



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



ANA PAULA RIBEIRO BARCELOS DE CASTRO

**SUPLEMENTAÇÃO COM FOLHAS DE BETERRABA (*Beta vulgaris* L.)
MELHORA PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E ANTROPOMÉTRICOS DE
PACIENTES OBESOS E DISLIPIDÊMICOS**

**BEETROOT LEAVES (*Beta vulgaris* L.) SUPPLEMENTATION IMPROVE
BIOCHEMICAL AND ANTHROPOMETRIC PARAMETERS OF OBESE AND
DYSLIPIDEMIC PATIENTS**

LIMEIRA

2018

ANA PAULA RIBEIRO BARCELOS DE CASTRO

SUPLEMENTAÇÃO COM FOLHAS DE BETERRABA (*Beta vulgaris* L.) MELHORA
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E ANTROPOMÉTRICOS DE PACIENTES OBESOS
E DISLIPIDÊMICOS

BEETROOT LEAVES (*Beta vulgaris* L.) SUPPLEMENTATION IMPROVE
BIOCHEMICAL AND ANTHROPOMETRIC PARAMETERS OF OBESE AND
DYSLIPIDEMIC PATIENTS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências da Nutrição, Esporte e Metabolismo na Área de Nutrição.

Dissertation presented to School of Applied Sciences the of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master, in the area of Nutrition,, Sports and Metabolism Science.

Orientadora: Prof^a. Dra. Rosângela Maria Neves Bezerra

Coorientadora: Prof^a. Dra. Ligiana Pires Corona

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pela aluna Ana Paula Ribeiro Barcelos de Castro, e orientada pela Prof. Dra. Rosângela Maria Neves Bezerra

LIMEIRA

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CAPES, 36-P-4781/2018; FAPESP, 2016/06457-0

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva - CRB 8/9281

C279s Castro, Ana Paula Ribeiro Barcelos de, 1992-
Suplementação com folhas de beterraba (*Beta vulgaris L.*) melhora parâmetros bioquímicos e antropométricos de pacientes obesos e dislipidêmicos / Ana Paula Ribeiro Barcelos de Castro. – Limeira, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Rosângela Maria Neves
Bezerra. Coorientador: Ligiana Pires
Corona.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Obesidade. 2. Dislipidemias. 3. Alimento funcional. 4. Beta vulgaris.
I. Bezerra, Rosangela Maria Neves, 1957-. II. Corona, Ligiana Pires, 1980-.
III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas.
IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Beetroot leaves (*Beta vulgaris L.*) supplementation improve biochemical and anthropometric parameters of obese and dyslipidemic patients

Palavras-chave em inglês:

Obesity

Dyslipidemia

Functional food

Beta vulgaris

Área de concentração: Nutrição

Titulação: Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Rosângela Maria Neves Bezerra [Orientador]

Ana Maria Pita Lottemberg

Maria Carolina Santos Mendes

Data de defesa: 25-05-2018

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Autora: Ana Paula Ribeiro Barcelos de Castro

Título: Suplementação com folhas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) melhora parâmetros bioquímicos e antropométricos de pacientes obesos e dislipidêmicos

Natureza: Defesa de mestrado

Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas – Universidade Estadual de Campinas

Data da defesa: Limeira, 25/05/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Rosângela Maria Neves Bezerra

Prof^a. Dra Ana Maria Pita Lottemberg

Prof^a. Dra Maria Carolina Santos Mendes

*A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

RESUMO

No Brasil, como em todo o mundo, o aumento da incidência de obesidade em todas as faixas etárias tem sérias consequências à saúde da população. Diversas evidências sugerem que a obesidade muito se relaciona com outras doenças crônicas não transmissíveis, como a diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares. Essas doenças apresentam como característica o aumento no estresse oxidativo, um importante componente envolvido com as complicações associadas à obesidade. Dessa forma, diversos vegetais têm sido utilizados como estratégias para minimizar os processos oxidativos e inflamatório dessas doenças. Na beterraba, as folhas apresentam elevados teores de fenólicos totais, e alguns desses compostos, como a vitexina, quercetina e miricetina são potentes agentes que podem reduzir e/ou inibir a oxidação do LDL-colesterol, reduzindo as alterações na estrutura endotelial. Este trabalho tem como objetivo estudar o efeito do consumo das folhas de beterraba nos parâmetros bioquímicos e antropométricos em indivíduos obesos e dislipidêmicos. Para tanto, foram realizadas as seguintes análises: caracterização físico-química e microbiológica das folhas e avaliação do efeito da suplementação com folhas de beterraba liofilizadas no tratamento de dislipidemias associadas à obesidade por meio de estudo clínico duplo-cego em pacientes obesos atendidos no Ambulatório Médico de Especialidades em Limeira e Mogi-Guaçu, SP. O estudo foi composto por 57 voluntários, divididos aleatoriamente em três grupos e tratados por 60 dias. O grupo intervenção recebeu cápsulas contendo folhas de beterraba liofilizadas, o grupo fibra recebeu cápsulas contendo celulose microcristalina e maltodextrina, e o grupo controle consumiu cápsulas contendo maltodextrina, e os exames bioquímicos foram comparados nos tempos inicial e final. Ao fim do tratamento, os voluntários que consumiram folhas de beterraba tiveram diminuição significativa nos parâmetros bioquímicos: colesterol total, LDL colesterol, glicose em jejum e insulina, sendo possível concluir que o consumo deste suplemento por 2 meses pode trazer benefícios à saúde do paciente obeso dislipidêmico.

Palavras-chave: Obesidade, Dislipidemia, Alimento Funcional, Beta vulgaris

ABSTRACT

In Brazil, as in the whole world, the increase in obesity occurrence in all age groups have genuine consequences to public health. Recent studies suggest that obesity is related to Noncommunicable Diseases (NCDs), such as diabetes, blood hypertension and heart diseases. These diseases shown an increase in the oxidative stress as a main characteristic, a condition that is also present in obesity. Hence, vegetables have been used as strategies to minimize the oxidative and inflammatory process associated with these diseases. The beetroot leaves have shown high total phenolic content, and some of these components, such as vitexin, quercetins and myricetins are potent agents that could reduce or even inhibit LDL-cholesterol oxidation, which could reduce the endothelial structure alterations. The aim of the present work is analyze the effect of beetroot leaves consumption on biochemical and anthropometric parameters in obese and dyslipidemic individuals. Therefore, the following procedures were made: physical-chemical and microbiological analyzes of beetroot leaves, evaluation of lyophilized beetroot leaves supplementation as a treatment of dyslipidemia associated with obesity, through a double-blind, randomized design with obese patients attending Ambulatório Médico de Especialidades in Limeira and Mogi-Guaçu. The intervention consisted of 57 volunteers, randomly divided into three groups and treated for 60 days. The intervention group received lyophilized beetroot leaves capsules, the fiber group received capsules containing microcrystalline cellulose and maltodextrin, the control group received capsules containing only maltodextrin. The biochemical exams were compared between the pre and post intervention period. At the end of the intervention, subjects treated with beetroot leaves shown a decrease in total cholesterol, LDL-cholesterol, fasting glucose e insulin. This result suggests that the consumption of lyophilized beetroot leaves capsules for 60 days could have health benefits to an obese dyslipidemic subject.

Keywords: Obesity, Dyslipidemia, Functional food, Beta vulgaris

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparação dos componentes de macro e micronutrientes da raiz e da folha de beterraba.....	19
Tabela 2	Teor de umidade, cinzas, proteínas e fibras expresso em % de folhas e talos de beterraba.....	34
Tabela 3	Análise microbiológica em amostras de folhas de beterraba liofilizadas.....	34
Tabela 4	Caracterização dos grupos.....	35
Tabela 5	Presença ou não de desconforto intestinal nos tempos inicial e final.....	36
Tabela 6	Médias diárias de proteínas, carboidratos, lipídios totais, gordura saturada, colesterol, calorias totais, fibras totais, fibras solúveis e insolúveis, vitamina A, vitamina C, porcentagem de proteínas, carboidratos e lipídios dietéticos de cada grupo.....	37
Tabela 7	Classificação do nível de atividade física.....	38
Tabela 8	Médias de IMC, circunferência da cintura, quadril e braço, razão cintura-quadril e porcentagem de gordura dos grupos.....	38
Tabela 9	Comparação das médias de valores bioquímicos de glicemia, insulina, colesterol, HDL, LDL, triglicérides, IA, RC, creatinina, ureia, TGO, TGP, PCR e HOMA-IR entre os grupos.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Aminotransferase de alanina
AME	Ambulatório médico de especialidades
AOAC	Associação de Químicos Analíticos Oficiais
APHA	American Public Health Association
AST	Aminotransferase de aspartato
AVC	Acidente vascular cerebral
BAM	Bacteriological Analytical Manual
BP	Baird Parker
BU	Base úmida
CB	Circunferência do braço
CC	Circunferência da cintura
CQ	Circunferência do quadril
CT	Colesterol Total
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
dL	Decilitro
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DRI	Ingestão Dietética de Referência
EC	Caldo <i>E.coli</i>
EDTA	Meio de cultura plasma de coelho
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EP	Erro padrão
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ESC	European Society of Cardiology
FAT	Fibras totais
FDA	Food and Drug Association
GC	Grupo controle
GF	Grupo fibra
GI	Grupo intervenção
GJ	Glicemia de jejum
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HCL	Ácido clorídrico

HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HE	Ágar entérico de hecktoen
HOMA-IR	Índice de resistência a insulina
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IAS	International Atherosclerosis Society
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDF	International Diabetes Federation
IMC	Índice de Massa Corporal
IOM	Institute of Medicine
IPAQ	Questionário internacional de atividade física
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LIA	Ágar lisina ferro
mg	Miligrama
ml	Mililitro
NaOH	Hidróxido de sódio
NCEP	National Cholesterol Education Program
NMP	Número Mais Provável
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C reativa
pH	Potencial hidrogeniônico
QFA	Questionário de frequência alimentar
RCQ	Razão cintura-quadril
RDA	Recomendações Nutricionais Diárias
RDC	Resolução da diretoria colegiada
RMF	Resíduo mineral fixo
RT	Resíduo total
RTb	Resíduo total do branco
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
TAG	Triacilglicerol
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicérides
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica

TSI	Ágar tríplice açúcar ferro
TT	Caldo tetracionato
VIGITEL	Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquéritos telefônicos
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade
XLD	Ágar xilose lisina

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
1.1 <i>Obesidade e Doenças Crônicas Não Transmissíveis</i>	14
1.2 <i>Dislipidemia e Doenças Cardiovasculares</i>	16
1.3 <i>Diabetes</i>	18
1.4 <i>O papel dos vegetais no manejo das Doenças Crônicas Não Transmissíveis</i>	17
2. Objetivos.....	23
2.1 <i>Geral</i>	23
2.2 <i>Específicos</i>	23
3. Métodos.....	24
3.1 <i>Estudo clínico</i>	24
3.1.1 <i>Avaliação do consumo alimentar</i>	26
3.1.2 <i>Avaliação antropométrica</i>	27
3.1.3 <i>Avaliação bioquímica</i>	28
3.1.4 <i>Avaliação do nível de atividade física</i>	29
3.4.5 <i>Análise estatística</i>	30
3.2 <i>Folhas de beterraba</i>	30
3.3 <i>Determinação de umidade, cinzas e proteínas nas folhas de beterraba liofilizadas</i>	31
3.4 <i>Segurança microbiológica</i>	33
4. Resultados.....	34
4.1 <i>Umidade, cinzas, proteínas e fibras das folhas e talos liofilizados</i>	34
4.2 <i>Análise microbiológica</i>	34
4.3 <i>Caracterização dos grupos</i>	34
4.4 <i>Avaliação do desconforto intestinal</i>	36
4.5 <i>Aspectos dietéticos</i>	36
4.6 <i>Nível de atividade física</i>	37
4.7 <i>Aspectos antropométricos</i>	38
4.8 <i>Aspectos bioquímicos</i>	40
5. Discussão.....	42
6. Conclusão.....	47
7. Referências.....	48

1. Introdução

1.1 Obesidade e Doenças Crônicas Não Transmissíveis

A obesidade é um dos graves problemas de saúde pública da atualidade que cresce em proporções alarmantes, atingindo países desenvolvidos e em desenvolvimento, o que eleva a doença ao nível de epidemia mundial. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016, 39% da população mundial adulta apresentavam sobrepeso e 13% eram obesos, confirmando que a obesidade mundial quase triplicou ao longo dos últimos 40 anos (WHO, 2017).

Ao longo dos últimos 30 anos o Brasil apresentou-se em transição nutricional, demonstrando declínio nos casos de desnutrição e aumento na prevalência da obesidade. Dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquéritos Telefônicos (VIGITEL) apontam que mais da metade da população brasileira está acima do peso e que a obesidade no Brasil cresceu 60% em 10 anos, atingindo 18,9% dos brasileiros (VIGITEL, 2016). A causa fundamental desta morbidade é o desequilíbrio energético entre consumo alimentar e gasto energético, fortalecida pelo estilo de vida atual, onde há um aumento na ingestão de alimentos com alta densidade energética aliada ao aumento da inatividade física (WHO, 2017).

A obesidade é definida como acúmulo excessivo de tecido adiposo que pode ser prejudicial à saúde, segundo a WHO (1995). Porém, ao longo dos últimos anos, foi demonstrado que a obesidade é uma doença com características de inflamação subclínica crônica com a presença de estresse oxidativo, contribuindo para o aumento da suscetibilidade do indivíduo ao desenvolvimento de comorbidades. Dentre os vários fatores existentes, a hiperglicemia, os níveis elevados de lipídios séricos e teciduais, a inflamação crônica subclínica e a diminuição na resposta antioxidante, contribuem de forma direta e indireta para o aumento da geração de espécies reativas (LIMA *et al.*, 2004; MELISSAS *et al.*, 2006; MAHAPATRA *et al.*, 1998).

Com o aumento da obesidade, tem-se por consequência, o aumento do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), dentre elas destaca-se o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), a hipertensão arterial sistêmica (HAS), as dislipidemias, doenças cardiovasculares (DCV), doenças respiratórias e diversos tipos de câncer (WHO,

2013). Esse quadro sobrecarrega os sistemas de saúde com demanda crescente de atendimento e é atualmente a maior causa de mortes no mundo. Segundo o Plano de Ação Global da OMS, (2013) 63% ou 36 milhões das mortes prematuras no ano de 2008 ocorreram em função das DCNT em adultos entre 30 e 70 anos e o número de mortes poderá aumentar para 55 milhões por ano em 2030 se a situação não for tratada. No Brasil, as DCV, doenças respiratórias crônicas, diabetes e câncer são responsáveis por 74% dos óbitos, sendo estas a principal causa de mortes no país (WHO, 2014). É sabido que parte das mortes por DCNT são evitáveis, uma vez que elas compartilham de quatro principais fatores de risco modificáveis, dentre eles a alimentação inadequada, inatividade física, uso de tabaco e de álcool (WHO, 2013).

Padrões alimentares estabelecidos na última década devido à mudança no estilo de vida levam a grandes prejuízos à saúde. É consenso que o consumo excessivo de sódio está relacionado ao aumento dos casos de hipertensão arterial e eventos cardiovasculares, e o consumo de carnes vermelhas e gorduras trans tem relação com diabetes e doenças cardiovasculares (WHO, 2010a). Dessa forma, o consumo alimentar tem grande influência no controle das DCNT, e a prevenção destas doenças que anteriormente era focado na redução do consumo de sódio, açúcar e gorduras, passa a incentivar o aumento da ingestão de vegetais, frutas, grãos integrais, castanhas e nozes e boas fontes de ômega-3, como os peixes de águas frias (Forouzanfar *et al.*, 2016).

O fumo e o uso abusivo de álcool tem implicações na saúde, sendo estes, importantes agressores físicos ao organismo e geradores de espécies reativas de oxigênio (EROs), que agravam o risco do desenvolvimento de DCNT. Segundo a OMS (WHO, 2010a), o fumo é causa de cerca de 71% dos casos de câncer de pulmão, e grande responsável pelos casos de doenças respiratórias crônicas e de doenças cardiovasculares, e que mais de 50% dos óbitos causados pelo álcool estão relacionados a doenças crônicas como cirrose e câncer.

A inatividade física é o quarto dentro os principais fatores de risco para o desenvolvimento das DCNT, responsável por 6% das mortes no mundo, tendo grandes implicações na saúde geral da população e no aumento da prevalência dessas doenças tanto em países de baixa renda quanto média. As recomendações de atividade física para a saúde de adultos entre 18 e 64 anos incluem a realização de pelo menos 150 minutos semanais de atividade aeróbica de intensidade moderada; pelo menos 75 minutos semanais de atividade

aeróbica vigorosa; ou combinação equivalente de atividade vigorosa e moderada. Todas as atividades devem ter duração mínima de 10 minutos e para benefícios adicionais à saúde deve-se aumentar a atividade de intensidade moderada para 300 minutos semanais. Atividade física inclui atividade física de lazer ou recreativa, caminhada ou ciclismo como meio de transporte, ocupacional (relativa ao trabalho), atividades domésticas (varrer, lavar, dentre outros), brincadeiras, jogos, esportes ou exercícios planejados, no contexto diário, família e atividades comunitárias (WHO, 2010b).

1.2 Dislipidemia e Doenças Cardiovasculares

A dislipidemia é um importante problema de saúde presente na obesidade, que tem sido fortemente discutido pelo Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, por ser uma comorbidade que aumenta o risco de eventos cardiovasculares e por ser responsável pela maior incidência de internações e mortes no país e em todo o mundo (WHO, 2016).

Busca-se através do controle das dislipidemias, principalmente na redução das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), a prevenção primária de eventos cardiovasculares e doenças ateroscleróticas como doença cardíaca coronária, acidente vascular cerebral (AVC) e outras doenças vasculares ateroscleróticas, pois essas são as principais causas de morte no mundo (ESC, 2011) e em sua grande maioria, podem ser prevenidas por meio de mudanças no estilo de vida. São considerados fatores de risco para doenças cardiovasculares o colesterol alto e o tabagismo, além da hipertensão arterial, que sobrecarrega o sistema cardiovascular.

As concentrações plasmáticas de colesterol e LDL estão fortemente associadas ao risco do desenvolvimento de DCV, e são fortes as evidências em estudos epidemiológicos e ensaios com e sem o uso de estatinas, avaliando parâmetros antropométricos e bioquímicos, que demonstram que a diminuição do LDL que está associada a redução do risco de desenvolvimento de DCV (Reiner *et al.*, 2011).

Os oxisteróis desempenham importante papel na patogênese da aterosclerose, sendo estas as lipoproteínas que mais se acumulam nas células (Brown; Goldstein, 1986). Sabe-se que a aterogênese é um processo multifatorial, porém, anormalidades no metabolismo e aumento exacerbado de lipoproteínas são fatores-chave no risco de

desenvolvimento de DCV, representando cerca de 50% dos fatores de risco (Yusuf *et al.*, 2004). A elevação das moléculas lipídicas e a infiltração das mesmas nas artérias é o início do processo aterogênico, sendo o LDL correspondente a mais de 75% dessas moléculas, além de outras lipoproteínas também apresentarem potencial aterogênico, como as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (IAS, 2013).

Dentro das paredes arteriais a oxidação dessas moléculas contribui para o acúmulo celular de colesterol, de LDL oxidados, e a formação de células espumosas (Aviram; Fuhrman, 2002). O aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) está envolvido na oxidação de LDL, resultando em alterações nas células do endotélio vascular, aumento de reações imune, aumento da migração de macrófagos para a túnica íntima, gerando processo inflamatório que de forma direta ou indireta resulta no desenvolvimento de aterosclerose (Stocker; Keaney, 2004; Matsuda; Shimomura, 2013).

O aumento do estresse oxidativo também está fortemente envolvido nas alterações no tecido vascular, pois sabe-se que a disfunção endotelial que é considerada fator de risco primário para doenças cardiovasculares, tem implicação direta na hipertensão arterial e conduzem o processo de aterosclerose (Joris; Mensink, 2013; Lidder; Webb, 2013), isso porque o excesso de EROs altera a biodisponibilidade do óxido nítrico, radical importante no processo de vasodilatação, além de gerar radicais peroxinitritos que contribuem para disfunção endotelial (Heitzer *et al.*, 2001).

Ao longo dos últimos anos, novas estratégias têm sido buscadas para facilitar a predição das DCV, uma vez que a avaliação do risco coronariano baseado somente na medida de LDL ou qualquer outro marcador lipídico isolado pode não ser o mais preciso, particularmente em indivíduos com risco intermediário, definindo-se então novos índices aterogênicos como o índice Castelli, em que calcula-se a razão CT/HDL (Superko; King, 2008). O aumento nas concentrações séricas de triglicérides (TG) também é reconhecido como importante fator de risco cardiovascular e o cálculo da razão TG/HDL demonstra ser um bom preditor de cardiovasculares tão eficientes quanto as demais razões (Gaziano *et al.*, 1997).

A mudança no estilo de vida, com ênfase na mudança da dieta tem um papel importante na prevenção e tratamento de doenças ateroscleróticas. O consumo de verduras, legumes, frutas, sementes, nozes e peixes, além do baixo consumo de sódio tem

demonstrado importante contribuição na redução do colesterol e no risco do desenvolvimento de DCV (Jenkins *et al.*, 2000; Mozaffarian; Appel; Van Horn, 2011; Sabeté; Oda; Ros, 2010; Sofi *et al.*, 2010). Também já é claro que o consumo de fontes de fibras dietéticas, em especial as solúveis presente em alimentos como a aveia e cevada são responsáveis pela diminuição dos níveis séricos de colesterol, independente da dieta habitual (Brown *et al.*, 1999). Dietas ricas em ácidos graxos saturados ou trans são responsáveis pelo aumento do LDL colesterol plasmático (NCEP, 2002) e o consumo de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados pode ser uma alternativa, pois estes, em quantidades adequadas não aumentam os níveis de LDL colesterol (Mensink *et al.*, 2003).

1.3 Diabetes

Ao longo das últimas 3 décadas, a prevalência de diabetes tipo 2 cresceu muito rapidamente em países de baixa e média renda. Além de estar relacionada a fatores de risco como sobrepeso e obesidade, é uma importante causa de outras patologias como a falência renal, tendo assim indiscutível impacto na qualidade de vida dos portadores. Segundo o Global Report on Diabetes (WHO, 2016) o DM2 causou 1,5 milhões de mortes em 2012, sendo que boa parte das mortes ocorreram em adultos com menos de 70 anos. No Brasil, ao longo dos últimos 10 anos, o número de pessoas diagnosticadas com diabetes cresceu 61,8%, a prevalência da doença passou de 5,5% em 2006 para 8,9% em 2016, sendo o público feminino o mais diagnosticado (Brasil. Ministério da Saúde, 2016). O DM2 é uma doença que pode ser prevenida e ter seu início controlado e adiado através da modulação dos fatores de risco modificáveis, como o excesso de peso, inatividade física e dieta inadequada, garantindo longevidade quando rapidamente diagnosticada e bem tratada.

Para diagnóstico de diabetes o *guidelines* da International Diabetes Federation (IDF) (IDF, 2014) e da OMS (WHO, 2016) definem os critérios para diagnóstico de hiperglicemia intermediária ou pré-diabetes valores de glicemia entre 100-125 mg/dL e diabetes ≥ 126 mg/dL (Aschner *et al.*, 2016). A IDF somente incentiva o início do tratamento com fármaco em casos em que a mudança no estilo de vida não seja suficiente para alcançar os objetivos metabólicos, destacando assim a importância da alimentação e atividade física para o controle da doença.

A manutenção da glicemia é um importante mecanismo fisiológico regulado principalmente via hormônios, insulina e glucagon, uma vez que a falha deste controle

pode resultar em síndrome metabólica, caracterizada por obesidade, hiperglicemia, baixa tolerância à glicose, hipertensão e dislipidemia, ou seja, múltiplos sintomas de transtorno na homeostase energética (Laaksonen *et al.*, 2004). Esta doença, devido ao prejudicado metabolismo da glicose, leva ao acúmulo de massa gorda na região abdominal uma vez que o armazenamento da glicose não é feito de maneira adequada, que por sua vez, resulta em inflamação e aumento do estresse oxidativo acarretando em mau funcionamento de órgãos, incluindo fígado, pâncreas, tecido adiposo e muscular (Lann; Gallagher; Leroith, 2008).

Doenças como o DM2 são caracterizadas por inflamação crônica e excesso de produção de espécies reativas de oxigênio, como o superóxido, que reage diretamente com o óxido nítrico, diminuindo sua biodisponibilidade. Estudos experimentais e clínicos sugerem que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese do diabetes (Cai; Harrison, 2000; Donath; Shoelson, 2011). Devido ao aumento na oxidação da glicose, radicais livres são formados desproporcionalmente, e somado ao declínio de mecanismos de defesa antioxidante podem levar a danos de enzimas e organelas celulares, acarretando no desenvolvimento de resistência à insulina (Willcox; Ash; Catignani, 2004). Dessa forma, estudos demonstraram que suplementar diabéticos com antioxidantes pode ser problemático, uma vez que a dosagem de suplementação necessária para observar efeitos benéficos deve ser suficientemente grande para oferecer uma proteção antioxidante mais forte contra as espécies reativas de oxigênio, muito presentes nessa patologia (Donath; Shoelson, 2011).

O controle e tratamento do diabetes envolvem fatores comportamentais, bem como controle de peso corporal em pacientes com sobrepeso ou obesidade, através de uma alimentação balanceada e hipocalórica, além de aconselhamento dietético como mudanças qualitativas na dieta, restringindo o consumo de doces e lanches, sendo a dieta do mediterrâneo utilizada como um exemplo de dieta benéfica, por esta ser caracterizada pelo alto consumo de frutas, verduras, legumes, cereais, leguminosas, oleaginosas e peixes. Também é recomendado que se dê preferência a alimentos ricos em fibras e de baixo índice glicêmico (IDF, 2017) e que seja realizada algum tipo de atividade física aeróbica moderada, como caminhar pelo menos 150 minutos por semana, ou qualquer outra atividade de resistência moderada.

1.4 O papel dos vegetais no manejo das Doenças Crônicas Não Transmissíveis

Ao longo dos últimos anos é possível observar um crescente interesse em alimentos com potencial funcional, ou seja, alimentos que além das funções de nutrição através de seus macro e micronutrientes oferecem benefícios adicionais à saúde. O estudo dos vegetais e seus potenciais de ação tem demonstrado que além das grandes concentrações de fibras, esses alimentos possuem uma gama de compostos bioativos que geram importantes impactos sobre a saúde (Crozier; Jaganath; Clifford, 2009), tendo assim um importante papel na prevenção de DCNT como a obesidade, diabetes, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e câncer (Scalbert *et al.*, 2005; Crozier; Jaganath; Clifford, 2009; Clifford, 2004; Knekt *et al.*, 2002).

Dentre os compostos bioativos presentes em diversos vegetais, é sabido que os polifenóis demonstram atividade anti-inflamatórias, antioxidantes, quimiopreventivas e neuroprotetoras, além de também serem capazes de influenciar o metabolismo de glicose e lipídios (Hanhineva *et al.*, 2010).

Os polifenóis podem exercer diversas funções no controle glicêmico, retardando a digestão e absorção de carboidratos e diminuindo a glicemia pós-prandial. Estudos com humanos que consumiram suco de maçã (Johnston; Clifford; Morgan, 2002), vinho tinto (Gin *et al.*, 1999) e café descafeinado (Moisey *et al.*, 2008) sugeriram que o tratamento com esses alimentos foram capazes de melhorar a glicemia. Os polifenóis também podem exercer mudanças no metabolismo de lipídios e oferecer proteção antioxidante (Bladé; Arola; Salvadó, 2010; Hooper *et al.*, 2012). No trato gastrointestinal, os polifenóis criam um ambiente antioxidante positivo e reagem com produtos nocivos da peroxidação lipídica, além disso, a interação lipídio-polifenol pode gerar um atraso no processo de absorção de gordura (Jakobek, 2015).

Já é sabido que frutas, verduras e legumes são boas fontes de compostos antioxidantes, como flavonóides (catequina, miricetina, quercetina, kampferol), ácido ascórbico e carotenóides (Rouanet *et al.*, 2010) e que a inserção destes grupos alimentares na dieta está associada a uma menor incidência de DCNT (Dragsted; Strube; Larsen, 1993).

O baixo consumo de vegetais pode ter consequências no aumento na prevalência da obesidade e seus desfechos com as DCNT. No Brasil, o consumo de frutas e hortaliças aumentou de 33% em 2008 para 35,2% em 2016, porém, apenas 1 entre 3 adultos consomem frutas e hortaliças em 5 dias da semana, sendo a prevalência deste consumo maior pelo público feminino, segundo a Vigitel (VIGITEL, 2016). De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde apenas 37,3% dos brasileiros maiores de 18 relatam consumir 5 porções diárias de hortaliças e frutas, considerada a porção adequada de consumo diário, o que representa aproximadamente 400g de vegetais por dia (IBGE, 2014).

Além do baixo consumo de vegetais, o desperdício de alimentos também é uma preocupação mundial, pois atualmente 30% de todos os alimentos produzidos no mundo são desperdiçados. Em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, descarta-se o mesmo volume de alimentos que poderia contribuir com a neutralização da insegurança alimentar do país, fazendo-se necessárias ações de mitigação do desperdício, tanto na cadeia de pós-colheita como nos domicílios (EMBRAPA, 2017). No Brasil, pouca informação nutricional é difundida sobre partes não convencionais de alimentos. Talos, folhas e casca, são comumente descartados, o que acarreta em um desperdício desnecessário de alimentos e uma consequente perda de importantes fontes de vitaminas e minerais, bem como de compostos bioativos benéficos à saúde.

Nas culturas ocidentais é possível observar o consumo de folhas de beterraba de maneira mais frequente, no entanto, no Brasil o consumo desta parte do vegetal não é difundido. De acordo com a "Tabela de Composição Química dos Alimentos" da Escola Paulista de Medicina/Unifesp (2016) a folha de beterraba apresenta menor valor energético, maior teor de proteínas e fibras, cálcio, ferro, magnésio, potássio e sódio, vitamina C, vitamina K, vitamina E, vitamina B6, riboflavina e tiamina quando comparada à raiz do vegetal, a parte mais consumida do vegetal.

Tabela 1 – Comparação dos componentes de macro e micronutrientes da raiz e da folha de beterraba

Componente	Beterraba	
	Raiz	Folhas
Valor Energético (kcal)	43	22
Proteína (g)	1.61	2.2
Gorduras Totais (g)	0.17	0.13

Componente	Beterraba	
	Raiz	Folhas
Carboidratos (g)	9.56	4.33
Fibra alimentar (g)	2.8	3.7
Cálcio (mg)	16	117
Ferro (mg)	0.8	2.57
Magnésio (mg)	23	70
Fósforo (mg)	40	41
Potássio (mg)	325	762
Sódio (mg)	78	226
Zinco (mg)	0.35	0.38

Fonte: "Tabela de Composição Química dos Alimentos"- Escola Paulista de Medicina/Unifesp (2016)

Nota: Valores em gramas/100g de alimento

A beterraba é um vegetal conhecido por ser uma importante fonte de micronutrientes como cálcio, ferro, fósforo, potássio e zinco além apresentar grande quantidade de compostos bioativos. Há um crescente interesse no consumo de beterraba devido a sua grande potencialidade de atividade biológica de prevenção e promoção de saúde. Estudos tem demonstrado que a beterraba pode ter o potencial de prevenir e auxiliar no controle de doenças como hipertensão e alterações na função endotelial, principalmente em função da sua riqueza em nitrato, aumentando a disponibilidade de óxido nítrico circulante (Ninfali; Angelino, 2013). O efeito deste que, ao ser reduzido pode contribuir para diminuição de formação e auxiliar na eliminação de espécies reativas de oxigênio, sugerindo que este composto pode oferecer também efeito antioxidante (Wink *et al.*, 2001).

Muito além do nitrato, a beterraba é um vegetal rico em compostos bioativos, sendo descrito como contendo ácido ascórbico, ácido cafeíco, carotenóides, flavonóides e fenólicos altamente bioativos como a rutina, epicatequina, conhecidos como importantes antioxidantes (Georgiev *et al.*, 2010; Manach *et al.*, 2005; Kujala *et al.*, 2002; Wootton-Beard; Ryan, 2011). Em estudo realizado para avaliar a concentração de fenólicos totais, a beterraba foi o vegetal que apresentou maior concentração destes quando comparada a outros 23 vegetais conhecidos por sua capacidade antioxidante, como a cebola, brócolis e feijão (Vinson *et al.*, 1998).

A beterraba têm demonstrado efeito benéfico no controle de patologias associadas ao aumento do estresse oxidativo causado por espécies reativas de oxigênio e radicais livres, pois apresenta grande disponibilidade de compostos bioativos como a betalaína, que tem atividade antioxidante e anti-inflamatória demonstrada *in vivo* e *in vitro* (Clifford *et al.*, 2015). As betalaínas são pigmentos nitrogenados hidrossolúveis, divididas em dois grupos – as betacianinas e betaxantinas, responsáveis pela pigmentação vermelha e amarela respectivamente, muito utilizadas na indústria de alimentos. Essas substâncias atuam na eliminação de radicais livres, impedem oxidação do oxigênio e protegem biomoléculas de oxidação (Pedreño; Escribano, 2001).

Diversas investigações demonstraram que as betalaínas pode ter grande potencial antioxidante, despertando assim o interesse para aplicação em diversas patologias como doença hepática (Vuli *et al.*, 2014), artrite (Pietrzkowski *et al.*, 2010) e até câncer (DAS *et al.*, 2013). Estudo de Vulíc *et al.*, (2014) demonstrou que a beterraba Detroit apresentou atividade antiradicaís e importante capacidade redutora. Também foi encontrado potencial antioxidante significativo e efeito hepatoprotetor em animais com fígado estatótico induzido por tetracloreto de carbono, suprimindo o efeito prejudicial da produção excessiva de radicais livres advinda desta condição patológica.

Além disso, estudos tem demonstrado que a beterraba pode contribuir com efeitos benéficos em patologias como aterosclerose, hipertensão e DM2 (Ninfali; Angelino, 2013; Gilchrist *et al.*, 2014; Presley *et al.*, 2011; Vanhatalo *et al.*, 2010; Wootton-Beard *et al.*, 2014). Nestes casos, o consumo ou suplementação com esse vegetal pode ser útil, uma vez que essas doenças apresentam altos níveis de inflamação e, como consequência, uma maior produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que em altas concentrações sobrecarregam as defesas antioxidantes naturais, podendo causar danos a células, modificações de DNA, levar a deficiências funcionais (Reuter *et al.*, 2010).

Estudo de Wootton-Beard *et al.* (2014) avaliou os constituintes fitoquímicos presentes na beterraba e as respostas pós-prandiais de glicose e insulina, bem como a sensibilidade à insulina em adultos saudáveis que consumiram 225ml de suco de beterraba ou controle correspondente em macronutrientes e observaram que houve uma redução significativa da glicemia pós-prandial em 0 e 30 minutos e insulinemia pós-prandial até 60 minutos após o consumo do suco de beterraba quando comparados a bebida controle com

igual teor de glicose. Esses resultados sugerem que os compostos bioativos presentes no suco de beterraba podem ter o potencial de auxiliar no controle da glicemia pós-prandial.

Atualmente, o interesse no estudo de partes não convencionais de vegetais é crescente, uma vez que estas podem apresentar grande potencial nutritivo e antioxidante, algumas vezes maior que as partes convencionalmente consumidas. Devido a pouca informação difundida à população a respeito dos benefícios destas partes de alimentos, ainda há um alto índice de descartes como resíduos agrícolas, de produção industrial e doméstica (Teleszko; Wojdylo, 2015). Melo e Faria (2014) analisaram compostos fenólicos e atividade antioxidante de partes não convencionais de alimentos e as folhas de beterraba apresentaram concentração de fenóis totais semelhante às mesmas partes do repolho, couve e cenoura, além de ter demonstrado grande atividade antioxidante, tendo valor inferior somente ao do brócolis.

Em estudo de Lee *et al.*, (2009) demonstrou que o consumo de folhas de beterraba foi responsável pela redução do peso corporal e de gordura, bem como de colesterol e triglicérides plasmático de animais alimentados com dieta rica em colesterol por 4 semanas quando comparados ao controle. Dados do mesmo estudo demonstram que a suplementação com folhas também foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica, melhorar o status antioxidante e diminuir dano oxidativo ao DNA, nas células e tecidos estudados (fígado, coração e rim). Acredita-se que estes benefícios possam ser atribuídos a grande quantidade de compostos bioativos e fibras presentes na folha de beterraba, desta forma, é possível que o consumo regular deste vegetal possa trazer benefícios ao sistema de proteção antioxidante endógeno e assim diminuir o risco do desenvolvimento de DCNT.

Apesar do crescente desenvolvimento de pesquisa sobre partes não convencionais de vegetais e sobre a beterraba, pouco se sabe sobre os efeitos do consumo de folhas de beterraba na saúde humana, uma vez que a maioria dos estudos atuais investigam somente os benefícios do tratamento com a raiz deste vegetal. Estudo piloto desenvolvido por nosso grupo observou um efeito significativo na redução do LDL colesterol ($p < 0,01$), e redução embora não significativa do colesterol total e proteína C reativa em 18 indivíduos obesos dislipidêmicos suplementados com folhas de beterraba por 30 dias comparados aos não suplementados.

2. Objetivos

2.1 Geral

Avaliar o efeito do consumo de folhas de beterraba liofilizadas por 60 dias, através de ensaios bioquímicos em estudo clínico duplo-cego com voluntários obesos e dislipidêmicos.

2.2 Específicos

- avaliar a segurança microbiológica, determinar a composição centesimal e a presença de fatores;
- avaliar o efeito da suplementação com folhas de beterraba comparada às suplementações controle com maltodextrina e celulose microcristalina nos parâmetros bioquímicos e antropométricos em indivíduos obesos e dislipidêmicos.

3. Métodos

3.1 Estudo clínico

O estudo clínico duplo-cego, com coleta de dados realizada no Ambulatório Médico de Especialidades (AME) Limeira e Mogi-Guaçu -SP, foi composto de um grupo experimental com 57 voluntários adultos, utilizando os seguintes critérios de inclusão: homens ou mulheres com idade entre 20 a 59 anos; Índice de Massa Corporal (IMC) para obesidade grau I ou II (entre 30 e 39,9kg/m²); apresentando alteração nos níveis de lipídios séricos com colesterol total >200mg/dL e LDL-colesterol superior a 130mg/dL, de acordo com os critérios da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) (SBC, 2013). Como fator de exclusão foi definido: portadores de insuficiência renal ou hepática, voluntários que passaram por cirurgia bariátrica e que sofreram AVC. A pesquisa foi brevemente apresentada ao paciente por telefone, nas ligações realizadas para convite para participação na pesquisa. No primeiro encontro o voluntário foi convidado a realizar exame de sangue para confirmação da dislipidemia, o que os incluiu ou excluiu da pesquisa.

Os voluntários foram orientados a manterem qualquer conduta médica ou nutricional anterior à pesquisa durante toda a intervenção e alertados da importância da adesão ao consumo do suplemento do estudo. Todos os voluntários que se atenderam aos critérios de inclusão foram submetidos à anamnese, avaliação nutricional (coleta de medidas antropométricas, medidas de composição corporal, avaliação de consumo alimentar) e exames bioquímicos. Todos foram esclarecidos dos objetivos da pesquisa, e

dos riscos que poderiam ocorrer ao longo do estudo, sendo incluídos na pesquisa somente os pacientes que concordam através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O projeto foi submetido e aceito pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp, CAAE: 56714916.3.0000.5404.

Os participantes foram divididos cegamente em três grupos: grupo controle (GC) recebendo placebo (maltodextrina – 2,8 gramas), grupo controle fibra (GF) recebendo celulose microcristalina e maltodextrina (1 grama de celulose microcristalina e 1,8 gramas de maltodextrina) e grupo intervenção (GI) suplementado recebendo 2,8 gramas de folhas de beterraba liofilizadas por 60 dias. Todos os grupos receberam o conteúdo distribuído em 540 cápsulas azuis opacas, correspondente a 9 cápsulas por dia, confeccionadas por Meissen – Produtos Naturais Ltda – Cotia – SP.

Os voluntários foram orientados a consumir as 9 cápsulas distribuídas em 3 vezes ao dia: 3 cápsulas no desjejum, 3 no almoço e 3 no jantar, porém, caso fosse necessário, poderiam ser tomadas mais de 3 por período, desde que se atingisse a quantidade diária recomendada. Também foram orientados quanto ao armazenamento e cuidado com os potes de suplemento, a mantê-los sempre fechados, livre de exposição solar, calor e umidade. Todos receberam uma pasta contendo sua via do TCLE, modo de consumo do suplemento e um calendário para auxiliar no controle do consumo do suplemento. Voluntários que consumissem menos de 80% do suplemento seriam considerados inaptos à avaliação do efeito do suplemento. Para contabilizar o consumo, foi solicitado aos voluntários que devolvessem os potes na última consulta da pesquisa e que trouxessem o calendário com as anotações correspondentes ao consumo.

Para determinar a quantidade de folhas secas que seriam suplementadas, foi analisada a composição das folhas de beterraba quanto ao seu teor de água, medida a partir da determinação de umidade (estufa a 105° C), concluindo-se que as folhas de beterraba possuem em média 98% de água. De acordo com esse dado, foi estipulado que a quantidade de 140 gramas de folhas “in natura” é uma quantidade viável ao consumo humano diário, valor este que corresponde a 2,8 gramas de matéria seca. De acordo Storck *et al.*, (2013) cada 100 gramas de folhas de beterraba contêm aproximadamente 0,73 gramas de fibras, logo, podemos dizer que a quantidade de fibras fornecida através da suplementação foi de 1,02 gramas por dia. Assim, foi determinado que o grupo fibras receberia 1 grama de celulose microcristalina para que correspondesse à quantidade de

fibras presente nas folhas de beterraba e para equivaler o peso das cápsulas foi acrescido 1,8 gramas de maltodextrina.

- **Tamanho da amostra** - Para determinar o tamanho dos grupos, foi realizado o cálculo de população com base no estudo piloto, considerando as diferenças no LDL colesterol, que passou de $151,27 \pm 27 \text{ mg/dL}$ no tempo inicial para $133,33 \pm 35,8 \text{ mg/dL}$ no tempo final. Obtivemos então o *effect size* de 0,56, erro amostral de 20% e erro alfa de 0,05, chegando ao valor total 27 participantes por grupo de tratamento, sendo este o cálculo mais preciso para verificar diferenças intra-grupo. Inicialmente, este trabalho seria composto por dois grupos, o intervenção tratado com folhas de beterraba e o controle tratado com maltodextrina. Porém, como sugestão de agência de fomento, foi acrescentado o terceiro grupo, o grupo fibras, tratado com celulose microcristalina. Desta forma, a amostra que seria composta por 2 grupos totalizando 60 voluntários, foi dividida em 3 grupos com 20 voluntários em cada tratamento.

- **Randomização dos grupos** - Cada conjunto de 540 cápsulas recebeu um número referente ao seu conteúdo. Para isso, foram gerados 90 números aleatórios composto por três dígitos, sorteados através do site “Research Randomizer (randomizer.org)”, permitindo então criar 3 grupos com 30 números aleatórios em cada. Os números foram distribuídos nos 3 lotes por tipo de conteúdo: grupo controle, grupo fibra e grupo intervenção, sendo 30 números para cada lote. Cada voluntário recebeu um pote de suplemento numerado, com quantidades suficientes para dois meses de tratamento. Para garantir o cegamento e minimizar vieses, os suplementos foram distribuídos para os voluntários pela sequência de lotes: 1 suplemento do lote 1, em seguida 1 suplemento do lote 2 e depois do lote 3, e assim sucessivamente. Ao final do experimento e das análises estatísticas foi revelado a qual grupo pertencia cada número para avaliação dos resultados obtidos.

- **Anamnese** – Aplicou-se protocolo com questões pessoais e sociodemográficas como: sexo, cor/raça, escolaridade, estado civil, profissão, doenças associadas ao sobrepeso, tabagismo, consumo de álcool, e uso constante de medicamentos, especialmente os para controle da dislipidemia (Vastatinas ou Estatinas – LDL, Fibratos – Triglicérides). Quantificação dos níveis de atividade física por meio do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) (Hallal; Victora, 2004) além serem questionados sobre a presença

ou não de desconforto intestinal, realizados na primeira consulta e após 60 dias de suplementação.

Para caracterização da amostra, as respostas para estado civil foram agrupados em com companheiro (casado) ou sem companheiro (solteiro, viúvo, divorciado) e escolaridade foi dividida em fundamental completo (ensino fundamental incompleto, ensino fundamental completo e ensino médio incompleto), ensino médio completo (ensino médio completo, técnico e superior incompleto) e ensino superior completo.

3.1.1 Avaliação do consumo alimentar

- **Questionário de Frequência Alimentar (QFA)** – Os voluntários foram questionados sobre a rotina alimentar de acordo com a frequência e quantidade do consumo de determinados alimentos. Os itens foram separados de forma detalhada por grupos: leite e derivados; pães, biscoitos e complementos; café, chás e achocolatado; arroz e tubérculos; leguminosas e ovos; carnes e peixes; sopas e massas; verduras e legumes; molhos e temperos; frutas; lanches e snacks; sementes e pseudocereais; oleaginosas; bebidas e doces e sobremesas. As frequências foram definidas em: número de vezes que consome, de 0 a 10 vezes combinada com a frequência definida entre dia, semana, mês e ano. A quantidade foi adaptada e deixada em aberto, sendo o voluntário responsável por descrever o volume em peso ou medida caseira que usualmente consome do alimento em questão. O questionário utilizado foi adaptado com base no QFA desenvolvido pela USP e revisado em 2009 (Fisberg *et al.*, 2008).

Para análise do QFA foi utilizado somente o consumo alimentar no tempo inicial. Para isso, foi multiplicada a frequência pela quantidade consumida de cada alimento. A partir do número obtido foi calculada a representatividade daquele alimento em um dia, ou seja, quando a quantidade relatada foi consumida na frequência de uma vez por ano, esse valor foi dividido por 365 dias, quando mensal dividido por 30 dias, semanal dividido por 7 e quando o consumo foi diário o número foi apenas repetido. A partir das quantidades de todos os alimentos do questionário, foi calculada a quantidade de carboidratos, proteínas, lipídios, quilocalorias, colesterol dietético, vitamina A, vitamina C, vitamina E e fibras diárias com base nos valores estabelecidos pelo livro “Tabela de Composição de Alimentos - Suporte Para Decisão Nutricional”, 4ª edição (Philippi, 2013). Para padronização de medidas caseiras, foi utilizado o livro “Tabela para avaliação de Consumo

Alimentar em Medidas Caseiras” (Pinheiro *et al.*, 2001) e quando necessário foram feitas adaptações das medidas com base nos valores da própria tabela.

3.1.2 Avaliação antropométrica

- **Medidas antropométricas** – em todas as consultas foram aferidos o peso e a altura dos participantes, por meio de balança da marca Marte com precisão de 50 gramas, com estadiômetro acoplado. A partir dos dados de peso e altura foi obtido o IMC (kg/m^2) segundo a OMS (1995). Na consulta inicial e após dois meses foram aferidas as medidas da circunferência da cintura (CC), utilizando como referência anatômica a cicatriz umbilical, circunferência do quadril (CQ), aferida na maior proporção da região glútea, relação cintura/quadril, calculada a partir dos valores obtidos de circunferências, circunferência do braço (CB) aferida no ponto médio entre o acrômio e olecrano, sendo que todas as circunferências foram medidas em centímetros por meio de fita métrica inelástica com precisão de 0,1 mm, sempre coletadas pelo mesmo avaliador. A partir da circunferência da cintura, foi considerado em risco de complicações metabólicas mulheres com circunferência da cintura >80 cm e homens >94 cm. A relação cintura-quadril foi considerada como um dos critérios para classificação de risco de complicações metabólicas associadas à obesidade para comorbidades quando a razão foi $>0,90$ para homens e $>0,80$ para mulheres, como prescreve a OMS (WHO, 2011).
- **Medidas da composição corporal** – Na consulta inicial e final foram aferidas as dobras cutâneas bicipital, tricipital, subescapular e supra-ílica, para determinação da porcentagem de gordura, medidas por meio de um adipômetro da marca Lange, com mola com pressão constante de 10 g/mm^2 . Para o cálculo de porcentagem de gordura corporal foi utilizado o protocolo de Durnin e Womersley (1974), que foi desenvolvido a partir da avaliação de 481 voluntários de idade entre 17 a 72 anos.

3.1.3 Avaliação bioquímica

- **Exames bioquímicos** – em todos os voluntários com jejum noturno de 12 horas foram colhidas amostras de sangue para avaliação de indicadores bioquímicos: glicemia de jejum (GJ) (método GOD-PAP enzimático), insulina de jejum (método quimioluminescência), colesterol total (CT) (método enzimático colorimétrico) e frações HDL (método homogêneo direto – colorimétrico) e LDL (método equação de Friedewald), triglicerídeos (TG) (método GPO-PAP), aminotransferase de aspartato (AST) ou

transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) (método Cinético U.V.), aminotransferase de alanina (ALT) ou transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) (método Cinético U.V.), proteína C reativa (PCR) (método imunoturbidimetria), creatinina (métodos picrato alcalino (Jaffe)) e ureia (método uréase GLDH - Bun – Fator de conversão = 2,14). As análises foram realizadas pelo laboratório Pasteur em Americana – SP.

A partir dos valores de glicemia e insulina foi calculado o índice de HOMA para determinação de resistência à insulina através da fórmula $HOMA-IR = [insulina \text{ de jejum (mU/l)} \times glicemia \text{ de jejum (mg/dl)} \times 0.0555] / 22.5$ sendo considerados resistentes à insulina pacientes que apresentaram resultado $>2,6$ (Levy; Matthews; Hermans, 1998).

A partir dos valores de CT, TG e HDL foi calculado o índice Castelli, onde considera-se em risco pacientes que apresentem razão $RC = CT/HDL >5$ para homens e $>4,5$ para mulheres, este, considerado um índice mais sensível ao risco cardiovascular que a avaliação do CT isoladamente. Para calcular o índice aterogênico foi utilizada a fórmula de $IA = [\log (TG/HDL)]$, sendo que resultados superiores a 0,5 foi proposto como o ponto de corte para indicar risco aterogênico (Millán *et al.*, 2009).

3.1.4 Avaliação do nível de atividade física

- **Questionário Internacional de Atividade Física – versão curta (IPAQ)** – Foi estimada a quantidade de atividade física realizada em uma semana, classificando-as em vigorosa, moderada e leve, de acordo com a quantidade de horas e intensidade gastas em cada atividade. O questionário é composto por 8 questões abertas, separadas pelo nível de esforço realizado durante atividades de rotina (como cuidar da casa e jardim, carregar pesos) ou atividade física (correr, nadar, andar de bicicleta). O entrevistado poderia responder que não realizou nenhuma atividade física, e quando o faz, relatou a duração e frequência em dias da semana. De acordo com as respostas, os indivíduos foram classificados em muito ativos, ativos, irregularmente ativos ou sedentários e para análise estatística foram categorizados em dois grupos, sendo o voluntário classificado em ativo ou muito ativo e sedentário ou irregularmente ativo (Hallal; Victora, 2004), conforme a descrição a seguir:

Muito Ativo: indivíduo que realizou:

a. Atividade VIGOROSA: ≥ 5 dias na semana e ≥ 30 minutos por sessão; ou

b. Atividade VIGOROSA: ≥ 3 dias na semana e ≥ 20 minutos por sessão + Atividade MODERADA e/ou CAMINHADA: ≥ 5 dias na semana e ≥ 30 minutos por sessão.

Ativo: indivíduo que realizou:

- a. Atividade VIGOROSA: ≥ 3 dias na semana e ≥ 20 minutos por sessão; ou
- b. Atividade MODERADA ou CAMINHADA: ≥ 5 dias na semana e ≥ 30 minutos por sessão; ou
- c. Qualquer atividade somada: ≥ 5 dias na semana e ≥ 150 minutos na semana (caminhada + atividade moderada + atividade vigorosa).

Irregularmente Ativo: indivíduo que atende a pelo menos um dos seguintes critérios:

- a. Frequência: 5 dias na semana; ou
- b. Duração: 150 minutos na semana.

Sedentário: indivíduo que não realizou qualquer atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana.

• **Classificação OMS – Saúde do Adulto**

Foi utilizada a classificação da OMS para saúde de adultos, que preconiza a realização de pelo menos 150 minutos semanais de atividade aeróbica de intensidade moderada para definir voluntários em: inativos, sendo estes voluntários que não faziam caminhada, ou praticantes de menos ou mais que 150 minutos semanais, através da avaliação da frequência semanal em que eram realizadas caminhadas multiplicado pela sua duração em minutos. A partir destes dados, foi calculada a melhora na atividade física, sendo considerada melhora, voluntários que saíram da classificação inativos no tempo inicial e começaram a praticar atividades físicas durante o tratamento, independente da intensidade, ou voluntários que praticavam atividade física por menos de 150 minutos semanais e passaram a praticar mais de 150 minutos (WHO, 2010b).

3.1.5 Análise estatística

Para a análise estatística do estudo clínico, foram estimadas média e erro padrão das variáveis. Para avaliação da normalidade da distribuição dos dados contínuos foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. Considerando que todas as variáveis não apresentaram distribuição normal optou-se pela utilização de testes não paramétricos. Para comparação entre os grupos foi utilizado teste do qui-quadrado para as variáveis categóricas e o teste

de igualdade de médias de Kruskal-Wallis para as variáveis contínuas. Para comparação dos efeitos antes e após a suplementação intragrupo utilizou-se o teste McNemar para variáveis dicotômicas e para as contínuas foi utilizado o teste de Willcoxon pareado. O valor crítico considerado como significativo foi o valor de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o software Stata® versão 14.

3.2 Folhas de beterraba

No Laboratório de Técnica Dietética, as folhas de beterrabas (*Beta vulgaris L.*) orgânicas foram higienizados em água corrente e posteriormente colocados em solução de hipoclorito de sódio 10% por 10 minutos, novamente lavados em água corrente, e secas com auxílio de papel filtro. Após o processo de higienização as folhas foram cortadas, congeladas e em seguida foram liofilizadas no Laboratório Central da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. A matéria seca foi triturada, homogeneizada e enviada para confecção das cápsulas entregues para os voluntários do estudo, e foi utilizada para as análises de caracterização e segurança microbiológica.

3.3 Determinação de umidade, cinzas e proteínas nas folhas de beterraba liofilizadas

Para calcular a composição centesimal para amostra úmida, foi utilizada a fórmula sugerida por Souza, Lopes e Ferreira (2010) $\text{Nutriente na BU (g/100g)} = \text{nutriente na amostra seca} \times (100 - \text{umidade da amostra úmida}) / (100 - \text{umidade da amostra seca})$. Os dados de umidade de folhas de beterraba “in natura” (ou em base úmida (BU)) encontrada por Melo e Faria (2014), de $92,17\% \pm 0,2$, foi utilizado na fórmula acima, para a comparação entre matéria seca e úmida.

- **Umidade**

Para determinar a o percentual de umidade das folhas de beterrabas liofilizadas foi utilizada a estufa comum. As placas de Petri foram colocadas vazias e tampadas na estufa a 105°C por 30 minutos. Após secas e resfriadas, foram pesadas vazias e pesadas novamente

com 2g da amostra, anotando os pesos nos dois momentos. As placas foram levadas à estufa para secagem por 7 horas a 105° C. Ao final do procedimento, após resfriarem, as placas foram pesadas novamente e em seguida, levadas para estufa por mais 30 minutos até que todas atingissem pesos constantes. Para determinação da umidade foi utilizada a equação $\% \text{ Umidade} = 100 \times [\text{massa inicial(g)} - \text{massa final(g)}] / \text{massa inicial (g)}$.

- **Cinzas**

Para determinar a quantidade de resíduos inorgânicos presentes na amostra foram utilizados 3 cadinhos previamente limpos e secos em mufla a 300° C por 2h horas. Após resfriados, foram pesados vazios e em seguida pesados com 1,1 gramas de folhas de beterraba, registrando os pesos. Os cadinhos foram levados de volta à mufla por 8 horas a 550° C, quando o material se torna cinza. Foi necessário que o cadinho esfriasse por aproximadamente 2 horas para que fosse possível pesá-lo novamente. A porcentagem de cinzas foi determinada a partir da fórmula $\% \text{ Cinzas} = (\text{Peso cinzas} / \text{Peso amostra}) \times 100$, assim o teor de cinzas ou resíduo mineral fixo (RMF) é caracterizado pelo resíduo inorgânico remanescente da queima de matéria orgânica (AOAC, 1990 apud Souza; Lopes; Ferreira, 2010).

- **Proteínas**

Foi utilizado o método Kjeldahl para determinar a quantidade de proteínas a partir do teor de nitrogênio de origem orgânica. Foi pesado 1 grama da amostra com 5 gramas de catalisador e 15ml de ácido sulfúrico concentrado. Foi digerido à temperatura de 450° C por aproximadamente 1 hora, tempo necessário para que atingisse coloração clara, translúcida sem resíduos carbonizados. Então, foram adicionados 70ml de água destilada e 70ml de solução NaOH 32% ao tubo de digestão. Em um erlenmeyer foi colocado 30ml de ácido bórico 4% e acrescentado 4 gotas de vermelho de metila e 6 gotas do indicador verde de bromocresol. Em seguida foi feita a titulação com HCL padronizado para a preparação feita no erlenmeyer, que desloca a amônia da molécula de borato. Assim, o número de mols do ácido consumido será igual ao número de mols da amônia. A porcentagem de nitrogênio da amostra foi determinada a partir da fórmula $\% \text{ Proteínas} = [(\text{ml HCL} - \text{ml Branco}) \times N (\text{HCL}) \times 14,007 \times 100] / \text{massa da amostra} \times 6,25$.

Todos os métodos foram realizadas de acordo com o recomendado pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL) (2008).

- **Fibras**

A quantidade de fibras totais foi determinada pelo método gravimétrico-enzimático de acordo com a AOAC método no 985.29. Foi pesado 1 grama de amostra de folha de beterraba em um béquer de 250 ml, e em seguida acrescentado 50 ml de tampão fosfato pH 6,0 e 0,1 ml de alfa-amilase termoresistente. O béquer foi tampado com folha de alumínio e aquecido em banho-maria em ebulição por 30 minutos. Após o resfriamento das amostras em temperatura ambiente, o pH foi corrigido para 7,5 adicionando aproximadamente de 10 ml de NaOH 0,275N. Foi acrescentado 0,1ml de protease e tampou-se novamente com folha de alumínio e incubar a 60°C por 30 minutos. Quando resfriada, foi adicionada na amostra em torno de 10 ml de ácido clorídrico 0,325N com finalidade de ajustar o pH em 4,3 e acrescentado 0,3 ml de amiloglicosidase, tampado com folha de alumínio e incubado por 30 minutos a 60°C com agitação horizontal. Paralelamente, foi realizada um prova em branco.

O hidrolisado foi transferido quantitativamente para uma proveta e acertado o volume para 100 ml com água destilada e adicionado 400 ml de etanol 98% a 60°C. A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente por 1 hora para que toda a fibra se precipitasse. A solução alcóolica contendo o resíduo e o precipitado formado foi filtrado quantitativamente e o resíduo final foi lavado 3 vezes com 20 ml de etanol a 78%, duas vezes com e 20 ml de etanol 95% e duas vezes com 20 ml de acetona. Os resíduos resultantes, da análise da amostra e do ensaio em branco, após secagem em estufa a 105°C durante 12 horas, corresponderão respectivamente ao Resíduo Total (RT) e ao Resíduo Total do branco (RTb). Os valores de fibras totais foram calculados a partir da fórmula % FAT = $[(RT - P - C - RTb)/M] \times 100$, onde P é o teor de proteínas, C o teor de cinzas e M a massa da amostra.

3.4 Segurança microbiológica

As amostras de folhas de beterraba foram analisadas microbiologicamente em triplicata para determinação de coliformes, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella*, visando adequação à resolução RDC 12 (BRASIL, 2001). O manual de Silva *et al.* (2010)

foi utilizado como referência para a execução das análises. Para coliformes foram utilizados os meios de cultura LST, VB e EC na temperatura de $35,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}/48\pm 2\text{h}$, nos métodos American Public Health Association (APHA) e Número Mais Provável (NMP) em múltiplos tubos. Para *Staphylococcus sp.* foi utilizado o meio de cultura ágar Baird Parker (BP) na temperatura de $35,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}/48\pm 2\text{h}$, no método APHA e contagem direta em placas na técnica de inoculação *spread plate*. Para prova de coagulase para *Staphylococcus aureus* foi utilizado o meio de cultura plasma de coelho (EDTA), no método APHA e coagulase positiva na técnica de coagulase em tubo. Para presença de *Salmonella* foram utilizados os meios de cultura caldo lactosado, caldo tetracionato (TT), ágar entérico de hecktoen (HE), ágar xilose lisina (XLD), ágar lisina ferro (LIA), ágar tríplice açúcar ferro (TSI) a temperatura de $35\pm 0,2^{\circ}\text{C}/24\pm 2\text{h}$, no método BAM/FDA (Bacteriological Analytical Manual - Food and Drug Association) (2007) nas técnicas de pré-enriquecimento, enriquecimento em meio seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação bioquímica e sorológica

4. Resultados

4.1 Umidade, cinzas, proteínas e fibras das folhas e talos liofilizados

Na Tabela 2 estão expressos os valores de médias das porcentagens de umidade, cinzas e proteínas das folhas de beterraba liofilizadas e folhas de beterraba “in natura”. As folhas liofilizadas apresentam umidade de 8,7%, 19% de cinzas, 15% de proteínas e 26% de fibras e apresentam valores correspondentes para as análises das folhas “in natura”.

Tabela 2 - Teor de umidade, cinzas, proteínas e fibras expresso em % de folhas e talos de beterraba.

Amostra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Fibras (%)
Folhas e talos liofilizados	8,7	19	15	26
Folhas e talos “in natura”	-	1,6	1,3	2,2

4.2 Análise microbiológica

As amostras de folhas de beterrabas liofilizadas apresentaram resultados compatíveis com os parâmetros da resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001), onde todos os micro-organismos analisados encontravam-se abaixo dos limites de detecção dos métodos utilizados, sendo a tolerância para hortaliças, legumes e similares, secas, desidratadas ou liofilizada de 10^3 para coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva de 10^2 e *Salmonella* ausente.

Tabela 3 – Análise microbiológica em amostras de folhas de beterraba liofilizadas

Microorganismo	Resultado
Coliformes totais e termotolerantes	< 1 NMP/g
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva	< 1 UFC/g
<i>Salmonella</i>	Ausência em 25 gramas

4.3 Caracterização dos grupos

Houveram ao total 12 desistentes ao longo da coleta de dados, sendo a taxa de desistência de 17,39%, sem diferença na distribuição entre os grupos, podendo-se dizer que não houve viés na distribuição dos grupos, sendo considerado viés quando a taxa de desistência é de 20% segundo de Souza (2009). Dentre os motivos da desistência citados pelos participantes pode-se elencar: desconforto gastrointestinal (n=5), queixas a respeito da quantidade e tamanho das cápsulas a serem consumidas (n=2) e impossibilidade de participar da consulta de retorno (n=5). As seguintes análises de dados representam os 57 voluntários que finalizaram todo o protocolo de estudo e todos consumiram mais de 80% das cápsulas da suplementação.

Após o encerramento das análises estatísticas, foram revelados os grupos de acordo com o suplemento consumido, sendo grupo 1 – folhas de beterraba, grupo 2 – celulose microcristalina e grupo 3 – maltodextrina.

Como demonstrado na Tabela 3 os grupos foram compostos predominantemente por voluntários do sexo feminino, com companheiro, de raça autorreferida branca ou amarela, não fumante e com grau de instrução nível ensino médio completo. A idade média entre os grupos foi de 48 anos, pouco menos da metade dos voluntários relata ser etilista social e mais de 50% fazem uso de estatinas. Para a classificação de obesidade segundo IMC, 35,08% dos voluntários são classificados como obesos grau I, sendo os demais classificados como grau II. Não foram encontradas diferenças significativas na entre as médias dos grupos independente do parâmetro analisado.

Tabela 4 - Caracterização dos grupos.

	Total (n=57)	GI (n=19)	GF (n=19)	GC (n=19)	
Variáveis	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	p
Sexo					
Masculino	12 (21,05%)	4 (21,05%)	6 (31,58%)	2 (10,53%)	0,282
Feminino	45 (78,95%)	15 (78,95%)	13 (68,42%)	17 (89,47%)	
Estado Civil					
Sem Companheiro	9 (15,79%)	4 (0%)	3(5,26%)	2 (5,26%)	0,673
Com Companheiro	48 (84,21%)	15 (78,95%)	16 (84,21%)	17 (89,47%)	
Raça					
Branco/Amarelo	36 (63,16%)	14 (68,42%)	11 (57,89%)	11 (57,89%)	0,507
Preto/Pardo	21 (36,84%)	5 (26,32%)	8 (42,11%)	8 (42,11%)	
Idade (anos)	48	46	49	49	0,736
Escolaridade					
Fundamental Completo	19 (33,33%)	5 (26,32%)	9 (47,37%)	5 (26,32%)	0,222
Médio Completo	34 (59,65%)	13 (68,42%)	8 (42,11%)	13 (68,42%)	
Superior Completo	4 (7,02%)	1 (5,26%)	2 (5,26%)	1 (5,26%)	
	Total (n=57)	GI (n=19)	GF (n=19)	GC (n=19)	
Variáveis	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	p
Álcool					
Sim	25 (43,86%)	9 (47,37%)	10 (52,63%)	6 (31,58%)	0,396
Não	32 (56,14%)	10 (52,63%)	9 (47,37%)	13 (68,42%)	
Tabagismo					

Sim	4 (7,02%)	0 (0%)	3 (15,79%)	1 (5,26%)	0,152
Não	53 (92,98%)	19 (100%)	16 (84,21%)	18 (94,74%)	
Uso de estatinas					
Sim	32 (56,14%)	8 (42,11%)	11 (57,89%)	6 (31,58%)	0,258
Não	25 (43,86%)	11 (57,89%)	8 (42,11%)	13 (68,42%)	

Abreviações: GI – Grupo Intervenção (Folha de beterraba); GF – Grupo Fibras (Celulose Microcristalina e Maltodextrina); GC – Grupo Controle (Maltodextrina)

Nota: Teste qui-quadrado para comparação dos grupos. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

4.4 Avaliação do desconforto intestinal

Não houve diferença significativa entre os grupos quanto a sensação de desconforto intestinal. A maioria dos voluntários relatou não ter desconforto intestinal antes da suplementação e o houve diminuição do número de pessoas que relatavam desconforto após a intervenção.

Tabela 5 – Presença ou não de desconforto intestinal nos tempos inicial e final.

Variáveis	GI (n=19)			GF (n=19)			GC (n=19)		
	Antes	Depois	p	Antes	Depois	p	Antes	Depois	p
Desconforto Intestinal									
Sim	6	2	0.218	6	3	0.250	10	5	0.125
Não	13	16		13	16		9	14	

Abreviações: GI – Grupo Intervenção (Folha de beterraba);

Nota: Teste McNemar. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

4.5 Aspectos dietéticos

Na avaliação da distribuição de macronutrientes em relação ao valor energético total, a média de consumo de carboidratos representaram 62,7%, proteínas apresentou média de 19,1% e o consumo de lipídios representou 18,1% da dieta.

Os três grupos apresentaram médias semelhantes do consumo de lipídios totais, porém o consumo de gordura saturada foi ligeiramente maior no grupo suplementado com maltodextrina (GC) e o consumo de colesterol dietético apresentou-se maior no grupo tratado com fibras (GF) quando comparado ao GI e GC.

A média do consumo de fibras totais dos grupos foi de 24,4 gramas por dia, e o grupo que apresentou maior consumo deste nutriente foi o GF, porém GC apresentou

maior consumo de fibras solúveis e insolúveis em gramas. O GF também apresentou o maior consumo médio de vitamina A e vitamina C, e o consumo médio de vitamina E não apresentou grandes variações entre os grupos.

Tabela 6 - Médias diárias de proteínas, carboidratos, lipídios totais, gordura saturada, colesterol, calorias totais, fibras totais, fibras solúveis e insolúveis, vitamina A, vitamina C, porcentagem de proteínas, carboidratos e lipídios dietéticos de cada grupo.

	Total (n=57)	GI (n=19)		GF (n=19)		GC (n=19)		
Variáveis	Média	Média	EP	Média	EP	Média	EP	p
Proteína (g/dia)	76,9	75,5	6,85	78	9,74	77,4	6,77	0,958
Carboidratos (g/dia)	257,4	254,0	31,79	256,5	28,39	261,7	21,75	0,649
Lipídios Totais (g/dia)	74	75,4	7,66	73	8,04	73,4	8,51	0,926
Gordura Saturada (g/dia)	27,4	28,1	4,71	24,7	3,54	29,5	3,93	0,784
Colesterol (mg/dia)	494,5	449,3	152,55	603,4	164,08	430,9	84,85	0,728
Calorias Totais (kcal/dia)	2008,2	1997,4	203,58	2021,8	228,26	2005,3	177,61	0,936
Fibras Totais (g/dia)	24,4	23,4	3,64	26,5	3,05	23,2	1,58	0,338
Fibras Solúveis (g/dia)	7,6	7,8	1,44	7,0	0,85	8,2	1,03	0,632
Fibras Insolúveis (g/dia)	8,1	7,8	1,21	7,9	0,84	8,6	0,71	0,264
Vitamina A (µg/dia)	1309,4	1050,7	203,98	1494,3	259,95	1383,1	140,41	0,103
Vitamina C (mg/dia)	198,9	221,5	74,09	189,9	30,46	185,2	24,88	0,321
Vitamina E (mg/dia)	15,3	14,9	1,71	15,5	1,48	15,6	1,52	0,855
%Proteína	19,1	19,5	1,00	18,9	1,03	18,9	0,64	0,513
%Carboidratos	62,7	61,3	1,96	63,1	1,60	63,7	1,33	0,297
%Lipídios	18,1	19	1,18	17,9	0,91	17,3	1,00	0,513

Abreviações: GI – Grupo Intervenção (Folha de beterraba); GF – Grupo Fibras (Celulose Microcristalina e Maltodextrina); GC – Grupo Controle (Maltodextrina); EP – Erro Padrão

Nota: teste de Kruskal-Wallis. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

4.6 Nível de atividade física

Não houve diferença entre os grupos quanto ao nível de atividade física. Segundo a classificação da OMS (WHO, 2010b), a maioria dos voluntários do GI são inativos ou praticavam menos de que 150 minutos de atividades física semanais. No GF, voluntários anteriormente considerados inativos iniciaram a prática de atividade física durante o tratamento e no GC houve aumento no número de voluntários que praticavam menos que 150 minutos de atividade semanais. A partir destes dados, pode-se observar que o GF teve

a melhora mais significativa dentre os grupos, sendo esta de 36%, seguida do GC que apresentou melhora de 21% nos níveis de atividade física. O GC foi o que mais apresentou aumento nos voluntários classificados como ativos segundo a classificação do IPAQ, porém, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 7 – Classificação do nível de atividade física.

	GI (n=19)			GF (n=19)			GC (n=19)		
Variáveis	Antes	Depois	p	Antes	Depois	p	Antes	Depois	p
Classificação OMS									
Inativo	9	8		9	6		5	4	
<150min/sem	6	7	1,000	5	6	1,000	8	11	1,000
>150min/sem	4	4		5	7		6	4	
Melhora da Atividade Física									
Sem alterações(%)	17 (89,47)			12 (63,16)			15 (78,95)		
Melhora(%)	2 (10,53)			7 (36,84)			4 (21,05)		
Classificação IPAQ									
Ativo/Muito Ativo	13	14	1,000	14	15	0,250	15	17	0,500
Irregularmente Ativo/Sedentário	6	5		5	4		4	2	

Abreviações: GI – Grupo Intervenção (Folha de beterraba); GF – Grupo Fibras (Celulose Microcristalina e Maltodextrina); GC – Grupo Controle (Maltodextrina)

Nota: teste McNemar. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

4.7 Aspectos antropométricos

De acordo com a OMS (WHO, 2011) ao avaliar a relação cintura-quadril (RCQ), todos os grupos podem ser considerados em risco de complicações metabólicas associadas à obesidade, independente do sexo. O mesmo ocorre para os valores de circunferência da cintura. Somente o grupo tratado com folhas de beterraba (GI) apresentou redução significativa nas medidas de circunferência da cintura e do braço e, apenas o grupo suplementado com maltodextrina (GC) apresentou redução da porcentagem de gordura corporal de forma significativa, porém, não houve redução de peso corporal em nenhum dos tratamentos. Para todas as demais medidas antropométricas avaliadas não foram encontradas alterações significativas independente do tratamento.

Tabela 8 - Médias de IMC, circunferência da cintura, quadril e braço, razão cintura-quadril e porcentagem de gordura dos grupos.

Variáveis	GI (n=19)					GF (n=19)					GC (n=19)				
	Antes	EP	Depois	EP	<i>p</i>	Antes	EP	Depois	EP	<i>p</i>	Antes	EP	Depois	EP	<i>p</i>
IMC	34,7	0,70	34,6	0,66	0,793	34,3	0,56	30,2	2,82	0,619	33,1	0,49	33,1	0,60	0,556
CC	109,8	1,94	108,0	1,74	0,029	107,4	2,12	107,0	2,12	0,188	105,7	1,70	105,8	1,97	0,919
CQ	114,2	1,40	114,2	1,29	0,599	113,2	1,25	112,7	1,22	0,104	112,5	1,67	112,7	1,77	0,700
RCQ	0,9	0,01	0,9	0,01	0,104	0,9	0,01	0,9	0,01	0,822	0,9	0,01	0,9	0,01	0,454
CB	37,3	0,51	36,9	0,51	0,028	38,1	0,65	37,8	0,67	0,208	36,2	0,62	36,1	0,69	0,816
G%	39,7	0,14	40,7	0,01	0,728	42,5	0,17	41,3	0,01	0,115	41,7	0,00	40,9	0,01	0,030

Abreviações: GI – Grupo Intervenção (Folha de beterraba); GF – Grupo Fibras (Celulose Microcristalina e Maltodextrina); GC – Grupo Controle (Maltodextrina); EP – Erro Padrão

Nota: teste de Willcoxon pareado. Nível de significância adotado $p < 0,05$.

4.8 Aspectos bioquímicos

Quando comparado à primeira consulta e o retorno após 60 dias de intervenção, somente os voluntários tratados com folhas de beterraba apresentaram diminuição significativa na glicemia de jejum ($p=0,005$), insulina ($p=0,032$), colesterol total ($p<0,001$), HDL ($p=0,039$), LDL ($p=0,009$) e índice HOMA-IR ($p=0,012$). No grupo fibras, tratado com celulose microcristalina e maltodextrina, não foi possível observar nenhuma alteração nos parâmetros bioquímicos. Houve redução significativa do LDL ($p=0,013$) no grupo tratado com maltodextrina. Do total de voluntários, 59,64% são considerados resistentes à insulina utilizando o parâmetro de índice de HOMA.

Em relação a possíveis efeitos deletérios a função renal ou hepática, não foram encontradas diferenças significativas em todos os grupos estudados nos parâmetros creatinina, ureia e nas enzimas TGO e TGP quando comparados os tempos 0 e 60 dias após a intervenção, bem como não houve diferença entre as médias dos grupos.

Tabela 9 – Comparação das médias de valores bioquímicos de glicemia, insulina, colesterol, HDL, LDL, triglicérides, IA, RC, creatinina, ureia, TGO, TGP, PCR e HOMA-IR entre os grupos.

Variáveis	GI (n=19)					GF (n=19)					GC (n=19)				
	Antes	EP	Depois	EP	p	Antes	EP	Depois	EP	p	Antes	EP	Depois	EP	p
Glicemia (mg/dL)	131,7	19,32	115,5	11,34	0,005	136,0	15,10	142,3	15,49	0,183	133,8	16,18	126,7	13,88	0,793
Insulina (mU/L)	17,7	2,21	14,1	1,66	0,032	16,3	3,46	15,2	2,97	0,679	13,6	1,91	13,6	2,16	0,432
Colesterol (mg/dL)	237,6	6,06	209,4	6,08	<0,001	235,5	6,38	232,7	10,28	0,793	242,4	6,98	226,5	7,28	0,231
HDL (mg/dL)	49,7	2,51	46,5	2,16	0,039	46,8	2,456	48,6	2,32	0,510	45	1,99	45	2,05	0,721
LDL (mg/dL)	153,8	5,04	131,6	5,59	0,009	143,3	4,91	148,5	10,05	0,981	153,7	6,31	133,7	6,42	0,013
Triglicérides (mg/dL)	209,6	6,31	159,2	13,16	0,076	223,4	31,70	195,6	20,43	0,226	255,5	36,09	260,3	53,98	0,586
IA	0,57	0,06	0,51	0,04	0,420	0,59	0,07	0,57	0,05	0,695	0,72	0,46	0,73	0,06	0,492
RC	5,33	0,50	4,93	0,28	0,760	4,95	0,22	4,63	0,20	0,116	5,57	0,23	5,18	0,26	0,162
Creatinina (mg/dL)	0,7	0,03	0,7	0,02	0,919	0,8	0,03	0,9	0,05	0,445	0,7	0,03	0,7	0,03	0,887
Ureia (mg/dL)	31,2	1,84	33,5	2,49	0,420	34	1,66	37,1	2,89	0,147	28,3	1,95	29,7	1,68	0,647
TGO (U/L)	21,8	1,66	24,4	5,19	0,188	20	1,66	18,8	1,39	0,304	18,5	0,98	19,6	2,10	0,983
TGP (U/L)	23,8	3,43	29,5	10,55	0,384	28,4	5,97	22,5	2,26	0,777	19	1,91	21,7	3,12	0,313
PCR (mg/dL)	4,8	1,01	4,0	0,80	0,147	5,4	1,08	4,2	0,69	0,572	5,9	1,29	6,2	1,35	0,856
HOMA-IR	5,8	1,17	3,9	0,48	0,012	5,3	1,22	5,3	1,13	0,542	4,6	0,86	4,2	0,79	0,472

Abreviações: GI – Grupo Intervenção (Folha de beterraba); GF – Grupo Fibras (Celulose Microcristalina e Maltodextrina); GC – Grupo Controle (Maltodextrina); EP – Erro Padrão

HDL – lipoproteínas de alta densidade; LDL - lipoproteínas de baixa densidade; IA – Índice Aterogênico; RC – Risco Cardíaco; AC – Coeficiente Aterogênico; TGO - transaminase glutâmico-oxalacética; TGP - transaminase glutâmico-pirúvica; PRC – proteína C reativa; HOMA-IR – Índice de Resistência à Insulina

Nota: teste de Willcoxon pareado. Nível de significância adotado p <0,05.

5. Discussão

Os resultados do presente estudo mostram que os voluntários tratados com folhas de beterraba (GI) apresentaram diminuição significativa nos parâmetros bioquímicos glicemia ($p=0,005$), insulina ($p=0,032$), colesterol total ($p<0,001$), HDL ($p=0,039$), LDL ($p=0,009$) e índice de resistência à insulina HOMA-IR ($p=0,012$). Houve redução, porém não significativa dos triglicérides, no índice aterogênico, risco cardíaco e proteína C reativa. Além disso, podem ser atribuídos ao consumo das folhas de beterraba as diminuições nas médias de circunferência da cintura e do braço observadas somente no GI, porém, a redução destas medidas não influenciaram na média de IMC deste grupo, pois não houve redução na média de peso corporal.

A porcentagem de gordura corporal dos voluntários suplementados com maltodextrina (GC) diminuiu de forma significativa, porém, esse resultado pode significar que este grupo teve aumento de massa magra devido ao fato de que neste mesmo grupo houve uma melhoria de 21,05% na prática de atividade física, o que também pode ter influenciado os parâmetros bioquímicos, levando a diminuição do LDL colesterol de forma significativa.

De acordo com o Global Recommendations of Physical Activity for Health, adultos classificados como inativos ou com limitações devido a alguma doença terão benefícios adicionais à saúde se passarem da categoria de “inativo” para “algum nível” de atividade. Evidências demonstram que quando se compara homens e mulheres adultos menos ativos com indivíduos mais ativos, estes apresentam menores taxas de mortalidade por causas relacionadas às DCNT como doença coronariana, hipertensão arterial, AVC, diabetes, alguns tipos de cânceres e depressão. Além disso, adultos fisicamente ativos apresentam melhor função cardiorrespiratória e muscular, composição corporal mais saudável, perfil bioquímico favorável para prevenção de DCV e DM2, bem como melhor saúde óssea (WHO, 2010b).

Intervenção de Meseguer Zafra *et al.* (2018) com 340 voluntários sedentários com indicadores de risco cardiovasculares relacionados à dislipidemia (colesterol total, LDL e HDL) que foram submetidos a treinamento físico, combinando exercícios de condicionamento muscular e resistência cardiorrespiratória, de 3 sessões semanais, demonstrou que com 3 semanas foi possível observar redução significativa no LDL colesterol ($p<0,005$) e melhora não significativa no colesterol total e HDL, indicando que a prescrição de

atividade física pode ser avaliado como um eficiente recurso para melhora de marcadores bioquímicos específicos dessa patologia.

Apesar de o grupo que consumiu celulose microcristalina (GF) ter apresentado o maior índice de melhora na prática de atividade física (36,84%), esse mesmo grupo apresentou maior consumo de colesterol dietético, o que pode ter reflexos na ausência de melhorias nos parâmetros bioquímicos, ainda que este tenha sido o único grupo que atingiu as recomendações diárias de consumo de fibras totais.

A quantidade de fibras totais, solúveis e insolúveis consumidas não apresentou diferenças significativas entre os grupos, porém os grupos GI e GC apresentaram médias de consumo diário de fibras totais ligeiramente abaixo das recomendação da WHO/FAO (2003), que preconiza o consumo maior que 25 gramas de fibras por dia. A média do consumo de fibras totais dos grupos foi pouco menor que o recomendando, 24,4g por dia, segundo a recomendação de consumo diário que preconiza o consumo entre 25 e 38g (mulheres RDA 19 a 50 anos - 25g, RDA 51 a 70 anos - 21g –; homens RDA 19 a 50 anos - 38g, RDA 51 a 70 anos - 30g) (IOM, 2002). Somente o GF atingiu o valor de recomendação diária, sendo seu consumo de 26,5g por dia. Não houve diferenças significativas entre o consumo de fibras totais, solúveis e insolúveis entre os grupos. Estudo com população adulta de um município do estado de São Paulo demonstrou que o consumo de fibras alimentares é baixo para grande parte da população, pois apresenta maior consumo de alimentos pobres em fibras habitualmente (De Mattos; Martins, 2000).

O consumo alimentar foi muito semelhante entre os grupos e não houveram diferenças significativas no consumo de macro e micronutrientes. As médias de consumo de carboidratos (62,7%) e proteínas (19,1%) foram consideradas adequados segundo os valores de recomendação das DRI's, sendo estas de 45 a 65% e 10 a 35% respectivamente. O consumo médio de lipídios representou 18,1% da dieta, estando abaixo da recomendação, que preconiza média diária entre 25 e 35% do valor energético total (IOM, 2002). As médias de consumo de carboidratos, proteínas e lipídios em gramas, bem como sua porcentagem no consumo total da dieta não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

O consumo de colesterol dietético apresentou-se maior no GF, porém não foram encontradas diferenças significativas na comparação entre os grupos. Para esse mesmo grupo,

foi observado um consumo reduzido de gorduras saturadas, também sem diferença quando comparado aos demais grupos.

O consumo de vitamina C médio dos grupos encontra-se acima do recomendado pelas DRI's, apresentando média de 198,9mg por dia (homens RDA 90mg – 19 a 70 anos e mulheres RDA 75mg - 19 a 70 anos) (IOM, 2000), bem com o de vitamina A que a média foi de 1309,4µg (homens RDA 19 a 70 anos - 900µg e mulheres RDA 19 a 70 anos - 700µg) (IOM,2001), porém o consumo de vitamina E encontra-se dentro dos valores de recomendação para todos os grupos, sendo a média total de 15,3mg por dia (homens e mulheres RDA 19 a 70 anos - 15mg) (IOM, 2000).

O método de análise de consumo, através do QFA, é considerado um dos mais eficientes para investigação de desfechos clínicos, uma vez que é uma ferramenta prática e informativa. Porém, trata-se de um método que depende da memória do entrevistado, bem como de sua capacidade cognitiva de estimar a média de quantidade consumida ao longo dos dias, semanas, meses ou ano. Desta forma, a quantificação e frequência de consumo podem ser descrita de forma pouco exata, sendo sub ou superestimadas de acordo com a resposta do entrevistado (Fisberg *et. al.*, 2009).

O consumo regular de frutas, verduras e legumes está associado à diminuição do risco de DCNT em função da grande quantidade de fibras, vitaminas, minerais e riqueza de compostos bioativos e antioxidantes presentes nesses alimentos. A análise da composição centesimal do mix de folhas e talos liofilizados estão próximos ao descrito na literatura, sendo o teor de cinzas obtido semelhante ao encontrado por Melo e Faria (2014), $1,74 \pm 0,09$. O mesmo foi observado em relação ao teor de fibra totais, onde Monteiro (2008) analisou folhas e talos de beterraba “in natura” separadamente, obtendo valores de 3,56g/100g de proteínas nas folhas e 1,01g/100g nos talos, e na análise de fibras foi encontrada 1,17g/100g folhas e 2,38g/100g talos. Storck *et al.* (2013) obteve menores teores de fibras, sendo 0,72 g/100g de folhas e 0,73g/100g de talos.

Ao longo dos últimos anos, diversos estudos foram conduzidos para demonstrar o efeito benéfico do consumo da beterraba e outros vegetais em parâmetros bioquímicos e antropométricos, porém, poucos se dedicaram às folhas deste vegetal.

Estudo de Lee et al. (2009) com animais expostos a uma dieta hiperlipídica e tratados com 8% de *Lactuca sativa* (alface), demonstrou que a suplementação foi capaz de reduzir significativamente o triacilglicerol (TAG) e o LDL, além de diminuir o índice aterosclerótico e peroxidação lipídica em relação aos controles, podendo desta forma contribuir para redução dos fatores de risco para DCV. Em outro estudo com animais que também consumiram uma dieta hiperlipídica e que foram tratados com *Portulaca oleracea* (também conhecido como onze-horas, e beldroega comum) observou-se diminuição no teor de lipídios plasmáticos, aumento de enzimas antioxidantes e menor lesão hepática quando comparado a animais controle (Chen et al., 2012).

Ensaio com animais tratados com dieta rica em colesterol e suplementados com folhas de beterraba por 4 semanas demonstrou benefícios na redução do peso e de gordura corporal, além da diminuição significativa no LDL colesterol e triglicérides quando comparados a animais controle (Lee et al., 2009).

Meta-análise avaliando eficácia da ação hipoglicemiante e hipolipemiante da suplementação com feno-grego, alimento rico em vitexina (apigenina 8-C-glicosídica), composto muito presente nas folhas de beterraba (Ninfali; Angelino, 2013), verificou que este alimento demonstrou-se eficiente na redução da glicemia de jejum, glicemia pós-prandial, hemoglobina glicada e colesterol total e apresentaram também uma tendência na redução do LDL e aumento do HDL (Gong et al., 2016), resultados que se assemelham aos obtidos neste estudo com suplementação de folhas de beterraba.

Poucos estudos foram realizados para análise de compostos presentes nas folhas de beterraba e seus benefícios à saúde. Também são escassos os ensaios realizados com modelos experimentais em animais que demonstraram que o consumo de folhas de beterraba apresenta efeitos benéficos no controle dos lipídios plasmáticos e, até o presente momento nenhum estudo avaliou esses efeitos em humanos.

A suplementação com folhas de beterraba demonstrou efeitos positivos em estudo piloto realizado por nosso grupo. O tratamento composto por voluntários obesos dislipidêmicos, teve duração de 30 dias e foi dividido em grupo suplementado, que recebeu com 2,8 gramas de folhas de beterraba liofilizadas para adição aos alimentos, e grupo controle, que não sofreu intervenção. Para ambos, houve redução significativa de peso

corporal, mas somente o grupo tratado com folhas de beterraba apresentou redução significativa no LDL colesterol ($p < 0,01$) (Castro, 2015).

Neste estudo, buscou-se avaliar o efeito do consumo de folhas de beterraba durante 60 dias, em pacientes obesos dislipidêmicos, tendo dois grupos controle, um recebendo suplementação de fibras na mesma proporção da quantidade contida nas folhas de beterraba descrita na literatura, e um terceiro grupo que recebeu tratamento placebo. Para minimizar o efeito placebo, foi realizada intervenção duplo-cego com administração dos tratamentos via cápsulas. Pode-se dizer que a randomização dos voluntários nos grupos ocorreu de maneira bem distribuída, de forma que não foram encontradas diferenças significativas quanto à caracterização do mesmos. Os dados obtidos neste estudo duplo-cego, reafirmam os encontrados no estudo piloto, pois o consumo de 2,8 gramas de folhas de beterraba liofilizadas contribuiu para redução da glicemia, insulina, colesterol total, LDL colesterol e índice de resistência à insulina de voluntários obesos e dislipidêmicos quando comparado a seus controles.

Diversos estudos têm discutido as implicações do estresse oxidativo à saúde humana, bem como as consequências do excesso de peso e as DCNT (LIMA *et al.*, 2004; MELISSAS *et al.*, 2006; MAHAPATRA *et al.*, 1998). Na mesma proporção, são estudadas formas de minimizar esses efeitos deletérios através da alimentação, de maneira a prevenir ou trata-los. Está bem elucidado que o tratamento das dislipidemias e do diabetes envolve a monitorização dos níveis de lipídios plasmáticos e da glicemia, respectivamente, e que sejam realizadas mudanças efetivas no estilo de vida, como controle do peso corporal, alimentação balanceada e prática regular de atividades físicas. Porém, independente do uso de fármacos, o controle da alimentação é um passo fundamental no controle dessas doenças e ensaios tem demonstrado que suplementações com alimentos ricos em compostos bioativos podem auxiliar no controle destas doenças (Grundy, 2002).

A quantidade adicional diária de fibras via suplementação nos grupos de folhas de beterraba e de celulose microcristalina não aumentam de maneira significativa a quantidade de fibras dietéticas, de maneira que os benefícios observados nessa pesquisa podem ser atribuídos aos compostos bioativos presentes nas folhas de beterraba e não à fibras dietéticas. Além disso, não houveram relatos de desconforto gastrointestinal significativos no grupo tratado com folhas de beterraba (GI) ou com fibras (GF), podendo-se dizer que a intervenção

suplementação é segura, independente do tratamento oferecido. Dessa forma o uso do suplemento de folhas de beterraba pode ser considerado adequado ao consumo humano, uma vez que este foi considerado microbiologicamente seguro, não apresentou efeitos colaterais gastrointestinais ou toxicidade ao fígado e aos rins.

6. Conclusão

A partir dos resultados obtidos no presente estudo é possível concluir que a suplementação com folhas de beterraba mostrou importante atuação na redução dos parâmetros bioquímicos glicemia de jejum, insulina, colesterol total, LDL colesterol, diminuindo consequentemente o índice de resistência à insulina HOMA-IR, demonstrando assim que pode ser um importante ator no controle e manejo das doenças crônicas não transmissíveis.

7. Referências

AVIRAM, M.; FUHRMAN, B. Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 957, p. 146–61, 2002.

BLADÉ, C.; AROLA, L.; SALVADÓ, M.-J. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 54, p. 37–59, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no 12, de 02 de Janeiro de 2001. Diário Oficial da União, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> . Acesso em: 25 out. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico, Vigitel, 2016. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/17/Vigitel.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

BROWN, L. et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 30–42, 1999.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science** (New York, N.Y.), v. 232, p. 34–47, 1986.

CAI, H.; HARRISON, D. G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circulation research**, v. 87, p. 840–4, 2000.

CHEN, B. et al. Effects of aqueous extract of *Portulaca oleracea* L. on oxidative stress and liver, spleen leptin, PAR α and FAS mRNA expression in high-fat diet induced mice.

Molecular Biology Reports, v. 39, p. 7981–7988, 2012.

CLIFFORD, M. N. Diet-Derived Phenols in Plasma and Tissues and their Implications for Health. **Planta Medica**, v. 70, p. 1103–1114, 2004.

CLIFFORD, T. et al. The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. **Nutrients**, v. 7, p. 2801–2822, 2015.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 1001, 2009.

DAS, S. et al. Beet Root Juice Promotes Apoptosis in Oncogenic MDA-MB-231 Cells While Protecting Cardiomyocytes Under Doxorubicin Treatment. **The Journal of Experimental Secondary Science**, v. 2, p. 1–6, 2013.

DE MATTOS, L. L.; MARTINS, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 50–55, 2000.

DE SOUZA, R. F. O que é um estudo clínico randomizado? **Medicina**, v. 42, p. 3–8, 2009.

DONATH, M. Y.; SHOELSON, S. E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, p. 98–107, 2011.

DRAGSTED, L. O.; STRUBE, M.; LARSEN, J. C. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background. **Pharmacology & Toxicology**, v. 72, p. 116–35, 1993.

DURNIN, J. V; WOMERSLEY, J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. **The British Journal of Nutrition**, v. 32, p. 77–97, 1974.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Consumo consciente contra o desperdício. **Hortaliças em Revista**, v. IV, p. 1–20, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355126/2250572/ed23.pdf/3c988289-6f1e-af2f-36c0-ea930ba302fe>> . Acesso em: 19 fev. 2018.

European Society of Cardiology (ESC). Guidelines for the management of dyslipidemias. *European Heart Journal*, v. 32, n. 14, p. 1769–1818, 2011. Disponível em: <https://www.escardio.org/static_file/Escardio/Guidelines/publications/DYSLIPguidelines-dyslipidemias-FT.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2018

Escola Paulista de Medicina – Universidade Federal de São Paulo. Tabela de Composição Química dos Alimentos. Disponível em: <<http://tabnut.dis.epm.br/>>. Acesso em: 21 abr. 2018.

Food and Drug Association (FDA). Bacteriological Analytical Manual: Salmonella. 2007.

Disponível

em:

<<https://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/UCM309839.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2018.

FISBERG, R. M. et al. Questionário de frequência alimentar para adultos com base em estudo populacional. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, p. 550–554, 2008.

FOROUZANFAR, M. H. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, p. 1659–1724, 2016.

GAZIANO, J. M. et al. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. **Circulation**, v. 96, n. 8, p. 2520–5, 1997.

GEORGIEV, V. G. et al. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Betalain Extracts from Intact Plants and Hairy Root Cultures of the Red Beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark Red. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, p. 105–111, 2010.

GILCHRIST, M. et al. Dietary nitrate supplementation improves reaction time in type 2 diabetes: Development and application of a novel nitrate-depleted beetroot juice placebo. **Nitric Oxide**, v. 40, p. 67–74, 2014.

GIN, H. et al. Effects of Red Wine, Tannic Acid, or Ethanol on Glucose Tolerance in Non-Insulin-Dependent Diabetic Patients and on Starch Digestibility In Vitro. **Metabolism**, v. 48, p. 1179–83, 1999.

GONG, J. et al. Effect of fenugreek on hyperglycaemia and hyperlipidemia in diabetes and prediabetes: A meta-analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 260–268, 2016.

GRUNDY, S. M. Obesity, metabolic syndrome, and coronary atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, p. 2696–8, 2002.

HALLAL, P. C.; VICTORA, C. G. Reliability and validity of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, p. 556, 2004.

HANHINEVA, K. et al. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 1365–402, 2010.

HEITZER, T. et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **Circulation**, v. 104, p. 2673–8, 27, 2001.

HOOPER, L. et al. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 95, p. 740–751, 2012.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde 2013: percepção de estado de saúde, estilo de vida e doenças crônicas. Disponível em: <<ftp://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf>> . Acesso em: 22 jan. 2018.

International Diabetes Federation. Clinical Practice Recommendations for managing Type 2 Diabetes in Primary Care. 2017. Disponível em: <<https://www.idf.org/component/attachments/attachments.html?id=1270&task=download>>. Acesso em: 25 jan. 2018

International Diabetes Federation (IDF). Guideline Development. Global guideline for type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 104, 2014.

Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fibre, fat, fatty acids, cholesterol, and protein and amino acids. Food and Nutrition Board. Washington DC. **National Academy Press**, 2002.

Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. **National Academies Press**, 2001.

Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Food and Nutrition Board. Washington DC. **National Academy Press**, 2000.

International Atherosclerosis Society (IAS). An International Atherosclerosis Society Position Paper: Global recommendations for the management of dyslipidemia. **Journal of Clinical Lipidology**, p. 561–565, 2013.

JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**, v. 175, p. 556–567, 2015.

JENKINS, D. J. et al. Viscous and nonviscous fibres, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart disease. **Current Opinion in Lipidology**, v. 11, p. 49–56, 2000.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Possible role for apple juice phenolic compounds in the acute modification of glucose tolerance and gastrointestinal hormone secretion in humans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1800–1805, 2002.

JORIS, P. J.; MENSINK, R. P. Beetroot juice improves in overweight and slightly obese men postprandial endothelial function after consumption of a mixed meal. **Atherosclerosis**, v. 231, p. 78–83, 2013.

KNEKT, P. et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. **The American Journal of**

Clinical Nutrition, v. 76 , p. 560–8, 2002.

KUJALA, T. et al. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. **European Food Research and Technology**, v. 214, p. 505–510, 1 jun. 2002.

LAAKSONEN, D. E. et al. Epidemiology and treatment of the metabolic syndrome. **Annals of Medicine**, v. 36, p. 332–46, 2004.

LANN, D.; GALLAGHER, E.; LEROITH, D. Insulin resistance and the metabolic syndrome. **Minerva Medica**, v. 99 , p. 253–62, 2008.

LEE, J. H. et al. Red beet (*Beta vulgaris* L.) leaf supplementation improves antioxidant status in C57BL/6J mice fed high fat high cholesterol diet. **Nutrition Research and Practice**, v. 3, p. 114–21, 2009.

LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R.; HERMANS, M. P. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. **Diabetes Care**, v. 21, p. 2191–2, 1998.

LIDDER, S.; WEBB, A. J. Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, p. 677–696, 2013.

LIMA, S. C. V. C. et al. Plasma lipid profile and lipid peroxidation in overweight or obese children and adolescents. **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 23–8, 2004.

MAHAPATRA, S. et al. Study on body mass index, lipid profile and lipid peroxidation status in coronary artery disease. **Journal of the Indian Medical Association**, v. 96, p. 39–40, 42, 1998.

MANACH, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 230S–242S, 2005.

MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 7, p. 330–41, 2013.

MELISSAS, J. et al. Plasma Antioxidant Capacity in Morbidly Obese Patients Before and After Weight Loss. **Obesity Surgery**, v. 16, p. 314–320, 2006.

MELO, C. M. T.; FARIA, J. V. Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 93–100, 2014.

MENSINK, R. P. et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60

controlled trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 1146–1155, 2003.

MESEGUER ZAFRA, M. et al. Influencia de un programa de ejercicio físico terapéutico en diferentes indicadores clínicos relacionados con la dislipidemia en sujetos adultos de 26 a 73 años con algún factor de riesgo cardiovascular. **Hipertensión y Riesgo Vascular**, v. 35, 2018.

MILLÁN, J. et al. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. **Vascular Health and Risk Management**, v. 5, p. 757–765, 2009.

MOISEY, L. L. et al. Caffeinated coffee consumption impairs blood glucose homeostasis in response to high and low glycemic index meals in healthy men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, p. 1254–61, 2008.

MONTEIRO, B.A. Valor Nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças. Dissertação de mestrado. UNESP. Botucatu. 2009.

MOZAFFARIAN, D.; APPEL, L. J.; VAN HORN, L. Components of a Cardioprotective Diet: New Insights. **Circulation**, v. 123, p. 2870–2891, 2011.

National Cholesterol Education Program (NCEP). Third Report of the National Cholesterol Education Program - Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, 2002.

NINFALI, P.; ANGELINO, D. Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. **Fitoterapia**, v. 89, p. 188–199, 2013.

PEDREÑO, M. A.; ESCRIBANO, J. Correlation between antiradical activity and stability of betanine from Beta vulgaris L roots under different pH, temperature and light conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 627–631, 2001.

PHILIPPI, S. T. Tabela de Composição de Alimentos - Suporte Para Decisão Nutricional. 4ª ed. São Paulo: Editora Manole, 2013.

PIETRZKOWSKI, Z. et al. Influence of betalain-rich extract on reduction of discomfort associated with osteoarthritis. **New Medicine**, v. 14, p. 12-17, 2010.

PINHEIRO, A.B.V. et al. Tabela para avaliação de consumo em medidas caseiras. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.

PRESLEY, T. D. et al. Acute effect of a high nitrate diet on brain perfusion in older adults. **Nitric Oxide**, v. 24, p. 34–42, 2011.

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, p. 1603–1616, 2010.

ROUANET, J.-M. et al. Berry juices, teas, antioxidants and the prevention of atherosclerosis in hamsters. **Food Chemistry**, v. 118, p. 266–271, 2010.

Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC). V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, supl.1, p. 1–20, 2013.

SCALBERT, A. et al. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 287–306, 2005.

SILVA, N. et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 4ª ed. São Paulo: Varela, 2010. 624p.

SOFI, F. et al. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 92, p. 1189–1196, 2010.

SOUZA, P. L. C. DE; LOPES, L. A.; FERREIRA, T. A. P. D. C. Composição química-centesimal de pratos típicos goianos com teores reduzidos de gordura e/ou açúcares. III Prêmio Científico Helena Feijó. Conselho Regional de Nutrição 1º região, v. 3, p. 18–21, 2010.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. **Physiological Reviews**, v. 84, p. 1381–1478, 2004.

STORCK, C. R. et al. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações Leaves, stalk, pell and seeds of vegetables: nutritional composition, utilization and sensory analysis in food preparati. **Ciência Rural**, v. 43, n. 3, p. 537–543, 2013.

SUPERKO, H. R.; KING, S. Lipid Management to Reduce Cardiovascular Risk: A New Strategy Is Required. **Circulation**, v. 117, p. 560–568, 2008.

TELESZKO, M.; WOJDYŁO, A. Comparison of phenolic compounds and antioxidant potential between selected edible fruits and their leaves. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 736–746, 2015.

VANHATALO, A. et al. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, p. R1121–R1131, 2010.

VINSON, J. A. et al. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 3630–3634, 1998.

VULI, J. J. et al. In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. **Journal of Functional Foods**, v.6, p.168-175, 2014.

World Health Organization. **Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases**. p. 160, 2003.

Disponível

em:

<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf?sequence=1>.
Acesso em: 20 mar. 2018

World Health Organization. **Global status report on noncommunicable diseases**. p. 176, 2010a. Disponível em: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf>.
Acesso em: 13 mar. 2018

World Health Organization. **Global recommendations on physical activity for health. Geneva: World Health Organization**, p. 60, 2010b. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44399/9789241599979_eng.pdf?sequence=1>
> Acesso em: 15 fev. 2018

World Health Organization. **Noncommunicable Diseases Country Profiles 2014**. p 37, 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/128038/9789241507509_eng.pdf;jsessionid=A5759736EEB0561CCE089B6A9EC1405B?sequence=1> Acesso em: 18 fev. 2018

World Health Organization. **Waist Circumference and Waist-Hip Ratio - Report of a WHO Expert Consultation**. 2011. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44583/9789241501491_eng.pdf;jsessionid=0AC83A293F8206EC91A2BD06255CE7E1?sequence=1>. Acesso em: 27 abr. 2018

World Health Organization. **Global Action Plan for the prevention and control of Noncommunicable diseases**. 2013. Disponível em: <http://africahealthforum.afro.who.int/IMG/pdf/global_action_plan_for_the_prevention_and_control_of_ncds_2013-2020.pdf> Acesso em: 06 mar. 2018

World Health Organization. **Global Report on Diabetes**. Isbn, v. 978, p. 88, 2016. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257_eng.pdf?sequence=1> Acesso em: 09 jan. 2018

World Health Organization. **Obesity and overweight**. 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 27 abr. 2018.

World Health Organization. **Expert Committee On Physical Status. Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. 1995. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37003/WHO_TRS_854.pdf?sequence=1>.
Acesso em: 17 mar. 2018.

WILLCOX, J. K.; ASH, S. L.; CATIGNANI, G. L. Antioxidants and Prevention of Chronic Disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, p. 275–295, 2004.

WINK, D. A. et al. Mechanisms of the Antioxidant Effects of Nitric Oxide. **Antioxidants &**

Redox Signaling, v. 3, p. 203–213, 2001.

WOOTTON-BEARD, P. C. et al. Effects of a beetroot juice with high neobetanin content on the early-phase insulin response in healthy volunteers. **Journal of Nutritional Science**, v. 3, p. e9, 2014.

WOOTTON-BEARD, P. C.; RYAN, L. A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 4, p. 329–334, 2011.

YUSUF, S. et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **The Lancet**, v. 364, p. 937–952, 2004.

FORMULÁRIO DE INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO DE PACIENTE

Título do Estudo: Folhas de beterraba (*Beta vulgaris* L.): caracterização e efeitos em indivíduos obesos e dislipidêmicos

Investigadora: Nutricionista Ana Paula Ribeiro Barcelos de Castro

Local: Laboratório de Alimentos Funcionais

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um estudo. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos e deveres como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houverem perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Se você não quiser participar ou retirar sua autorização, a qualquer momento, não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo.

1- Justificativa e objetivos:

Alguns estudos demonstram que as folhas de beterraba são importantes fontes de betalaínas, um componente antioxidante, que além de outros benefícios está relacionado ao controle de LDL colesterol. O propósito deste estudo é avaliar se a suplementação com folhas de beterraba pode apresentar variação nos parâmetros bioquímicos e antropométricos em pacientes com dislipidemia atendidos no AME- Ambulatório Médico de Especialidades de Limeira- SP. O estudo inclui pacientes que farão parte do grupo controle, grupo fibras e outros que comporão o grupo suplementado com folha e talo de beterraba. Os pacientes serão distribuídos nos grupos de forma aleatória.

2- Procedimentos:

Os pacientes que concordarem em participar deste protocolo experimental, será convidado a:

- Responder protocolo com questões pessoais e sociodemográficas para preenchimento de formulários.
- Comparecer ao Ambulatório quatro vezes, sendo duas vezes para coleta de sangue e duas vezes para consultas. O tempo estimado de duração da consulta é de 1 hora.

- Realizar duas coletas de sangue com volume suficiente para a determinação de todos os exames bioquímicos, realizados com profissional de enfermagem, sendo uma no início da intervenção e outra ao final.
- Ser inserido em grupo controle, fibras ou experimental, de forma aleatória.
- Consumir 2,8 gramas/dia de folhas de beterraba liofilizadas (grupo experimental), celulose microcristalina e maltodextrina (grupo fibras), ou maltodextrina (grupo controle) por dia durante dois meses (60 dias).

Todo material biológico colhido será descartado após a pesquisa.

3- Desconfortos e riscos:

Você não deverá participar da pesquisa se:

- Já tiver passado por cirurgia bariátrica (redução de estômago)
- Tiver doenças renais
- Tiver sofrido acidente vascular cerebral.

Você estará sujeito, como em qualquer coleta de sangue, a pequenos hematomas (machuado roxo) e ou/ pequena dor no local da punção venosa. O suplemento com folhas de beterraba fornecida para consumo não oferece riscos previsíveis à saúde dos voluntários, desde que seja bem armazenado e que se sigam as orientações de consumo. Além destes riscos apresentados, podem existir outros riscos não previsíveis neste projeto, como processo alérgico.

4- Benefícios:

Dentre os benefícios do uso da farinha podemos destacar a sua grande quantidade de antioxidantes. Informamos que você não terá nenhum benefício direto com a participação nesta pesquisa.

5- Acompanhamento e assistência:

O participante será acompanhado durante toda a intervenção através de ligações telefônicas uma vez por mês. Ao final da pesquisa, não haverá mais contato, porém o participante poderá entrar em contato com o pesquisador sempre que julgar necessário. Caso haja necessidade de intervenção de outro profissional da saúde, o paciente será direcionado ao profissional competente.

6- Sigilo e privacidade:

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. As informações deste estudo serão apresentadas em trabalho científico a ser publicado em revista de ampla divulgação entre a comunidade científica, porém, a identidade dos participantes não será divulgada nesta apresentação.

7- Ressarcimento e indenização:

É garantido ao participante, e quando for o caso o seu acompanhante, o ressarcimento de despesas decorrentes da participação no estudo, tais como transporte e alimentação nos dias em que for necessária sua presença para consultas ou exames em dias NÃO previstos na rotina de atendimento.

O participante da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não neste Termo de Consentimento, têm direito à indenização, por parte do pesquisador e das instituições envolvidas.

8 Armazenamento de material:

A amostra de sangue coletada e armazenada em biorrepositório e será utilizada para avaliação de indicadores bioquímicos: glicemia de jejum (GJ), insulina de jejum, colesterol

total (CT) e frações (HDL e LDL), triglicerídeos (TG), aminotransferase de aspartato (AST), aminotransferase de alanina (ALT), proteína C reativa (PCR), creatinina e ureia, no Laboratório do Ambulatório Médico.

Não será realizada nova pesquisa com o material colhido e utilizado nesta pesquisa.

O descarte do material armazenado será autorizado nas seguintes situações:

- a) Pela manifesta vontade do sujeito da pesquisa;
- b) Devido à inadequação da amostra por critérios de qualidade;
- c) Ao final da utilização para pesquisa;

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____.

9 Métodos alternativos:

O paciente que concordar em participar desta pesquisa, estará incluído no grupo experimental, fibras ou controle, de maneira aleatória em duplo-cego. Ou seja, nem o participante, nem o pesquisador irão saber o que o voluntário consumirá: folhas de be liofilizadas, celulose microcristalina e maltodextrina ou maltodextrina. A c microcristalina estará nas mesmas quantidades de fibras que contém no suplemento com folha de beterraba, para termos de comparação. A maltodextrina, tanto no grupo fibras como no controle, funcionará como placebo, pois, nas quantidades que o participante irá consumir não tem efeitos benéficos ou deletérios. Somente ao final da intervenção será revelado em qual dos três grupos o participante estava inserido.

10 Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável – Mestranda Ana Paula Ribeiro Barcelos de Castro estará à disposição através do telefone: (19)3701-6732 ou (19)982927504 e na Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA UNICAMP que se situa no endereço Rua Pedro Zaccaria, 1300 - Cx. Postal 1068, em Limeira – SP; email: aninharbarcelos@hotmail.com

11 Contato com o Comitê de Ética em Pesquisa:

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação no estudo, você pode entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936; fax (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas

Consentimento Livre e Esclarecido:

Após ter sido esclarecimento sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Eu, _____ li e entendi este formulário de consentimento. Consinto voluntariamente em participar, tendo recebido cópia desse formulário.

_____ Data: ____/____/_____
 (Assinatura do paciente ou nome e assinatura do seu RESPONSÁVEL LEGAL)

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/_____.

(Assinatura do pesquisador)

Nº de atendimento:

Nº do suplemento:

Alimentação, Nutrição e Saúde - FCA – UNICAMP/ AME – Limeira

Data: ____/____/____

Dados Pessoais

Nome Completo: _____

Telefone: _____

Celular: () _____

Sexo: () Masculino () Feminino

Data de Nascimento: ____/____/____

Idade: _____

Raça/cor: () Branco () Preto/pardo () Indígena () Amarelo

Escolaridade: () Nenhuma () Fundamental incompleto () Fundamental completo () Ensino médio incompleto () Superior incompleto () Superior completo

Estado Civil: () Solteiro () Casado () Divorciado () Viúvo

Profissão: _____

Antropometria

Peso atual: _____ Altura: _____ IMC: _____ Classificação: _____

Peso ideal: _____

Perda de peso significativa nos últimos meses: () Sim () Não

CC: _____ CQ: _____ CB: _____

Protocolo de Durnin e Womersley

Dobras cutâneas (mm): Bíceps: _____ Tríceps: _____ Supra

ilíaca: _____ Subescapular: _____

Doenças _____**Fármacos** _____**Cirurgias recentes/intervenções cirúrgicas:**

() Sim () Não Qual: _____

Quando: _____

Tabagismo: () Sim () Não

Frequência: _____ Quantidade: _____

Álcool: () Sim () Não

Frequência: _____ Quantidade: _____

Atividade Física

1 - a) Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que faça você suar BASTANTE ou aumentem MUITO sua respiração ou batimentos do coração.

_____ dias por SEMANA () Nenhum

b) Nos dias em que você faz essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos, tempo no total você gasta fazendo essas atividades por dia?

_____ horas e _____ minutos

2 – a) Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que faça você suar leve ou aumentem moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)

_____ dias por SEMANA () Nenhum

b) Nos dias em que você faz essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos quanta tempo no total você gasta fazendo essas atividades por dia?

_____ horas e _____ minutos

3 – a) Em quantos dias de uma semana normal você caminha por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

_____ dias por SEMANA () Nenhum

b) Nos dias em que você caminha por pelo menos 10 minutos contínuos quanta tempo no total você gasta caminhando por dia?

_____ horas e _____ minutos

4 – a) Estas ultimas perguntas são em relação ao tempo que você gasta sentado ao todo no trabalho, em casa, na escola ou faculdade e durante o tempo livre. Isto inclui o tempo que você gasta sentado no escritório ou estudando, visitando amigos, lendo e sentado ou deitado assistindo televisão.

Quanto tempo por dia você fica sentado em um dia da semana?

_____ horas e _____ minutos

b) Quanto tempo por dia você fica sentado no final de semana?

_____ horas e _____ minutos

Função Intestinal

Sente desconforto intestinal: () Sim () Não Frequência: _____

Questionário de Frequência Alimentar

LEITE E DERIVADOS			
Alimentos	Quantas vezes você come	Unidade	Porção
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Leite semi-desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Iogurte natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Iogurte de frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Queijos amarelos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Queijos brancos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
PÃES, BISCOITOS E COMPLEMENTOS			
Pão francês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Pão de forma	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Tapioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Pão integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Biscoito sem recheio	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Biscoitos recheados	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Bolo simples	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Bolo confeitado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Cereal matinal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
CAFÉ, CHÁS E ACHOCOLATADO			
Café	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Chá	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Achocolatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
ARROZ E TUBÉRCULOS			
Arroz branco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Arroz integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Batata	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Mandioca/Inhame	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Batata doce/ Batata Baroa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	

Farofa/Farinha de mandioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
LEGUMINOSAS E OVOS			
Feijão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Lentilha/Ervilha/Grão de bico	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Feijoada/Feijão tropeiro	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Ovo cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Ovo frito/Omelete	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Ovo de codorna	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
CARNES E PEIXES			
Carne assada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Carne frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Carne cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Carne seca/Carne de sol	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Bacon	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Embutidos (presunto/mortadela/salame)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Salsicha/Linguiça	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Frango assado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Frango frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Frango cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Peixe assado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Peixe cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Peixe frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Miúdos (boi ou frango)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
SOPAS E MASSAS			
Sopas creme	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Sopa de legumes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Macarrão com molho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Macarrão com molho e carne	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Lasanha/Canelone/Panqueca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Salgados assados	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Salgados fritos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
VERDURAS E LEGUMES			
Alface	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Espinafre/Escarola	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Agrião/Rúcula	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Couve	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Repolho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Couve-flor/Brócolis	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Cenoura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Berinjela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Abobrinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Beterraba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Chuchu	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Pepino	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Cebola	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	
Pimentão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	

MOLHOS E TEMPEROS																
Azeite	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Maionese	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Catchup/Mostarda	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Shoyu	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Vinagrete	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Sal	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
FRUTAS																
Laranja/Mexerica/Limão	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Banana	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Morango	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Maçã/Pêra	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Mamão	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Melão/Melancia	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Abacaxi	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Manga	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Maracujá	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Abacate	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Goiaba	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Caqui	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Kiwi	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Uva	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
LANCHES E SNACKS																
Hot Dog, Sanduiche, Hamburguer	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Salgadinho de pacote	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Pipoca	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Pizza	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
SEMENTES E PSUDOCEREAIS																
Aveia	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Linhaça	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Chia	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Quinoa	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
OLEAGINOSAS																
Castanha do Pará	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Amendoim	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Nozes	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
BEBIDAS																
Suco em pó	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Suco de caixinha	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Refrigerante	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Bebida a base de soja	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Cerveja	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Vinho	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Caipirinha/Destilados	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
DOCES E SOBREMESAS																
Balas	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Leite condensado	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Chocolates/bombons	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	

Doces de Frutas	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Gelatina	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Doces de confeitaria (pudim, tortas, mousses)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	
Sorvete	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	

Consumo de água: _____

Mudanças recentes em hábitos alimentares:

() Sim () Não Quais: _____

Mudanças recentes no estilo de vida:

() Sim () Não Quais: _____

Mudanças recentes de saúde/doença (diagnósticos):

() Sim () Não Quais: _____

Suplementação

Informações gerais:

De acordo com o conversado em consulta prévia, fazer o uso correto deste suplemento. Como combinado entre as partes, não abrir as cápsulas.

Modo de usar:

Você está recebendo dois potes com cápsulas suficientes para 60 dias (2 meses).

Abra um pote por mês e consuma até o final.

Consumir 9 cápsulas por dia, divididas em 3x ao dia:

3 no café da manhã

3 no almoço

3 no jantar



Modo de armazenamento:

**COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS**



Mantenha o pote sempre fechado, livre de exposição solar, calor e umidade.

Importante:

Seguir as orientações passadas pela nutricionista.

Beber 2 litros de água por dia.

Em caso de dúvidas, efeitos colaterais e/ou desistência entrar em contato através do número (19)98292-7504.

Ana Paula Castro
nutricionista

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Folhas e talos de beterraba (*Beta vulgaris* L.): caracterização e efeitos da capacidade antioxidante em indivíduos obesos e dislipidêmicos

Pesquisador: Rosangela Maria Neves Bezerra

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 56714916.3.0000.5404



Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Aplicadas
Patrocinador Principal: Financiamento Amplo
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS
DADOS DO PARECER



Continuação do Parecer: 1.838.888

Número do Parecer: 1.838.888

Apresentação do Projeto:

O Brasil faz parte do grupo de países com maior produção agrícola, sendo o agronegócio uma importante pasta comercial, tanto do ponto de vista de comércio interno, como no âmbito de exportação. Entretanto, o Brasil também está na lista dos países com maiores perdas de alimentos, sendo estas no campo, por falta de estrutura na colheita, armazenamento e transporte, ou nas residências por desperdícios de partes de alimentos ou práticas de má conservação dos alimentos. A pesquisa de compostos, presentes em diferentes partes de hortaliças e frutas, com propriedades em vários mecanismos fisiopatológicos tem aumentado nas últimas décadas. A obesidade se tornou uma doença endêmica de caráter mundial o que desperta interesse na busca de alternativas no tratamento do controle de peso e de suas complicações. A obtenção de liofilizados ou extratos de partes de alguns alimentos podem minimizar gastos no tratamento de muitas patologias, tornando uma terapia coadjuvante ao uso de drogas já estabelecidas. Obesidade e Estresse Oxidativo A obesidade é considerada um dos graves problemas de saúde pública da atualidade, atingindo de forma global países desenvolvidos e em desenvolvimento, o que eleva a doença ao nível de epidemia mundial. O fenômeno de transição nutricional, caracterizado pelo aumento da prevalência de obesidade, sobrecarrega os sistemas de saúde com demanda crescente de atendimento por doenças crônicas não transmissíveis relacionadas com a obesidade, como o

diabetes mellitus tipo 2, as cardiopatias, as dislipidemias, a hipertensão arterial sistêmica e diversos tipos de câncer (OMS, 2012). Há alguns anos, a obesidade deixou de ser considerada como o acúmulo excessivo de tecido adiposo, e tornou-se uma doença com características de inflamação crônica subclínica com a presença de estresse oxidativo, o que contribui para o aumento da suscetibilidade do indivíduo ao desenvolvimento de comorbidades. Dentre os vários fatores existentes, a hiperglicemia, os níveis elevados de lipídios séricos e teciduais, a inflamação crônica subclínica e a diminuição na resposta antioxidante, contribuem de forma direta e indireta para o aumento da geração de espécies reativas (LIMA et al., 2004; MELISSAS et al., 2006; MAHAPATRA et al., 1998). Ao longo dos anos, pesquisas têm demonstrando que a

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

UF: SP

Município: CAMPINAS

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



CEP
Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.838.888

produção excessiva de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e a redução nos mecanismos de defesas antioxidantes podem levar à produção de dano oxidativo a vários constituintes celulares, como proteínas, lipídios e DNA, que estão associados a doenças metabólicas, neurodegenerativas, coronarianas e outras (URSO e CLARKSON, 2003; BARBOSA et al. 2010). Durante o metabolismo da glicose, na etapa do ciclo dos ácidos tricarboxílicos são gerados doadores de elétrons como NADH e FADH₂. O excesso de glicose no interior das células aumenta a geração destas moléculas na cadeia de transporte de elétrons, levando ao aumento da doação de elétrons para o oxigênio molecular, o que permite a geração de maior quantidade de radical superóxido. De forma similar, o excesso de ácidos graxos livres na célula leva ao aumento da - oxidação e oxidação de acetil-CoA derivado de ácidos graxos livres pelo ciclo dos ácidos tricarboxílicos, o que resulta no aumento de NADH e FADH₂ e maior produção de EROs na mitocôndria (MATSUDA e SHIMOMURA, 2013). Outro mecanismo que participa na geração excessiva de EROs na obesidade envolve a enzima NAD fosfato (NADPH) oxidase presente na membrana plasmática de adipócitos. Esta enzima converte oxigênio molecular em radical superóxido, principalmente na presença de maior quantidade de ácidos graxos livres (KRIEGERBRAUER e KATHER, 1992; FURUKAWA et al., 2004). Em modelo animal de obesidade, o tecido adiposo apresenta níveis elevados de peróxidos lipídicos, peróxido de hidrogênio, assim como maior expressão de NADPH oxidase. Em contrapartida, o tecido adiposo possui normalmente níveis elevados das enzimas antioxidantes como forma de regular a produção aumentada de EROs. Entretanto na condição de obesidade, esses níveis enzimáticos tendem a reduzir a atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, um indicativo de alterações importantes na resposta antioxidante (FURUKAWA et al., 2004). Outra condição clínica comumente associada à obesidade é a alteração na sensibilidade a insulina. Em condições de homeostase a presença de algumas EROs, como peróxido de hidrogênio (H₂O₂) gerados na mitocôndria ou pela NADPH oxidase, tem papel importante como

segundomensagem na ativação do sinal da insulina através da fosforilação do receptor de insulina em adipócitos e células neuronais (KRIEGER-BRAUER e KATHER, 1992; MAHADEV et al., 2001; POMYTKIN, 2012). Entretanto, em condições de estresse oxidativo é observado uma redução na ativação de proteínas da cascata de sinalização da insulina, sendo descrito como principais fatores a ativação de proteínas como a c-Jun N-terminal quinase, p38 MAP quinase, fator nuclear kappa B (NF-B) e algumas isoformas da proteína quinase C (PKC) (HOUSTIN et al., 2006). Além destes mecanismos, o acúmulo de glutathione em adipócitos hipertrofiados parece também alterar a ação da insulina devido a uma redução na atividade da glutathione peroxidase e aumento na expressão da glutathione sintase, enzima envolvida na

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

UF: SP

Município: CAMPINAS

CEP: 13.083-887

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

síntese de glutathione (KOBAYASHI et al., 2009). Nos adipócitos a insulina e a glutathione parece interagir de maneira complexa (MATSUDA e SHIMOMURA, 2013). A aterosclerose é outra comorbidade presente na obesidade, aumentando o risco dos eventos cardiovasculares responsável pela maior incidência de internações e mortes no país. Em 2014 a taxa de morte por doença cardiovascular no Brasil foi da ordem de 214/100.000, em ambos os sexos. No mundo em 2012, 17,5 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares (OMS 2016). O estresse oxidativo está fortemente envolvido nas alterações no tecido vascular que conduzem ao processo de aterosclerose. O excesso de EROs altera a biodisponibilidade do óxido nítrico, radical importante no processo de vasodilatação, além de gerar radicais peroxinitritos que contribuem para disfunção endotelial (HEITZER et al, 2001). A oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) desempenha importante papel na patogênese da aterosclerose, sendo a forma de colesterol que mais se acumula nas células (BROWN e GOLDSTEIN, 1986). Dentro das paredes arteriais a oxidação dessas moléculas contribui para o acúmulo celular de colesterol, de LDL oxidados, e a formação de células espumosas (AVIRAM e FUHRMAN, 2002). O aumento nos níveis de EROs participa na oxidação de LDL, resultando em alterações nas células do endotélio vascular, aumento de reações imune, aumento da migração de macrófagos para a túnica íntima, gerando processo inflamatório que de forma direta ou indireta resulta no desenvolvimento de aterosclerose (STOCKER E KEANEY, 2004; MATSUDA e SHIMOMURA, 2013). Compostos bioativos, obesidade e doenças associadas. Pesquisadores vêm demonstrando que compostos bioativos presentes em alimentos podem ser benéficos em diversas condições patológicas. O consumo de frutas e vegetais está associado ao menor risco de doenças crônicas não transmissíveis (DAUCHET et al., 2006; DYUN e PIVONKA, 2000), sendo descrita uma boa relação entre suplementação de folhas ricas em compostos bioativos e a melhora do perfil antioxidante, proteção anti - inflamatória, controle e prevenção de algumas doenças, como as doenças cardiovasculares. Estudos epidemiológicos mostraram associação entre o alto consumo

Continuação do Parecer: 1.838.888

de polifenóis e baixo risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, câncer, e desordens neurodegenerativas (ARTS e HOLLMAN, 2005; HOLLMAN et al., 2010). Diferentes mecanismos podem mediar esses efeitos protetores incluindo mudanças no metabolismo de lipídios (HOOPER et al., 2012; BLADÉ et al., 2012). Dentre estes, a capacidade antioxidante dos polifenóis, demonstrados em estudos in vitro e em modelos animais, pode ser um possível mecanismo cardioprotetor contra o estresse oxidativo (ANNUZZI, 2014). Segundo Kim et al. (2009), o consumo de uma mistura de hortaliças folhosas incluindo

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
folhas de beterraba, alface vermelha, angélica, e outros, por 4 semanas, melhora o perfil antioxidante e a atividade das enzimas antioxidantes, reduzindo a peroxidação lipídica no

UF: SP

Município: CAMPINAS

CEP: 13.083-887

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



CEP
Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.838.888

figado, coração e rim em ratos alimentados com dieta contendo elevado teor de gorduras e colesterol comparado aos controles não suplementados. As alterações nos lipídios séricos são complicações normalmente presentes em indivíduos com obesidade, nos quais é frequentemente observada uma elevação da partícula de lipoproteína de baixa densidade (LDL). Camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e suplementados com extrato de *Portulaca oleracea* (onze horas) apresentaram redução nos níveis de lipídios séricos, aumento na atividade de enzimas antioxidantes, redução dos teores de gordura e lesão hepática quando comparados aos animais controle (CHEN et al., 2012). Lee et al. (2009-a), demonstrou que o consumo de 8% de *Lactuca sativa* (alface) liofilizada em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras e colesterol por 4 semanas diminui significativamente os níveis de LDL e triacilglicerol (TAG), o índice aterosclerótico e a peroxidação lipídica em comparação com o grupo controle, mostrando contribuir para redução dos fatores de risco de doenças cardiovasculares. Dentre os vários vegetais consumidos na dieta humana, a beterraba (*Beta vulgaris* L.) é um alimento que contém uma riqueza de compostos bioativos como, as betalaínas (NETZEL et al., 2005 e STRACK et al., 2003), betacianina, flavonóides (catequina, miricetina, quercetina, kampferol), polifenóis, beta carotenos, -tocoferol, vitaminas, ácido fólico (VINSON et al., 1998). As betalaínas são fitoquímicos bioativos (TESORIERE et al., 2008), classificados dentro do grupo de pigmentos avermelhados que se encontram nas folhas, flores e raízes de algumas plantas, como na beterraba (KANNER et al., 2001). Esses pigmentos são solúveis em água, e amplamente utilizados como corantes alimentares, tendo uma vasta gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidante, antiinflamatória, hepatoprotetora e anticâncer (GEORGIEV et al., 2010). Estudos em animais tratados com betalaínas demonstraram importante proteção da partícula de colesterol LDL contra modificações oxidativas (KANNER et al., 2001). Estudo de Tesoriere et al. (2005), com humanos que consumiram pera de cactos ricas em betalaínas, demonstrou que a resistência do LDL à oxidação varia em relação à quantidade

de betalaínas. Tais dados sugerem que esses compostos podem oferecer importante proteção ao LDL. Porém, ainda não se sabe ao certo quais são os efeitos metabólicos ou como agem sobre a partícula de LDL. Uma hipótese é que as betalaínas, possivelmente se ligam às membranas celulares e à partícula de LDL para inibir a peroxidação (TESORIERE et al. 2003). Dentro do grupo das betacianinas, o principal componente é a betanina, que tem expressivo efeito antioxidante prevenindo a peroxidação lipídica de membranas e agindo na inibição da oxidação de LDL, com resultados mais acentuados que os observados com a catequina, um importante flavonol (KANNER et al., 2001). Os flavonóides são fitoquímicos amplamente distribuídos no reino vegetal, tendo grandes concentrações em cascas e folhas. Estudos tem

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

UF: SP

Município: CAMPINAS

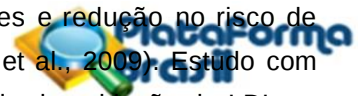
CEP: 13083-887

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



CEP
Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.838.888

demonstrado uma relação inversa entre o consumo de flavonóides e redução no risco de doenças cardiovasculares, em que a beterraba reduz o risco (GRASSI et al., 2009). Estudo com cultura de célula do endotélio humano mostrou que, no ensaio de oxidação do LDL as células tratadas com diferentes flavonóides mostraram uma redução nos níveis de malonaldeídos (MDA), aumento nos níveis de óxido nítrico (NO) e na viabilidade das células quando tratados com miricetina, quercetina (Yi et al., 2011). Em extrato de folhas de Mirta, a presença de miricetrin (miricetina-3-O-rhamnoside) demonstrou maiores valores ORAC e proteção da oxidação do LDL (DAIRI et al., 2014). Guo et al. (2015) estudou os efeitos da miricetina em camundongos alimentados com uma dieta rica em colina e observou que as doses de 400 e 800 mg/kg peso foram capazes de reduzir o colesterol total, triglicérides, LDL-colesterol, endotelina e tromboxana A2; aumentar a atividade das enzimas de antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) e; de reduzir os níveis de MDA. Outro flavonóide com destacada ação anti-aterosclerose é a quercetina. Indivíduos hipercolesterolêmico moderados que consumiram por 8 semanas um suco de cebola rico em quercetina apresentaram uma redução significativa nos níveis de colesterol total e fração LDL, além de um aumento na capacidade antioxidante total (LU et al., 2015). Células endoteliais da veia umbilical humana tratadas com LDL oxidado e pré-tratadas com quercetina, apresentaram uma proteção contra a oxidação do LDL, aumentando a atividade de sirtuina 1 (SIRT1) e proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e, reduzindo a ativação das NADPH oxidase 2 e 4 (NOX2 e NOX4) (HUNG et al., 2015). Dentre as partes da beterraba, as folhas possuem maior quantidade de flavonóides e fenólicos totais em comparação à raiz o que pode colaborar nos efeitos antioxidantes destacados acima (NINFALI e ANGELINO, 2013). Em estudo com folhas de beterraba, Lee et al. (2009-b) observou que a suplementação de 8% de folhas liofilizadas, em animais alimentados por quatro semanas com dieta com alto teor de gorduras e colesterol, levou a uma redução no peso corporal, nos níveis de colesterol total e triglicérides e uma aumento nos níveis de HDL. Somado a isso,

foi observada uma redução significativa dos marcadores de peroxidação, sugerindo que a suplementação com folhas de beterraba pode auxiliar no controle da peroxidação lipídica. A maioria dos estudos que avaliam os efeitos benéficos do consumo da beterraba é realizada utilizando a parte tuberosa do vegetal. A folha é consumida na forma de salada em muitos países (LEE et al., 2009) porém, no Brasil, esse hábito ainda é pouco difundido, sendo essa parte do vegetal descartada ainda que possua nutrientes e compostos benéficos ao organismo (STORCK et al., 2013, EMBRAPA, 2015) alguns em maior quantidade que na raiz (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2015). Estudo piloto desenvolvido por nosso grupo observou um efeito significativo na redução do LDL colesterol, e redução embora não

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

UF: SP

Município: CAMPINAS

CEP: 13083-887

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

significativa do colesterol total e proteína C reativa em 18 indivíduos obesos dislipidêmicos suplementados com folhas e talos de beterraba por 30 dias comparados aos não suplementados (CASTRO 2015).

Continuação do Parecer: 1.838.888

homens ou mulheres com idade de 20 a 50 anos; IMC para obesidade grau I ou II; apresentando alteração nos níveis de lipídios séricos com colesterol total >200mg/dl e/ou LDL-colesterol superior a 130mg/dl, como prescreve a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2001). Critério de Exclusão: Não poderão participar da pesquisa voluntários portadores de insuficiência renal ou hepática. Serão excluídos da pesquisa voluntários que passaram por cirurgia bariátrica.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o potencial antioxidante das folhas e talos de beterraba liofilizadas, através de ensaios bioquímicos e estudo clínico duplo-cego com voluntários obesos e dislipidêmicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo informações da pesquisadora:

Riscos: Os pacientes que participarem deste estudo não estarão correndo nenhum risco de vida, nem comprometimento psicológico. Entretanto, você estará sujeito, como em qualquer coleta de sangue, a pequenos hematomas (machuca roxa) e ou/ pequena dor no local da punção venosa. O suplemento com de folhas e talos de beterraba fornecida para consumo não oferece riscos à saúde dos voluntários, desde que seja bem armazenado e que se sigam as orientações de consumo. Além destes riscos apresentados, podem existir outros riscos não previsíveis neste projeto, como processo alérgico.

Benefícios: Dentre os benefícios do uso da farinha podemos destacar a sua grande quantidade de antioxidantes. Informamos que você não terá nenhum benefício direto com a participação nesta pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se da Dissertação de Mestrado da Nutricionista Ana Paula Ribeiro Barcelos de Castro que está sob a supervisão da Profa. Dra Rosângela Maria Neves Bezerra do curso de Nutrição da FCA Limeira/UNICAMP, cujo custo estimado é de R\$ 100,00.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

*A folha de rosto confere com o título do projeto de pesquisa e apresenta a assinatura do pesquisador responsável e do responsável pela instituição conforme a resolução 466/12 do

Endereço: Rua Teófilo Vieira de Camargo, 126

CNPJ: 07.574.511/0001-90

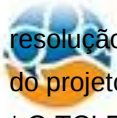
UF: SP

*O cronograma está adequado conforme compromisso do pesquisador com a

Município: CAMPINAS

CEP: 13.083-887

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



resolução 466/12 do CNS/MS, com a data de início da pesquisa anterior a aprovação do projeto pelo CEP.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



* O TCLE
* Carta resposta

Continuação do Parecer: 1.838.888

* Autorização para coleta de dados.

Recomendações:

1- Retirar do TCLE, no item ressarcimento, a seguinte frase: "A participação nesta pesquisa não exige qualquer pagamento ou qualquer despesa fixa. Porém, o participante deverá se deslocar até o pesquisador para realização das consultas sempre que necessário e quando acertado entre as duas partes, porém os gastos com o transporte não será ressarcido". A pesquisadora informa que o participante da pesquisa não será ressarcido e logo abaixo informa que ele tem direito ao ressarcimento. Segundo a Resolução 466/12, o participante tem direito ao ressarcimento dos gastos para participar da pesquisa. Portanto, o CEP solicita que a frase acima seja retirada do TCLE.

2-Corrigir os seguintes erros de digitações no TCLE: "A amostra de sangue coleta e armazenada" e "maltodetrina".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram atendidas, mas necessita de algumas correções descritas no item "Recomendações". APROVADO COM RECOMENDAÇÕES VIDE ITEM ACIMA

"RECOMENDAÇÕES".

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).
- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o E-mail: cep@fcm.unicamp.br



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.838.888

pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuação - pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, “cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento”.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_678493.pdf	17/11/2016 11:40:30		Aceito
Outros	CartaResposta171116.pdf	17/11/2016 11:38:37	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TermodeConsentimento171116.pdf	17/11/2016 11:36:34	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
Declaração de	RegulamentodeBiorrespositorio171116.p	17/11/2016 11:33:54	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
Manuseio Material				

Endereço: Av. Celso Vieira de Camargo, 126

UF: SP

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

				75	
Continuação	 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS				
	Biológico / Biorepositório / Biobanco	CartaResposta1.pdf	21/10/2016 09:09:54	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
	Outros	DECLARAÇÃO DE	21/10/2016 09:04:23	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
	Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	REGULAMENTODEBIORREPOSITORIO1.pdf			
	TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeConsentimento3.pdf	21/10/2016 09:03:35	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
	Outros	Cartaresposta2.pdf	28/09/2016 18:08:24	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
	TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeConsentimento2016corrigido.pdf	27/09/2016 13:00:09	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
	Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	RegulamentodoBiorrepositorio.pdf	27/09/2016 12:55:58	Rosangela Maria Neves Bezerra	Aceito
	TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEcorrigido.pdf	04/08/2016 10:03:46	Rosangela M N Bezerra	Aceito
	Outros	Cartaresposta.pdf	04/08/2016 10:03:28	Rosangela M N Bezerra	Aceito
	Declaração de Instituição e Infraestrutura	AME.pdf	01/04/2016 17:45:01	Rosangela M N Bezerra	Aceito

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	01/04/2016 17:44:23	Rosangela M N Bezerra	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	01/04/2016 17:43:57	Rosangela M N Bezerra	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	01/04/2016 17:43:12	Rosangela M N Bezerra	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

UF: SP

Município: CAMPINAS

CEP: 13.083-887

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 28 de Novembro de 2016

Assinado por:
Renata Maria dos
Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126**CEP:** 13.083-887**UF:** SP**Município:** CAMPINAS**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br