são resultados da ação do sistema antioxidante não enzimático e modulação na expressão de enzimas antioxidantes. A modulação na expressão de enzimas antioxidantes pode estar relacionada a ação das flavanonas de citrus. A suplementação de hesperidina (100 mg / kg de peso, durante 90 dias) em ratos (jovens e idosos) aumentou a transcrição de Nrf2 e a expressão de enzimas antioxidantes no tecido cardíaco. Além disso, nos ratos idosos, houve redução na expressão da Keap 1 (Proteína Kelch-1 associada à ECH), a qual permanece no citoplasma associada com o Nrf2 sob condições de balanço redox; seus níveis reduzidos facilitam a translocação do Nrf2 para o núcleo da célula e a ativação da via (ELAVARASAN et al., 2012).

Por outro lado, Azzini et al., (2017), em um estudo piloto com 11 mulheres com sobrepeso ou obesidade, não encontraram diferenças no *status* antioxidante após a suplementação de 500 mL de suco de laranja sanguínea durante 12 semanas. Um estudo crossover com suplementação de suco de laranja sanguínea (600 mL) ou dieta sem suco de laranja durante 21 dias em mulheres saudáveis, encontrou um aumento nas concentrações de antioxidantes no plasma (vitamina C, carotenoides e cianidina-3-glicosídeo), porém sem efeito significativo no *status* antioxidante plasmático e na peroxidação lipídica, com exceção à proteção do dano oxidativo ao DNA em linfócitos, em um dos grupos (RISO et al., 2005). Resultados similares foram encontrados em um ensaio clínico conduzido no nosso grupo, não evidenciando melhora nos parâmetros bioquímicos em indivíduos saudáveis suplementados por 7 dias com suco de laranja (MOREIRA et al., 2018), bem como a atividade antioxidante enzimática não mostrou diferença em indivíduos saudáveis suplementados por 7 dias com sucos de laranja, obtidos dos cvs. Bahia e Cara Cara (dados não publicados).

Considerando que a laranja é uma das principais fontes de flavonoides na dieta Brasileira (ANACLETO; LAJOLO; HASSIMOTTO, 2019) e a importância da produção de citrus no Estado de São Paulo, este estudo objetiva avaliar os efeitos da suplementação de sucos de laranja em parâmetros clínicos e marcadores de estresse oxidativo em indivíduos com obesidade e resistência à insulina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Sucos de laranja (*C. sinensis*) pasteurizados obtidos das cvs. Pera (SLP – Suco de Laranja Pera) e Moro (SLM – Suco de Laranja Moro) foram fornecidos pelo Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS, Araraquara – SP), acondicionados em frascos de 1 litro e congelados em freezer a -20 ºC, até a entrega para os voluntários.

4.2. Métodos

4.2.1. Caracterização química dos sucos de laranja

4.2.1.1. Quantificação de Sólidos Solúveis – Grau Brix (°Brix)

Os teores de sólidos solúveis (TSS) dos sucos de laranja foram avaliados com refratômetro digital portátil (modelo DR 201-95, Kruss, Alemanha).

4.2.1.2. Determinação de fenólicos totais

Para determinação dos fenólicos totais foi utilizado o reagente de Folin-ciocaulteau e ácido gálico como padrão (SWAIN; HILLIS, 1959) e as leituras realizadas em espectrofotômetro (Hewlett Packard, modelo 8453) no comprimento de onda de 765 nm. Os resultados foram expressos como mg/100 mL de suco.

4.2.1.3.Conteúdo de Açúcar

O conteúdo de açúcar foi analisado por cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) acoplado a um detector pulsoamperométrico, usando um sistema one-Dionex DX500 (Dionex, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), equipado com uma coluna CarboPac PA 1 (4 mm x 250 mm, Dionex, Sunnyvale, CA, USA). A fase móvel consistiu de hidróxido de sódio (NaOH) 18 mM, com vazão de 1 mL / min por 25

minutos (SHIGA; LAJOLO; FILISETTI, 2004). A quantificação foi baseada em uma calibração externa usando glicose, frutose e sacarose.

4.2.1.4.Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante dos sucos foi determinada pelo método ORAC (Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio), segundo Prior et al. (2003), e pelo método do sequestro de radical α,α-difenil-β-picrilhidrazina (DPPH), proposto por Brand-Williams; Cuvelier, Berset (1995).

4.2.1.5. Quantificação de Flavonoides

A quantificação de flavonoides foi realizada como descrito em Brasili et al. (2017). Resumidamente, um total de 5 mL de suco de laranja foi centrifugado por 10 min a 4 °C e 7.000 g. O precipitado foi extraído com dimetilsulfóxido (DMSO) (10 mL) durante a noite sob agitação e centrifugado durante 10 min, 7.000 g. O sobrenadante e o extrato de DMSO foram filtrados utilizando um filtro PVDF (fluoreto de polivinilideno) Millex de 0,45 pm (Millipore, Tóquio, Japão). As amostras foram injetadas (10 μL) em um sistema de cromatografia líquida (LC) 1260 Infinity Quaternary (Agilent Technologies, EUA), com injetor automático e bomba quaternária, acoplada a um detector de arranjo de diodos. A eluição dos analitos foi realizada em uma coluna C18 Prodigy 5 μm ODS3 (250 mm × 4,0 mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido), fluxo de 1 mL / min a 25 °C. A fase móvel consistiu em 0,5% de ácido fórmico em água e 0,5% de ácido fórmico em acetonitrila. A identificação dos picos foi realizada pela comparação do tempo de retenção com o padrão de flavonoides hesperidina, narirutina, cianidina-3-glucosídeo e didimina (Extrasynthese, Genay, França). A quantificação foi realizada utilizando curva de calibração externa com os mesmos padrões, a 525 nm para antocianinas e 370 nm para os demais flavonoides.

4.2.2. Aprovação do Comitê de Ética

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (Protocolo 4699/2016; ANEXO 1) e foi formalmente registrado em www.clinicaltrial.gov, sob o UTN (*Universal Trial Number*) U1111-1215-8661. O estudo foi explicado aos participantes através do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) antes da participação (ANEXO 2). Este estudo foi realizado em conjunto com o projeto de doutorado da aluna Aline Alves de Santana, orientada pelo Prof. Dr. Franco Maria Lajolo.

4.2.3. População de Estudo

Foram recrutados pacientes do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (São Paulo, Brasil), entre 40 a 60 anos, ambos os gêneros, com Índice de Massa Corporal (IMC) ≥ 30 kg / m² e hemoglobina glicada (HbA1c) ≥ 5, 7% -6,4% ou glicemia de jejum (GJ) ≥ 100 - 125 mg / dL, condizentes com o risco aumentado para o desenvolvimento de diabetes (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018). Os pacientes que apresentaram os critérios acima descritos realizaram dosagem sérica de insulina de jejum (IJ) e glicemia de jejum para o rastreamento do diagnóstico de resistência à insulina, condição clínica fortemente relacionada ao estresse oxidativo. A RI foi definida de acordo com os critérios propostos pela Sociedade Brasileira de Diabetes (2017), através a equação do índice HOMA-IR (Modelo de Avaliação da Homeostase – Resistência à Insulina) = (IJ (uIU/mL) x GJ (mmol/L))/22,5, com ponto de corte > 2,7 (GELONEZE et al., 2009). A figura 4, apresenta o fluxograma de inclusão dos voluntários no estudo.

Os critérios de exclusão incluem o diagnóstico prévio de diabetes mellitus, presença de doenças gastrointestinais ou disfunções cognitivas, uso de medicamentos anti-inflamatórios ou antibióticos, suplementação com vitaminas, minerais ou antioxidantes, mudanças recentes nos medicamentos ou no padrão de atividade física, incapacidade de responder aos questionários de pesquisa (ANEXO 3) ou realizar as medidas antropométricas.

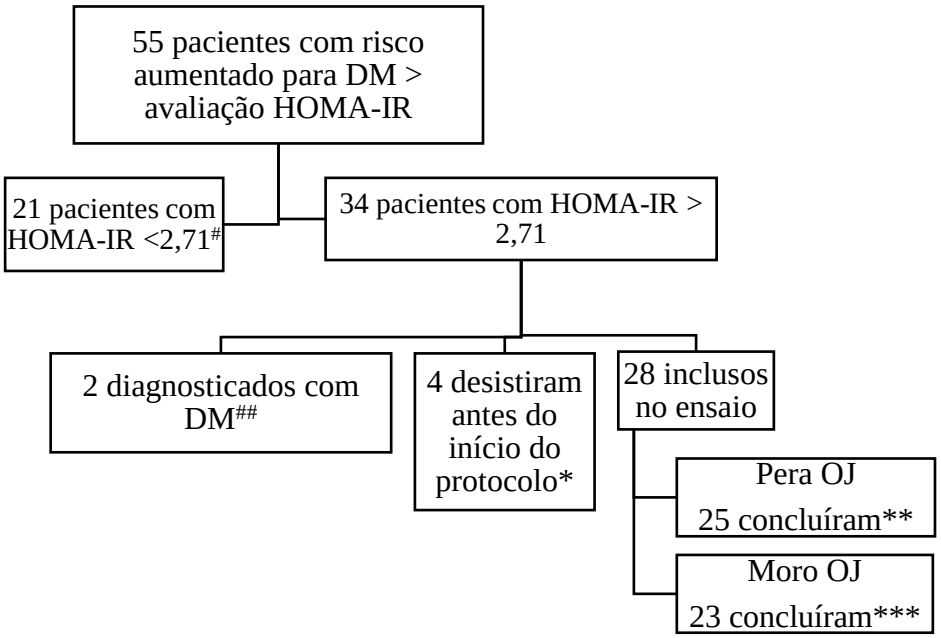


Figura 4. Fluxograma de avaliação, inclusão e acompanhamento dos pacientes no estudo clínico.
Motivos de desistência [n]:
* Hospitalização de familiar [1], mudança de cidade [1], não informado [2];
** Não informado [3];
*** Esquecimento [1], não informado [4];
Encaminhamentos [n]:
7 pacientes foram encaminhados para a nutrição e 14 já realizavam acompanhamento nutricional;
Excluídos do estudo e encaminhados para a endocrinologia e nutrição.

4.2.4. Desenho do Estudo

Em um ensaio clínico cross-over, randomizado, os voluntários (n=28) consumiram 400 mL de sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro, durante 15 dias ininterruptos, com um período de *washout* de 40 dias entre as intervenções (Figura 5). Os indivíduos foram orientados a consumir 200 mL de suco no almoço e jantar.

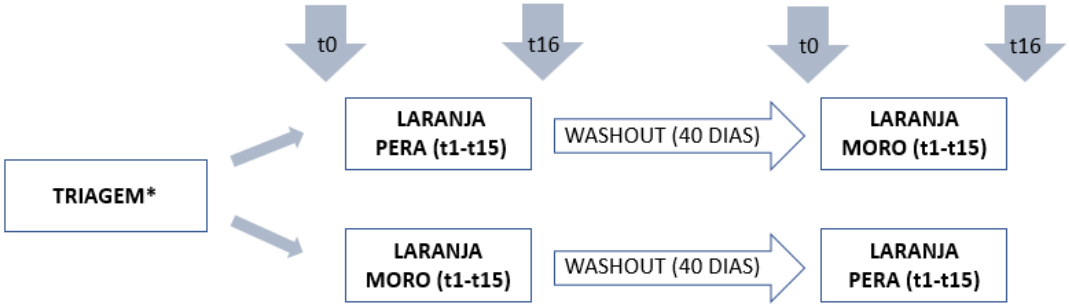


Figura 5. Desenho experimental da suplementação de sucos de laranja cvs. Pera e Moro *****40-60 anos; ambos os gêneros; obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²); HbA1c ≥5,7 - 6,4% ou GJ ≥100 – 125 mg/dL; RI pelo índice HOMA-IR; **t0:** Coleta de sangue, entrega de urina, avaliação do consumo alimentar e avaliação antropométrica antes da suplementação do suco; **t16:** Coleta de sangue, entrega de urina, avaliação do consumo alimentar e avaliação antropométrica após a suplementação do suco; **t1-t15:** período de suplementação do suco (15 dias, 400 mL por dia).

Um dia antes e durante a intervenção, os voluntários foram orientados a não ingerir bebidas alcoólicas e alimentos com quantidades significativas de flavanonas (como frutas cítricas e ervas como a menta) ou antocianinas (açaí, ameixa, amora, cereja, figo, framboesa, uva, maçã, morango, acerola e alguns vegetais como repolho-roxo, batata-roxa e berinjela), bem como suplementos alimentares. Os voluntários foram orientados a manter os padrões usuais de vida, atividade física e sono, durante o período de intervenção.

O sangue e urina (jejum) foram coletados nos tempos t0 (antes) e t16 (depois) de cada intervenção. Os voluntários foram orientados a ingerir a última dose dos sucos 12 horas antes da coleta de sangue. Amostras de sangue foram coletadas em diferentes tubos de acordo com o tipo de análise a ser realizada (fluoreto, EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), heparina e sem anticoagulantes). O sangue foi imediatamente centrifugado a 1.500 g por 10 minutos e o plasma congelado a -80 °C. Amostras de urina também foram congeladas a -80 °C até o momento das análises. O soro foi utilizado para as análises bioquímicas.

As células mononucleares do sangue periférico (PBMC, do inglês, *Peripheral Blood Mononuclear Cell*) foram isoladas do sangue heparinizado utilizando Histopaque

(1077 e 1119)® de acordo com o procedimento proposto por Duthie et al. (2002). As células foram armazenadas a -80 °C em solução de soro bovino fetal com 10% de DMSO (500 µl a cada $3x10^6$ células).

4.2.5. Consumo alimentar e medidas antropométricas

O consumo alimentar foi avaliado através de recordatório alimentar de 24 horas (ANEXO 4), que consiste no relato de todos os alimentos consumidos nas 24 horas do dia anterior à consulta (t0 e t16 de cada ensaio) e suas respectivas quantidades. A distribuição de nutrientes foi calculada através do software Avanutri ®.

A avaliação antropométrica foi realizada através das medidas de peso corporal (kg), altura (m) e circunferência abdominal (CA) (cm), nos tempos t0 e t16 de cada ensaio, sempre sendo realizado pelo mesmo avaliador. Peso e altura foram realizados de acordo com a técnica recomendada por Jelliffe (1967) e os valores obtidos foram utilizados para o cálculo do IMC (kg/m², através da formula: Peso/(altura²)); a classificação do estado nutricional seguiu os critérios da *World Health Organization* (2000).

A circunferência abdominal foi obtida pela medida no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, e avaliada conforme valores de referência da *International Diabetes Federation* (2006). A pressão arterial foi aferida através de um aparelho de pressão semiautomático (BPA50 - G-Tech®), conforme protocolo proposto pela 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016).

4.2.6. Parâmetros bioquímicos e marcadores de estresse oxidativo

4.2.6.1. Análises Bioquímicas

A glicemia de jejum, colesterol total e frações foram analisados por método colorimétrico. O LDL-colesterol e VLDL foram determinados pela equação de Friedwald. As análises de insulina e hemoglobina glicada foram realizadas por quimioluminescência e imunoturbidimetria, respectivamente.

4.2.6.2. Atividade antioxidante do plasma

A atividade antioxidante do plasma foi avaliada conforme o método ORAC, de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.2.

4.2.6.3. Atividade da Superóxido Dismutase

A atividade da SOD foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Ewing; Janero (1995). Amostras de plasma e PBMC (0.024 μg / μL de proteína) foram adicionadas a uma microplaca contendo 200 μL do meio de reação (500 μL de NBT (azul de nitrotetrazólio), 730 μL de NADH (dinucleótido de nicotinamida e adenina) e 8,77 mL de fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,4 com EDTA 1 mM). Então, 25 μL do reagente de cor metossulfato de fenazina (PMS) foi adicionado e a leitura de absorbância realizada durante 6 minutos a 26 °C, com 60 segundos de intervalo, a 560 nm, usando um leitor de microplaca Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, USA). Os resultados foram expressos em Unidade de Atividade (UA) por mg de proteína, usando uma curva padrão de SOD (0,69 a 22,15 U SOD / mg de proteína) (Sigma, S8160).

4.2.6.4. Atividade da Catalase

A atividade da CAT foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Bonaventura et al. (1972). Amostras de plasma e PBMC (0,05 μg / μL proteína) foram adicionadas à microplaca de quartzo contendo 140 μl de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,4 com 10% de EDTA 1 mM e 40 μl de H_2O_2 30 mM. A leitura de absorbância foi realizada durante 8 minutos, com intervalos de 45 segundos entre as medidas), a 30 °C e 240 nm, usando um leitor de microplaca Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, USA). Os resultados foram expressos em UA por mg de proteína, a partir de uma curva padrão com concentrações conhecidas de CAT (14,47 a 0,44375 UA CAT / mg de proteína (Sigma, C9322).

4.2.6.5. Atividade da Glutationa Peroxidase

A atividade da enzima GPx foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Flohé; Günzler (1984). Amostras de plasma e PBMC (2 µg / µl de proteína) foram adicionadas em uma microplaca de quartzo contendo 125 µl de tampão fosfato de potássio, pH 7,4, com EDTA 1 mM, 5 µl de glutationa reduzida e 5 µl de glutationa redutase. A placa foi inicialmente incubada a 37 °C por cinco minutos e então, adicionados 5 µl de solução de terc-butil hidroperóxido e 30 µl de NADPH 1,2 mM. A leitura de absorbância foi realizada a 37 °C durante 4 minutos, a 340 nm, em um leitor de microplaca Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, USA). Os resultados foram expressos em UA por mg de proteína, a partir de uma curva padrão com concentrações conhecidas de GPx (1,5 a 50,0 U GPx / mg de proteína) (Sigma, G6137).

4.2.6.6. Conteúdo de 8-isoprostanos

A quantificação de 8-isoprostanos foi realizada com kit comercial de imunoensaio enzimático (*8-Isoprostane* ELISA kit, Cayman Chemical, USA) em amostras de urina. Os resultados foram expressos como ng/mg de creatinina.

4.2.6.7. Conteúdo de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG)

O dano oxidativo ao DNA foi medido pela quantificação de 8-OHdG, com kit comercial (*New 8-OHdG Check*, Jaica, Japan), baseado em um imunoensaio enzimático competitivo (ELISA) em amostras de urina. Os resultados foram expressos como ng/mg de creatinina.

4.2.7. Análise Estatística

A estatística descritiva e analítica foi realizada através do software SPSS®, versão 20.0, com análise ANOVA de uma via de medidas repetidas para os dados

paramétricos, e Friedman para os dados não paramétricos, com pós-teste de Tukey. Para as análises de comparação da atividade antioxidante dos sucos de laranja, o teste-t de Student foi usado para dados paramétricos, e Wilcoxon para os dados não paramétricos.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização química dos sucos de laranja

O conteúdo total de açúcar foi similar em ambos os sucos (Tabela 1). A sacarose é o principal açúcar contribuindo com cerca de 50% e 40% do total de açúcares (sucos de laranja cvs. Pera e Moro, respectivamente). O conteúdo de vitamina C do suco de laranja Moro (SLM) é duas vezes maior quando comparado ao suco Pera (SLP).

Tabela 1. Caracterização química dos sucos de laranja obtidos das cvs. Pera e Moro (valores/100 mL de suco)

	SLP	**SLM**
TSS (°Brix)	9,50 ± 0,00	10,00 ± 0,00
Fenólicos totais (mg)	50,31 ± 0,00	60,75 ± 0,01
Energia (kcal)	24,60*	25,56*
Açúcares Solúveis (g)		
Sacarose	3,10 ± 0,25	2,80 ± 0,25
Frutose	1,56 ± 0,10	1,90 ± 0,15
Glicose	1,50 ± 0,08	1,69 ± 0,18
Total	6,15 ± 0,42	6,39 ± 0,58
Ácido Ascórbico (mg)	16,00 ± 1,5	32 ± 2,6

Valores expressos como média ± desvio padrão; *valor calórico calculado a partir do conteúdo de açúcares. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro

Ambos os sucos apresentam conteúdo similar de flavonoides totais. Os principais compostos identificados em ambos os sucos foram as flavanonas hesperidina e narirutina, em sua maioria na fração insolúvel (~90%). Além disso, o suco de laranja Moro apresenta a cianidina-3-*O*-glicosídeo como a principal antocianina (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo de flavonoides de sucos de laranja obtidos das cvs. Pera e Moro

Compostos	**SLP**		**SLM**	
	Sobrenadante	**Pellet**	**Sobrenadante**	**Pellet**
Narirutina	0,25 ± 0,03	1,79 ± 0,08	0,14 ± 0,02	0,40 ± 0,07
Hesperidina	1,26 ± 0,44	28,40 ± 1,52	1,48 ± 0,20	22,29 ± 2,11
Didimina	Tr*	Tr*	0,42 ± 0,02	7,59 ± 0,42
Total	**1,51**	**30,19**	**2,04**	**30,28**
Cianidina-3-*O*-glicosídeo	-		2,73 ± 0,08	
Cianidina-3-*O*-(6″-malonil glicosídeo)**	-		0,77 ± 0,03	
Antocianinas Totais	**-**		**3,5**	
Flavonoides Totais	**31,71**		**35,82**	

Valores expressos em mg / 100 mL de suco (média ± desvio padrão); * tr: traço; ** Equivalente de cianidina-3-*O*-glicosídeo. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro

A capacidade antioxidante dos sucos avaliada pelos métodos ORAC e DPPH é apresentada na Figura 6. O SLM apresenta maiores valores de capacidade antioxidante do que o SLP nas duas análises (p=0,018 e 0,004, respectivamente)

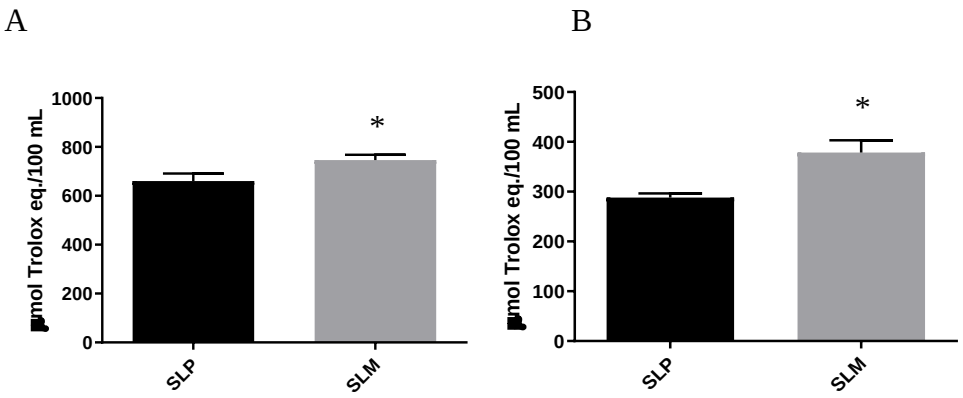


Figura 6: Capacidade antioxidante dos sucos de laranja obtidos das cvs. Pera e Moro, avaliados pelos métodos ORAC (A) e DPPH (B); Valores expressos como média ± desvio padrão; SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

5.2. Parâmetros bioquímicos, clínicos e dietéticos

Foram inclusos no estudo 28 voluntários com média de idade de 55 ± 3,57 anos e parâmetros bioquímicos correspondentes com o risco aumentado para o desenvolvimento de diabetes, como glicemia de jejum de 101 ± 10,87 mg/dL e HbA1c de 5,97 ±0,32 % (Tabela 3). Dos 28 voluntários inclusos no estudo, apenas 23 completaram o ensaio clínico completo, sendo 7 homens (30%) e 16 mulheres (70%).

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos e índice HOMA-IR de voluntários inclusos no ensaio clínico

	Valor	**Valores de Referência**	
		Referência	**Pré-diabetes**
Idade (anos)	55,57 ± 3,57	-	-
Glicemia (mg/dL)	101 ± 10,87	< 99*	100 - 125*
Insulina (Uiu/mL)	16,43 ± 3,76	1,9 - 23*	-
HbA1c (%)	5,97 ± 0,32	<5,7*	5,7 - 6,4*
HOMA-IR	4,06 ± 0,87	≤ 2,71**	-

Valores expressos como média ± desvio padrão; n= 28 indivíduos; HbA1c: Hemoglobina glicada; HOMA-IR: Modelo de Avaliação da Homeostase – Resistência à insulina (*AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018; **GELONEZE et al., 2009).

Os recordatórios alimentares de 24 horas foram calculados para verificar a ingestão calórica e distribuição de macronutrientes e fibras. Não houveram mudanças significativas na ingestão alimentar quando comparados os tempos t0 e t16 após intervenção (Tabela 4). A média calórica variou entre 1180 a 1492 kcal e em todas as coletas parece haver um consumo mais elevado de ácidos graxos saturados, em relação aos monoinstaurados e poliinsaturados.

Não foram observadas modificações nos parâmetros antropométricos antes e após a intervenção com os sucos de laranja (Tabela 5). A média do IMC da população foi de 36 kg / m², correspondente à classificação de obesidade grau 2 e a média dos valores de CA, correspondentes ao risco cardiovascular muito elevado.

Tabela 4. Consumo de energia e macronutrientes antes e após a intervenção com sucos de laranja em indivíduos obesos com resistência à insulina.

Variáveis	Pré - SLP	Pós - SLP	Pré - SLM	Pós - SLM	p
Energia (kcal)	1180,33 ± 529,23	1492,66 ± 550,86	1269,52 ± 497,28	1373,16 ± 507,65	0,283
Carboidratos (g)	175,79 ± 84,68	220,48 ± 82,37	176,67 ± 70,17[a]	195,68 ± 95,02	0,015
Proteínas (g)	54,84 ± 27,24	65,27 ± 34,20	65,25 ± 46,10	58,93 ± 31,64	0,835
Lipídios (g)	43,87 ± 27,97	38,09 ± 23,02	34,47 ± 22,95	38,43 ± 17,76	0,498
AG Saturados (g)	10,68 ± 7,80	10,12 ± 8,66	10,27 ± 9,19	9,61 ± 7,54	0,725
AG Monoinsaturados (g)	10,41 ± 8,79	8,92 ± 7,72	9,47 ± 8,69	8,56 ± 6,31	0,622
AG Poliinsaturados (g)	8,17 ± 10,47	5,62 ± 4,70	6,12 ± 6,75	5,65 ± 4,06	0,169
Colesterol (mg)	177,90 ± 125,74	223,17 ± 195,18	199,10 ± 192,60	162,83 ± 141,06	0,906
Fibra (g)	11,42 ± 8,15	11,42 ± 6,48	11,12 ± 5,61	8,76 ± 4,55	0,186

Valores expressos como média ± desvio padrão; n=23 indivíduos; AG: ácidos graxos; SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro; [a]: diferença significativa entre Pós-SLP x Pré-SLM

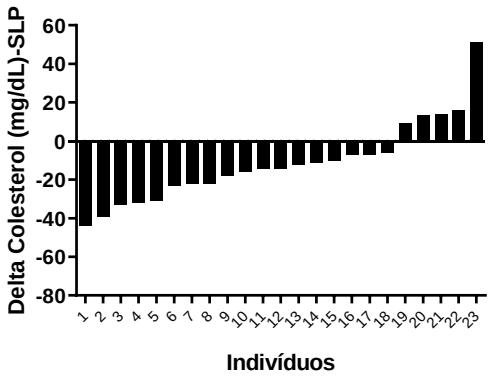
T**abela 5.** Variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas antes e após a intervenção com sucos de laranja em indivíduos obesos com resistência à insulina.

	Referência*	**Pré - SLP**	**Pós - SLP**	**Pré - SLM**	**Pós - SLM**	**p**
Peso (kg)	-	94,50 ± 13,03	94,60 ± 13,06	93,70 ± 12,60	93,52 ± 12,90	0,529
IMC (kg/m²)	-	36,69 ± 6,04	36,68 ± 5,94	36,34 ± 5,65	36,25 ± 5,60	0,274
CA (cm)	< 80 homem < 90 mulher	114,93 ± 10,21	114,85 ± 9,15	114,87 ± 8,45	115,17 ± 9,19	0,903
PAS (mmHg)	≤ 120	128,57 ± 14,31	125,83 ± 16,52	133,04 ± 11,73	126,26 ± 13,31	0,091
PAD (mmHg)	≤ 80	81,96 ± 11,47	78,52 ± 12,38	81,70 ± 9,50	80,65 ± 11,68	0,277
GJ (mg/dL)	< 100	94,78 ± 9,35	94,70 ± 6,71	96,95 ± 7,99	96,96 ± 6,98	0,065
TAG (mg/dL)**	< 150	158,91 ± 47,16	140,30 ± 54,36	166,39 ± 81,68	153,09 ± 58,29	0,194
CT (mg/dL)**	< 190	186,61 ± 35,12	177,04 ± 32,15	195,17 ± 40,37[a]	184,91 ± 37,70	0,013
LDL (mg/dL)**	< 100	108,13 ± 32,73	105,26 ± 32,81	115,57 ± 39,60	110,09 ± 37,23	0,259
HDL (mg/dL)**	> 40	46,70 ± 10,09	44,09 ± 7,74	47,00 ± 8,48	44,87 ± 8,61	0,053
VLDL (mg/dL)**	< 50	31,61 ± 9,69	28,04 ± 10,85	31,04 ± 12,18	30,65 ± 11,71	0,151

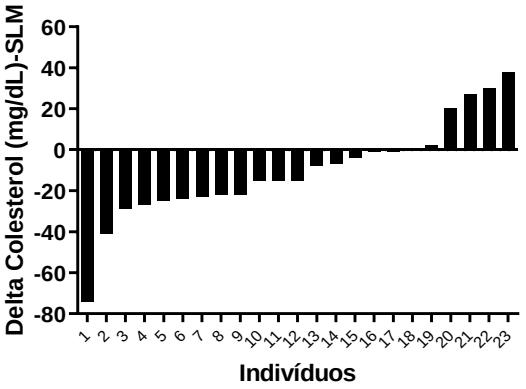
Valores expressos como média ± desvio padrão; n = 23 indivíduos; SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro; IMC: índice de massa corporal; CA: circunferência abdominal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; GJ: glicemia de jejum; TAG: triglicérides; CT: colesterol total; LDL: LDL-colesterol; HDL: HDL-colesterol; VLDL: VLDL-colesterol; [a]: diferença significativa entre Pós-SLP x Pré-SLM; *INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2006; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017; SOCIEDADE BRASILERA DE CARDIOLOGIA, 2016, 2017; Valores de referência utilizados correspondem aos utilizados para indivíduos de risco cardiovascular intermediário.

Entre os voluntários, 86% apresentaram diagnóstico de dislipidemia e 71% utilizavam medicamentos hipolipemiantes, da classe das estatinas. Apesar de não terem sido observadas alterações significativas nos exames bioquímicos da população, verificou-se uma alta variabilidade interindividual no perfil lipídico (Figura 7).

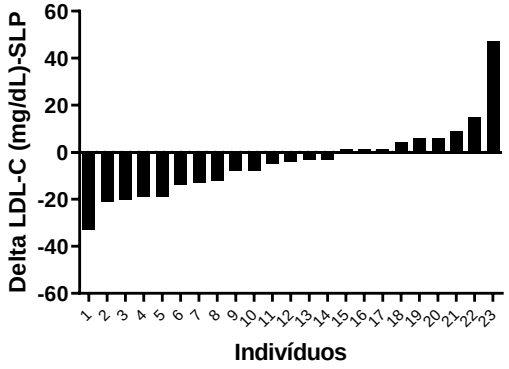
A



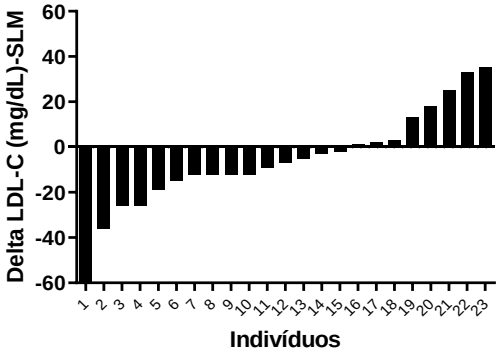
F



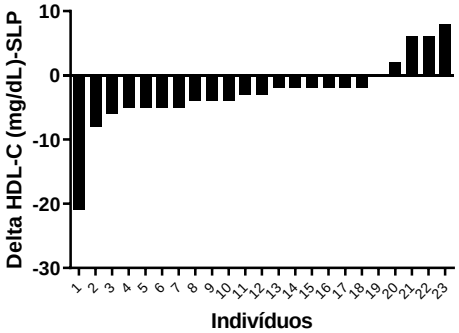
B



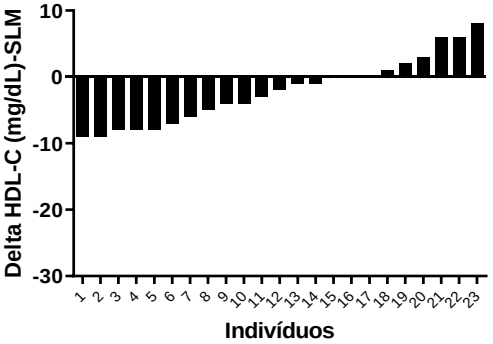
G



C



H



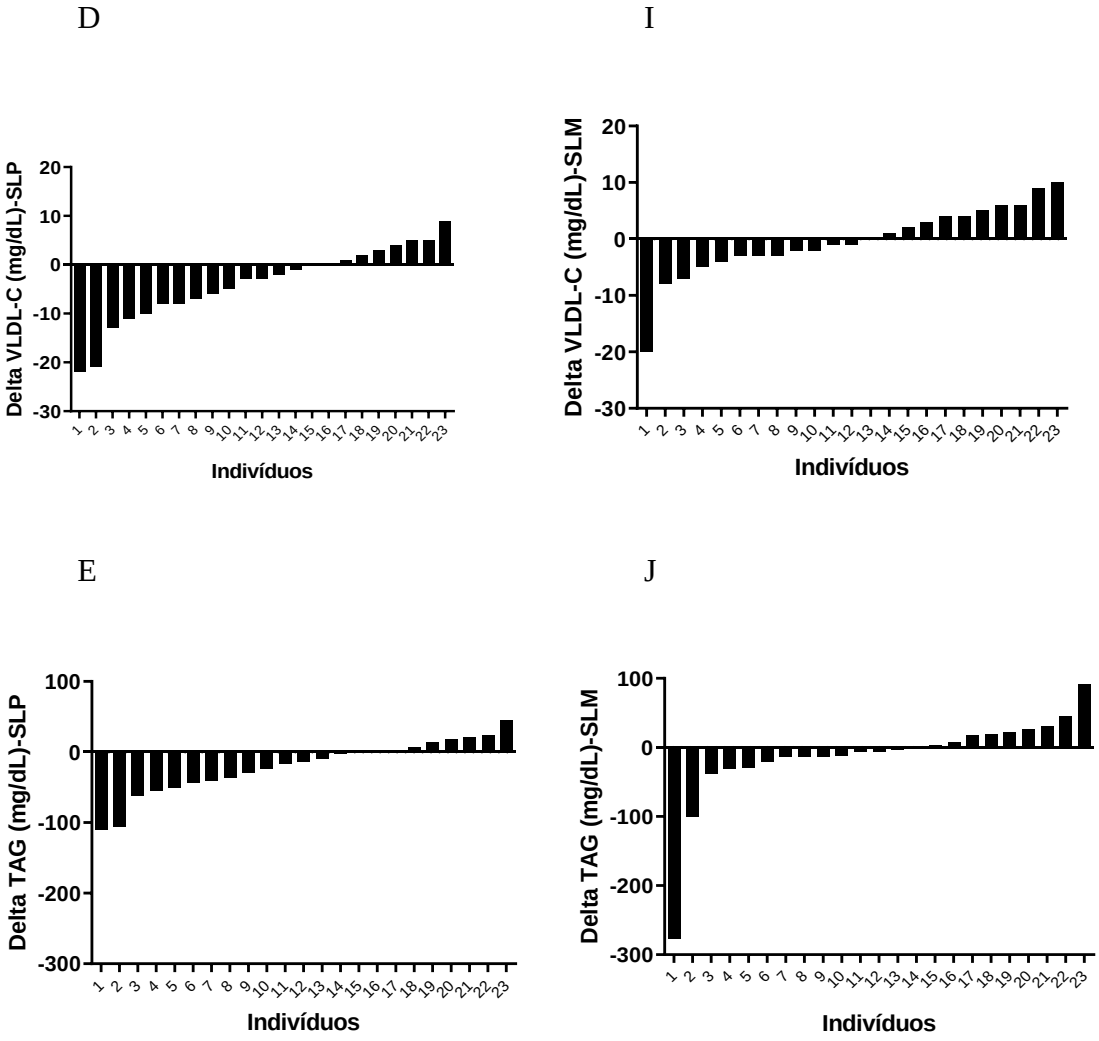


Figura 7: Valores de Delta do perfil lipídico em indivíduos obesos com resistência à insulina, após intervenção com sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera (A ao E) e Moro (F ao J); Colesterol: colesterol total; LDL-C: LDL-colesterol; HDL-C: HDL-colesterol; VLDL-C: VLDL-colesterol; TAG: triglicérides. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

Da mesma forma, 89% dos voluntários apresentavam diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica e 93% foram tratados com ao menos uma classe de medicamentos anti-hipertensivos, incluindo betabloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores dos canais de cálcio, bloqueadores do receptor de angiotensina II e diuréticos. Não foram verificadas mudanças significativas na pressão arterial após a ingestão dos sucos de laranja, entretanto, quando avaliamos o efeito individual, é possível observar que determinados indivíduos apresentaram redução nos valores de pressão arterial em ambas as intervenções (Figura 8).

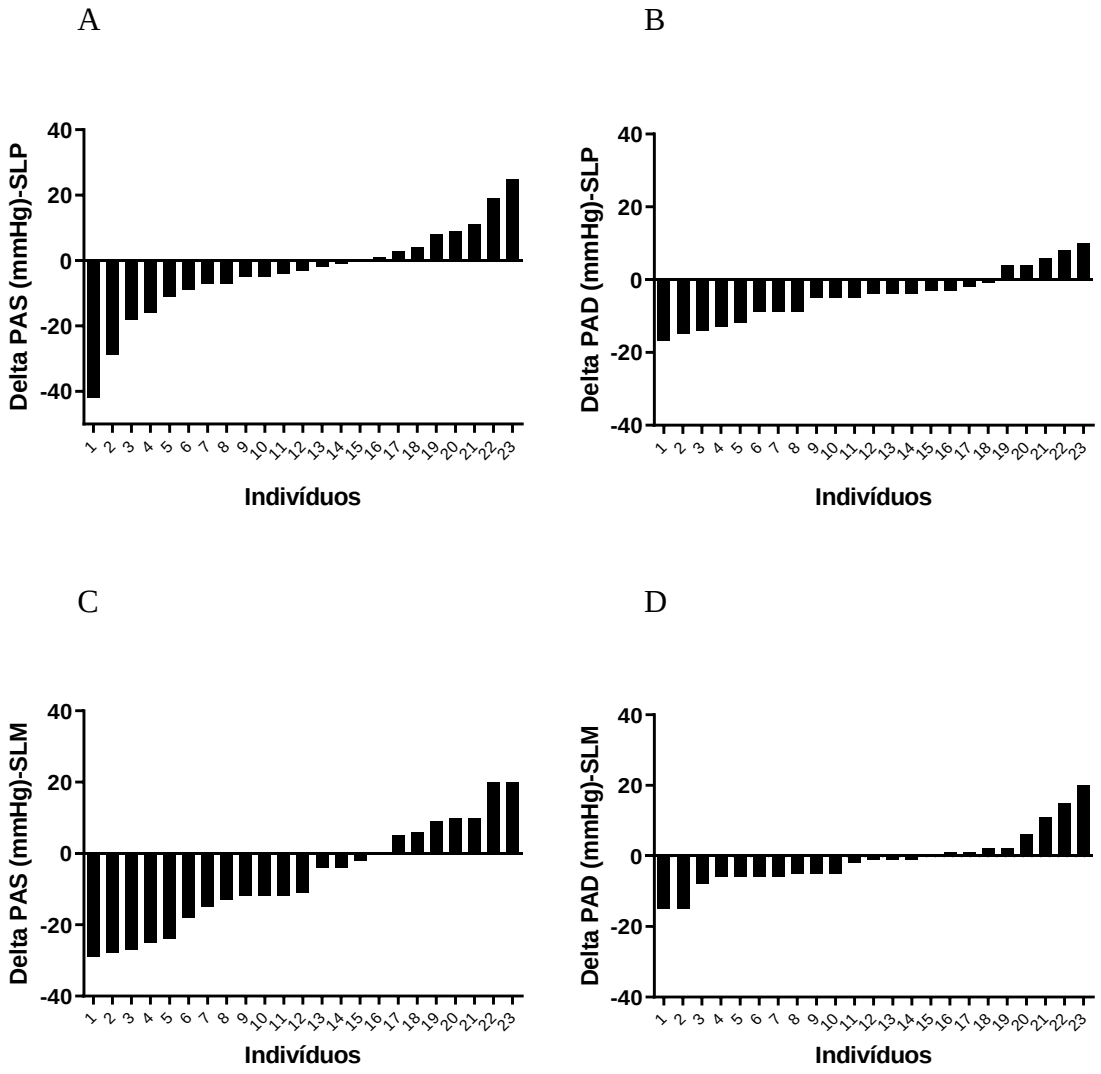


Figura 8: Valores de Delta da pressão arterial sistólica e diastólica em indivíduos obesos com resistência à insulina, após intervenção com sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera (A e B) e Moro (C e D). SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

5.3. Marcadores de Estresse Oxidativo

Não foram observadas diferenças significativas na capacidade antioxidante plasmática avaliada pelo método ORAC (Figura 9), após a ingestão do suco de laranja.

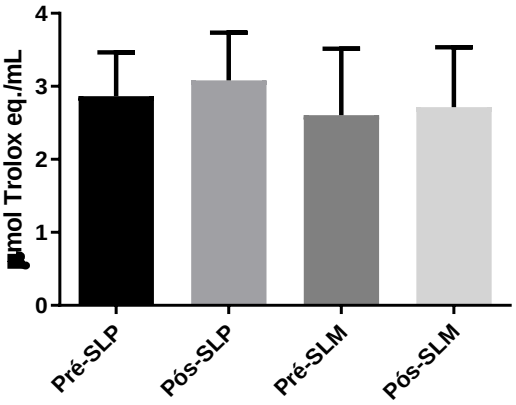
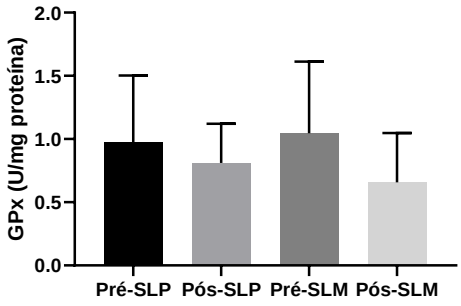


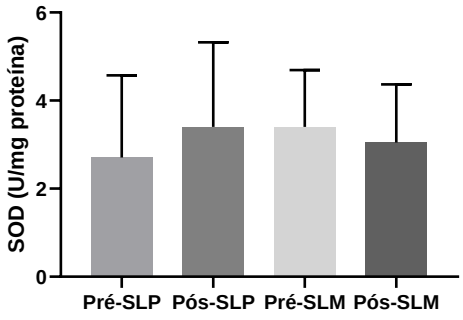
Figura 9. Capacidade antioxidante plasmática (ORAC) de indivíduos obesos com resistência à insulina, após a intervenção com sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro. Valores expressos como média ± desvio padrão. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

De maneira similar, a atividade das enzimas GPx e SOD no plasma (A e B) e PBMC (C e D), não mostraram diferenças significativas antes e após as intervenções (Figura 10). Não foi detectada atividade da enzima CAT no plasma ou PBMC.

A



B



C D

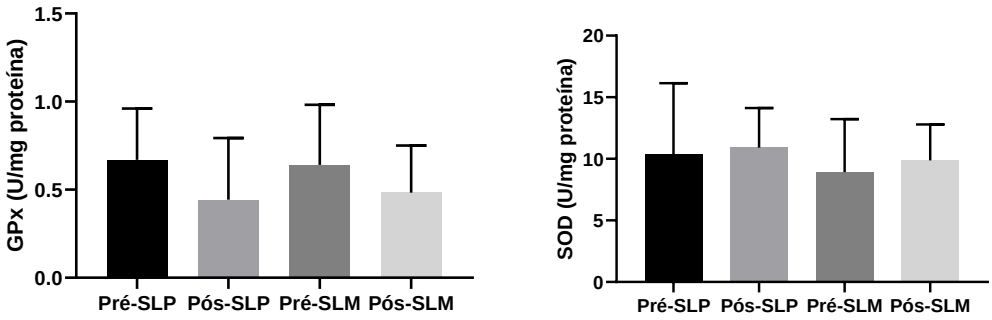


Figura 10. Atividade das enzimas Glutationa Peroxidase e Superóxido Dismutase no plasma (A e B) e células mononucleares do sangue periférico (C e D) após a intervenção com os sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro em indivíduos obesos com resistência à insulina. Valores expressos em média ± desvio padrão. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

Os sucos de laranja também não influenciaram os níveis de 8-isoprostano urinário, um biomarcador da peroxidação lipídica (Figura 11).

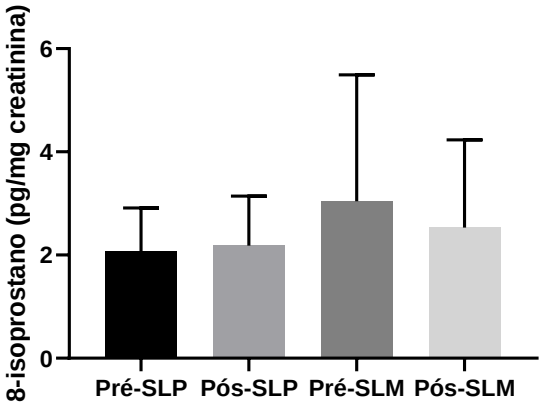


Figura 11. 8-isoprostano urinário antes e depois da administração dos sucos de laranja obtidos dos cvs. Pera e Moro, em indivíduos obesos com resistência à insulina. Valores expressos como média ± desvio padrão. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

Por outro lado, o 8-OHdG foi o único biomarcador relacionado ao estresse oxidativo analisado no estudo que apresentou uma diferença significativa ($p<0,05$) após a intervenção com ambos os sucos de laranja (Figura 12).

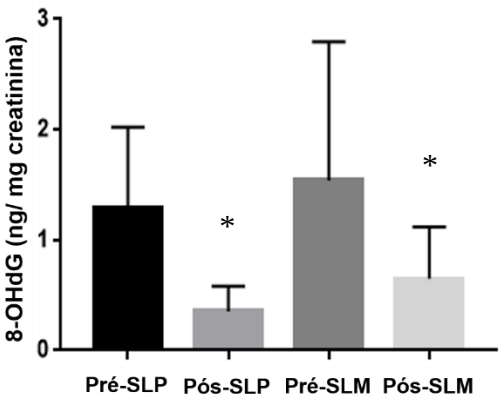


Figura 12: 8-OHdG urinário antes e após a ingestão dos sucos de laranja, obtidos dos cvs. Pera e Moro, em indivíduos obesos com resistência à insulina. Valores expressos em média ± desvio padrão. SLP: suco de laranja cv. Pera; SLM: suco de laranja cv. Moro.

6. DISCUSSÃO

Os sucos de laranja apresentaram conteúdos similares de açúcares, contribuindo igualmente para o acréscimo no valor energético nos dois ensaios. O SLM apresentou conteúdo de vitamina C duas vezes superior quando comparado ao SLP, e maior quantidade de fenólicos totais (pela presença de antocianinas), podendo ter influenciado na maior capacidade antioxidante observada para o SLM, em ambos os métodos (ORAC e DPPH). A utilização de mais de um ensaio para avaliação da capacidade antioxidante de uma fonte alimentar é uma alternativa importante, considerando-se a dificuldade em mensurar os componentes antioxidantes separadamente e as interações entre diferentes componentes em um sistema biológico (SINGH; SINGH, 2008).

Os voluntários apresentaram parâmetros clínicos compatíveis com o perfil de resistência à insulina, que não é considerada uma doença, mas sim, um fator de risco para o diabetes mellitus e doenças cardiovasculares. Essa condição é associada à obesidade (principalmente visceral), dislipidemia e hipertensão arterial, fatores característicos da população estudada (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018).

Os valores de ingestão de energia observados pelos recordatórios de 24 horas apresentaram médias entre 1200 e 1500 kcal, aproximadamente. Considerando que o desequilíbrio energético, caracterizado pelo aumento do consumo calórico e/ou diminuição do gasto energético, constitui um dos principais fatores ambientais relacionados à etiologia da obesidade (ABESO, 2016) e que indivíduos obesos tendem a subrelatar a ingestão alimentar (BLUNDELL; GILLETT; JOHN, 2001; HEITMANN; LISSNER; HEITMANN, 1995), é possível que os valores energéticos calculados pelos recordatórios de 24 horas estejam subestimados.

A manutenção dos valores antropométricos e glicêmicos corrobora com os dados de um recente artigo de revisão, que reforça o aspecto multifatorial do tratamento da obesidade, que geralmente compreende redução da ingestão calórica, prática de atividade física, mudanças comportamentais e de estilo de vida e tratamento farmacológico (AZZINI et al., 2017). Além disso, a combinação de dieta hipocalórica e ingestão de suco de laranja não afeta a perda de peso e pode ser um aliado para o

tratamento, por melhorar os parâmetros metabólicos, como sensibilidade à insulina e inflamação, além de melhorar a qualidade da dieta, aumentando os níveis de vitamina C e folato (RIBEIRO; DOURADO; CESAR, 2017).

Apesar de as intervenções com os dois sucos não promoverem alterações nos parâmetros bioquímicos, a avaliação individual mostra que muitos voluntários obtiveram reduções nas frações lipídicas e pressão arterial. Estudos sugerem que os lipídios plasmáticos podem ser influenciados pelas flavanonas presentes nas frutas cítricas, com redução do colesterol total, LDL-colesterol e triglicérides, e até mesmo aumento no HDL-colesterol. Entretanto, os resultados são controversos, o que pode ser explicado pela variação na absorção e metabolização entre indivíduos (BARRECA et al., 2017; KHAN; ZILL-E-HUMA; DANGLES, 2014; TESTAI; CALDERONE, 2017), e portanto, na bioatividade.

Variações na biodisponibilidade de polifenóis e em suas respostas biológicas podem ser explicadas por fatores interindividuais, como polimorfismos genéticos, microbiota intestinal, sexo, idade, estilo de vida, estado metabólico, presença de doenças, entre outros. No entanto, como a variável específica responsável pela resposta interindividual não está clara, as recomendações baseadas na população para estimular o consumo de frutas, legumes e grãos integrais permanecem (MANACH et al., 2017; MILENKOVIC et al., 2017).

A bioatividade dos compostos depende de como eles são absorvidos e metabolizados. A absorção de flavanonas de citrus pode ser afetada por vários fatores, como o processamento tecnológico e variáveis antropométricas. As flavanonas cítricas das laranjas, narirutina e naringenina-7-O-rutinosídeo, são absorvidas no intestino grosso após deglicosilação mediada por bactérias colônicas e encontram-se em circulação como metabólitos de fase 2, principalmente como conjugados glicuronídeo e sulfato (PEREIRA-CARO et al., 2014). Além disso, as bactérias do intestino clivam o anel de flavanonas produzindo vários ácidos fenólicos excretados na urina em quantidades de até 88% da ingestão de polifenóis da laranja (PEREIRA-CARO et al., 2014). Assim, a biodisponibilidade das flavanonas da laranja é dependente da microbiota intestinal e mudanças no perfil da microbiota poderia ter profunda influência na absorção.

Dessa forma, indivíduos foram estratificados em altos, médios e baixos excretores de metabólitos de flavanonas após a ingestão de uma dose de suco de laranja, o que reforça a influência da microbiota intestinal (TOMÁS-NAVARRO et al., 2014), e também poderia explicar a grande variabilidade interindividual nos parâmetros bioquímicos observados em nosso estudo. Além disso, uma pequena, mas significativa diminuição na excreção de hesperitina foi observada com o aumento da idade, mas parâmetros antropométricos e sexo não foram associados com a excreção de flavanonas (BRETT et al., 2009).

A influência do processo tecnológico para obtenção do suco de laranja, sobre a biodisponibilidade de flavanonas é controversa. As flavanonas do suco homogeneizado a alta pressão apresentaram melhor absorção do que as do suco pasteurizado em indivíduos com alto índice de excreção (TOMÁS-NAVARRO et al., 2014). Por outro lado, não houve diferença entre o consumo de suco de laranja ou laranja *in natura* (BRETT et al., 2009), ou quando comparado o suco de laranja espremido fresco ou suco comercial processado (SILVEIRA et al., 2014).

Apesar de os SLP e SLM serem ricos em vitamina C e flavanonas, não se observou aumento na capacidade antioxidante plasmática. O método ORAC tem-se demonstrado ser o mais relevante método para avaliar as mudanças na atividade antioxidante plasmática em um sistema biológico (ROY et al., 2010). Contudo, como o meio reacional é aquoso (SINGH; SINGH, 2008), não considera substâncias lipossolúveis, como por exemplo os carotenoides encontrados no suco de laranja (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2007), o que pode ter influenciado nos resultados no presente estudo.

O mecanismo enzimático antioxidante de defesa celular pode ser influenciado pelos compostos presentes no suco de laranja. As flavanonas podem modular a via do Nrf2 e aumentar a resposta antioxidante enzimática em resposta ao estresse oxidativo e/ou exercer ação direta sobre os EROs e ERNs, modulando as enzimas antioxidantes (KHAN; ZILL-E-HUMA; DANGLES, 2014; TESTAI; CALDERONE, 2017). De qualquer forma, não foram evidenciados no presente estudo alteração na atividade de enzimas antioxidantes ou nos marcadores da peroxidação lipídica (8-isoprostano urinário). Como trata-se de uma população com obesidade associada a resistência à insulina, características que relacionam-se com um estímulo crônico para a formação de

espécies reativas e depleção de enzimas antioxidantes (OLUSI, 2002), os resultados podem sugerir que a dose de suco ou o tempo de intervenção não foram suficientes para modular o sistema de defesa enzimático.

O 8-OHdG foi o único marcador avaliado que reduziu significativamente após a intervenção com ambos os sucos administrados. É usualmente utilizado como um marcador no diabetes mellitus, especialmente na hiperglicemia crônica, lesão de órgãos alvo ou complicações microvasculares. Além disso, é muito utilizado para avaliar o efeito de suplementos dietéticos como a vitamina C sobre o dano oxidativo (WU et al., 2004).

Não existe um valor de referência para o 8-OHdG urinário, mas WU et al. (2004) ao avaliar dados de uma população chinesa entre 20-70 anos, sugeriram um intervalo normal de produtos do dano oxidativo de 43,9 ± 42,1 ng / mg creatinina para mulheres e 29,6 ± 24,5 ng / mg creatinina para homens. Entretanto, o anticorpo utilizado no ensaio ELISA não é específico e reage com outros produtos da oxidação do DNA e RNA, como o 8-OHGua e 8-OHdG, enquanto a análise realizada neste estudo utilizou anticorpo específico para 8-OHdG. Ainda, o desvio padrão observado é amplo, o que mostra uma dispersão dos dados e heterogeneidade da amostra e pode dificultar a aplicação destes valores para populações específicas.

A proteção do dano oxidativo ao DNA parece estar relacionada com o Sistema de Defesa Antioxidante Não-enzimático (NEADS), o qual envolve a ação de vitaminas e outros compostos presentes nos alimentos (RANGEL-HUERTA et al., 2015). A redução significativa observada nos níveis de 8-OHdG, em conjunto com os outros marcadores de estresse oxidativo observados no presente estudo, os quais não apresentaram diferença significativa, levam a inferir que a redução nos níveis de 8-OHdG foi influenciado pela ação direta dos compostos presentes no suco de laranja.

7. CONCLUSÃO

Ambos os sucos apresentam uma composição similar, diferindo no conteúdo de ácido ascórbico e fenólicos totais, além da presença de antocianinas. Mesmo sem diferenças significativas nos parâmetros clínicos, as variações interindividuais observadas despertam questionamentos sobre os fatores que afetam a biodisponibilidade e atividade dos compostos bioativos. Assim, tais variações nos levaram à seleção de uma das intervenções para uma avaliação mais detalhada das modificações nos lipídios do plasma, que será abordada na seção 2 deste trabalho.

Os marcadores de estresse oxidativo não confirmam a hipótese de aumento do sistema de defesa antioxidante enzimático, entretanto, a melhora nos níveis de 8-OHdG em ambos os ensaios sugerem um efeito protetor dos sucos de laranja por ação direta dos nutrientes e/ou compostos bioativos.

SEÇÃO 2: Análise lipidômica do plasma de indivíduos obesos com resistência à insulina, após a administração de suco de laranja cv. Pera

8. INTRODUÇÃO

As laranjas (*Citrus sinensis* L. Osbeck) são amplamente consumidas, *in natura* ou em forma de suco e destacam-se pelo seu valor nutricional e como fonte dietética de compostos bioativos, incluindo flavanonas como a hesperidina e narirutina, vitamina C e fibras, os quais contribuem para a promoção da saúde (RAMPERSAUD; VALIM, 2017).

A bioatividade atribuída aos flavonoides de citrus tem sido associada à suas propriedades anti-inflamatória, antioxidante e hipolipemiante (MAHMOUD et al., 2019). Diversos ensaios clínicos apresentam resultados potenciais do efeito do consumo de citrus na saúde, mas as conclusões variam de acordo com condições específicas da população estudada e do desenho do estudo (CROWE-WHITE et al., 2017). Existem diferenças nas características dos indivíduos, como IMC, gênero, idade, voluntários saudáveis ou com síndrome metabólica, ou outras doenças, além de diferentes doses, períodos de intervenção, diferentes matrizes ou processos tecnológicos para obtenção do suco de laranja (fruta, pasteurizado, extração manual, etc.), tornando difícil a compreensão sobre a bioatividade da ingestão de suco de laranja.

Uma redução significativa no colesterol total, colesterol LDL e triglicerídeos foi encontrada em mulheres saudáveis que ingeriram 300 mL de suco de laranja por 2 meses (LIMA et al., 2019). Também foi evidenciada redução no colesterol total e LDL colesterol total e LDL colesterol em indivíduos com uma restrição calórica de 500 kcal / d, associada à ingestão de suco (500 mL) durante 12 semanas, sugerindo um efeito adicional da naringina na redução da secreção hepática de VLDL e, consequentemente, no LDL colesterol (RIBEIRO et al., 2017). Entretanto, com o mesmo tempo de intervenção, não foram encontradas reduções significativas nos lipídios séricos em homens hipercolesterolêmicos após a suplementação com suco de laranja (250 mL) ou bebida isocalórica controle (SIMPSON et al., 2016).

Além das diferenças metodológicas entre os estudos, o plasma contém milhares de espécies lipídicas que não são diferenciadas nas análises clínicas tradicionais, o que pode explicar as diferenças encontradas (QUEHENBERGER et al., 2010). Neste contexto, a lipidômica – originalmente introduzida por Han e Gross (2005) como um método baseado em espectrometria de massas para a identificação e quantificação de espécies lipídicas – oferece novas possibilidades de análises clínicas de lipídios (BURLA et al., 2018; QUEHENBERGER et al., 2010). No diabetes mellitus tipo 2 e eventos cardiovasculares, por exemplo, espécies lipídicas que pertencem às classes dos ésteres de colesterol, lisofosfatidilcolinas, fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, ceramidas, esfingomielinas e triacilgliceróis demonstraram ser melhores biomarcadores na avaliação do aumento do risco de complicações quando comparados às medidas lipídicas tradicionais e/ou outros fatores de risco (ALSHEHRY et al., 2016; HAVULINNA et al., 2016; HILVO et al., 2018; LAAKSONEN et al., 2016; RAZQUIN et al., 2019; STEGEMANN et al., 2014).

Nosso grupo aplicou anteriormente a metabolômica para avaliar os efeitos do consumo de suco de laranja em indivíduos saudáveis, usando duas diferentes amostras de sangue (plasma e sangue seco em filtros de papel). Foram observadas mudanças significativas nas acilcarnitinas, o que sugere que o consumo de laranja afeta na β-oxidação de ácidos graxos mitocondrial e peroxisomal (MOREIRA et al., 2018). Portanto, considerando as possibilidades de pesquisa provenientes da lipidômica e a relevância dos flavonoides de citrus para a saúde, este estudo teve como objetivo explorar as alterações nos lipídios plasmáticos, associado ao consumo do suco de laranja, em pacientes obesos com resistência à insulina. Para esta proposta, foi aplicada uma abordagem lipidômica global e os resultados foram comparados com os parâmetros clínicos tradicionais.

9. MATERIAL E MÉTODOS

9.1. Material

Suco de laranja pasteurizado obtido do cv. Pera, fornecido pela FUNDECITRUS. O perfil de flavonoides do suco de laranja foi descrito na primeira seção.

9.2. Métodos

O ensaio clínico foi descrito na primeira seção. Resumidamente, 25 voluntários de ambos os gêneros, idade entre 40 e 60 anos, IMC ≥ 30 kg / m² e índice HOMA-IR > 2,71 foram recrutados no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Os indivíduos consumiram 400 mL de suco de laranja obtidos do cv. Pera, durante 15 dias ininterruptos. Amostras de sangue foram coletadas antes (t0) e depois de 15 dias (t16) do consumo do suco, períodos os quais, serão nomeados respectivamente como G1 e G2 nesta seção. O plasma foi estocado a -80 ºC para análises posteriores.

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (Protocolo 4699/2016) e foi formalmente registrado como um ensaio clínico em www.clinicaltrial.gov, sob o Universal Trial Number (UTN) U1111-1215-8661.

9.2.1. Análise Lipidômica

A extração dos lipídios plasmáticos foi realizada pelo método MTBE modificado (MATYASH et al., 2008). Amostras de plasma (50 µl) foram adicionadas a 50 µl de tampão fosfato (pH 7,4 10 mM), 50 µl de padrões internos (Tabela 6) e 200 µl de metanol gelado. Posteriormente, MTBE (2 mL) foi adicionado e colocado sob agitação durante 1 hora a 20 °C. Em seguida, 300 µl de água foi adicionada a mistura, passado no vórtex durante 10 segundos e levado ao banho de gelo por 10 minutos. Amostras foram centrifugadas a 10.000 g por 10 minutos a 4 ºC, e o sobrenadante contendo o extrato lipídico foi transferido para um vial e seco sob fluxo de nitrogênio.

Os extratos lipídicos foram redissolvidos em 100 µl de isopropanol e centrifugados a 1.500 g durante 3 minutos, a 4 ºC, antes da análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS).

Os extratos lipídicos foram analisados por um método global, usando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Nexera UHPLC, Shimadzu, Kyoto, Japan) acoplado a um espectrômetro de massas (Triple TOF6600, Sciex, Concord, United States) com ionização eletrospray nos modos negativo e positivo, em coluna CORTECS® (UPLC C18, 1,6 µm, 2,1 mm i.d. 100 mm). A fase móvel foi compreendida por (A) água/acetonitrila (60:40) e (B) isopropanol/acetonitrila/água (88:10:2) ambos com acetato ou formato de amônia 10 mM para análises nos modos negativos ou positivos, respectivamente. O gradiente iniciou em 40 a 100% ao longo dos primeiros 10 minutos, mantendo a 100% de 10 a 12 minutos, e reduzindo de 100 a 40% durante 12-13 min, e permanecendo a 40% B de 13 a 20 min. O fluxo foi de 0,2 mL / min e a temperatura da coluna foi mantida a 35 ºC. O volume de amostra injetado foi de 1 µl.

A espectrometria de massas operou no modo de aquisição da IDA® (Information Dependente Acquisition), com faixa de varredura configurando uma razão de massa-carga de 100-200 Da. Os dados foram obtidos em um tempo de ciclo de 1,05 s com tempo de aquisição de 100 ms para o escaneamento MS1 e 25 ms para a obtenção de MS/MS dos 36 íons percursores. A aquisição dos dados foi realizada utilizando o Analyst 1.7.1 com uma voltagem de pulverização de íons de -4,5 kV e 5,5 kV para os modos negativo e positivo, respectivamente, e a voltagem do cone a ± 80 V. A cortina de gás foi regulada para 25 psi, nebulizador e gases de aquecimento a 45 psi e aquecedor de interface de 450 °C.

Os íons precursores mais abundantes detectados pela IDA, cobrindo 70-80% da contagem total de íons, foram individualmente identificados pela inspeção de seus MS/MS usando o PeakView® (Sciex, Concord, Estados Unidos). O modo ESI negativo foi utilizado para a identificação de ácidos graxos livres, glicerofosfolipídeos e esfingolipídeos, enquanto o modo positivo para ESI foi utilizado para identificar lipídios neutros, como triglicerídeos e ésteres de colesterol. Para quantificação, a área sob a curva de cada espécie molecular foi obtida a partir do seu precursor e normalizada pela área do pico do padrão interno correspondente (Tabela 6), utilizando o MultiQuanti

(Sciex, Concord, Estados Unidos). As concentrações lipídicas foram calculadas com base na razão entre os dados integrados da MS das espécies lipídicas e o volume de plasma utilizado para a extração de lipídios. As concentrações lipídicas foram expressas em mg de lipídio por dL de plasma.

Tabela 6. Padrões internos utilizados na análise lipidômica

Padrões internos	Concentração (µg/ mL)
Ceramida (Cer) d18:1/17:0	10
Esfingomielina (SM) d18:1/17:0	10
Fosfatidilcolina (PC) 17:0/17:0	10
Fosfatidiletanolamina (PE) 17:0/17:0	10
Lisofosfatidilcolina (LysoPC) 17:0	10
Triacilglicerol (TAG) 17:0x3	10
Triacilglicerol (TAG) 14:0x3	10
Colesterol éster (CE) 10:0	10

9.3. Análise Estatística

Análise univariada e multivariada foram realizadas com o software MetaboAnalyst v. 4.0 (Xia and Wishart, 2016 e disponível em *https://www.metaboanalyst.ca/faces/home.xhtml*), após transformação log dos dados. A Análise Discriminante Ortogonal dos Mínimos Quadrados Parciais (oPLS-DA) foi utilizada para examinar a distribuição das amostras traçadas ao longo dos dois maiores componentes principais (PC1 e PC2). Para identificar as variáveis que apresentaram mudanças estatisticamente significativas, um gráfico de Volcano foi gerando usando o teste-t de Student (valor de $p < 0,05$) e fold change (FC) > 1,5. A comparação entre as análises clínicas tradicionais e a análise lipidômica foi realizada por Volcano Plot (usando os mesmos parâmetros descritos acima) e a análise de correlação de Hunter.

10. RESULTADOS

A identificação dos lipídios foi baseada exclusivamente em seus espectros de massa e as moléculas foram identificadas de acordo com Han (2016). A análise lipidômica global revelou 316 espécies moleculares divididas em 5 classes e 14 subclasses (Tabela 7). Esse alto número de lipídios plasmáticos está dentro da faixa de diversidade relatada em uma comparação internacional recente entre laboratórios, usando abordagens lipidômicas em uma única amostra de plasma sanguíneo humano (BOWDEN et al., 2017). As espécies de triacilglicerol (n = 106) foram as subclasses mais diversas, seguidas de espécies de fosfatidilcolina (n = 45) e esfingomielina (n = 26).

Tabela 7. Espécies de lipídios plasmáticos encontrados, respectivas classes, subclasses e padrões internos utilizados para quantificação, em indivíduos obesos com resistência à insulina suplementados com suco de laranja:

Classe	Subclasse	N° de espécies	Padrão interno
Esteróis	Colesterol éster (CE)	18	PC (17:0/17:0)
	Colesterol livre (Chol)	1	PC (17:0/17:0)
Ácidos graxos	Acilcarnitina (ACar)	9	LysoPC (17:0)
	Ácido graxo livre (FFA)	19	PC (17:0/17:0)
Glicerolipídeos	Diacilglicerol (DAG)	3	TAG (17:0x3)
	Triacilglicerol (TAG)	106	TAG (14:0x3)
Glicerofosfolipídeos	Lisofosfatidilcolina (LysoPC)	4	LPC (17:0)
	Éter de fosfatidilcolina (ePC)	20	PC (17:0/17:0)
	Fosfatidilcolina (PC)	45	PC (17:0/17:0)
	Monoéster de Fosfatidiletanolamina (ePE)	20	PE (17:0/17:0)
	Fosfatidiletanolamina (PE)	16	PE (17:0/17:0)
	Fosfatidilinositol (PI)	12	PC (17:0/17:0)
Esfingolipídios	Esfingomielina (SM)	26	SM (d18:1/17:0)
	Ceramida (Cer)	17	Cer (d18:1/17:0)

A análise multivariada por oPLS-DA revelou uma tendência para a segregação de amostras dos grupos G1 e G2 (Figura 13A). O gráfico de carga do oPLS-DA mostrou uma tendência para as acilcarnitinas, DAG, CE e TAG como as principais espécies lipídicas responsáveis pela segregação das amostras no oPLS-DA (Figura 13B).

O gráfico de Volcano, exibindo os dados da análise univariada (teste-t e FC) foi aplicado para examinar as espécies lipídicas significativamente alteradas antes e após a suplementação de suco de laranja (Figura 14). Espécies lipídicas com níveis significativamente alterados (valor de $p < 0,05$ e $FC > 1,5$) são exibidas como círculos rosados. Entre as espécies alteradas aumentadas estão duas acilcarnitinas (Acar 16:1 e 18:1) observadas em amostras do G2. Por outro lado, várias espécies de TAG foram encontradas em níveis reduzidos no G2 em comparação ao G1.

Em seguida, foi verificado se as alterações no lipidoma plasmático, especialmente aquelas relativas aos níveis de TAG e CE, também se refletiam nos valores clínicos de rotina do mesmo conjunto de amostras. Além das análises lipídicas clínicas tradicionais, também foram analisados, por um Gráfico Volcano, se a soma das subclasses lipídicas quantificadas pela lipidômica foram estatisticamente diferentes entre G1 e G2 (Figura 15A). Não foi observado diferenças aparentes entre os indivíduos em G1 e G2 em relação aos exames bioquímicos tradicionais, como triglicerídeos, colesterol total, LDL-C ou HDL-C. No entanto, é possível observar que mudanças significativas ocorreram apenas com a soma de TAG e soma de ACar. Este achado sugere que uma quantificação em larga escala e detalhada de lipídios plasmáticos por lipidômica resulta em um desfecho distinto em comparação com os exames clínicos tradicionalmente usados.

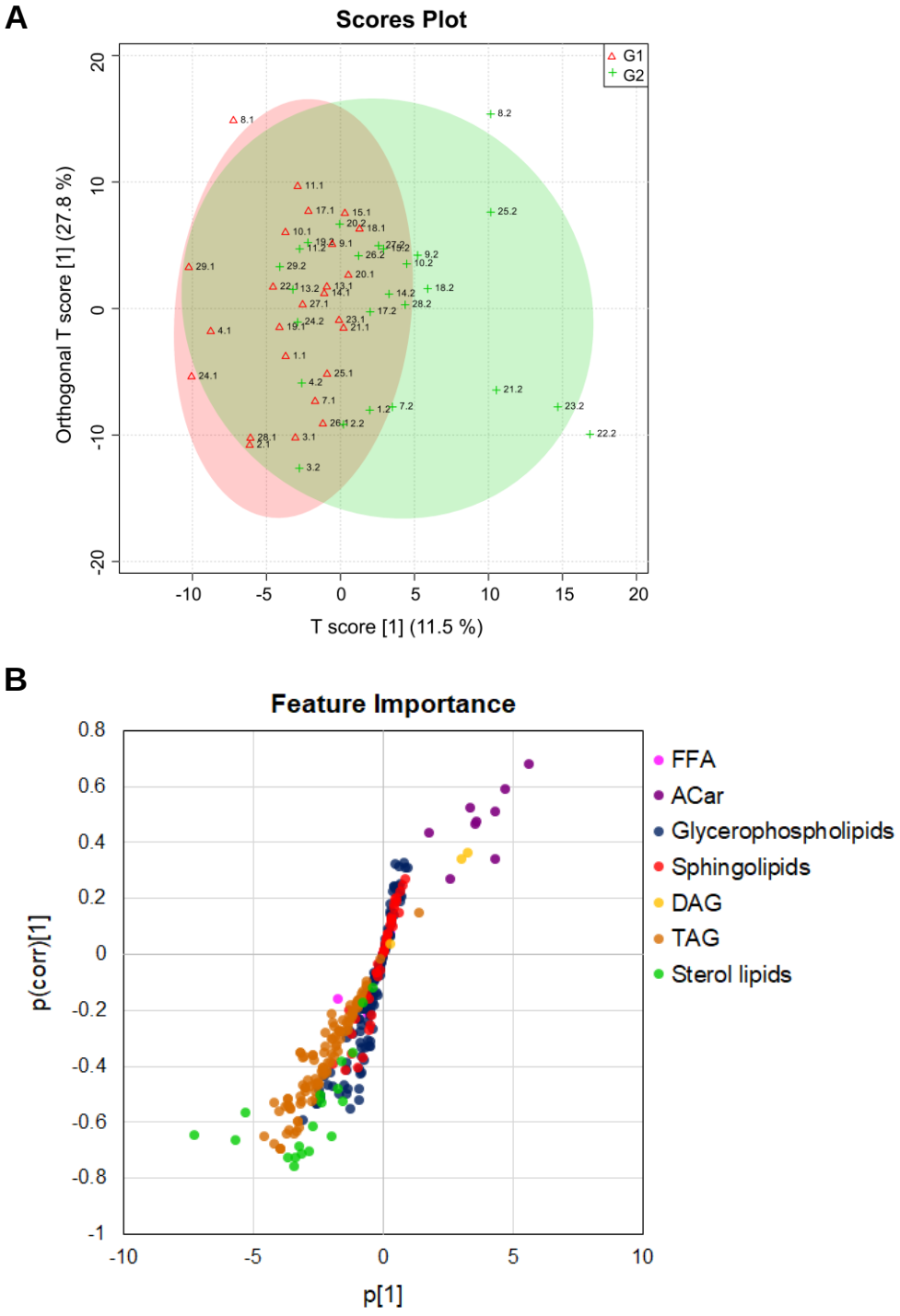


Figura 13. Análise multivariada por Análise Discriminante Ortogonal de Mínimos Quadrados Parciais (oPLS-DA) do lipidoma plasmático de pacientes com obesidade e resistência à insulina, antes (G1) e depois (G2) da intervenção com suco de laranja. Dados usados para esta comparação sofreram transformação de Log antes da análise no MetaboAnalyst. (A) Plotagem do oPLS-DA revelou uma segregação entre grupos,

principalmente aqueles no eixo horizontal; (B) Gráfico de carregamentos do oPLS-DA revelou ACar, lipídios de esterol (principalmente CE) e TAG, como importantes espécies para a separação entre os grupos. Círculos coloridos representam as subclasses de lipídios.

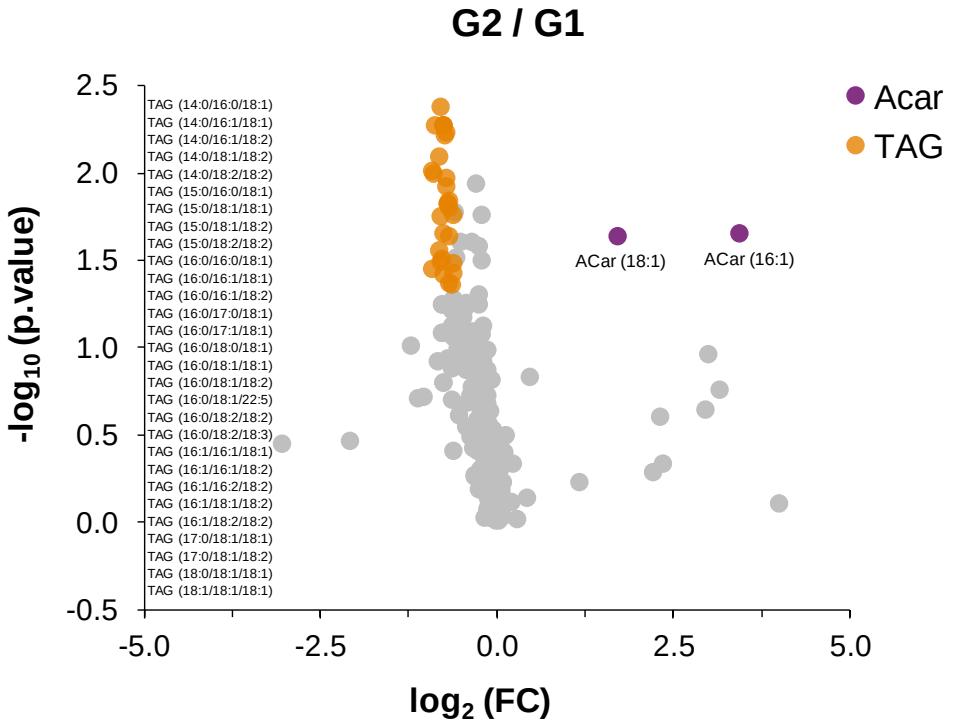


Figura 14. Gráfico Volcano do lipidoma do plasma comparando os indivíduos após (G2) e antes (G1) da intervenção com suco de laranja. Os dados usados para esta comparação sofreram transformação por Log antes da análise estatística no MetaboAnalyst. Gráfico Volcano da comparação pareada G2 x G1, representado pelo log_2 (FC) plotado contra o $-log_{10}$ (valor de p). Esta análise revelou alterações nos níveis plasmáticos de 2 espécies moleculares de Acar e 29 espécies de TAG. A significância estatística foi avaliada pelo teste t ($p < 0,05$) e a alteração da dobra foi ajustada para >1,5.

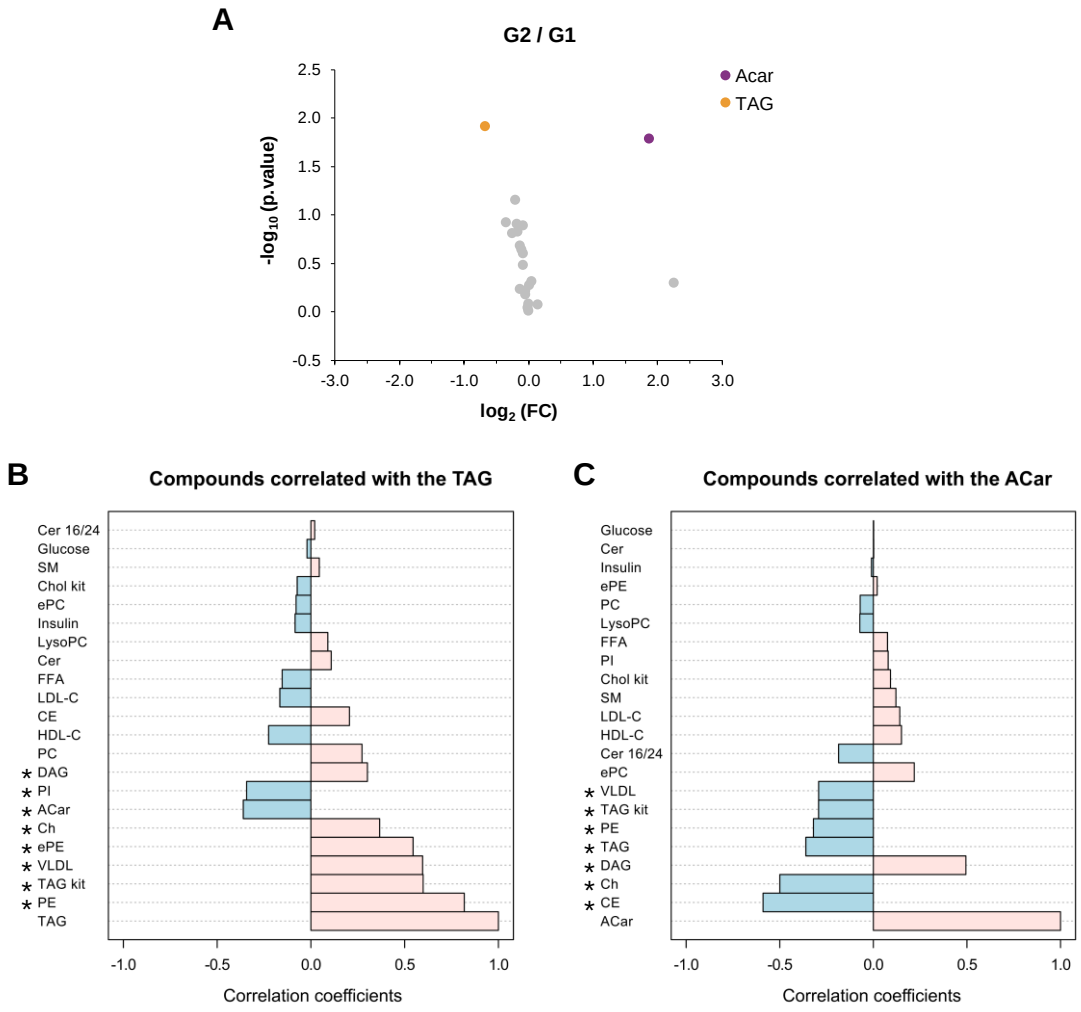


Figura 15. Comparação entre lipidômica (soma das concentrações entre uma subclasse de lipídios) e análises bioquímicas tradicionais pelas análises de Volcano Plot (G2 versus G1) e Pattern Hunter. Os dados utilizados para esta comparação foram transformados em Log antes da análise estatística no Metaboanalyst. (A) Gráfico Volcano da comparação pareada G2 versus G1 representado pelo log_2 (FC) plotado contra o $–log_{10}$ (valor de p). Esta análise revelou alterações no nível de soma de ACar e TAG estimados por lipidômica. A significância estatística foi avaliada pelo teste t (p <0,05) e o FC foi ajustado para> 1,5. (B) Análise Pattern Hunter de variáveis que se correlacionaram com o TAG (valores de p significativos para a correlação de Pearson foram identificados com *). (C) Análise Pattern Hunter de variáveis que se correlacionaram com ACar (valores de p significativos para a correlação de Pearson foram identificados com *).

Em seguida, foi aplicada a análise de Pattern Hunter para verificar se a soma de todas espécies de TAG (Figura 15B) e ACar (Figura 15C) analisadas por lipidômica são correlacionadas com outras subclasses de lipídios ou com os exames bioquímicos. Resultados destas análises revelam que a soma de todos os TAG são positivamente e significativamente ($p < 0,05$) correlacionadas com a soma de PE, ePE, colesterol livre e DAG avaliados por lipidômica e com o TAG e VLDL mensurados nos exames clínicos. Uma correlação negativa e significativa foi observada entre a soma de todas as espécies de TAG, ACar e PI. Para a soma de todas as ACar, uma correlação significativa e negative foi observada com CE, colesterol livre, TAG e PE (todos analisados por lipidômica) e TAG e VLDL estimados pelas medidas bioquímicas tradicionais. Uma correlação positiva foi observada entre ACar e DAG analisadas por lipidômica.

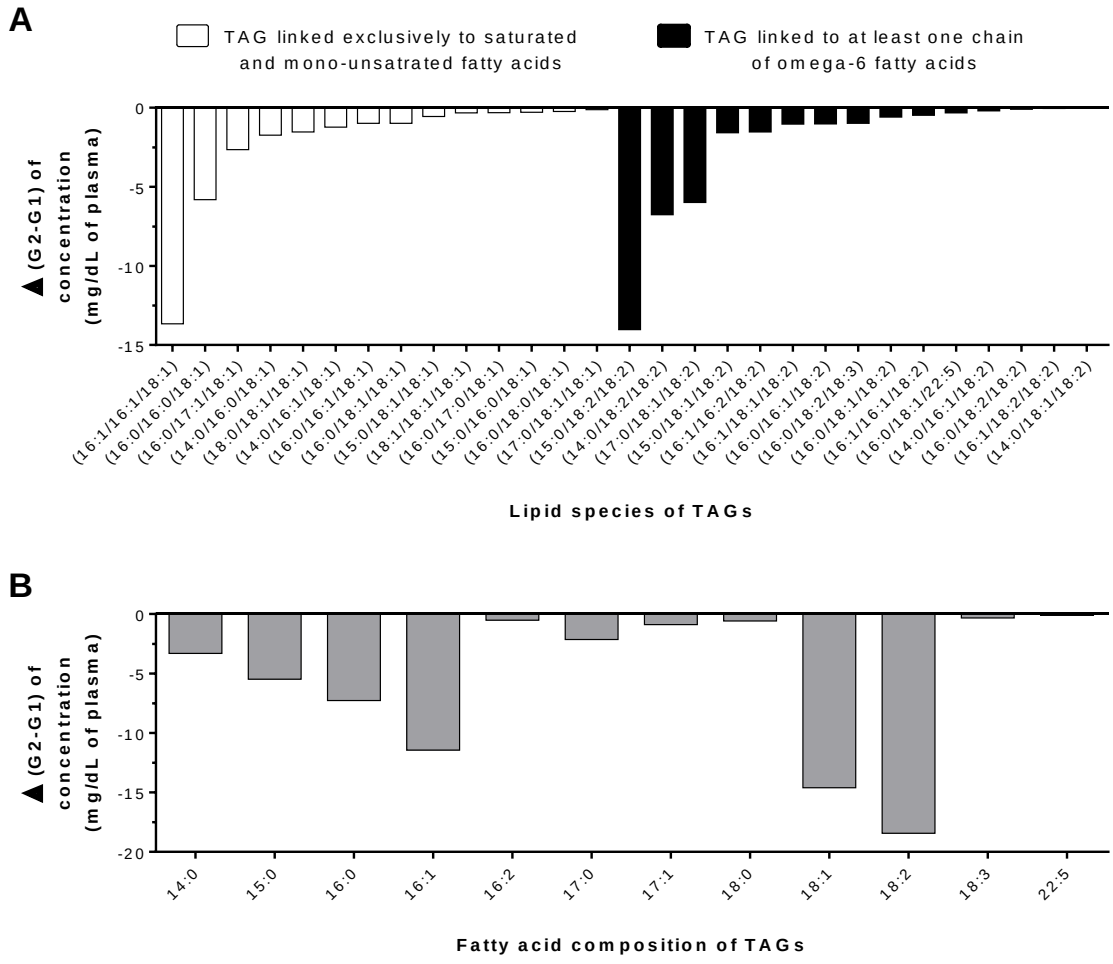


Figura 16. Redução nos níveis de TAG circulantes em indivíduos através do valor de Delta das concentrações antes (G1) e após (G2) a intervenção com suco de laranja em

indivíduos obesos com resistência à insulina. (A) O valor de delta das concentrações de espécies de TAG significativamente alteradas (teste-t, $p < 0,05$) ligados exclusivamente a ácidos graxos saturados e monoinsaturados (barras brancas) ou ligados a pelo menos uma cadeia de ácidos graxos da família ômega-6 (barras pretas). (B) Valor de Delta das concentrações de ácidos graxos individuais ligados aos TAG significativamente alterados (concentrações de ácidos graxos individuais foram calculados com base na sua presença nos TAG; a concentração total de 16:1 e 18:1 nos TAG (16:1/16:1/18:1) são 2/3 e 1/3 da concentração de TAG, respectivamente.

Como as espécies de TAG foram as mais prevalentes em todos os testes estatísticos aplicados neste estudo, foram investigados padrões qualitativos e quantitativos de cada espécie de TAG com níveis alterados entre G1 e G2. Para tanto, foi realizado o cálculo do valor de Delta entre as concentrações médias de cada TAG em G2 menos G1 (Figura 16). Qualitativamente, as espécies reduzidas de TAG podem ser separadas em duas categorias principais (Figura 16A): aquelas contendo cadeias acílicas compostas exclusivamente por ácidos graxos saturados e / ou monoinsaturados; e os que contém pelo menos um ácido graxo omega-6, neste caso mais frequentemente um ácido linoleico (18: 2). Quantitativamente, os ácidos graxos reduzidos foram individualmente 18: 2, seguidos por 18: 1, 16: 1 e 16: 0 (Figura 16B).

11. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da ingestão de suco de laranja nos lipídios plasmáticos de indivíduos obesos com resistência à insulina. Embora realizados com vários grupos de pacientes (de indivíduos saudáveis, àqueles com hipercolesterolemia moderada, hipercolesterolêmicos ou com excesso de peso), estudos clínicos anteriores revelaram resultados controversos em relação aos efeitos do suco de laranja nos lipídios sanguíneos. Esses desfechos foram relacionados a um aumento nos TAG (KUROWSKA et al., 2000), nenhum efeito nos lipídios sanguíneos (MORAND et al., 2011; SIMPSON; MENDIS; MACDONALD, 2016) ou um efeito hipolipemiante (APTEKMANN; CESAR, 2013; CESAR et al., 2010; LIMA et al., 2019; RANGEL-HUERTA et al., 2015; RIBEIRO; DOURADO; CESAR, 2017). Todos estes estudos investigaram os lipídios sanguíneos e perfil de lipoproteínas através de análises clínicas tradicionais.

O presente estudo fornece uma visão sobre os efeitos do consumo de suco de laranja sobre o metabolismo lipídico. De acordo com nossos dados lipidômicos, a administração de suco de laranja em indivíduos obesos aumentou significativamente os níveis de ACar de cadeia longa e reduziu os níveis de várias espécies de TAG circulantes. Por outro lado, as medidas bioquímicas tradicionais (colesterol total, TAG, VLDL, LDL-C e HDL-C) não foram capazes de mostrar alteração e permaneceram inalteradas pela intervenção. O TAG e VLDL obtidos a partir de medidas lipídicas tradicionais, correlacionaram-se positivamente com a soma de TAG e negativamente com a soma de ACar. Entretanto, não foram observadas correlações com o colesterol total, LDL e HDL. Embora estatisticamente insuficiente, esses dados sugerem que o impacto do consumo do suco de laranja na redução do TAG circulante pode estar relacionado à melhora no metabolismo do VLDL, conforme observado por (MIWA et al., 2006).

Resultados da análise lipidômica revelaram uma tendência para a redução de espécies de TAG ligadas a ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou ômega-6. Estudos *in vitro* com linha celular de hepatoma HepG2 mostraram que os efeitos das flavanonas de citrus estão diretamente relacionados ao metabolismo lipídico, através da redução da secreção de lipoproteínas contendo ApoB, principalmente pela supressão da síntese de ésteres de colesterol e TAG (MIWA et al., 2006; WILCOX et al., 2001). Em

outro estudo em células HepG2, a naringerina foi relacionada com a supressão da expressão do mRNA do SREBP 1c (Elemento Regulador de Esterol ligado à proteína 1c), acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase (BAWAZEER et al., 2017). Além disso, Peng et al. (2016) demonstraram recentemente em um modelo de *Caenorhabditis elegans* que a hesperidina regula negativamente a expressão da estearoil-CoA desaturase, enzima que catalisa a conversão de ácidos graxos saturados a monoinsaturados, como os ácidos palmitoleico (16:1) e oleico (18:1); os ácidos graxos mais prevalentes ligados às espécies de TAG alteradas no presente estudo. Juntos, estes estudos *in vitro* podem não explicar que a redução dos TAG é resultado direto do impacto do consumo de suco de laranja, mas talvez a supressão da lipogênese de novo pelos flavonoides de citrus, o que pode explicar a redução seletiva de espécies de TAG compostas por ácidos graxos saturados e monoinsaturados.

Além dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados, o ácido graxo essencial ômega-6, o ácido linoleico (18:2), foi encontrado entre os mais abundantes ligados as espécies de TAG alterados. Em células de mamíferos, o ácido linoleico é o maior substrato para a síntese de ácido araquidônico, molécula precursora de vários mediadores inflamatórios como as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos (SAINI; KEUM, 2018). O efeito inibitório das flavanonas de citrus na inflamação do tecido adiposo via inibição da ciclooxigenase, é bem conhecido (MAHMOUD et al., 2019). Enquanto os efeitos do suco de laranja no metabolismo dos ácidos graxos ômega-6 ainda precisam ser elucidados, os achados deste estudo suportam a evidência de uma significante redução dos níveis de TAG ligados ao ácido linoleico, que é um potencial precursor dos mediadores lipídicos inflamatórios.

Entretanto, dados da avaliação de perfil inflamatório obtidos no projeto de doutorado realizado em conjunto com o presente estudo, mostraram que as citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 beta e IL-6 não foram afetadas pela intervenção (dados não publicados). Por outro lado, o efeito anti-inflamatório da ingestão de suco de laranja foi observado em outro estudo de nosso grupo de pesquisa, onde uma dose de suco de laranja ingerida junto com uma refeição pró-inflamatória, composta por alto conteúdo de gordura e carboidrato, reduziu os níveis plasmáticos de IL-6, neutralizando o efeito pró-inflamatório desta refeição (CHAVES et al., 2017). Este efeito pode ser associado à redução na endotoxina plasmática e expressão de TLR 2 e 4 em PBMC, quando o suco

de laranja foi administrado junto com uma refeição rica em gorduras e carboidratos (GHANIM et al., 2010).

Ainda no presente estudo, houve um aumento significativo nas principais acilcarnitinas de cadeia longa, particularmente a ACar (16: 1) e (18: 1). Em contraste com as ACar de cadeia curta que são produzidas a partir de glicose, aminoácidos e degradação de ácidos graxos, as ACar de cadeia média e longa são derivadas exclusivamente do metabolismo dos ácidos graxos (KERNER; HOPPEL, 2000; VIOLANTE et al., 2013). As ACar de cadeia longa são sintetizadas principalmente por aciltransferases de carnitina e metabolizadas via beta-oxidação nas mitocôndrias. Historicamente, o aumento da concentração plasmática de ACar tem sido utilizado como marcador de oxidação incompleta de ácidos graxos (RINALDO; COWAN; MATERN, 2008) e tem sido associado à progressão de várias doenças, incluindo a resistência à insulina (MIHALIK et al., 2014) e doenças cardiovasculares (AHMAD; KELLY; MCGARRAH, 2016). Entretanto, um aumento na concentração de ACar é também observado durante o estado de jejum, quando a taxa de oxidação de ácidos graxos é aumentada (SCHOONEMAN et al., 2013).

Em um estudo prévio de nosso grupo foram observados níveis reduzidos de acilcarnitinas de cadeias média e longa em amostras de plasma ou sangue total seco de voluntários saudáveis de ambos os gêneros e idade entre 20 e 45 anos, após intervenção com suco de laranja (MOREIRA et al., 2018). No entanto, no presente estudo foi observado um aumento concomitante no ACar plasmático com uma diminuição nos níveis de TAG circulantes, sugerindo fortemente uma ligação entre estas duas espécies lipídicas. Além disso, os ácidos graxos palmitoleico e oleico estão entre os ácidos graxos mais reduzidos ligados ao TAG plasmático durante a intervenção, e representam as duas espécies ACar significativamente alteradas. Considerando que o aumento de ACar no plasma em estado de jejum reflete o aumento da taxa de oxidação de ácidos graxos (SCHOONEMAN et al., 2013), então uma redução nas espécies de TAG pode estar associada a lipólise induzida pela ingestão de suco de laranja.

Uma limitação neste estudo é que os lipídios alterados podem ter sido influenciados pelo uso de medicamentos e/ou alterações metabólicas relacionadas a ingestão alimentar, um importante aspecto quando avaliamos indivíduos obesos (BLUNDELL; GILLETT; JOHN, 2001). No entanto, não foram verificadas diferenças

significativas na ingestão energética e de macronutrientes ou mudança nos medicamentos durante o período de avaliação. Em contraste com outros lipídios, a ACar foi estimada apenas qualitativamente devido à falta de padrões internos e externos no nosso laboratório. Ou seja, mudanças nos níveis de ACar são comparáveis entre as amostras, mas seus níveis não podem ser comparados a outros lipídios como os TAG.

12. CONCLUSÃO

A análise lipidômica global do plasma levou à identificação de mudanças nos níveis de lipídios não observados nos exames clínicos tradicionais. As variações moleculares observadas sugerem que, em indivíduos obesos com resistência à insulina, o suco de laranja pode modular o metabolismo lipídico. A redução dos TAG sugere a redução da síntese de ácidos graxos por uma possível supressão da lipogênese de novo, bem como a lipólise relacionada ao aumento de substrato para a beta-oxidação, as acilcarnitinas. Assim, o consumo regular do suco de laranja pode ter um importante impacto em algumas desordens metabólicas características do quadro de obesidade associada a resistência à insulina, com melhora nos biomarcadores associados.

13. CONCLUSÃO GERAL

Diversos estudos mostram efeitos positivos no consumo de suco de laranja sobre marcadores de estresse oxidativo e lipídios circulantes, entretanto os resultados são controversos. O presente estudo mostrou resultados indicativos de proteção do dano oxidativo ao DNA, provavelmente pela ação direta de compostos bioativos, bem como alterações nos níveis moleculares de lipídios, sugestivas de modificações na beta-oxidação de ácidos graxos.

Devido aos vários fatores intervenientes identificados em ensaios clínicos em seres humanos e à complexidade dos sistemas fisiológicos, técnicas de análise mais específicas e sensíveis podem ajudar a compreender os mecanismos de ação e os grupos mais beneficiados em intervenções terapêuticas com o gênero citrus.

14. RFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESO. Diretrizes Brasileiras de Obesidade. 2016.

AHMAD, T.; KELLY, J. P.; MCGARRAH, R. W. Long-Chain Acylcarnitine Metabolites are Associated with Adverse Outcomes and Reversible with Mechanical Circulatory Support in Systolic Heart Failure. **J Am Coll Cardiol**, v. 67, n. 3, p. 291–299, 2016.

ALSHEHRY, Z. H. et al. Plasma Lipidomic Profiles Improve on Traditional Risk Factors for the Prediction of Cardiovascular Events in Type 2 Diabetes Mellitus. **Circulation**, v. 134, n. 21, p. 1637–1650, 2016.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes-2018. **Diabetes care**, v. 41, n. Suppl 1, p. S1–S2, 1 jan. 2018.

ANACLETO, S. L.; LAJOLO, F. M.; HASSIMOTTO, N. M. A. Estimation of dietary flavonoid intake of the Brazilian population: A comparison between the USDA and Phenol-Explorer databases. **J Food Compos Anal**, v. 78, p. 1–8, 2019.

APTEKMANN, N. P.; CESAR, T. B. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. **Lipids Health Dis**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2013.

ASSINI, J. M.; MULVIHILL, E. E.; HUFF, M. W. Citrus flavonoids and lipid metabolism. **Curr Opin Lipidol**, v. 24, n. 1, p. 34–40, 2013.

AZZINI, E. et al. Effect of Red Orange Juice Consumption on Body Composition and Nutritional Status in Overweight / Obese Female : A Pilot Study. **Oxid med cell longev**, v. 2017, p. 1-9, 2017.

AZZINI, E.; GIACOMETTI, J.; RUSSO, G. L. Antiobesity Effects of Anthocyanins in Preclinical and Clinical Studies. **Oxid med cell longev**, v. 2017, p. 1-11, 2017.

BARRECA, D. et al. Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. **BioFactors**, v. 43, n. 4, p. 495–506, 2017.

BAWAZEER, N. A. et al. Possible Regulation of Ldl-Receptor By Naringenin in Hepg2 Hepatoma Cell Line. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, v. 14, n. 1, p. 278–287, 2017.

BITTERS, W. P. Physical characters and chemical composition as affected by scions and rootstocks. In: **The orange: its biochemistry and physiology**. California: Riverside, 1961. p. 56–95.

BLUNDELL, J. E.; GILLETT, A.; JOHN, E. Control of Food Intake in the Obese. **Obes res**, v. 9, Suppl. 4, p. 263S-270S, 2001.

BONAVENTURA, J.; SCHROEDER, W. A.; FANG, S. Human erythrocyte catalase: an improved method of isolation and a reevaluation of reported properties. **Arch Biochem Biophys**, v. 150, n. 2, p. 606–617, 1972.

BONDIA-PONS, I.; RYAN, L.; MARTINEZ, J. A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. **J Physiol Biochem**, v. 68, n. 4, p. 701–711, 2012.

BOWDEN, J. A. et al. Harmonizing Lipidomics: NIST Interlaboratory Comparison Exercise for Lipidomics using Standard Reference Material 1950 Metabolites in Frozen Human Plasma. **J Lipid Res**, v. 58, p. 2275–2288, 2017.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Sci Technol**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigitel Brasil 2016 - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico: ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SÓCIO-DEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS NAS CAPITAIS DOS 26 ESTADOS**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 5 jan. 2018.

BRASILI, E. et al. Effect of Pasteurization on Flavonoids and Carotenoids in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. ‘Cara Cara’ and ‘Bahia’ Juices. **J Agr Food Chem**, v. 65, n. 7, p. 1371–1377, 2017.

BRETT, G. M. et al. Short Communication Absorption , metabolism and excretion of flavanones from single portions of orange fruit and juice and effects of anthropometric variables and contraceptive pill use on flavanone excretion. **Br J Nutr**, v. 101, p. 664–675, 2009.

BURLA, B. et al. MS-based lipidomics of human blood plasma : a community-initiated position paper to develop accepted guidelines 1. **J Lipid Res**, v. 59, p. 2001–2017, 2018.

CESAR, T. B. et al. Orange juice decreases low-density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic subjects and improves lipid transfer to high-density lipoprotein in normal and hypercholesterolemic subjects. **Nutr Res**, v. 30, n. 10, p. 689–694, 2010.

CHAVES, D. F. S. et al. Proteomic Analysis of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) after a High-Fat, High-Carbohydrate Meal With Orange Juice. **J Proteome Res**, v. 16, p. 4086–4092, 2017.

CROWE-WHITE, K. et al. Metabolic impact of 100% fruit juice consumption on antioxidant/oxidant status and lipid profiles of adults: An Evidence-Based review. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 57, n. 1, p. 152–162, 2017.

DUTHIE, S. J. et al. Cryopreserved versus freshly isolated lymphocytes in human biomonitoring: endogenous and induced DNA damage, antioxidant status and repair capability. **Mutagenesis**, v. 17, n. 3, p. 211–214, 2002.

ELAVARASAN, J. et al. Hesperidin-mediated expression of Nrf2 and upregulation of antioxidant status in senescent rat heart. **J Pharm Pharmacol**, v. 64, p. 1472–1482, 2012.

EWING, J. F.; JANERO, D. R. Microplate Superoxide Dismutase Assay Employing a Nonenzymatic Superoxide Generator. **Anal Biochem**, v. 232, n. 2, p. 243–248, 1995.

FABRONI, S. et al. Anthocyanins in different *Citrus* species: an UHPLC-PDA-ESI/MS^{n} -assisted qualitative and quantitative investigation. **J Sci Food Agr**, v. 96, n. 14, p. 4797–4808, 2016.

FALLICO, B. et al. Bioactive compounds in blood oranges (Citrus sinensis (L.)

Osbeck): Level and intake. **Food Chem**, v. 215, p. 67–75, 2017.

FIORENTINO, T. V. et al. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. **Curr Pharm Des**, v. 19, n. 32, p. 5695–5703, 2013.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 114–121, 1984.

GARDANA, C. et al. Flavanone plasma pharmacokinetics from blood orange juice in human subjects. **Br J Nutr**, v. 98, n. 01, p. 165-172, 2007.

GATTUSO, G. et al. Flavonoid Composition of Citrus Juices. **Molecules**, v. 12, p. 1641–1673, 2007.

GELONEZE, B. et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 2, p. 281–287, 2009.

GHANIM, H. et al. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and toll-like receptor expression. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 4, p. 940–949, 2010.

GIORDANO, L. et al. Four-week ingestion of blood orange juice results in measurable anthocyanin urinary levels but does not affect cellular markers related to cardiovascular risk: a randomized cross-over study in healthy volunteers. **Eur J Nutr**, v. 51, n. 5, p. 541–548, 2012.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. **N Engl J Med**, v. 377, n. 1, p. 13–27, 2017.

GOOSSENS, G. H. The Metabolic Phenotype in Obesity : Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. **Obes Facts**, v. 10, n. 3, p. 207-215, 2017.

GROSSO, G. et al. Red orange: experimental models and epidemiological evidence of its benefits on human health. **Oxidative Med Cell Longev**, v. 2013, p. 1-11, 2013.

HAN, X.; GROSS, R. Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric

analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples. **Mass Spectrom Rev**, v. 24, p. 367–412, 2005.

HAVULINNA, A. S. et al. Circulating Ceramides Predict Cardiovascular Outcomes in the Population-Based FINRISK 2002 Cohort. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 36, n. 12, p. 2424–2430, 2016.

HEITMANN, B. L.; LISSNER, L.; HEITMANN, B. L. Dietary underreporting by obese individuals-is it specific or non-specific? **Br Med J**, v. 311, p. 986–989, 1995.

HILVO, M. et al. Ceramide stearic to palmitic acid ratio predicts incident diabetes. **Diabetologia**, v. 61, n. 6, p. 1424–1434, 2018.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome**. Belgium: [s.n.], 2006.

JELLIFFE, D.B. The assessment of the nutritional status of the community. Geneva,1966. 271p.

KERNER, J.; HOPPEL, C. Fatty acid import into mitochondria. **Biochim Biophys Acta**, v. 1486, p. 1–17, 2000.

KHAN, M. K.; ZILL-E-HUMA; DANGLES, O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. **J Food Compos Anal**, v. 33, n. 1, p. 85–104, 2014.

KUROWSKA, E. et al. HDL-C Raising Effect of Orange Juice in Subjects with Hipercholestrolemic. **J Clin Nutr**, v. 72, n. 5, p. 1095–1100, 2000.

LAAKSONEN, R. et al. Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. **Eur Heart J**, v. 37, n. 25, p. 1967–1976, 2016.

LIMA, ACD; CECATTI, C; FIDÉLIX, MP; ADORNO, M.A.T.; SAKAMOTO, I.K.; CESAR, T.B.; SIVIERI, K. Effect of Daily Consumption of Orange Juice on the Levels of Blood Glucose, Lipids, and Gut Microbiota Metabolites: Controlled Clinical Trials. **J Med Food**, v. 22, n. 2, p. 202-210, 2019.

LUO, L.; LIU, M. Adipose tissue in control of metabolism. **J Endocrinol**, v. 231, n. 3, p. R77–R99, 2016.

MAHMOUD, A. M. et al. Beneficial Effects of Citrus Flavonoids on Cardiovascular and Metabolic Health. **Oxidative med cell longev**, v. 2019, n. 3, p. 1–19, 2019.

MANACH, C. et al. Addressing the inter-individual variation in response to consumption of plant food bioactives: Towards a better understanding of their role in healthy aging and cardiometabolic risk reduction. **Mol Nutr Food Res**, v. 61, n. 6, p. 1–16, 2017.

MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. **Obes Res Clin Pract**, v. 7, n. 5, p. e330-341, 2013.

MATYASH, V. et al. Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. **J Lipid Res**, v. 49, p. 1137–1146, 2008.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Review: Analysis of carotenoids in orange juice. **J Food Compos Anal**, v. 20, n. 7, p. 638–649, 2007.

MIHALIK, S. J. et al. Increased Levels of Plasma Acylcarnitines in Obesity and Type 2 Diabetes and Identification of a Marker of Glucolipotoxicity. **Obesity**, v. 18, n. 9, p. 1695–1700, 2014.

MILENKOVIC, D. et al. Interindividual Variability in Biomarkers of Cardiometabolic Health after Consumption of Major Plant-Food Bioactive Compounds and the Determinants Involved. **Adv Nutr**, v. 8, n. 4, p. 558–570, 2017.

MIWA, Y. et al. Suppression of Apolipoprotein B Secretion from HepG2 Cells by Glucosyl Hesperidin. **J Nutr Sci Vitaminol**, v. 52, n. 3, p. 223–231, 2006.

MORAND, C. et al. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. **Am J Clin Nutr**, v. 93, n. 1, p. 73–80, 2011.

MOREIRA, V. et al. Orange juice affects acylcarnitine metabolism in healthy volunteers as revealed by a mass-spectrometry based metabolomics approach. **Food Res**

Int, v. 107, n. 5, p. 346–352, 2018.

OLUSI, S. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotectic enzymes in humans. **Int J Obes**, v. 26, n. 9, p. 1159–1164, 2002.

PEREIRA-CARO, G. et al. Orange juice (poly) phenols are highly bioavailable in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 100, p. 1378–1384, 2014.

PRIOR, R. L. et al. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC $_{FL}$)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. **J Agric Food Chem**, v. 51, n. 11, p. 3273–3279, 2003.

QUEHENBERGER, O. et al. Lipidomics reveals a remarkable diversity of lipids in human plasma. **J Lipid Res**, v. 51, p. 3299–3305, 2010.

RAMPERSAUD, G. C.; VALIM, M. F. 100 % citrus juice : Nutritional contribution , dietary benefits , and association with anthropometric measures. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 57, n. 1, p. 129–140, 2017.

RANGEL-HUERTA, O. D. et al. Normal or High Polyphenol Concentration in Orange Juice Affects Antioxidant Activity, Blood Pressure, and Body Weight in Obese or Overweight Adults. **J Nutr**, v. 145, n. 8, p. 1808–1816, 2015.

RAZQUIN, C. et al. Plasma lipidome patterns associated with cardiovascular risk in the PREDIMED trial: a case-cohort study. **Int J Cardiol**, v. 253, p. 126–132, 2019.

RIBEIRO, C.; DOURADO, G.; CESAR, T. Orange juice allied to a reduced-calorie diet results in weight loss and ameliorates obesity-related biomarkers: A randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 38, p. 13–19, 2017.

RINALDO, P.; COWAN, T. M.; MATERN, D. Acylcarnitine profile analysis. **Genet Med**, v. 10, n. 2, p. 151–156, 2008.

RISO, P. et al. Effects of blood orange juice intake on antioxidant bioavailability and on different markers related to oxidative stress. **J Agric Food Chem**, v. 53, n. 4, p. 941–947, 2005.

ROCHETTE, L. et al. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. **Biochim Biophys Acta**, v. 1840, n. 9, p. 2709–2729, 2014.

ROY, M. K. et al. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: Relationship between total polyphenol and individual catechin content. **Int J Food Sci Nutr**, v. 61, n. 2, p. 109–124, 2010.

RUSKOVSKA, T.; BERNLOHR, D. A. Oxidative stress and protein carbonylation in adipose tissue — Implications for insulin resistance and diabetes mellitus. **J Proteomics**, v. 92, p. 323–334, 2013.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. **Life Sci**, v. 203, n. 1, p. 255–267, 2018.

SAM, S.; MAZZONE, T. Adipose tissue changes in obesity and the impact on metabolic function. **Transl Res**, v. 164, n. 4, p. 284–292, 2014.

SCHOONEMAN, M. G. et al. Acylcarnitines: Reflecting or inflicting insulin resistance? **Diabetes**, v. 62, n. 1, p. 1–8, 2013.

SHIGA, M.; LAJOLO, F. M.; FILISETTI, T. M. C. C. Changes in the cell wall polysaccharides during storage and hardening of beans. **Food Chem**, v. 84, p. 53–64, 2004.

SILVEIRA, J. Q. et al. Pharmacokinetics of Flavanone Glycosides after Ingestion of Single Doses of Fresh-Squeezed Orange Juice versus Commercially Processed Orange Juice in Healthy Humans. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, p. 12576–12584, 2014.

SILVEIRA, J. Q.; DOURADO, G. K. Z. S.; CESAR, T. B. Red-fleshed sweet orange juice improves the risk factors for metabolic syndrome. **Int J Food Sci Nutr**, v. 66, n. 7, p. 830–836, 2015.

SIMPSON, E. J.; MENDIS, B.; MACDONALD, I. A. Orange juice consumption and its effect on blood lipid profile and indices of the metabolic syndrome; a randomised, controlled trial in an at-risk population. **Food & Funct**, v. 7, n. 4, p. 1884–1891, 2016.

SINGH, S.; SINGH, R. P. In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. **Food**

Rev Int, v. 24, n. 4, p. 392–415, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016)**. (A. C. Farmacêutica, Ed.)São Paulo: 2016

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. São Paulo: Clannad Editora Científica, 2017.

SOCIEDADE BRASILERA DE CARDIOLOGIA. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3, 2016.

SOCIEDADE BRASILERA DE CARDIOLOGIA. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose - 2017. **Arq Bras Cardiol**, v. 109, 2017.

SOLINAS, G.; BORÉN, J.; DULLOO, A. G. De novo lipogenesis in metabolic homeostasis: More friend than foe? **Mol Metab**, v. 4, n. 5, p. 367–377, 2015.

STEGEMANN, C. et al. Lipidomics profiling and risk of cardiovascular disease in the prospective population-based bruneck study. **Circulation**, v. 129, n. 18, p. 1821–1831, 2014.

STYSKAL, J. et al. Oxidative stress and diabetes: What can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? **Free Radic Biol Med**, v. 52, n. 1, p. 46–58, 2012.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of Prunus domestica. I. - The quantitative analysis of phenolic constituents. **J Sci Food Agric**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TESTAI, L.; CALDERONE, V. Nutraceutical value of citrus flavanones and their implications in cardiovascular disease. **Nutrients**, v. 9, n. 5, p. 1–13, 2017.

TOMÁS-NAVARRO, M. et al. Volunteer Strati fi cation Is More Relevant than Technological Treatment in Orange Juice Flavanone Bioavailability. **J Agric Food Chem**, v. 62, p. 24–27, 2014.

VIOLANTE, S. et al. Substrate specificity of human carnitine acetyltransferase: Implications for fatty acid and branched-chain amino acid metabolism. **Biochim**

Biophys Acta, v. 1832, n. 6, p. 773–779, 2013.

WILCOX, L. J. et al. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **J Lipid Res**, v. 42, n. 5, p. 725–34, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. **WHO Obesity Technical Report Series**, v. 284, 256 p. , 2000.

WU, L. L. et al. Urinary 8-OHdG : a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer , atherosclerosis and diabetics. **Clin Chem Acta**, v. 339, p. 1–9, 2004.

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

DATA DA ENTRADA: 08 de Setembro de 2016.

DATA DA AVALIAÇÃO: 04 de Outubro de 2016.

CAAE : 59663816.8.0000.5462

Nº DO PROTOCOLO NO CEP: 4699

(este nº deverá citar nas correspondências referentes a este projeto)

Investigadora Principal: Carlos Daniel Magnoni

Nº Total de Sujeitos no Centro:

Nº Total de Sujeitos no Brasil:

Nº Total de Sujeitos no Estudo:

Área Temática Especial: não se aplica

Área de Conhecimento: Ciências da Saúde

Fase: Não se aplica

Duração do Estudo: 12 meses

Apoio/ Patrocinador: Recurso próprio

Instituição Proponente: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

CEP Proponente: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

Projeto de Pesquisa Clínica: "EFEITO DOS SUCOS DE LARANJA PÊRA E LARANJA SANGUÍNEA NA CAPACIDADE FUNCIONAL DOS MONÓCITOS, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO, EM INDIVÍDUOS COM RESISTÊNCIA À AÇÃO DA INSULINA".

Considerações/Comentários:. Trata-se de estudo clínico para avaliar os efeitos do consumo de suco de laranja, como uma terapia coadjuvante no tratamento da resistência à insulina e os possíveis mecanismos inflamatórios e metabólicos envolvidos.

Ao se proceder à análise ao projeto em questão, considera-se que:

a) O projeto preenche os requisitos fundamentais da Resolução CNS 466 de 12 de Dezembro de 2012, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Agência Nacionais de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.

b) O Comitê de Ética em Pesquisa avaliou e aprovou o Projeto de Pesquisa.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

c) O Comitê de Ética em Pesquisa segue os preceitos da Resolução CNS 466 de 12 de Dezembro de 2012, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacionais de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.

Diante do exposto, O Comitê de Ética em Pesquisa, manifesta-se pela:

1. Todas as declarações entregues;
2. Protocolo de pesquisa aprovado;
3. TCLE aprovado;
4. Questionário de Avaliação Nutricional aprovado.

O Comitê de Ética em Pesquisa solicita:

a) Comunicar qualquer alteração no projeto e/ou TCLE.
b) Comunicar qualquer evento adverso sério ocorrido durante a condução do estudo.
c) Elaborar e apresentar ao CEP relatórios semestrais e relatório final sobre o andamento da pesquisa.

Situação: Projeto avaliado e aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa em reunião ordinária realizada no dia 04 de Outubro de 2016.

São Paulo, 11 de Outubro de 2016.

Pedro Silvio Farsky
Coordenador CEP
CRM 55073

Dr. Pedro Silvio Farsky
Coordenador do CEP
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Secretaria de Estado da Saúde
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Av. Dr. Dante Pazzanese 500 Ibirapuera ✉ 04012-909
☎ Nutrição - 5085-6080 e-mail: nutricao@dantepazzanese.org.br

Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA A PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA:

"Efeito dos sucos de laranja pêra e laranja sanguínea na capacidade funcional dos monócitos, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, em indivíduos com resistência à ação da insulina."

Justificativa do Estudo: A cada ano aumenta o número de casos de diabetes mellitus em todo o mundo e cada vez mais são estudadas novas terapias, já que a doença apresenta difícil controle e relação direta com o surgimento de complicações. A laranja sanguínea contém antioxidantes que podem ser benéficos no metabolismo de pacientes com resistência à insulina, o que pode prevenir ou retardar o desenvolvimento do diabetes mellitus.

Objetivos da Pesquisa: Investigar os efeitos dos sucos de laranja pêra e laranja sanguínea sobre os pacientes com diagnóstico de resistência à insulina.

Procedimentos que serão efetuados: Serão realizadas 4 visitas, com intervalo aproximado de duas semanas entre as mesmas.

Em todas as visitas será realizada uma entrevista com duração aproximada de 30 minutos. Serão realizadas perguntas sobre o seu estado de saúde, hábitos, problemas de saúde e sobre a sua alimentação. Além da entrevista, serão realizadas medidas de peso, altura, circunferência da cintura, conforme descrito a seguir:

Peso: Você será pesado sem os sapatos e com roupas leves.

Altura: Você será colocado descalço, sobre a plataforma da balança, de costas para o marcador, com os pés unidos, em posição reta e olhando para frente.

Circunferência abdominal: Será realizada utilizando-se fita métrica.

Também será solicitada a coleta de sangue, para fazer uma avaliação dos níveis de colesterol e açúcar no sangue, e a coleta de urina e fezes, que o sr. (a) realizará em sua casa e trará nos dias de visita. O exame de sangue será realizado pelo Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. A pessoa que coletará o seu sangue trabalha no laboratório do hospital e é habilitada a utilizar os procedimentos adequados para não haver riscos para o(a) sr(a). Para a realização dos exames laboratoriais, o(a) sr.(a) deverá dar também o seu consentimento.

O suco de laranja pêra será entregue na primeira visita. Você receberá 3 litros de suco para iniciar o tratamento e o restante será entregue em sua residência. Você deverá ingerir 400 ml do suco por dia, durante 15 dias, para posterior análise.

Após a 2ª (segunda) visita, será realizada uma pausa de 4 semanas, e na 3ª (terceira) visita, você receberá o suco de laranja sanguínea, sendo parte entregue no momento da entrevista e o restante na sua residência. Este suco também deverá ser consumido durante 15 dias, sendo 400 ml/dia.

Desconforto e riscos esperados: Há a possibilidade de ocorrer um pequeno desconforto no momento da coleta de sangue, devido a picada de agulha da seringa. Mas esse desconforto é momentâneo.

Benefícios esperados: Você não terá benefícios diretos com esta pesquisa, mas irá contribuir para uma melhor compreensão dos efeitos do uso da laranja sanguínea sobre a saúde das pessoas com resistência à insulina.

Efeitos adversos: Não são previstos efeitos adversos ao estudo, já que os sucos de laranja utilizados são 100% naturais e sem aditivos ou conservantes. De qualquer forma, está garantido seu direito de indenização diante de eventuais danos decorrentes da intervenção.

Garantia de acesso: Em qualquer etapa do estudo, caso o(a) sr(a) tenha qualquer dúvida, o sr(a) pode me perguntar ou entrar em contato com os pesquisadores envolvidos nesta pesquisa ou com o Comitê de ética em Pesquisa, órgão responsável pelo esclarecimento de dúvidas relativas aos procedimentos éticos da pesquisa e pelo acolhimento de eventuais denúncias quanto à condução do estudo.

Contato dos profissionais responsáveis pela pesquisa:

Dr. Carlos Daniel Magnoni – Av. Dr. Dante Pazzanese, 500 – 9º andar. São Paulo/SP

Telefone: 11-5085-6080

Prof. Dr. Franco Maria Lajolo -Av. Prof. Lineu Prestes, 580 Bloco 14. São Paulo/SP

Telefone: 11-3091-0128

Comitê de Ética

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA (CONEP)

SEPN 510 NORTE, BLOCO A, 3º Andar

Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde

CEP: 70750-521 - Brasília-DF

Direito de atualização sobre resultados: Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento do pesquisador.

Privacidade: A sua participação será mantida em completo sigilo. Todas as informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e serão usadas somente com fins científicos. As informações coletadas na entrevista ou nas amostras de sangue serão identificadas apenas através do código, sem nenhuma identificação pessoal.
Os dados pessoais e os termos de consentimento serão mantidos em total segurança e apenas a coordenação da pesquisa terá acesso a essas informações. Os seus dados de identificação serão mantidos em sigilo, e só serão utilizados para fins científicos.

Gastos com a pesquisa: O (a) Sr.(a) não terá nenhum custo por participar da pesquisa. Os gastos com transporte e lanche (nos dias de exame de sangue), serão ressarcidos pela pesquisa.
Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Efeito dos sucos de laranja pêra e laranja sanguínea na capacidade funcional dos monócitos, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, em indivíduos com resistência à ação da insulina."**

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

_____

Assinatura do participante Data ___/___/__

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

_____

Assinatura do responsável pelo estudo Data ___/___/__

ANEXO 3 – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
NUTRIÇAO CLINICA

Avaliação Nutricional – Projeto Laranja Moro

Data: ____/____/____ **Prontuário IDPC:** _____ **Tel.:**(___)_____

Nome: _____ **Gênero:** ☐M ☐F **Idade:** ____ anos

E-mail: _____

HISTÓRIA CLÍNICA

Antecedentes pessoais		Observações	A. Familiar
Obesidade		tempo: _____ ☐ meses ☐ anos	☐ Não ☐ Sim
DM		tempo: _____ ☐ meses ☐ anos	☐ Não ☐ Sim
HAS		tempo: _____ ☐ meses ☐ anos	☐ Não ☐ Sim
DLP		tempo: _____ ☐ meses ☐ anos	☐ Não ☐ Sim
IAM		ano:	☐ Não ☐ Sim
AVC		ano:	☐ Não ☐ Sim
DRC		tempo: _____ ☐ meses ☐ anos	
ICC		tempo: _____ ☐ meses ☐ anos	
CATE		ano:	
Angioplastia		ano:	
Cirurgia Cardíaca		ano:	
Outros		obs.:	

Hábito Intestinal: ☐ Normal ☐ Constipação ☐ Diarréia **Apetite:** ☐ Normal ☐ Aumentado ☐ Inapetente

Edema: ☐ Sim ☐ Não **Hidratação:** ☐ < 1L/dia ☐ 1 a 2L/dia ☐ >2L/dia **RH:** _____ml/dia

Atividade Física: ☐ Não ☐ Sim **Tipo:**_____

Freqüência: ☐ 1-2x/sem ☐ 3-4x/sem ☐ 5-7x/sem **Duração:** ☐<30 min ☐30-60 min. ☐>1h

Bebida Alcoólica: ☐ Não ☐ Sim **Tipo:** ☐ Cerveja ☐ Vinho ☐ Destilados **Frequência:** ☐ Diária ☐ Semanal ☐ Mensal ☐ Social **Medida:** ☐ Shot ☐ Taça ☐ Copo ☐ Latas ☐ Garrafa

Quantidade: ☐ 1 a 3 doses ☐ 4 a 6 doses ☐ 7 a 10 doses ☐ >10 doses

Fumante: ☐ Não ☐ Sim: _____ cigarros/dia ☐ Ex-tabagista (parou há ____ anos)

ANTROPOMETRIA

Parâmetro	Visitas			
	1ª: __/__/___	2ª: __/__/___	3ª: __/__/___	4ª: __/__/___
Peso atual (kg)				
Circunferência da cintura (cm)				
Altura (m)				
IMC (kg/m²)				
Classificação IMC				
Pressão arterial (mmHg)				

Observações:

_____
_____
_____
_____

EXAMES BIOQUÍMICOS

Exame	Visitas			
	1ª: __/__/__	2ª: __/__/__	3ª: __/__/__	4ª: __/__/__
Glicemia jejum (mg/dL)				
Triglicérides (mg/dL)				
Colesterol total (mg/dL)				
LDL-C (mg/dL)				
HDL-C (mg/dL)				
HbA1c (%)				

MEDICAMENTOS

Ação	Medicamentos	Dosagem	Quant/dia	Tempo (uso)
Hipolipemiantes	**ESTATINAS** **Mantida:** ☐ Sim ☐ Suspenso ☐ Troca ☐ Sinva ☐ Atorva ☐ Rosuva ☐ Pita	☐ 2 ☐ 4 ☐10 ☐20 ☐40 ☐80	☐ 1	____ ☐ meses ☐ anos
	FIBRATOS **Mantida:** ☐ Sim ☐ Suspenso ☐ Troca ☐ Beza ☐ Cipro ☐ Feno	☐ 100 ☐ 145 ☐ 160 ☐ 200	☐ 1	____ ☐ meses ☐ anos
	Ezetimibe **Mantida:** ☐ Sim ☐ Suspenso	☐ 10	☐ 1	____ ☐ meses ☐ anos
Hipoglicemiantes	**BIGUANIDAS** ☐ Metformina ☐ Glifage	☐ 850 ☐ 500	☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4	____ ☐ meses ☐ anos
	SULFONILUREIAS ☐ Gliclazida ☐ Glimepirida ☐ Glibenclamida	☐ 30 ☐ 60 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 4 ☐ 5	☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4	____ ☐ meses ☐ anos
	OUTROS: _____	_____	_____	____ ☐meses ☐anos
Insulina	NPH	__/__/__	-	____ ☐meses ☐anos
	Lantus	__/__/__	-	____ ☐meses ☐anos
	Regular	__/__/__	-	____ ☐meses ☐anos
	Humalog	__/__/__	-	____ ☐meses ☐anos
Antihipertensivos	**BETABLOQUEADORES** ☐ Atenolol ☐ Carvedilol ☐ Propanolol ☐ Metoprolol **INIBIDORES ECA** ☐ Captopril ☐ Enalapril **BLOQ. CANAL DE CÁLCIO** ☐ Anlodipino ☐ Diltiazen **BLOQ. RECEPTOR ANGIOTENSINA II** ☐ Losartana ☐ Olmesartana ☐ Valsartana **DIURÉTICOS** ☐ Furosemida ☐ Clortalidona ☐ Espironolactona ☐ HCTZ ☐ Bumetanida **OUTRO ANTIHIPERTENSIVO** ☐ Hidralazina ☐ Metildopa			
	OUTROS : _____			
Anticoagulantes	☐ AAS ☐ Cilostazol ☐ Clopidogrel ☐ Dicumarina ☐ Dipiridamol ☐ Pentoxifilina ☐ Ticagrelor ☐ Varfarina ☐ Femprocumona ☐ Heparina			
	OUTROS : _____			
Outros	☐ Omeprazol ☐ Levotiroxina ☐ Alopurinol ☐ Predinisona ☐ Amiodarona ☐ Issosorbida ☐ Ivabradina ☐ Propatilnitrato			
Renal	☐ Bicarbonato ☐ Carbonato Ca ☐ Eritropoietina ☐ Colecalciferol ☐ Calcitriol ☐ Sulfato Fe			
Observações				

ANEXO 4 – RECORDATÓRIO DE 24 HORAS

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Seção de Nutrição Clinica
Ambulatório de Nutrição

Data: _____/_____/_____

REFEIÇÃO/ HORÁRIO	ALIMENTOS	QUANTIDADES

ANEXO 5 – FICHA DO ALUNO (JANUS)

)/07/2019

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9131 - 10208507/1 - Karina Gama dos Santos

Email:	karina.gama@usp.br
Data de Nascimento:	19/03/1987
Cédula de Identidade:	RG - 42.365.944-3 - SP
Local de Nascimento:	Estado de São Paulo
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Bacharel em Nutrição - Universidade Cruzeiro do Sul - São Paulo - Brasil - 2009

Curso:	Mestrado
Programa:	Ciência dos Alimentos
Área:	Bromatologia
Data de Matrícula:	06/02/2017
Início da Contagem de Prazo:	06/02/2017
Data Limite para o Depósito:	06/08/2019
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Neuza Mariko Aymoto Hassimotto - 06/02/2017 até o presente. Email: aymoto@usp.br
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 06/02/2017
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 29/03/2018
Data do Depósito do Trabalho:	
Título do Trabalho:	
Data Máxima para Aprovação da Banca:	
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 06/02/2017

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).
Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2019
Impresso em: 28/07/2019 17:01:20

28/07/2019

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9131 - 10208507/1 - Karina Gama dos Santos

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
HNT5709-6/1	Dietas e Doenças Crônicas não Transmissíveis (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	02/08/2017	30/08/2017	30	2	100	A	N	Concluída
BIF5735-2/1	Princípios do Tratamento de Dados (Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo)	06/09/2017	03/10/2017	60	4	100	A	N	Concluída
ICB5752-1/3	Como Comunicar Sua Ciência: Melhorando a Oratória e a Empatia com o Público (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	16/10/2017	29/10/2017	30	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
BMB5804-3/4	O Órgão Adiposo como Centro Regulador do Metabolismo (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	06/11/2017	18/12/2017	60	4	90	B	N	Concluída
FBA5896-7/2	Tópicos em Ciência dos Alimentos e Nutrição II	17/11/2017	25/01/2018	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5870-8/1	Tópicos em Ciência dos Alimentos e Nutrição I	26/02/2018	07/05/2018	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
HNT5758-3/1	Síndrome Metabólica: Fisiopatologia, Epidemiologia e Controle (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	03/04/2018	08/05/2018	30	2	100	A	N	Concluída
HNT5737-4/1	Ciência de Alimentos (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	10/05/2018	21/06/2018	60	4	100	A	N	Concluída
BMB5817-2/4	Fisiopatologia do Diabetes Mellitus (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	12/09/2018	17/10/2018	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBA5754-2/1	Atualização em Ciências Farmacêuticas	22/10/2018	28/10/2018	30	2	100	A	N	Concluída
TIC5016-2/2	Dislipidemia e Hipertensão - Novas Técnicas no Diagnóstico e Tratamento (Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - Universidade de São Paulo)	29/10/2018	18/11/2018	90	6	100	A	N	Concluída
FBA5874-6/3	Química e Análise dos Alimentos Lipídicos	06/11/2018	20/12/2018	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	26
Estágios:			
Total:	0	25	26

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2019
Impresso em: 28/07/2019 17:01:20

ANEXO 6 – CURÍCULO LATTES

Karina Gama dos Santos

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/4475951249772884
ID Lattes: **4475951249772884**
Última atualização do currículo em 28/07/2019

Graduada em Nutrição pela Universidade Cruzeiro do Sul (2008). Especialista em Nutrição Clínica pela Universidade Gama Filho - UFG (2011). Especialista em Educação em Diabetes pela Universidade Paulista - UNIP (2017). Título de Especialista em Nutrição em Cardiologia pela Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo - SOCESP (2017). Mestranda em Ciências dos Alimentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP). Nutricionista do Ambulatório de Nutrição Clínica do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Karina Gama dos Santos
Nome em citações bibliográficas	SANTOS, K. G.;SANTOS, KARINA G. DOS;DOS SANTOS, KARINA G
Lattes iD	http://lattes.cnpq.br/4475951249772884

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2017	Mestrado em andamento em Ciência dos Alimentos. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Effect of administration of orange juice, cvs. Pera and Moro on oxidative stress and plasma lipids in obese subjects with insulin resistance,Orientador: Neuza Mariko Aymoto Hassimoto.
2017 - 2017	Especialização em Nutrição em Cardiologia (título). Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, SOCESP, Brasil. Título: não houve.
2016 - 2017	Especialização em Formação de Educadores em Diabetes. (Carga Horária: 360h). Universidade Paulista, UNIP, Brasil. Título: Como é o consumo alimentar de pacientes com diabetes mellitus tipo 2?. Orientador: Profª Lilian Fanny de Castilho.
2010 - 2011	Especialização em Nutrição Clínica. (Carga Horária: 500h). Universidade Gama Filho (SP), UGF, Brasil. Título: Conhecimento de consumidores sobre as informações nutricionais presentes nos rótulos de alimentos. Orientador: Camila Maria de Melo.
2005 - 2008	Graduação em Nutrição. Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, Brasil. Título: Orientações nutricionais relatadas por gestantes freqüentadoras de um programa de pré-natal em uma UBS no município de São Paulo. Orientador: Profª Drª Kátia Cristina Andrade. Bolsista do(a): Programa Universidade para Todos, PROUNI, Brasil.

Formação Complementar

2017 - 2017 75º Curso Intensivo de Cardiologia. (Carga horária: 30h).
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.

2017 - 2017
Formação de Facilitadores de Treinamento e Desenvolvimento. (Carga horária: 20h).
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.

2017 - 2017 Traduzindo informação genética em nutrição prática. (Carga horária: 4h).
Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, SOCESP, Brasil.

2016 - 2016 III Curso Itinerante de Obesidade. (Carga horária: 5h).
Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica, ABESO, Brasil.

2016 - 2016 Curso Educação para o Tratamento em Diabetes Mellitus. (Carga horária: 10h).
Associação Nacional de Atenção ao Diabetes, ANAD, Brasil.

2016 - 2016 Treinamento Lilacs e BVS-SP. (Carga horária: 3h).
Biblioteca/CIR da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, BIB/CIR FSPUSP, Brasil.

2016 - 2016 Capacitação em Pesquisa Clínica. (Carga horária: 80h).
Hospital Alemão Oswaldo Cruz, HAOC, Brasil.

2015 - 2015 Bioquímica, fisiologia e nutrição na saúde e na doença - Módulo Diabetes. (Carga horária: 8h).
GANEP Educação, GANEP, Brasil.

2015 - 2015 Curso "Abordagens Nutricionais Inovadoras no Tratamento da Obesidade". (Carga horária:
45h).
Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da FMUSP, IPQ, Brasil.

2014 - 2014 Extensão universitária em Curso de Extensão - Nutrição em Cardiologia. (Carga horária: 360h).
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.

2014 - 2014 Curso "EMTN em Prática: da literatura à beira do leito". (Carga horária: 8h).
Instituto de Assistência Médica ao Servidor Público Estadual, IAMSPE, Brasil.

2010 - 2010 Curso de Aperfeiçoamento em Obesidade Infanto-Juvenil. (Carga horária: 24h).
Instituto Movere de Ações Comunitárias, IMAC, Brasil.

2008 - 2008 Curso "Bioimpedância: aula prática". (Carga horária: 3h).
Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, Brasil.

2008 - 2008 Curso "Nutrição em Pediatria II". (Carga horária: 8h).
Instituto da Criança da HCFMUSP, ICR, Brasil.

2008 - 2008 Curso "Nutrição e Atividade Física". (Carga horária: 8h).
Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, Brasil.

Atuação Profissional

Hospital das Clínicas da FMUSP (Instituto Central), ICHC-FMUSP, Brasil.

Vínculo institucional
2018 - 2019 Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Nutricionista, Carga horária: 30

Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.

Vínculo institucional
2014 - Atual Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Nutricionista, Carga horária: 30

Grupo de Educação e Controle do Diabetes - HRIM Unifesp, GECD, Brasil.

Vínculo institucional
2015 - 2016 Vínculo: Voluntário, Enquadramento Funcional: Nutricionista, Carga horária: 4

Hospital Geral Dr. Álvaro Simões de Souza de "Vila Nova Cachoeirinha", HGVNC, Brasil.

Vínculo institucional
2013 - 2014 Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Nutricionista Chefe, Carga horária:

30

Vínculo institucional
2011 - 2013 Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Nutricionista, Carga horária: 30

Intermédica - Sistema de Saúde, INTERMÉDICA, Brasil.

Vínculo institucional
2009 - 2011 Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Nutricionista, Carga horária: 40
Outras informações Atendimento Ambulatorial.

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Dietética.
2. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Doenças Crônicas não-Transmissíveis.

Idiomas

Inglês Compreende Razoavelmente, Fala Pouco, Lê Razoavelmente, Escreve Pouco.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica

1. WEBER, BERNARDETE BERSCH-FERREIRA, ÂNGELA C TORREGLOSA, CAMILA R MARCADENTI, ALINE LARA, ENILDA S DA SILVA, JACQUELINE T COSTA, ROSANA P SANTOS, RENATO H N BERWANGER, OTAVIO BOSQUETTI, ROSA
PAGANO, RAIRA MOTA, LUIS G S DE OLIVEIRA, JULIANA D SOARES, RAFAEL M GALANTE, ANDREA P DA SILVA, SUZANA A
ZAMPIERI, FERNANDO G KOVACS, CRISTIANE AMPARO, FERNANDA C MOREIRA, PRISCILA DA SILVA, RENATA A **DOS SANTOS, KARINA G** MONTEIRO, ALINE S PAIVA, CATHARINA C J MAGNONI, CARLOS D , et al. ; Implementation of a Brazilian Cardioprotective nutritional (BALANCE) program for improvement on quality of diet and secondary prevention of cardiovascular events: A randomized, multicentre trial. AMERICAN HEART JOURNAL JCR, v. 2015, p. 187-197, 2019.

2. WEBER, BERNARDETE BERSCH-FERREIRA, ÂNGELA C. TORREGLOSA, CAMILA R. ROSS-FERNANDES, MARIA B. DA SILVA, JACQUELINE T. GALANTE, ANDREA P. DE SOUSA LARA, ENILDA COSTA, ROSANA P. SOARES, RAFAEL M. CAVALCANTI, ALEXANDRE B. MORIGUCHI, EMILIO H. BRUSCATO, NEIDE M. KESTIES, JOSIELE VIVIAN, LILIAN SCHUMACHER, MARINA DE CARLI, WALDEMAR BACKES, LUCIANO M. REOLÃO, BRUNA R. RODRIGUES, MILENA P. BALDISSERA, DÚNNIA M.B. TRES, GLAUCIA S. LISBÔA, HUGO R.K. BEM, JOÃO B.J. REOLÃO, JOSE B.C. DEUCHER, KEYLA L.A.L. , et al. ; The Brazilian Cardioprotective Nutritional Program to reduce events and risk factors in secondary prevention for cardiovascular disease: study protocol (The BALANCE Program Trial). AMERICAN HEART JOURNAL JCR, v. 171, p. 73-81.e2, 2016.

Citações: WEB OF SCIENCE™ 2 | SCOPUS 4

Capítulos de livros publicados

1. **SANTOS, K. G.**; KOVACS, C. . Aspectos específicos da anamnese alimentar no envelhecimento. In: Daniel Magnoni, Cristiane Kovacs, Isabela Cardoso Pimentel Mota e Patrícia Amante de Oliveira. (Org.). Envelhecimento, sarcopenia e nutrição: uma abordagem teórico-prática. 1ed.Rio de Janeiro: DOC Content, 2017, v. 1, p. 138-152.

1. **SANTOS, K. G.**; AZEVEDO, E. L. G. ; YONAMINE, G. ; NASCIMENTO, A. . Alimentação Complementar. In: Yonamine, G.H., Nascimento, A.G. do; Lima, P.A. de; Zamberlan, P.; Silva, A.P.A. da. (Org.). Alimentação no Primeiro Ano de Vida. 1ed.Barueri: Manole, 2013, v. 1, p. 25-26.
2. **SANTOS, K. G.**; AZEVEDO, E. L. G. ; YONAMINE, G. ; LIMA, P. . Dúvidas Frequentes. In: Yonamine, G.H., Nascimento, A.G. do; Lima, P.A. de; Zamberlan, P.; Silva, A.P.A. da. (Org.). Alimentação no Primeiro Ano de Vida. 1ed.Barueri: Manole, 2013, v. 1, p. 27-32.
3. **SANTOS, K. G.**; AZEVEDO, E. L. G. ; YONAMINE, G. ; LIMA, P. . Dicas para o sucesso da introdução da alimentação complementar. In: Yonamine, G.H., Nascimento, A.G. do; Lima, P.A. de; Zamberlan, P.; Silva, A.P.A. da. (Org.). Alimentação no Primeiro Ano de Vida. 1ed.Barueri: Manole, 2013, v. 1, p. 33-35.
4. **SANTOS, K. G.**; AZEVEDO, E. L. G. ; YONAMINE, G. ; NASCIMENTO, A. . Cuidados com a higiene no armazenamento e preparo dos alimentos. In: Yonamine, G.H., Nascimento, A.G. do; Lima, P.A. de; Zamberlan, P.; Silva, A.P.A. da. (Org.). Alimentação no primeiro ano de vida. 1ed.Barueri: Manole, 2013, v. 1, p. 37-42.
5. Azevedo, E. ; **SANTOS, K. G.** ; YONAMINE, G. ; LIMA, P. . Esquema Alimentar no Primeiro Ano de Vida. In: Yonamine, G.H.; Nascimento, A. G. do; Lima, P.A. de; Zamberlan, P.; Silva, A.P.A.da.. (Org.). Alimentação no primeiro ano de vida. 1ed.Barueri: Manole, 2013, v. 1, p. 19-24.

Resumos publicados em anais de congressos

1. Monteiro, A. S. ; **SANTOS, K. G.** ; KOVACS, C. ; TRINDADE, A. L. ; SILVA, K. G. ; PAIVA, C. ; AMPARO, F. C. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; SOUSA, A. ; MAGNONI, D. . Quantitative and qualitative protein intake in elderly and their distribution permeal. In: International Conference on Frailty & Sarcopenia Research, 2017, Barcelona, Spain. The Journal of Frailty & Aging, 2017. v. 6. p. 107-108.
2. ALVES, R. ; PAIVA, C. ; KOVACS, C. ; AMPARO, F. C. ; MOREIRA, P. ; Monteiro, A. S. ; **SANTOS, K. G.** ; MAGNONI, C. D. ; SOUSA, A. ; DINALLI, M. ; ALMEIDA, T. M. . Nutritional management of patient with megaesophagus due to chagasic dilated cardiomyocardiopathy. In: International Conference on Frailty & Sarcopenia Research, 2017, Barcelona, Spain. The Journal of Frailty & Aging, 2017. v. 6. p. 140-141.
3. AMPARO, F. C. ; KOVACS, C. ; PAIVA, C., MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; **SANTOS, K. G.** ; Monteiro, A. S). ; SOUSA, A. ; MAGNONI, D. . SGA and MIS as diagnosis of energy-protein malnutrition in aged patients with cronic renal disease on conservative treatment. In: International Conference on Frailty & Sarcopenia Research, 2017, Barcelona, Spain. The Journal of Frailty & Aging, 2017. v. 6. p. 146-146.
4. MOREIRA, P. ; MONTEIRO, A. ; PAIVA, C. C. J. ; KOVACS, C. ; MAGNONI, D. ; AMPARO, F. ; **SANTOS, K. G.** ; ALVES, R. . Impacto do Consumo de Alimentos Cardioprotetores no Tratamento de Fatores de Risco Cardiovascular. In: XXIV Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2017, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Atha Comunicação e Editora, 2017. v. 27. p. 354-354.
5. AMPARO, F. ; MONTEIRO, A. ; PAIVA, C. C. J. ; KOVACS, C. ; MAGNONI, D. ; **SANTOS, K. G.** ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. . Pacientes idosos com Síndrome Metabólica (SM) e Doença Renal Crônica (DRC) de um ambulatório de nutrição. In: XXIV Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2017, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Atha Comunicação e Editora, 2017. v. 27. p. 354-354.
6. **SANTOS, K. G.**; MONTEIRO, A. ; MAGNONI, D. ; PAIVA, C. ; KOVACS, C. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. . Correlação entre a estratificação do risco cardiovascular e critérios de síndrome metabólica em pacientes encaminhados ao ambulatório de nutrição. In: XXIV Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2017, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Atha Comunicação e Editora, 2017. v. 27. p. 351-351.
7. **SANTOS, K. G.**; MONTEIRO, A. ; PAIVA, C. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; MAGNONI, D. ; KOVACS, C. . Application of the Findrisc Questionnaire to screening the risk of diabetes mellitus in patients with cardiovascular disease. In: 39 th Espen Congress, 2017, Netherlands. Clinical Nutrition. Oxford: European Society for Clinical Nutrition and Metabolism, 2017. v. 36. p. S100-S100.
8. **SANTOS, K. G.**; MONTEIRO, A. ; PAIVA, C. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; MAGNONI, D. ; KOVACS, C. . Consumo semanal de alimentos cardioprotetores e de risco cardiovascular. In: 72º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2017, São Paulo. Arquivos Brasileiros de Cardiologia.. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2017. v. 109(5). p. 150-150.
9. MONTEIRO, A. ; **SANTOS, K. G.** ; PAIVA, C. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; AMPARO, F. ; MAGNONI, D. ; SOUSA, A. ; KOVACS, C. . Perfil bioquímico e padrões dietéticos em pacientes com dislipidemia. In: 72° Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2017, São Paulo. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2017. v. 109(5). p. 54-54.
10. MONTEIRO, A. ; **SANTOS, K. G.** ; PAIVA, C. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; AMPARO, F. ; MAGNONI, D. ; KOVACS, C. . Estratificação do risco cardiovascular em pacientes de prevenção primária: A importância do acompanhamento nutricional. In: XXII Congresso Brasileiro de Nutrição Parental e Enteral, 2017, Salvador. BRASPEN Journal. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral, 2017. v. 32. p. 46-47.
11. PAIVA, C. ; KOVACS, C. ; AMPARO, F. C. ; ALVES, R. ; Monteiro, A. S. ; **SANTOS, K. G.** ; MAGNONI, C. D. ; SOUSA, A. ; MOREIRA, P. . The influence of fat mass on the glycemic control of diabetic individuals and non-diabetics. In: International
Conference on Frailty & Sarcopenia Research, 2017, Barcelona, Spain. The Journal of Frailty & Aging, 2017. v. 6. p. 127128.
12. **SANTOS, K. G.**; Monteiro, A. S. ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. C. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; MAGNONI, C. D. ; SOUSA, A. ; KOVACS, C. . Avaliação dos fatores de risco modificáveis para doença macrovascular em pacientes diabéticos. In: XXIII Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2016, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Diretoria de Publicações da SOCESP, 2016. v. 26. p. 262-262.

4. Monteiro, A. S. ; ASSUNCAO, S. A. ; **SANTOS, K. G.** ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. C. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; MAGNONI, C. D. ; SOUSA, A. ; KOVACS, C. . Conhecimento dos pacientes encaminhados ao ambulatório de nutrição sobre as informações contidas nos rótulos de alimentos. In: XXIII Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2016, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Diretoria de Publicações da SOCESP, 2016. v. 26. p. 259-259.
5. Sousa, N.D. ; Andrade, L.S. ; PAIVA, C. C. J. ; **SANTOS, K. G.** ; MOREIRA, P. ; Monteiro, A. S. ; ALVES, R. ; AMPARO, F. C. ; MAGNONI, C. D. ; KOVACS, C. . Conhecimento e frequência do consumo de alimentos ricos em açúcar em pacientes diabéticos. In: XXIII Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2016, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Diretoria de Publicações da SOCESP, 2016. v. 26. p. 259-259.
6. ASSUNCAO, S. A. ; Andrade, L.S. ; Monteiro, A. S. ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. C. ; **SANTOS, K. G.** ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; MAGNONI, C. D. ; KOVACS, C. . Conhecimento e a prevalência do consumo de sal e sódio de pacientes hipertensos. In: XXIII Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP, 2016, São Paulo. Suplemento da Revista da SOCESP. São Paulo: Diretoria de Publicações da SOCESP, 2016. v. 26. p. 259-259.
7. Monteiro, A. S. ; **SANTOS, K. G.** ; ALVES, R. ; MOREIRA, P. ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. C. ; MAGNONI, C. D. ; KOVACS, C. . Lipid Targets and effect of nutritional intervation in patients with cardiovascular risk. In: ESPEN Congress, 2016, Copenhagen. Clinical Nutrition, 2016. v. 35. p. S48-S48.
8. AMPARO, F. C. ; MAGNONI, C. D. ; **SANTOS, K. G.** ; Monteiro, A. S. ; MOREIRA, P. ; PAIVA, C. ; ALVES, R. ; KOVACS, C. .
Association the chronic kidney disease (CKD) and changes in cardiovascular risk factors in patients from nutrition service. In: ESPEN Congress, 2016, Copenhagen. Clinical Nutrition, 2016. v. 35. p. S81-S81.
9. AMPARO, F. C. ; KOVACS, C. ; **SANTOS, K. G.** ; Monteiro, A. S. ; MOREIRA, P. ; PAIVA, C. ; ALVES, R. ; LOTAIF, L. . Prevalência de fatores de risco cardiovasculares em pacientes portadores de doença renal crônica (DRC) em um ambulatório de nutrição de um hospital público de cardiologia de São Paulo. In: XXVIII Congresso Brasileiro de Nefrologia, 2016, Maceió. Jornal Brasileiro de Nefrologia. São João da Boa Vista: GN1 editora, 2016. v. 38. p. 262-262.
10. MOREIRA, P. ; PAIVA, C. C. J. ; KOVACS, C. ; AMPARO, F. ; **SANTOS, K. G.** ; ROMUALDO, M. C. S. ; ALVES, R. ; MAGNONI,
D. ; SOUSA, A. . Escala de Compulsão Alimentar Periódica em Pacientes Obesos: Perfil do Grupo Obesidade Zero. In: XXXVI Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2015, São Paulo. Suplemento Especial da Revista da SOCESP, 2015. v. 25. p. 292-292.
11. CUNHA, C. M. S. ; FIGUEIREDO, C. A. ; KOVACS, C. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; PAIVA, C. C. J. ; ALVES, R. ; **SANTOS, K. G.** ; MAGNONI, D. . Metas lipídicas e recomendações dietéticas para o manejo de pacientes de alto risco cardiovascular. In: XXXVI Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2015, São Paulo. Suplemento Especial da Revista da SOCESP, 2015. v. 25. p. 233-233.
12. MOREIRA, P. ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. C. ; **SANTOS, K. G.** ; Monteiro, A. S. ; MAGNONI, C. D. ; SOUSA, A. ; KOVACS, C. . Dietary modifications and reducing cardiovascular risk in obese patients. In: XV Congresso Brasileiro de Aterosclerose, 2015, Campos do Jordão. Abstracts of the XV Brazilian Congress of Atherosclerosis, 2015. v. 3.
13. Monteiro, A. S. ; **SANTOS, K. G.** ; PAIVA, C. C. J. ; MOREIRA, P. ; KOVACS, C. ; MAGNONI, D. . Perfil antropométrico e laboratorial de pacientes diabéticos encaminhados para acompanhamento nutricional. In: XXI Congresso Brasileiro de Nutrição Parenteral e Enteral, 2015, Brasília. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Nutrição Parenteral e Enteral, 2015.

Apresentações de Trabalho

1. **SANTOS, K. G.**; ALVES, A. ; KOVACS, C. ; MAGNONI, D. ; LAJOLO, F. M. ; HASSIMOTTO, N. M. A. . Effect of pera and blood orange juices on biochemical parameters and antioxidant capacity in humans with insulin resistance. 2018. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
2. ALVES, R. ; PAIVA, C. ; KOVACS, C. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; MONTEIRO, A. ; **SANTOS, K. G.** ; MAGNONI, D. . Plasma triglyceride concentration with short-therm omega-3 supplementation in hypertriglycridemic patients from a public hospital nutrition outpatient clinic. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
3. PAIVA, C. C. J. ; KOVACS, C. ; Monteiro, A. S. ; AMPARO, F. C. ; **SANTOS, K. G.** ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; MAGNONI, D. . Efeito da canela na glicemia de paciente diabético. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
4. **SANTOS, K. G.**; MAGNONI, D. ; Monteiro, A. S. ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; KOVACS, C. . Correlação de variáveis sociodemográficas, antropométricas e laboratoriais de pacientes diabéticos encaminhados para acompanhamento nutricional. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
5. **SANTOS, K. G.**; MAGNONI, D. ; Monteiro, A. S. ; PAIVA, C. C. J. ; AMPARO, F. ; MOREIRA, P. ; ALVES, R. ; KOVACS, C. .Perfil antropométrico e laboratorial de pacientes obesos diabéticos encaminhados para acompanhamento nutricional. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
6. AMPARO, F. C. ; MOREIRA, P. ; **SANTOS, K. G.** ; PAIVA, C. ; MONTEIRO, A. ; ALVES, R. ; MAGNONI, D. ; KOVACS, C. . Avaliação da excreção da proteína urinária em doentes renais crônicos em tratamento conservador. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
7. YONAMINE, G. ; Azevedo, E. ; **SANTOS, K. G.** ; NASCIMENTO, A. ; LIMA, P. . Alimentação complementar: elaboração de guias de orientação para mães. 2009. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
8. Monteiro, A. S. ; **SANTOS, K. G.** ; SOUZA, L. A. ; ANDRADE, K.C. . Orientações nutricionais relatadas por gestantes frequentadoras de um programa de pré-natal, em uma unidade básica de saúde no município de São Paulo. 2009. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. XII Simpósio de Nutrição Clínica.Painel de debates - Emagrecimento além das dietas da moda. 2019. (Simpósio).
2. I International Symposium on Citrus Bioactive compounds and health benefits.Effect of pera and blood orange juices on biochemical parameters and antioxidant capacity in humans with insulin resistance. 2018. (Simpósio).
3. I Simpósio do Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos: ensino e pesquisa para uma alimentação saudável. 2018. (Simpósio).
4. IV Simpósio de Atualização Multidisciplinar do Pé Diabético. 2018. (Simpósio).
5. VIII Simpósio de Outono e XI Simpósio Anual de Nutrição Clínica do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.Desafios reais em terapia nutricional. 2018. (Simpósio).
6. 16º Evento da Série de Workshops Internacionais sobre Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde-Alimentos Funcionais e Compostos Bioativos: Avanços Científicos, Perspectivas e Desafios?ios. 2017. (Simpósio).
7. InCor 2017 - Na Fronteira do Conhecimento, formando pessoas e produzindo ciência. 2017. (Encontro).
8. V Encontro de Pesquisadores Dica Br - Efeito do Programa Alimentar Brasileiro Cardioprotetor na redução dos eventos e fatores de risco na prevenção secundária para doença cardiovascular. 2017. (Encontro).
9. X Simpósio Anual de Nutrição Clínica.Caso Clínico: Controle ambulatorial de paciente com insuficiência cardíaca congestiva, caquexia e sarcopenia. Uma visão multiprofissional.. 2017. (Simpósio).
10. XXIV Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP. 2017. (Congresso).
11. 11º Simpósio de Obesidade e Síndrome Metabólica do HCFMUSP. 2016. (Simpósio).
12. 52º Encontro Multidisciplinar de Obesidade Mórbida. 2016. (Encontro).
13. Atualização de Grandes Temas GANEP Educação - Prebióticos, Probióticos e Simbióticos, quando prescrever?. 2016. (Outra).
14. Atualização de Grandes Temas GANEP Educação - Sarcopenia no Idoso. 2016. (Outra).
15. IX Simpósio Anual de Nutrição Clínica.Prioridades no acompanhamento nutricional do paciente com multimorbidade. 2016. (Simpósio).
16. O coração da mulher: antigo desafio, novos conhecimentos. 2016. (Outra).
17. Oficina Alimentação Escolar e Combate à Obesidade. 2016. (Oficina).
18. VI Simpósio Acadêmico de Diabetes Mellitus. 2016. (Simpósio).
19. XIV Congresso Paulista de Nutrição Clínica, II Congresso Paulista sobre Nutracêuticos e I Encontro Nacional sobre Terapia Nutricional na Saúde Pública. Probióticos e fibras na doença cardiovascular. 2016. (Congresso).
20. XXIII Simpósio de Nutrição no Congresso da SOCESP.Avaliação dos fatores de risco modificáveis para doença macrovascular em pacientes diabéticos. 2016. (Simpósio).
21. XXII SIPAT Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.Alimentação saudável e saúde cardiovascular. 2016. (Outra).
22. 20º Congresso Brasileiro e Multidisciplinar em Diabetes. Correlação de variáveis sociodemográficas, antropométricas e laboratoriais de pacientes diabéticos encaminhados para acompanhamento nutricional / Perfil antropométrico e laboratorial de pacientes obesos diabéticos encaminhados para acomp. nutricional. 2015. (Congresso).
23. Oficina Rotulagem de Alimentos. 2015. (Oficina).
24. XIII Congresso Paulista de Nutrição Clínica e I Congresso Paulista sobre Nutracêuticos. 2015. (Congresso).
25. IV Atualização Científica em Nutrição.2014. (Encontro).
26. Módulo de Atualização PREPROSIM na prática clínica. 2014. (Outra).
27. VI Congresso Brasileiro de Nutrição e Câncer (CBNC), Ganepão 2014 e IV International Conference of Nutritional Oncology (ICNO). 2014. (Congresso).
28. XII Congresso Paulista de Nutrição Clínica e XI Congresso Paulista de Nutrição Humana. 2014. (Congresso).
29. Atualização em Terapia Nutricional - Terapia Nutricional em Pediatria. 2013. (Encontro).
30. Congresso Brasileiro de Prebióticos, Probióticos e Simbióticos. 2013. (Congresso).
31. XI Congresso Paulista de Nutrição Clínica e X Congresso Paulista de Nutrição Humana. 2013. (Congresso).
32. 15º Congresso Brasileiro Multidisciplinar e Multiprofissional em Diabetes. 2010. (Congresso).
33. 14º Congresso Brasileiro Multidisciplinar e Multiprofissional em Diabetes. 2009. (Congresso).
34. 15º Encontro Multidisciplinar de Obesidade Mórbida. 2009. (Encontro).
35. 13º Congresso Brasileiro Multidisciplinar e Multiprofissional em Diabetes. 2008. (Congresso).
36. 12º Congresso Brasileiro Multidisciplinar e Multiprofissional em Diabetes. 2007. (Congresso).
37. III Simpósio Sobre Ácidos Graxos e Saúde. 2007. (Simpósio).
38. Novas Perspectivas no Atendimento Nutricional e Multidisciplinar da Mulher. 2007. (Seminário).

Orientações

Orientações e supervisões concluídas

Orientações de outra natureza

1. Pelizzuda, C.; Brito, C.B.H.F.B.; Silva, P.; Oliveira, S.S.. Prevalência de fatores de risco de lombalgia ocupacional em funcionários de um hospital público de São Paulo. 2014. Orientação de outra natureza - Hospital Geral Dr. Álvaro Simões de Souza de "Vila Nova Cachoeirinha". Orientador: Karina Gama dos Santos.