

Título do Projeto:	Avaliação da suplementação de Coenzima Q10 na evolução de cicatrização de feridas dermatológicas em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2	
Pesquisador Responsável:	Cibele Velloso Rodrigues	
Equipe da Pesquisa:	CPF 378.148.266-91 794.216.606-68 093.249.877-98 042.528.406-94 074.314.166-01 006.885.676-81 257.825.568-70 067.752.296-74	Membro da equipe Ana Maria de Souza Germano Antônio Frederico de Freitas Gomides Caio César de Souza Alves Fernanda de Oliveira Ferreira Leandro de Moraes Cardoso Nilcemar Rodrigues Carvalho Cruz Sandra Bertelli Ribeiro de Castro Tatiana Calavorty Lanna Pascoal
Endereços para contato:	E-mail: cibele.velloso@ufjf.br Tel.: (31)98803-2353 E-mail: taticalavorty@gmail.com Tel.: (33)98816-1015	
Unidade/Departamento /Instituto/Instituição:	Executora: Instituto de Ciências da Vida UFJF - campus Governador Valadares Instituição Coparticipante: CNPJ 20.611.810/0001-91 Fundação Percival Farquhar/ FPF- Universidade Vale do Rio Doce/	

Desenho:

Este estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, será realizado com 120 participantes que apresentarem lesões dermatológicas e que estiverem em tratamento convencional no Ambulatório de Lesões Dermatológicas da Univale. Inicialmente, todos os participantes serão pareados quanto ao sexo, tipo e dosagem de medicamentos, data do primeiro diagnóstico do diabetes mellitus, tipo de lesões, massa corporal pré-tratamento (IMC) (<25 e ≥ 25 kg/m²) e idade (<60 e ≥ 60 anos). Em seguida, todos os participantes serão divididos aleatoriamente em dois grupos para tomar suplementos de CoQ10 de 100 mg/dia ou placebo (n = 60 em cada grupo) por 12 semanas. Concomitantemente, todos os participantes passarão por um protocolo convencional de tratamento de lesões. Os participantes serão solicitados a não mudar suas condições físicas normais, atividades físicas e não tomar nenhum suplemento nutricional durante o tratamento de 12 semanas. A adesão à ingestão de CoQ10 será avaliada através da dosagem de CoQ10 no plasma. O uso de suplementação de CoQ10 ou o placebo durante o estudo será verificado pedindo aos sujeitos que retornem os envelopes de medicamentos a cada 7 dias no momento da consulta agendada e será calculada a adesão ao final da intervenção. A avaliação da ingestão calórica e de nutrientes dos participantes será efetuada com a utilização de um inquérito alimentar do tipo R24 (dois dias de semana e um dia final de semana). A ingestão diária de macro e micronutrientes serão analisados pelo software Programa webdiet, e o cálculo do VET (valor energético total) será em Kcal e Kcal/peso corporal/dia. A

profundidade e a aparência da ferida pré e pós-intervenção serão realizadas pela equipe de enfermagem do Ambulatório de Lesões de acordo com o Sistema de classificação de úlceras de Pé Diabético SINBAD/ e *Guidelines on the classification of diabetic foot ulcers* (IWGDF 2019). Amostras de raspado bucal, de raspado de lesões e de sangue em jejum serão coletadas no início e após a intervenção de 12 semanas para avaliar marcadores genéticos, bioquímicos e celulares. Todos os dados serão expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises de correlação serão feitas por meio do cálculo do coeficiente de correlação Pearson (r) para avaliar as relações entre os parâmetros estudados. A análise estatística será feita com o SPSS Statistics 20.0 para Windows (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. NY, EUA). Os resultados serão considerados estatisticamente significativos com nível de significância 0,05.

Resumo:

A cicatrização de feridas demanda uma série de interações físico-químicas que necessitam da absorção adequada de nutrientes em cada uma de suas etapas. Além da nutrição, diversos fatores podem afetar negativamente a cicatrização como a presença de doenças crônicas não transmissíveis, especificamente o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) que apresenta inflamação e estresse oxidativo. A redução da inflamação e uso de antioxidantes tem sido reconhecidos no processo de cicatrização de feridas e na redução dos agravos do DM2. A suplementação de Coenzima Q10 tem apresentado eficácia como um complemento terapêutico no tratamento de doenças metabólicas e redução da inflamação, mas poucos estudos clínicos randomizados no processo de cicatrização são relatados em humanos. Objetivo: Avaliar os efeitos biológicos da suplementação da Coenzima Q10 na evolução da cicatrização de lesões dermatológicas de indivíduos com DM2. Metodologia: Trata-se de estudo clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo de participantes com lesões dermatológicas e DM2. No grupo de 60 participantes com suplementação CoQ-10 será oferecido, além do tratamento convencional dose de 100mg de CoQ10 na forma de ubiquinona em cápsulas gelatinosas por 12 semanas. No grupo controle estarão 60 participantes com perfil semelhante ao do grupo de intervenção, com tratamento convencional e suplementação com placebo. Será observada a evolução clínica da cicatrização de lesões dermatológicas e analisados os parâmetros nutricionais/antropométricos. Além disso, serão analisados os níveis de mediadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo e de genótipos de polimorfismos em genes relacionados ao DM2 e à resposta inflamatória.

Palavras-chave: Estudo clínico, Coenzima Q 10, Lesões, feridas, Cicatrização, Estresse oxidativo, inflamação, Diabetes Mellitus tipo 2.

Introdução (revisão da literatura):

Entende-se como lesão qualquer tipo de dano ou alteração anormal que acontece no tecido de um organismo vivo, que pode surgir como consequência de doenças, esportes, traumas ou outro que, por sua vez, pode se tornar uma ferida que necessita de cicatrização (ASTUR et al., 2014). Ferida é qualquer lesão que interrompa a continuidade da pele. As lesões têm a capacidade de atingir a epiderme, derme, tecido subcutâneo e fáscia muscular, podendo, inclusive, expor estruturas mais profundas. As feridas são classificadas com base em diversos parâmetros, que auxiliam no diagnóstico, evolução e determinação do tipo de tratamento, como feridas cirúrgicas, traumáticas e ulcerativas (SÃO PAULO, 2021). Tradicionalmente, a cicatrização de feridas tem sido dividida em três fases distintas: inflamação, proliferação e remodelação. Cicatrização envolve uma série complexa e coordenada de células e mediadores. Na fase de inflamação, muitos tipos de células (neutrófilos, monócitos, fibroblastos) são recrutadas para o sítio da injúria. Logo após a formação do coágulo, mediadores inflamatórios (IL-1, TNF- α , TGF- β) atraem neutrófilos. Monócitos do tecido vizinho é atraído e se transforma em macrófago. O macrófago é essencial para a cicatrização de feridas. Várias enzimas e citocinas são secretadas pelo macrófago, incluindo collagenases, que removem tecido necrótico da ferida; interleucinas (ILs) e fator de necrose tumoral (TNF), que estimulam fibroblastos a produzirem colágeno e promovem angiogênese; e TGF, que estimula queratinócitos (BROUGHTON et al. 2006). A cicatrização de feridas também requer a ingestão de nutrientes adequados em todas as suas fases. A fase inflamatória requer nutrientes como aminoácidos (principalmente arginina, cisteína e metionina), vitamina E, vitamina C e selênio, para fagocitose e quimiotaxia; vitamina K para síntese de protrombina e fatores de coagulação. A Fase proliferativa requer aminoácidos (principalmente arginina), vitamina C, ferro, vitamina A, zinco, manganês, cobre, ácido pantotênico, tiamina e outras vitaminas do complexo B. A fase de maturação: requer nutrientes como aminoácidos (principalmente histidina), vitamina C, zinco e magnésio (SÃO PAULO, 2021). A presença de ROS (Espécies reativas de oxigênio) ou infecção microbiana pode impedir o processo de cicatrização, uma vez que o tipo de células recrutadas inicialmente para o local da lesão é o neutrófilo, que desempenha um papel na defesa antimicrobiana e na produção de ROS. As ROS são produzidas em resposta à lesão cutânea (GUPTA et al., 2002) e podem causar danos celulares pela peroxidação dos lipídios de membrana (RUSSO et al., 2002). Essas observações sugerem que melhorar a atividade antioxidante local pode ser benéfico para promover a cicatrização (JAMES et al., 2001). Diversos fatores além da nutrição podem afetar negativamente a cicatrização como a presença de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), entre elas o diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade, neoplasias, vasculopatias, entre outras. (ALMADANI et al, 2021). O diabetes mellitus tipo II (DM2) é uma das doenças mais comuns no mundo, frequentemente associada a úlceras de pé diabético e lenta cicatrização. É necessário desenvolver continuamente intervenções eficazes para tratar essas duas questões (STACHURA et al. 2022). Estima-se que até um terço dos indivíduos com DM desenvolverão uma úlcera no pé ao longo de suas vidas. Embora essa incidência pareça estar em ascensão, até o momento, tem sido desafiador encontrar terapias inovadoras para essa condição comum, complexa e de alto custo (ZHU et al. 2018; ARMSTRONG, GURTNER, 2018). A pele de indivíduos diabéticos apresenta maior infiltração de células inflamatórias,

edema e formação reduzida de tecido de granulação em comparação com a pele de indivíduos não diabéticos, indicando uma deterioração na capacidade de cicatrização de úlceras diabéticas (BOULTON et al., 2020). Além disso, o tecido ao redor da ferida e o núcleo da ferida em pessoas com diabetes parecem ser mais propensos a um estresse oxidativo excessivo e danos, o que resulta em uma cicatrização deficiente (LONG et al. 2016). Estudos indicaram que níveis elevados de estresse oxidativo, juntamente com a presença de bactérias, podem criar condições favoráveis ao desenvolvimento de feridas crônicas (KIM et al., 2019). Essas observações sugerem uma interação complexa entre o estado inflamatório e o estresse oxidativo no ambiente de feridas em pacientes diabéticos, o que pode ter implicações importantes para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes. A coenzima Q10 (CoQ10) é uma quinona lipossolúvel semelhante à vitamina composta por dez unidades de isoprenoides. Ela está localizada principalmente nas mitocôndrias onde exerce funções de cofator no transporte de elétrons na cadeia respiratória para formação de ATP e age como antioxidante (HARGREAVES, HEATON, MANTLE, 2020). Além disso, a CoQ10 desempenha função como mediadora da inflamação (ABIRI, VAFA, 2021), na manutenção do pH lisossomal (HEATON et al., 2020), como cofator do sulfeto quinona oxido redutase no metabolismo do sulfeto (QUINZII et al., 2017) e função no metabolismo de aminoácidos (como cofator da colina desidrogenase e da prolina desidrogenase na síntese de glicina e prolina/arginina, respectivamente) (HANCOCK et al., 2015; SALVI, GADDA, 2013). A CoQ10 existe nas formas oxidada (ubiquinona) e reduzida (ubiquinol), e o seu funcionamento normal envolve uma interconversão contínua entre essas duas formas (CRANE, 2001). A forma reduzida da CoQ10 (ubiquinol) pode inibir a peroxidação lipídica em membranas biológicas e proteger o corpo contra danos causados por espécies reativas de oxigênio diretamente (ZHANG et al., 2018) e indiretamente por seu envolvimento na regeneração dos antioxidantes vitamina C e vitamina E (HARGREAVES et al., 2020). A CoQ10 tem demonstrado ter um impacto direto na expressão de vários genes (GUTIERREZ-MARISCAL, et al., 2018). A CoQ10 pode ter efeitos favoráveis na função cardíaca, hipertensão, metabolismo da glicose, perfis lipídicos e inflamação (XU Y, et al, 2019). No entanto, diferentes elementos como genética, envelhecimento e o uso de estatinas podem reduzir as concentrações fisiológicas de CoQ10 (POTGIETER, PRETORIUS E PEPPER, 2013). A deficiência desse antioxidante na dieta tem sido relacionada a várias condições em que o estresse oxidativo desempenha um papel significativo, como insuficiência cardíaca, obesidade, câncer, dor crônica e distúrbios neurodegenerativos (HARGREAVES, HEATON, MANTLE, 2020). A falta de CoQ10 pode ser sintomática em células e tecidos que normalmente são ricos em mitocôndrias, como músculos e tecido nervoso, resultando em vários tipos de miopatia e neuropatia. Uma vez que alguns pacientes com deficiência de CoQ10 mostraram melhorias clínicas após suplementação, a CoQ10 tem sido considerada como uma possível candidata para o tratamento de diversas doenças (GARRIDO-MARAVÉ et al., 2014). Uma análise combinada de 17 ensaios clínicos randomizados conduzidos em 2020 investigou os efeitos da suplementação oral de CoQ10. Os resultados mostraram claramente o potencial antioxidante dessa coenzima, indicando redução dos danos oxidativos nas membranas celulares, aumento da capacidade antioxidante geral do organismo e ativação de enzimas essenciais para o sistema de defesa antioxidante (AKBARI et al, 2020). Como suplemento dietético, a CoQ10 pode oferecer benefícios significativos para condições clínicas associadas a processos patológicos de estresse oxidativo

(TIPPAIORTE et al., 2022). Pacientes com DM2 tem níveis reduzidos de CoQ10 se comparados a pessoas saudáveis (ROMÁN-PINTOS et al., 2016). Há evidências em estudos clínicos randomizados que a suplementação de CoQ10 traz benefícios no estado clínico de pacientes com DM2. Na maioria dos estudos houve alteração significativa nos desfechos primários como níveis de hemoglobina glicosilada (HbA1c) e glicose sanguínea de jejum e nos desfechos secundários como níveis de HDL-C e triglicerídeos (ZHANG et al., 2018). Alguns estudos in vitro e in vivo tem demonstrado o efeito positivo de CoQ-10 com uso tópico na cicatrização de feridas em animais (KURASHIKI et al., 2022; MAO, WU, DONG, 2016; YONEDA et al., 2014). Foi mostrado efeito significativo da CoQ10 na redução dos efeitos causados pelo envelhecimento por idade e da radiação ultravioleta (CIRILLI et al., 2021) e aumento da expressão de mRNA de colágenos tipos I, IV, VII, elastina, e HSP47 em cultivo de fibroblastos de pele humana (MINE, TAKAHASHI, OKAMOTO, 2022). No entanto, em humanos, nós não fomos capazes de encontrar estudos clínicos randomizados com suplementação de CoQ-10 na cicatrização de feridas em pacientes com DM2 embora, o papel de antioxidantes nesse processo seja reconhecido (DENG et al, 2021). Analisando a importância de estudos sobre o tema, as lacunas envolvidas e considerando os impactos na qualidade de vida aos portadores de lesões, bem como os custos elevados e o tempo prolongado de tratamento, esse estudo investigará se pacientes com DM2 e com feridas dermatológicas podem se beneficiar do uso de CoQ10 como suplemento antioxidante e anti-inflamatório.

Hipótese:

A suplementação de CoQ10 melhora a evolução da cicatrização de feridas em indivíduos com DM2 e associa aos perfis metabólicos e biomarcadores de inflamação e estresse oxidativo.

Objetivo primário

Avaliar os efeitos da suplementação oral da CoQ10 na evolução da cicatrização de lesões dermatológicas e sua associação a parâmetros nutricionais, de inflamação e estresse oxidativo em indivíduos com diabetes Mellitus tipo 2.

Objetivo secundário

- Caracterizar o estado nutricional dos participantes do estudo (dados antropométricos e bioquímicos);
- Avaliar os parâmetros hematológicos dos participantes do estudo;
- Avaliar os efeitos da suplementação oral de CoQ10 na evolução cicatricial das lesões dermatológicas em participantes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2);
- Avaliar os mediadores inflamatórios e marcadores de estresse oxidativo no curso do estudo;
- Analisar a expressão gênica em células das lesões dermatológicas para mediadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo.
- Genotipar polimorfismos em genes relacionados ao DM2 a resposta inflamatória.

- Associar os parâmetros bioquímicos, hematológicos, genéticos e antropométricos com a gravidade e evolução da cicatrização das lesões dermatológicas nos participantes do estudo.

Metodologia Proposta:

Trata-se de estudo clínico randomizado, duplo-cego, controlado por tratamento convencional e placebo. O estudo irá avaliar os efeitos da suplementação oral da CoQ10 na evolução da cicatrização de lesões dermatológicas em participantes portadores de DM2 acompanhados no Ambulatório de Lesões – Polo Integrado de Ação Assistência ao indivíduo portador de lesões e doenças crônico-degenerativa, da Faculdade de Ciências à Saúde – FACS, da Universidade Vale do Rio Doce – UNIVALE. O ambulatório oferece atendimento preventivo e curativo aos portadores de lesões com assistência de uma equipe multiprofissional.

Etapas e métodos da coleta de dados

Serão recrutados participantes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e lesões dermatológicas. Aos participantes eletivos será feita a explicação da proposta da pesquisa e apresentado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para assinarem, se assim acordarem. Havendo duas vias do TCLE, uma para ser entregue aos participantes e outra que será arquivada, no laboratório de Biologia Celular e Genética Molecular da UFJF-campus Governador Valadares. A manutenção dos dados da pesquisa será realizada por meio de arquivo, físico e digital, sob guarda e responsabilidade dos pesquisadores, por um período de 5 anos após o término da pesquisa. (Res. 466/2012 - item XI.f).

Seleção dos participantes

Para selecionar os participantes, a coleta de dados será realizada com os adultos diagnosticados com DM2, de ambos os sexos, que apresentarem lesões dermatológicas e que estejam em tratamento no Ambulatório de Lesões Dermatológicas da Univale. A verificação da presença e a localização das úlceras serão realizadas pela equipe de enfermagem do Ambulatório de Lesões de acordo com o Sistema de classificação de úlceras de Pé Diabético SINBAD/ e *Guidelines on the classification of diabetic foot ulcers* (IWGDF 2019).

Cálculo amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi estimado considerando 95% de confiança, 80% de poder estatístico e estimando uma magnitude de efeito moderada de cicatrização da lesão, acréscimo de 10% e adotando como referência valores obtidos na revisão de CEREDA et al. (2017). O tamanho amostral dessa forma foi estimado em 120 participantes ao total (60 participantes em cada grupo).

Intervenção

Os participantes serão aleatoriamente designados para dois grupos: um de suplementação oral e diária com CoQ10 tratamento convencional e outro grupo placebo numa razão 1:1. Envelopes de cores diferentes contendo CoQ10 ou placebo serão montados pelo laboratório fornecedor e somente esse e o coordenador (profa. Cibele) saberá identificar a cor do envelope que contém placebo ou CoQ10. Os envelopes serão entregues ao pesquisador (profa. Tatiana), que nas consultas de cada participante entregará sempre o envelope da mesma cor para o grupo. Exemplo envelope de cor vermelha para grupo suplementação e envelope azul grupo placebo. Cada participante receberá, a cada semana, um envelope contendo capsulas suficientes para 7 dias até completar 12 semanas de intervenção. Os participantes receberão semanalmente 7 cápsulas gelatinosas contendo 100 mg/dia de CoQ10 na forma de ubiquinona ou placebo de cápsula gelatinosa contendo amido de trigo, idêntico em tamanho, cor e forma ao suplemento. Os participantes serão orientados a tomar a cápsula junto com uma refeição e não alterar sua dieta habitual e atividade física durante o estudo. A cada consulta, será pedido ao participante para entregar o envelope ao pesquisador. Este deverá anotar se há capsulas no envelope para cálculo da adesão (ver abaixo).

A pesquisadora terá acesso às prescrições (receitas).

Acompanhamento clínico das feridas

O tamanho da ferida será medido por uma régua para comprimento, largura e multiplicando o maior pelo segundo maior diâmetro perpendicular da ferida. A área cumulativa da ferida será calculada por imagem digital de cada ferida e analisada com o software Imagem J, depois computada para cada paciente no início e após 12 semanas de tratamento. A infecção será diagnosticada se edema, eritema, secreção, dor e febre. Se pelo menos duas das características mencionadas estiverem presentes, os pacientes serão considerados positivos para infecção. Se uma ferida não cicatrizar dentro de pelo menos 4 semanas de duração será considerada úlcera que não cicatriza. As feridas serão classificadas como plantares ou não plantar com base em sua localização. Cada ferida será avaliada e classificada com base nos critérios de Wagner-Meggitt (WAGNER FW JR, 1981). Para coleta de dados será utilizado um instrumento contendo variáveis sociodemográficas, econômicas, clínicas, características das lesões relativas ao exsudato, às bordas, à localização, à cicatrização e à região perilesional. Diariamente, a pesquisadora responsável irá revisar os prontuários a fim de monitorar a cicatrização completa da ferida. O acesso para utilização dos prontuários será feito a partir do preenchimento do TCLE pelo participante de pesquisa.

Análises sociodemográficas, nutricionais e antropométricas

Será utilizado como instrumento para avaliação do consumo alimentar atual, o Formulário de Marcadores de Consumo Alimentar (versão 3.0) do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN) e um inquérito alimentar do tipo Recordatório de 24 horas (R24) baseado no protocolo de atendimento nutricional utilizado pela equipe de nutrição de acordo com Avaliação Subjetiva Global (ASG), segundo Detsky, et al., 1987.

As quantidades de consumo de alimentos relatados pelos pacientes em medidas caseiras, serão convertidas em g e ml. O cálculo das dietas será feito pelo Programa

webdiet, e o cálculo do VET (valor energético total) será em Kcal e Kcal/peso corporal/dia.

Para a coleta das demais variáveis como escolaridade, renda familiar mensal e per capita, será utilizado o prontuário da equipe de enfermagem baseado na sistematização da Assistência de Enfermagem (SAE) em anexo (Documento prontuário de enfermagem). Variáveis independentes que serão coletadas para análise antes da seleção para o estudo: Idade, sexo, cor da pele declarada, Escolaridade, Renda familiar mensal e *per capita*, uso de anticoagulante, comorbidades (relatadas pelos participantes e confirmadas por prescrição de medicamentos de uso contínuo).

Para a avaliação antropométrica serão aferidos os parâmetros de prega cutânea tricipital, circunferência do braço, circunferência muscular do braço, área muscular do braço corrigida, altura do joelho e índice de massa corporal, circunferência da cintura. Essas informações serão coletadas com o objetivo de analisar o estado nutricional dos pacientes durante duas etapas: uma semana antes da intervenção e na semana final.

Análises laboratoriais

Amostras de sangue periférico (7mL) dos participantes voluntários em jejum de 8 a 12 horas serão coletadas no início e após 12 semanas de intervenção. Os parâmetros inflamatórios serão medidos no sangue (proteína C reativa, interleucinas e quimiocinas) e demais parâmetros bioquímicos (glicemia de jejum, hemoglobina glicada, colesterol total e frações, triglicerídeos) e de estresse oxidativo. Os exames bioquímicos e hematológicos serão realizados por métodos laboratoriais de rotina. As análises de estresse oxidativo serão realizadas no laboratório de Biologia celular e Genética molecular da UFJF/GV por ensaios de espectrofotometria. O nível de malondialdeído (MDA) e a atividade da enzima xantina oxidase (XO) serão indicadores dos parâmetros oxidantes. As atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) e catalase serão indicadores de parâmetros antioxidantes no hemolisado de eritrócitos e plasma (SCHMELZER et al., 2010). IL-6 e TNF- α serão analisados por kit ELISA (Human IL-6 ELISA kit e Human TNF- α ELISA kit; Orgenium Inc., Finland). Além disso, serão analisados marcadores de citocinas e quimiocinas inflamatórias e expressão de receptores nucleares ativados por proliferador de peroxissoma (PPARs) por citometria de fluxo das PMBC extraídas do sangue dos participantes.

O DNA genômico e RNA serão extraídos para fins de análise de expressão gênica e genotipagem de polimorfismos em genes relacionados a DM2 e resposta inflamatória. Para isso, serão coletados raspados da mucosa oral, do interior da cavidade oral, dos participantes e também de suas lesões usando cotonetes estéreis. O cotonete após seco será utilizado para extração química de DNA e RNA. Com estes ácidos nucleicos serão feitas as análises de expressão gênica pela técnica qRT-PCR e as genotipagens por qPCR em tempo real com kits específicos e de acordo com as especificações dos fabricantes. Genes analisados: *PPARA*, *PPARD* e *PPARG*, *TL4R*, *IL-10*, *INFG*.

A biodisponibilidade e nível circulatório da CoQ10 serão medidos por UV-HPLC segundo PALIAKOV et al. (2009) após 48h da primeira dose. Os níveis plasmáticos de CoQ10 serão expressos como a razão do colesterol total.

LAM, FRESCO (2015) revisaram as medidas subjetivas e objetivas de adesão à medicação, incluindo medidas diretas, aquelas que envolvem análise de banco de dados secundário, dispositivos de embalagem eletrônica de medicamentos, contagem de comprimidos e avaliações clínicas e auto-relato. Devido à praticidade será feita a medida de contagem de cápsulas que é uma forma objetiva da adesão ao suplemento. A adesão à suplementação será avaliada semanalmente quando o participante vier a consulta de rotina no ambulatório. Será questionado sobre os efeitos colaterais e tempo e número de cápsulas consumidas em um dia da semana durante o estudo. Ao final da intervenção também será calculada a adesão usando a seguinte equação:

Conformidade = $\left(\frac{\text{número de cápsulas consumidas no final do estudo}}{\text{número de cápsulas recebidas ao longo da intervenção}} \right) \times 100$.

Dessa fórmula teremos um percentual de adesão de cada participante.

Critérios de inclusão:

- Pessoas com idade ≥ 18 anos de ambos os sexos.
- Pessoas com confirmação do diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 e com lesões dermatológicas.

Critérios de exclusão:

- Pessoas com edema generalizado, gestantes, lactantes, que não podem realizar a avaliação antropométrica, com membros amputados ou com algum tipo de deficiência mental, ou física.
- Indivíduos com vulnerabilidade intrínseca que apresenta dificuldade para compreender suas decisões devido a algum transtorno mental, dependência química ou doença neurológica.
- Pessoas que consumam suplementos antioxidantes ou ômega 3 e anticoagulantes.
- Pessoas fumantes.

Riscos:

Os riscos envolvidos são mínimos, conforme a Resolução 466/CNS:

- Constrangimento dos participantes em fornecer informações sobre o seu estado nutricional e consumo alimentar.
- Constrangimento ao realizar exames antropométricos.
- Constrangimento ao se expor durante a realização de testes de qualquer natureza.
- Sangramentos na coleta do sangue e desconforto local na punção venosa.
- Desconforto no local do raspado oral e das lesões.

A análise do risco associado à CoQ10, baseada em dados de vários ensaios clínicos, indica que o nível seguro observado (OSL) para a CoQ10 é de 1200 mg/dia/pessoa. Estudos farmacocinéticos sugerem que a CoQ10 exógena não interfere na biossíntese das formas endógenas CoQ9/CoQ10, nem se acumula no plasma ou tecidos após a

interrupção da suplementação. Os resultados globais desses estudos, tanto pré-clínicos quanto clínicos, indicam que a CoQ10 é uma opção de suplemento dietético altamente segura (HIDAKA et al, 2008; HATHCOCK, SHAO, 2006).

Efeitos colaterais da CoQ10 são incomuns em doses até 1200 mg/dia (HATHCOCK, SHAO, 2006), mas algumas pessoas apresentam:

- Efeitos colaterais leves com sintomas digestivos, como: dor abdominal superior, perda de apetite, náuseas e vômito, diarreia.

- Outros possíveis efeitos colaterais podem incluir: dores de cabeça e tonturas, insônia, fadiga, coceira ou erupções cutâneas, irritabilidade ou agitação.

A fim de minimizar os riscos, são tomadas medidas como: respeitar a vontade do participante em responder ou não determinada pergunta, direito à leitura e retificação das respostas fornecidas antes do seu uso na pesquisa. Será garantido, ademais, o sigilo das entrevistadas, bem como a guarda segura e o sigilo sobre os dados apresentados pela instituição. Os testes/exames/procedimentos serão realizados por profissionais capacitados e treinados e em local reservado para evitar possíveis constrangimentos.

As entrevistas serão feitas com confidencialidade em salas individuais, onde estará presente somente o pesquisador e o participante.

Os dados coletados e analisados ficarão armazenados em banco de dados num microcomputador com arquivo com senha, onde somente os pesquisadores terão acesso.

O estudo será suspenso imediatamente ao perceber algum risco ou danos à saúde do participante da pesquisa, não previsto no termo de consentimento.

Para lidar com sangramentos, serão empregadas técnicas de compressão asséptica e produtos cicatrizantes adequados, sob a supervisão de um profissional capacitado e treinado.

Se ocorrerem náuseas, tonturas, alteração na pressão arterial ou desmaios, o participante será impedido de prosseguir com o procedimento e receberá assistência adequada da equipe profissional. Se necessário, medicamentos serão prescritos para evitar ou minimizar esses riscos. No caso de dores, lesões, desconfortos físicos ou hematomas, o participante será devidamente informado sobre a duração esperada desses efeitos adversos.

A equipe estará preparada para reduzir esses danos com o uso de analgésicos, compressas frias ou quentes, e, se necessário, a prescrição de medicamentos para evitar ou minimizar tais riscos.

Benefícios:

Preveem-se como benefícios diretos da realização dessa pesquisa a possibilidade da promoção de qualidade digna de vida, a partir da implementação de estratégias alimentares e nutricionais, que serão utilizadas para melhorar o estado nutricional da comunidade participante.

Os benefícios indiretos compreendem os conhecimentos adquiridos na pesquisa que poderão gerar novas condutas terapêuticas e suplemento alimentar para ajudar na cicatrização de feridas.

À comunidade participante compreendem as melhorias em ações e atendimentos destinados aos usuários do projeto, cujas origens estão na difusão dos resultados e

produtos a profissionais técnicos responsáveis pela assistência e gestão do serviço de saúde.

Metodologia de análise de dados:

Todos os dados serão expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises de correlação serão feitas por meio do cálculo do coeficiente de correlação Pearson (r) para avaliar as relações entre os parâmetros estudados. A análise estatística será feita com o SPSS Statistics 20.0 para Windows (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. NY, EUA). Os resultados serão considerados estatisticamente significativos com nível de significância 0,05.

Desfecho Primário:

Cicatrização de ferida

Desfecho Secundário:

Não se aplica

Tamanho da Amostra no Brasil:

120 participantes

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, radiografias, dados demográficos, etc.)?

(X) Sim

() Não

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção:		Número: 120
Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa.		
Grupo	Nº de participantes	Intervenções a serem realizadas
CoQ 10	60	Suplementação com CoQ10 100mg/dia
Placebo	60	Placebo

Cronograma de Execução:

Identificação da etapa/atividade	inicio	término
Organização de logística para realização das intervenções juntamente com a equipe multidisciplinar do projeto.	01/08/2024	01/10/2024
Recrutamento dos participantes	02/10/2024	31/12/2026
Acompanhamento da evolução da cicatrização	09/10/2024	31/03/2027
Avaliações antropométricas	02/10/2024	31/03/2027
Coleta de sangue e tratamento das amostras para análise	02/10/2024	31/03/2027
Análises laboratoriais	01/11/2024	30/04/2027
Análise parcial dos dados e Qualificação do doutorado	01/02/2026	31/07/2026
Análises estatísticas finais e Produção e submissão de artigo(s)	01/05/2027	30/09/2027
Defesa da tese	01/10/2027	29/02/2028

Orçamento financeiro:

Identificação do item	Quantidade	Valor em Reais (R\$)
Material de proteção individual (luvas e máscaras)	01	100,00
Suplemento CoQ10	100 x 12 x 7	10.0000,00
Kits e soluções de citometria		10.000,00
Kits e soluções para análises de estresse oxidativo		5.000,00
Marcadores inflamatórios		10.000,00

Financiamento:

Financiamento próprio.

O pesquisador responsável tem a intenção de buscar apoio financeiro junto às agências de fomento; se compromete a notificar o CEP e incluir termo de outorga na plataforma Brasil.

Propõe dispensa do TCLE:

☐ Sim ☒ Não

Haverá retenção de amostras para armazenamento em biobanco/biorrepositório?

☐ Sim ☒ Não

Referências:

Abiri B, Vafa M. Impact of coenzyme Q10 on inflammatory biomarkers and its role in future therapeutic strategies. Clin Nutr ESPEN. 2021 Jun;43:25-30. doi: 10.1016/j.clnesp.2021.04.005.

Almadani, Yasser H., et al. "Wound Healing: A Comprehensive Review." Thieme Medical Publishers, 15 July 2021, pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34526860/. Accessed 4 July 2023.

Astur, Diego Costa; et al. Lesão muscular: perspectivas e tendências atuais no Brasil. Revista Brasileira de Ortopedia, Vol. 49, N. 6, Pag. 573-580, 2014.

Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: na overview. Plast Reconstr Surg. 2006 Jun;117(7 Suppl):1e-S-32e-S. doi: 10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9.

Cirilli I, Damiani E, Dludla PV, Hargreaves I, Marcheggiani F, Millichap LE, Orlando P, Silvestri S, Tiano L. Role of Coenzyme Q10 in Health and Disease: Na Update on the Last 10 Years (2010-2020). Antioxidants (Basel). 2021 Aug 23;10(8):1325. Doi: 10.3390/antiox100813250).

Crane F.L. Biochemical functions of coenzyme Q10. J. Am. Coll. Nutr. 2001;20:591–598. doi: 10.1080/07315724.2001.10719063.

- Deng L, Du C, Song P, Chen T, Rui S, Armstrong DG, Deng W. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Feb 4;2021:8852759. doi: 10.1155/2021/8852759. PMID: 33628388; PMCID: PMC7884160.
- Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, et al. What is subjective global assessment of nutrition status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1987;11(1):8-13.
- Gupta, A., Singh, R. L., and Raghubir, R., Antioxidant status during cutaneous wound healing in immunocompromised rats. *Mol. Cell Biochem.*, 241, 1-7 (2002)
- Gutierrez-Mariscal F.M., Yubero-Serrano E.M., Villalba J.M., Miranda J.L. Coenzyme Q10: From bench to clinic in aging diseases, a translational review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 2018;59:2240–2257. doi: 10.1080/10408398.2018.1442316
- Hancock C.N., Liu W., Alvord W.G., Phang J.M. Co-regulation of mitochondrial respiration by proline dehydrogenase/oxidase and succinate. *Amino Acids*. 2015;48:859–872. doi: 10.1007/s00726-015-2134-7].
- Hargreaves I., Heaton R.A., Mantle D. Disorders of human coenzyme Q10 metabolism: An overview. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21:6695. doi: 10.3390/ijms21186695.
- Heaton R.A., Heales S.J., Rahman K., Sexton D.W., Hargreaves I. The Effect of Cellular Coenzyme Q10 Deficiency on Lysosomal Acidification. *J. Clin. Med*. 2020;9:1923. doi: 10.3390/jcm9061923.],
- James, T. J., and Hughes, M. A., Hofman, D., Cherry, G. W., Taylor, R. P., Antioxidant characteristics chronic wound fluid. *Br. J. Dermatol.*, 145, 185-186 (2001).
- Kurashiki T, Horikoshi Y, Kamizaki K, Sunaguchi T, Hara K, Morimoto M, Kitagawa Y, Nakaso K, Otsuki A, Matura T. Molecular mechanisms underlying the promotion of wound repair by coenzyme Q10: PI3K/Akt signal activation via alterations to cell membrane domains. *J Clin Biochem Nutr*. 2022 May;70(3):222-230. doi: 10.3164/jcbrn.21-141
- Lam WY, Fresco P. Medication Adherence Measures: An Overview. *Biomed Res Int*. 2015;2015:217047. doi: 10.1155/2015/217047.
- Mao Z, Wu JH, Dong T, Wu MX. Additive enhancement of wound healing in diabetic mice by low level light and topical CoQ10. *Sci Rep* 2016; 6: 20084. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- Mine Y, Takahashi T, Okamoto T. Stimulatory effects of collagen production induced by coenzyme Q10 in cultured skin fibroblasts. *J Clin Biochem Nutr*. 2022 Jul;71(1):29-33. doi: 10.3164/jcbrn.20-187).
- Paliakov EM, Crow BS, Bishop MJ, Norton D, George J, Bralley JA. Rapid quantitative determination of fat-soluble vitamins and coenzyme Q-10 in human serum by reversed phase ultra-high pressure liquid chromatography with UV detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009 Jan 1;877(1-2):89-94. doi: 10.1016/j.jchromb.2008.11.012. Epub 2008 Nov 14. PMID: 190412830
- Potgieter M, Pretorius E, Pepper MS. Primary and secondary coenzyme Q10 deficiency: the role of therapeutic supplementation. *Nutr Rev*. 2013 Mar;71(3):180-8. doi: 10.1111/nure.12011.

- Quinzii C.M., Luna-Sanchez M., Ziosi M., Hidalgo-Gutierrez A., Kleiner G., López L.C. The Role of Sulfide Oxidation Impairment in the Pathogenesis of Primary CoQ Deficiency. *Front. Physiol.* 2017;8:525.
- Román-Pintos L. M., Villegas-Rivera G., Rodríguez-Carrizalez A. D., Miranda-Díaz A. G., Cardona-Muñoz E. G. Diabetic polyneuropathy in type 2 diabetes mellitus: inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function. *Journal of Diabetes Research.* 2016;2016:16. doi: 10.1155/2016/3425617.3425617).
- Russo, A., Longo, R., and Vanella, A., Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 73, 21-29 (2002.).
- Salvi F., Gadda G. Human choline dehydrogenase: Medical promises and biochemical challenges. *Arch. Biochem. Biophys.* 2013;537:243–252. doi: 10.1016/j.abb.2013.07.018.;
- São Paulo. Secretaria Municipal da Saúde. Manual de Padronização de Curativos. Comissão Especial de Avaliação de Padronização de Curativos Médicos em Geral (CPCM), Secretaria Municipal de Saúde, Pag.61, 2021.
- Schmelzer C, Kubo H, Mori M, Sawashita J, Kitano M, Hosoe K, Boomgaarden I, Döring F, Higuchi K. Supplementation with the reduced form of Coenzyme Q10 decelerates phenotypic characteristics of senescence and induces a peroxisome proliferator-activated receptor- α gene expression signature in SAMP1 mice. *Mol Nutr Food Res.* 2010 Jun;54(6):805-15. doi: 10.1002/mnfr.200900155.)
- Stachura A, Khanna I, Krysiak P, Paskal W, Włodarski P. Wound Healing Impairment in Type 2 Diabetes Model of Leptin-Deficient Mice-A Mechanistic Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2022 Aug 3;23(15):8621. doi: 10.3390/ijms23158621.
- Xu Y, et al. "Efficacy of coenzyme Q10 in patients with chronic kidney disease: protocol for a systematic review". *BMJ Open* 2019;9:e029053. doi:10.1136/bmjopen-2019-029053
- Yoneda T, Tomofuji T, Kawabata Y, et al. Application of coenzyme Q10 for accelerating soft tissue wound healing after tooth extraction in rats. *Nutrients* 2014; 6: 5756–5769
- Zhang S.-Y., Yang K.-L., Zeng L.-T., Wu X.-H., Huang H.-Y. Effectiveness of Coenzyme Q10 Supplementation for Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Endocrinol.* 2018;2018:1–11. Doi: 10.1155/2018/6484839.
- Zhang X, Liu H, Hao Y, Xu L, Zhang T, Liu Y, et al. Coenzyme Q10 protects against hyperlipidemia-induced cardiac damage in apolipoprotein E-deficient mice. *Lipids Health Dis.* 2018;17(1):4–11. Doi: 10.1186/s12944-018-0928-9
- Wagner FW Jr. The dysvascular foot: a system for diagnosis and treatment. *Foot Ankle.* 1981;2(2):64-122