



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA**  
**CELULAR**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM AÇAÍ CLARIFICADO (*Euterpe oleracea*  
Mart.) SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM  
DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

**BELÉM**  
**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA  
CELULAR**

**ISABELLE CHRISTINE VIEIRA DA SILVA MARTINS**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM AÇAÍ CLARIFICADO (*Euterpe oleracea*  
Mart.) SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM  
DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Doutor em Neurociências e Biologia Celular.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento.

**BELÉM**

**2019**

**ISABELLE CHRISTINE VIEIRA DA SILVA MARTINS**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM AÇAÍ CLARIFICADO (*EUTERPE OLERACEA*) SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Doutor em Neurociências e Biologia Celular, para a comissão formada pelos seguintes professores:

Orientador:

**Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento (presidente)**

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

Coorientadora:

**Profa. Dra. Denise Mafra**

Faculdade de Nutrição, Universidade Federal Fluminense

Examinadores:

**Profa. Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro (membro titular)**

Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará

**Prof. Dra. Maria Elena Crespo López (membro titular)**

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

**Prof. Dr. Alejandro Ferraz do Prado (membro titular)**

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

**Prof. Dra. Liliane Maria Messias Machado (membro suplente)**

Faculdade de Nutrição, Universidade Federal do Pará

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

---

M379 Martins, Isabelle Christine Vieira da Silva  
Efeitos da suplementação com açaí clarificado (*Euterpe oleracea* mart.) sobre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise / Isabelle Christine Vieira da Silva Martins. — 2019.  
59 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento  
Coorientação: Prof. Dra. Denise Mafra  
Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

1. Euterpe. 2. Açaí. 3. Doença renal crônica. 4. Estresse oxidativo. 5. Hemodiálise. I. Título.

CDD 571.6

---

Aos meus pais, irmãos, vovós e vô (*in memoriam*) e a todos que convivem diariamente com a doença renal crônica.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos, por todo apoio e estrutura para que eu pudesse realizar meu sonho. Sem o amor de vocês, que tudo suporta, jamais estaria aqui hoje.

Ao meu orientador Prof. José Luiz, pelo respeito e confiança em mim. Agradeço pela honra e o privilégio de ter sido sua orientanda. Seus exemplos e ensinamentos serão eternos na minha vida.

A Profa. Conceição, que desde o nosso primeiro contato, com um sorriso no rosto, torceu para que tudo desse certo. Sua postura, caráter e bondade será um eterno exemplo na minha vida.

Ao Prof. Hervé, por ter acreditado desde o início neste trabalho e ter dado toda ajuda e apoio para que fosse possível de ser concretizado.

A Profa. Denise, por ter caminhado junto comigo sem medir esforços para que esse trabalho acontecesse. Minha eterna gratidão por tudo que fizeste.

A Profa. Barbarella, pelo seu empenho para que todos os experimentos fossem garantidos.

A Keuri, pela atitude mais nobre que me deparei ao longo de todo esse percurso. Pela sua bondade e solidariedade a minha jornada foi muito mais leve e concreta.

A clínica Top Nefro, pelo total apoio para que esse trabalho fosse concretizado.

Aos pacientes, por todo o esforço para que essa pesquisa fosse possível. Os mais lindos e puros sorrisos pude vivenciar com eles.

As nutricionistas Letícia e Amanda pela enorme ajuda ao longo da coleta de dados.

Aos amigos do laboratório de Neuroquímica molecular e celular, Alda, Gustavo, Beatriz, Vitória, Neide, Aninha, Tatiane, Izabella, Nagila, Fábio, Ruan, Cahy, Victor, Wictoria, Pricila, Herald, Isadora, Letícia e Laís por me ajudarem nessa caminhada seja pelo ambiente tranquilo e alegre de convívio, pela ajuda nos experimentos e por ouvirem meus desabafos.

Aos amigos do laboratório de Estresse oxidativo, Aline, Bruna, Gleyce e Abner, pelas conversas, desabafos, risos e conselhos que foram tão importantes.

As minhas amigas, Valdilene, Luciana, Natália, Andrea, Karina, Flávia, Pricila, Dyanara, Kelly, Carol, Adriana, Lívia, Alódia, Patrícia e Gabi pela amizade que me fortaleceu e consolou para que eu pudesse chegar até aqui.

A UFPA, minha segunda casa ao longo de todos esses anos. Nela pude entender a importância libertadora do conhecimento.

“[...] A alegria não chega apenas no encontro do  
achado, mas faz parte do processo da busca”.

Paulo Freire

## RESUMO

Pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) apresentam um quadro caracterizado pela redução das enzimas antioxidantes e aumento da produção de radicais livres, que apresentam forte associação com complicações cardiovasculares. Assim, várias estratégias terapêuticas têm sido usadas para reduzir o excesso do estresse oxidativo nesses pacientes. Nesse sentido pesquisas com o fruto amazônico *Euterpe oleracea*, conhecido como açaí, tem mostrado que a suplementação desse fruto produz efeito protetor contra o estresse oxidativo na doença cardiovascular, câncer e envelhecimento, visto que é rico em compostos fenólicos que são potentes antioxidantes. Contudo, não existem estudos que tenham avaliado o efeito do açaí no estresse oxidativo em pacientes renais crônicos em hemodiálise. Assim, o objetivo desse estudo piloto foi avaliar os efeitos da suplementação de açaí clarificado em marcadores de estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise, em comparação com o grupo sem suplementação. Oito pacientes em hemodiálise ( $55,5 \pm 4,9$  anos) foram randomizados e receberam 20 mL de açaí liofilizado e clarificado, três vezes por semana durante 8 semanas e foram comparados com dez pacientes em hemodiálise sem suplementação ( $56,1 \pm 3,4$  anos). Os marcadores plasmáticos de estresse oxidativo – malondialdeído (MDA), nitritos, glutathiona total (GSH total), atividade da catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) – foram avaliados antes e pós suplementação. A análise estatística foi realizada usando o *Stata* 14, com  $\alpha=5\%$ , com significância  $p<0,05$  considerada como estatisticamente significativa. Os níveis plasmáticos de MDA foram reduzidos após suplementação com açaí de  $80,2 \pm 9,5$  para  $66,1 \pm 14,5$  pg/mL ( $p= 0,043$ ). Esse estudo piloto indica que o consumo de açaí, um alimento popular no Norte do Brasil pode ser uma estratégia nutricional alternativa na redução dos marcadores de estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise.

**Palavras-chave:** Euterpe. Açaí. Doença renal crônica. Estresse oxidativo. Hemodiálise.



## ABSTRACT

Patients with chronic kidney disease (CKD) on hemodialysis (HD) present oxidative stress, which is characterized by the reduction of antioxidant enzymes and increased production of free radicals, which has a strong association with cardiovascular complications. Several therapeutic strategies have been used in the sense of reducing oxidative stress in these patients, the Amazonian fruit *Euterpe oleracea*, known as açai, has shown that the supplementation of this fruit, produces protective effect against oxidative stress, since it is rich in phenolic compounds that are potent antioxidants. However, there are no studies that have evaluated the effect of açai on oxidative stress in chronic renal patients on hemodialysis. Therefore, the aim of this pilot study was to evaluate the effects of açai supplementation on oxidative stress markers in hemodialysis (HD) patients compared to the non-supplemented group. Eight HD patients ( $55.5 \pm 4.9$  years) were randomized to receive 20 mL of freeze-dried and clarified açai, three times a week for eight weeks and were compared to ten HD patients without supplementation ( $56.1 \pm 3.4$  years). Plasma levels of oxidative stress markers – malondialdehyde (MDA), nitrite, total glutathione (TG), catalase activity (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) – were evaluated before and after supplementation. The statistical analyses were performed using the Stata 14 software, with  $\alpha=5\%$ , meaning  $p<0.05$  considered as statistically significant. MDA plasma levels were reduced after açai supplementation from  $80.2 \pm 9.5$  to  $66.1 \pm 14.5$  pg/mL ( $p= 0.043$ ). This pilot study indicates that açai intake, a very common food in North of Brazil may be an alternative nutritional strategy to reduce the oxidative stress markers in HD patients.

**Key-words:** Euterpe. Açai. Chronic kidney disease. Oxidative stress. Hemodialysis.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

-/-	Nocaute
2R1C	2 rins e um clipe
AGEs	Produtos finais de glicação avançada
AGEs	Produtos finais de glicação avançada
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ApoE	Apolipoproteína E
CAP-e	Proteção antioxidante baseada em células dos eritrócitos
CAT	Catalase
Cl <sup>-</sup>	Cloreto
DP	Desvio padrão
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRC	Doença Renal Crônica
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GAE	Equivalente de Ácido Gálico
Glutathiona	GSH
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GPx	Glutathiona peroxidase
GSSG	Dissulfureto de glutathiona
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HD	Hemodiálise
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOCl	Ácido hipocloroso
IFN- $\gamma$	Interferon-gama
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal

Kt/V	Índice cinético de adequação de diálise
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos 1
MDA	Malondialdeído
Mg	Magnésio
MPO	Mieloperoxidase
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NF- $\kappa$ $\beta$	Fator de transcrição nuclear kappa beta
NO	Óxido nítrico
Nox4	NADPH oxidase 4
Nrf2	Fator nuclear E2
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superóxido
OH <sup>-</sup>	Radical hidroxila
p38MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno p38
Se	Selênio
SOD	Superóxido dismutase
TBAR	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TFG	Taxa de filtração glomerular
TG	Triglicerídeos
TNF $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
Zn	Zinco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	16
<b>2.1</b>	<b>Doença Renal Crônica</b>	16
<b>2.2</b>	<b>Hemodiálise e estresse oxidativo</b>	18
<b>2.3</b>	<b>Açaí: composição e estresse oxidativo</b>	20
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	28
<b>3.1</b>	<b>Geral</b>	28
<b>3.2</b>	<b>Específicos</b>	28
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	29
<b>4.1</b>	<b>Delineamento experimental</b>	29
<b>4.2</b>	<b>Experimento</b>	31
4.2.1	Coleta de informações demográficas e clínico-epidemiológicas	32
4.2.2	Composição da amostra de açaí administrado	33
4.2.3	Coleta de material biológico	33
4.2.4	Determinação plasmática de Malondialdeído	33
4.2.5	Determinação plasmática de Nitritos	34
4.2.6	Determinação da Glutathiona total	34
4.2.7	Determinação plasmática da atividade da Catalase	34
4.2.8	Determinação plasmática da atividade da Glutathiona peroxidase	35
4.2.9	Análise estatística	35
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	36
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	40
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	43
	<b>REFERÊNCIAS</b>	44
	<b>APÊNDICE A – Questionário com questões demográficas e clínico-epidemiológicas</b>	54
	<b>APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>	55
	<b>ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa</b>	57

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença renal crônica (DRC) é um problema de saúde pública global, que implica em má condição de saúde e alto risco de doenças cardiovasculares contribuindo com altas taxas de mortalidade (DI ANGELANTONIO et al., 2010).

Os principais desfechos em pacientes com DRC ocasionados pela perda funcional renal são as complicações como anemia, acidose metabólica, desnutrição e alteração do metabolismo de cálcio e fósforo e a necessidade de terapia renal substitutiva (KIRSZTAJN et al., 2011). Dados do último Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica até julho de 2016, um número total no país de 122.825 pacientes estavam em tratamento dialítico, e desses pacientes a terapia de substituição renal a hemodiálise (HD) é a mais instituída (92%) (SESSO et al., 2017).

A HD consiste no processo que remove o soluto urêmico e excesso de água corporal total inicialmente através de cânulas plásticas arteriais e venosas (HIMMELFARB; IKIZLER, 2010). A HD ocorre pela difusão de soluto do sangue, por exemplo, a uréia, para uma solução de sal fisiológico (dialisado) que é separado a partir do sangue por uma membrana fina semipermeável, bem como do dialisado para o sangue, como é o caso do bicarbonato (NKF, 2006). Essa taxa de difusão dependerá da concentração da solução e peso molecular, uma vez que pequenas moléculas como a uréia se difundem de forma rápida e contrariamente moléculas maiores tais como fosfato,  $\beta$ 2-microglobulina e albumina difundem de maneira mais lenta (HIMMELFARB; IKIZLER, 2010).

A prescrição de HD padrão ou convencional ainda não é a ideal na substituição da função dos rins normais, uma vez que o padrão de depuração não é fisiológico e a incapacidade de remover todos os tipos e tamanhos de toxinas urêmicas – p-cresol sulfato e indoxil sulfato estão associados a uma taxa elevada de morbidade e mortalidade principalmente cardiovascular (KARKAR et al., 2012; NEOVIUS et al., 2014).

Um dos fatores que tem sido associado a uma variedade de patologias, entre elas a DRC, é o estresse oxidativo, definido como o desbalanço entre os oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, levando a interrupção da sinalização redox e controle e/ou dano molecular (SIES et al., 2017). Como resposta ao estresse oxidativo em todo o sistema, o equilíbrio redox é mantido por prevenção, intercepção e reparo, e concomitantemente pelo Nrf2/Keap1 ou NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B acionadas por tiol molecular. Contudo, quando há o estímulo exacerbado de espécies reativas de oxigênio (EROs) ocorre o desbalanço e, dano aos lipídios, proteínas e DNA (SCHIEBER e CHANDEL, 2014).

As toxinas urêmicas geram EROs à medida que a DRC avança o que promove um desequilíbrio redox e piora com a terapia de HD, essa produção de EROs vem acompanhada de uma subsequente perda das defesas antioxidantes durante a diálise. A HD pode ativar células da linhagem branca, principalmente neutrófilos que ao serem ativados geram mais estresse oxidativo promovendo aumento da peroxidação lipídica, aumento de grupos aldeídos reativos e retenção aumentada de tióis oxidados com consequente desregulação do processo celular e lesão vascular e celular (QUINN et al., 1987; GUO et al., 2013; SAKATA et al., 2008).

Diversas estratégias nutricionais têm se concentrado na redução do estresse oxidativo em pacientes com DRC. Entre essas intervenções está o consumo de antioxidantes presentes naturalmente em alguns alimentos cuja ingestão fisiológica é considerada segura e pode ser alcançada por meio da ingestão de alimentos (BIESALSKI et al., 2009; PEAKE et al., 2011).

O açai (*Euterpe oleracea* Mart.), uma fruta típica da bacia amazônica oriental do Brasil, base da dieta popular do paraense, fonte de antioxidantes, principalmente polifenóis,  $\alpha$ -tocoferol, antocianinas e flavonas, que são os principais compostos bioativos (HEINRICH, 2011; ARRIFANO et al., 2018). Sabe-se que protegem contra o dano oxidativo e reduzem a formação de EROs, como peroxil e peroxinitrito (SOUZA-MONTEIRO et al., 2015; PETRUK et al., 2017; POULOSE et al., 2017). Além disso, esses compostos bioativos interagem com transportadores, receptores, moléculas sinalizadoras de segundo mensageiro, com várias enzimas e fatores de transcrição e enzimas de defesa oxidantes resultando em efeitos protetores contra danos induzidos pelo estresse oxidativo (FERRARI et al., 2016; THILAVECH et al., 2017; CHOI et al., 2017).

Os alvos moleculares da antocianina incluem transportadores e receptores, moléculas sinalizadoras de segundo mensageiro e enzimas quinase, fatores de transcrição, promotores e fatores de crescimento, além de uma série de enzimas de defesa oxidantes.

Os estudos clínicos em pacientes em HD têm observado uma ação sobre o estresse oxidativo após a ingestão de suco de romã em pacientes em HD durante um ano, contendo 0,7 mmol/100 ml de polifenóis totais com a diminuição da mieloperoxidase (MPO) (SHEMA DIDI et al., 2012, 2013). Há também evidência da redução do fator de transcrição nuclear kappa beta (NF- $\kappa$ B) pela ingestão do suco de frutas vermelhas cujo polifenóis totais foram de 3,478 mg/L e 301 mg/L de antocianinas (SPORMANN et al., 2008). E na redução da atividade de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase de neutrófilos em maior extensão comparada a vitamina E (CASTILLA et al., 2008). Esses mesmos compostos também evidenciam outro achado da ação antioxidante dos polifenóis na proteção contra a

peroxidação lipídica pela diminuição dos níveis de malondialdeído (MDA) e nos produtos avançados da oxidação proteica (SHEMA DIDI et al., 2012, 2013; SPORMANN et al., 2008). Há efeito protetor do suco de frutas vermelhas no aumento da glutathiona total sérica (SPORMANN et al., 2008). Além desses efeitos, parece haver restauração das enzimas antioxidantes endógenas pelo consumo de duas maçãs *Fuji* (360g) com concentração de 88,38 mg de polifenóis totais e 4,1 mg de antocianinas totais foi capaz de aumentar os níveis de glutathiona peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) (GIARETTA et al., 2019). Semelhante a ingestão de 140 mg de silimarina associada a 400 UI de vitamina E diminui a peroxidação lipídica e aumento da GPx (ROOZBEH et al., 2011).

Os resultados também são promissores no que concerne a proteção do risco cardiometabólico sendo mostrado pela redução das concentrações plasmáticas de lipoproteína de baixa densidade (LDL) colesterol e oxidado (LDLox) e aumento do lipoproteína de alta densidade (HDL) colesterol assim como melhora no perfil das apolipoproteínas séricas após a suplementação de suco concentrado de uva vermelha com concentração de polifenóis totais de 0,64g/100 mL (CASTILLA et al., 2006) e parece possuir maior efeito em pacientes com hipertensão, altos níveis de triglicerídeos (TG) e baixos níveis de HDL com consumo de suco de romã de 0,7 mmol/100ml de polifenóis totais (SHEMA DIDI et al., 2014).

Outro fruto rico em flavonoides, especialmente antocianinas vem sendo usado em diversos modelos experimentais de doenças e em alguns ensaios clínicos é o açaí. Em modelo de dois rins e um clipe (2R1C) com oferta de extrato do açaí durante 40 dias mostrou a melhora dos níveis de catalase, GPx e SOD associado a prevenção da albuminúria e do aumento níveis de ureia e creatinina (COSTA et al., 2017). Na indução experimental de isquemia/reperfusão renal bilateral o açaí durante 15 dias foi capaz de diminuir as concentrações plasmáticas de MDA (EL MORSY et al., 2015). Em ensaios clínicos em mulheres saudáveis a polpa do açaí tem sido promissora na melhora do perfil lipídico, redução da peroxidação lipídica e na produção de EROs e aumento dos níveis das enzimas antioxidantes (BARBOSA et al., 2016; PALA et al., 2017). Essas evidências demonstram que o açaí poderia atuar em terapia adjuvante nas complicações cardiovasculares, como infarto do miocárdio, revascularização coronária, acidente vascular cerebral isquêmico e hemorrágico, causas da alta mortalidade nessa população (DI ANGELANTONIO et al., 2010). Contudo, não há relatos de estudos clínicos que tenham avaliado a suplementação com açaí em marcadores de estresse oxidativo em pacientes em HD.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Doença Renal Crônica

A Doença Renal Crônica (DRC) é caracterizada pela perda progressiva e irreversível das funções renais, que ocorre tanto a nível glomerular, quanto tubular e endócrino. É definida como anormalidades na estrutura ou função renal, presentes por mais de três meses independente da causa, com implicações para a saúde, de acordo com os critérios descritos no quadro 2 (NKF, 2013).

**Quadro 2**— Critérios para a DRC (uma das seguintes opções presentes por mais de 3 meses)

Critérios para doença renal crônica (pelo menos um dos listados abaixo por mais de 3 meses)	
Marcador de lesão renal	Albuminúria
	Anormalidades no sedimento urinário
	Distúrbios eletrolíticos e outras desordens devido à doença dos túbulos renais
	Anormalidades detectadas por biópsia renal
	Anormalidades detectadas por exames de imagem
	Antecedente de transplante renal
Redução da taxa de filtração glomerular (TFG)	TFG menor que 60 ml/min

**Fonte:** NKF-KDIGO, 2013. TGF: taxa de filtração glomerular.

No quadro 3 observa-se a progressão da DRC, dividida em categorias de taxa de filtração glomerular (TFG), definida pela quantidade total de fluido filtrado por todos os nefróns em funcionamento por unidade de tempo, e albuminúria ou proteinúria persistente.



**Quadro 3** – Categorias da doença renal crônica de acordo com a TFG e albuminúria.

Prognóstico de DRC por Categorias de TFG e albuminúria				Categorias de Albuminúria Persistente		
				Descrição e classe		
				A1	A2	A3
				Normal ou levemente aumentada	Moderadamente aumentada	Severamente aumentada
				< 30 mg/dia	30-300 mg/dia	> 300 mg/dia
TFG Categorias (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) Descrição e classe	G1	Normal ou alta	> 90 ml/min	G1 A1	G1 A2	G1 A3
	G2	Levemente reduzida	60 - 89 ml/min	G2 A1	G2 A2	G2 A3
	G3a	Leve a moderadamente reduzida	45 - 59 ml/min	G3a A1	G3a A2	G3a A3
	G3b	Moderada a severamente reduzida	30 - 44 ml/min	G3b A1	G3b A2	G3b A3
	G4	Severamente reduzida	15 - 29 ml/min	G4 A1	G4 A2	G4 A3
	G5	Falência renal	< 15 ml/min	G5 A1	G5 A2	G5 A3

Fonte: NKF/KDIGO, 2013. TFG: taxa de filtração glomerular.

As categorias da DRC que englobam de G1A1 até G4A3 compreendem a fase pré-dialítica que corresponde ao tratamento conservador. Quando a TFG é inferior a 15 mL/min/1,73m<sup>2</sup> as terapias de substituição renal devem ser instituídas como, por exemplo, hemodiálise (HD) e a diálise peritoneal (HIMMELFARB; IKIZLER, 2010).

A proteinúria surge como consequência de comprometimento das propriedades semipermeáveis glomerulares e/ou comprometimento na reabsorção de proteína pelo epitélio tubular comprometido (NKF, 2013). No tecido renal é possível visualizar alterações como glomeruloesclerose - causada por dano endotelial, proliferação de células musculares lisas e células mesangiais, e destruição de podócitos -, atrofia tubular e fibrose intersticial (IWANO; NEILSON, 2004). As células tubulares são estimuladas a sintetizar produtos incluindo EROs por várias proteínas anormalmente filtradas, incluindo a albumina. À medida que a fibrose evolui, a lesão tubular perde a capacidade regenerativa e sofre apoptose levando a atrofia tubular e originando glomérulos não funcionais (LIU et al., 2006).

O mecanismo de perturbação do balanço entre a formação de radicais livres e os mecanismos antioxidantes em pacientes com DRC pré dialíticos não é totalmente esclarecido, mas parece ser evidenciado pelo aumento dos níveis de produtos finais de oxidação proteica, MDA e LDLox e diminuição dos níveis de atividade da SOD, GPx, selênio (ATAMER et al.,

2008; XU et al., 2015; SEDIGHI et al., 2014). Concomitante, há diminuição intracelular da vitamina E e C, diminuição do HDL, tiols e apolipoproteína A-I (ATAMER et al., 2008; SARAN et al., 2003; TAKAHASHI et al., 2011). Esses achados evidenciam que em estágios iniciais da DRC o acúmulo de toxinas urêmicas parece já estar associado a um maior risco de doença coronária subsequente (DI ANGELANTONIO et al., 2010).

Alterações no estresse oxidativo pode ser explicado por diferentes vias de formação: (1) aumento de radicais superóxido parece ser o principal radical envolvido no estresse e pode ser estimulado pela presença de óxido nítrico (NO), com subsequente aumento da formação de peroxinitrito, (2) diminuição da atividade das enzimas antioxidantes (GPx, CAT, SOD) e (3) e por meio do estímulo das citocinas há produção de produtos finais de glicação avançada (AGEs) que culminam na produção de oxidação das proteínas com acúmulo de carbonila (LING; KUO, 2018).

## **2.2 Hemodiálise e estresse oxidativo**

O estresse oxidativo acompanha a DRC e é exacerbado pelo procedimento de hemodiálise e torna-se mais grave no estágio final da doença, mesmo após sessão de HD, esse procedimento não parece compensar o aumento intracelular de EROs que está associado à uremia (TEPEL et al., 2000). Um dos principais mecanismos envolvido no estresse oxidativo é a peroxidação lipídica nas membranas de células e organelas que rompe a integridade estrutural da bicamada lipídica o que ocasiona maior permeabilidade da membrana, transporte iônico e de elétrons prejudicado pela fosforilação oxidativa nas mitocôndrias principalmente no segmento tubular proximal (ESTERBAUER et al., 1992). Alguns estudos têm observado o aumento acentuado de EROs após HD, possivelmente pela peroxidação de lipídios plasmáticos e lipídios da membrana eritrocitária com aumento de atividade da mieloperoxidase presente no processo de ativação de neutrófilose a subsequente aumento de  $H_2O_2$  e em menor proporção a produção de  $O_2^-$  e HOCL (CLERMONT et al., 2001; GUO et al., 2013; YANG et al., 2006). Por outro lado, há o efeito do p cresol e do indoxil sulfato que induz a produção de superóxido via NADPH oxidase, especificamente a NADPH oxidase 4 (Nox4), expressa em túbulos renais proximais e mesangiais e peroxinitrito em células endoteliais vasculares e no músculo liso vascular, o que inibe a viabilidade e a produção de NO (NIWA, 2010; SHIMOISHI et al., 2007; TUMUR; NIWA, 2009; WATANABE et al., 2013). Portanto, as toxinas urêmicas mostram efeito na região nefro-vascular que está

envolvida na progressão não só da DRC, mas também da doença cardiovascular em pacientes com DRC (NIWA, 2010).

O desequilíbrio entre mecanismos prooxidativos e antioxidativos presente em pacientes em HD é refletido pela geração de EROs que pode ser medido indiretamente pelo aumento da peroxidação lipídica através da técnica de TBARS ou por meio dos níveis de 8-iso-prostaglandina F2 tipo III em indivíduos em HD quando comparados a indivíduos saudáveis (DOLEGOWSKA et al., 2007; GUO et al., 2013; SAKATA et al., 2008; TRIOLO et al., 2003).

Além do acúmulo de produtos lipídicos tem se evidenciado também o aumento dos grupos carbonilas que refletem a oxidação das proteínas e redução dos grupamentos sulfidrilas associados à diminuição das atividades das enzimas SOD, CAT, GPx e dos níveis de glutatona (GSH) nos pacientes em HD. Esses componentes pró-oxidativos são amplificados pela carga de oxidante induzida por diálise e disponibilidade insuficiente de antioxidantes (GUO et al., 2013; SAKATA et al., 2008). Esta indisponibilidade também pode estar relacionada ao fator de transcrição, fator 2 relacionado ao fator nuclear E2 (Nrf2), que em condições normais regula mais de 250 genes que codificam enzimas antioxidantes – GPx, CAT, SOD entre outros – e desintoxicantes e proteínas relacionadas. O Nrf2 está diminuído em pacientes em HD o que parece estar relacionado a carga inflamatória advinda da exposição intermitente do circuito extracorpóreo e a dramática ascensão e queda do volume de líquido corporal durante os intervalos inter e intra-dialítico, contudo ainda necessita-se de mais estudos comprobatórios (JUNG; KWAK et al., 2010; SINGH et al., 2010; ZAZA et al., 2013; PEDRUZZI et al., 2014).

Um fator ocasionado pelo procedimento da diálise associado ao meio urêmico é a indução de deficiências nos constituintes e cofatores do sistema enzimático, como zinco ( $Zn^{+2}$ ), selênio ( $Se^{+2}$ ), magnésio ( $Mg^{+2}$ ) e perda de moléculas antioxidantes não enzimáticas como a vitamina C, que contribui para o prejuízo no equilíbrio redox nesses pacientes (CLERMONT et al., 2001; GUO et al., 2011, 2013; PAKFETRAT et al., 2010).

Outro fator para a ocorrência do meio pró-oxidante é o risco adicional para inflamação do procedimento da hemodiálise *per se*, uma vez que esses pacientes tem aumento do risco das infecções locais por enxerto e fístula, dialisato impuro ou membranas bioincompatíveis, que ocasionam superprodução de EROs pelos leucócitos e dano nos mecanismos de defesa antioxidante (DANIELSKI et al., 2003; PUPIM et al., 2004; ZIMMERMANN et al., 1999).

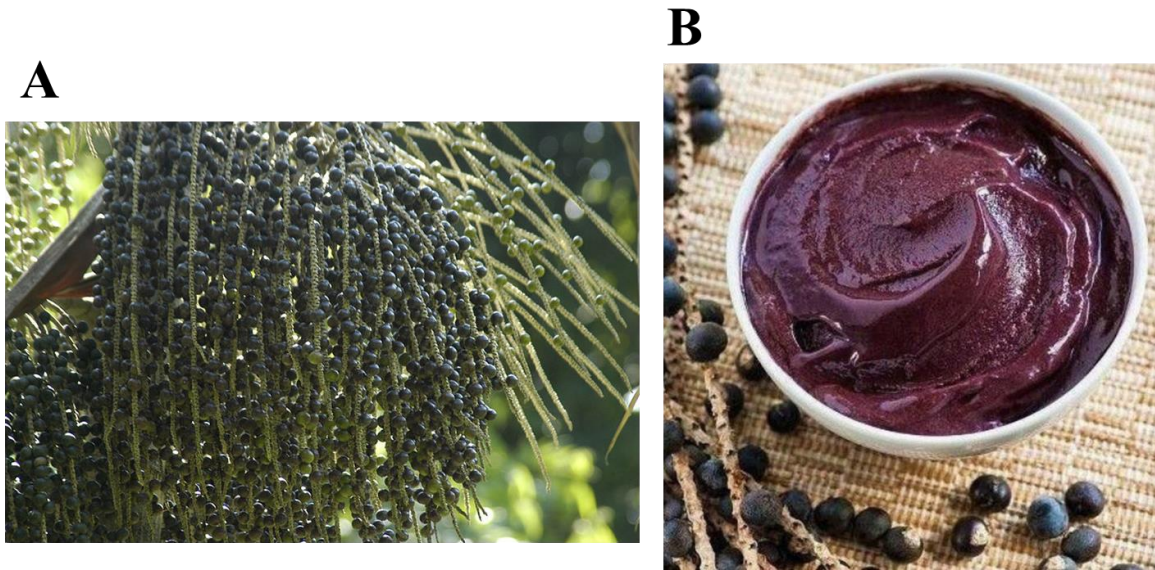
A liberação dessas interleucinas cujos mecanismos estão associados à bioincompatibilidade dialítica, ativação do complemento, a retrofiltração de fragmentos de endotoxina, podem influenciar o resultado direto do controle da ultrafiltração e pode resultar no transporte de produtos bacterianos do dialisado para o sangue, que em contato com a membrana, ocasiona ativação crônica de macrófagos e favorece a liberação e o aumento do fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) seguido pela interleucina (IL-1 $\beta$ ), a adição de TNF $\alpha$  às células mesangiais glomerulares induz a secreção de IL-6 (LIBETTA et al., 2011). O estímulo da produção de IL-6 ocasiona um aumento de moléculas de adesão, diminuição da expressão da adiponectina e diminuição da produção de quimiocinas que por sua vez estão associadas à superprodução de TNF $\alpha$  e esse diminui a produção de apolipoproteína E, promove aumento da calcificação vascular e estimula a cascata da NADPH oxidase (STENVINKEL et al., 2005).

Além disso, parece haver um “ciclo vicioso” entre os altos níveis de EROs, que são estimulados mais frequentemente pelo sulfato de p-cresila e o indoxil sulfato, refletido pela formação de proteína carbonila, produtos de oxidação proteica e peroxidação lipídica e o prejuízo nos mecanismos de defesa antioxidante pelo desequilíbrio entre GSH oxidada e GSH reduzida e da GSH/GPx e mudanças na SOD (STINGHEN et al., 2016).

### **2.3 Açaí: composição e estresse oxidativo**

O fruto açaí compõe o gênero *Euterpe*, sendo três das espécies nativas do Brasil comercialmente importantes: *E. oleracea*, *E. edulis* e *E. Precatória*, entre elas, a palmeira mais produtiva é *E. oleracea* que cresce em pântanos e planícies na bacia amazônica e Trindade, e cada vez mais em outras partes do mundo (CORREA, 1926). Cada fruto é uma pequena drupa globular séssica, redonda com um diâmetro de 1-2 cm e média de 0,8-2,3 g; possui um exocarpo preto-purpúreo e um mesocarpo com uma espessura de 1-2 mm e a proporção da polpa é equivalente a 5-15% do volume da fruta, que varia com o grau de maturidade do fruto (ROGEZ et al., 2011) (Figura 1A).

**Figura 1**— Fruto açaí (A), Polpa de açaí na tigela (B).



**Fonte:** Costa, 2012; <https://www.jardimexotico.com.br>

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, em 2014, 198.149 toneladas de açaí foram produzidas no Brasil e 50.112,576 kg foram comercializados e 5.930,780 kg foram exportados para diversos países, o que mostra o impacto na economia e no consumo de alimentos (IBGE, 2015; SEFA, 2015). O estado do Pará é o maior produtor nacional de açaí, com uma produção anual de 1,0 milhão de toneladas do fruto e uma área plantada e manejada (várzea) superior a 154 mil hectares (IBGE, 2015). Em 2012 no Pará, o consumo per capita anual era de 17,8 L (BEZERRA et al., 2016). No último censo agropecuário foram cadastradas 12.804 propriedades que cultivam a cultura no estado (OLIVEIRA et al., 2016).

Do fruto, uma bebida calórica pode ser preparada suavizando as frutas em água morna, seguido de pulpa da fruta e adicionando água para fornecer a consistência apropriada da bebida (Figura 1B) (ROGEZ et al., 2012).

O açaí é o principal alimento de grande parcela das famílias ribeirinhas e das famílias de baixa renda dos centros urbanos do estado do Pará, onde o açaí é muitas vezes consumido três vezes ao dia nas principais refeições ao longo do ano com farinha de mandioca ou tapioca, em alguns casos após a adição de açúcar, camarões fritos ou salgados (ROGEZ, 2002). Enquanto a população urbana pode consumir açaí uma vez por dia no almoço e ocasionalmente como uma sobremesa com açúcar (ROGEZ, 2002). Além disso, pode ser apresentado sob a forma de mingau, sorvete, geleia ou licor (BICHARA; ROGEZ, 2011;

SOUZA, 2002). Em todo o mundo, o açaí ganhou popularidade após o ano 2000 conquistando o mercado global através de formulações como comprimidos, sucos, bebidas energéticas, pós e *smoothies* que se tornaram uma bebida de escolha para a elite desportiva como uma alternativa saborosa para outras frutas (HEINRICH et al., 2011).

O açaí é uma das frutas mais nutritivas da região amazônica, pois é fonte de lipídios, proteínas e alguns oligoelementos (Tabela 1). É também uma fonte de antioxidantes como  $\alpha$ -tocoferol e polifenóis, principalmente flavonóides, como antocianinas (cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo). Estima-se que em média possua 1,441 mg 100g<sup>-1</sup> (massa seca) de antocianinas contém 37% do total de conteúdo fenólico, sendo 79,2% de cianidina 3-rutinosídeo e 20,8% de cianidina 3-glicosídeo (BICHARA; ROGEZ, 2011; GALLORI et al., 2004).

Tabela 1— Composição química e nutricional de 200g de suco de açaí (*Euterpe oleracea*)

<b>Composição</b>	<b>Valor</b>	<b>Valor</b>
<b>Lipídios (g)</b>	12,13	<b><math>\alpha</math> tocoferol (mg)</b> 10,80
<b>Ácidos graxos (g 100g<sup>-1</sup>)</b>		<b>Cálcio (g)</b> 0,07
<b>Ácido palmítico</b>	25,3	<b>Magnésio (mg)</b> 7,75
<b>Ácido esteárico</b>	4,46	<b>Potássio (g)</b> 0,23
<b>Ácido oleico</b>	49,7	<b>Sódio (g)</b> 0,01
<b>Ácido linoléico</b>	13,5	<b>Fósforo (g)</b> 0,03
<b>Ácido <math>\alpha</math> linoléico</b>	1,16	<b>Zinco (mg)</b> 0,41
<b>AGS/AGI</b>	0,42	<b>Ferro (mg)</b> 0,49
<b>AGMI/AGPI</b>	3,79	<b>Selênio (mg)</b> 0,31
<b><math>\omega</math>6: <math>\omega</math>3</b>	11,65:1	<b>Manganês (mg)</b> 7,75
<b>Proteínas (g)</b>	2,07	<b>Cobre (mg)</b> 0,33
<b>Carboidrato (g)</b>	0,71	<b>Cádmio (mg)</b> 0,01
<b>Fibra dietética total (g)</b>	5,13	<b>Chumbo (mg)</b> 0,09
<b>Fibra dietética solúvel (FS)</b>	1,27	<b>Estrôncio (mg)</b> 1,07
<b>Fibra dietética insolúvel (FI)</b>	3,80	<b>Níquel (mg)</b> 0,04
<b>Razão FS/FI</b>	1:3	<b>Cromo (mg)</b> 0,12

Fonte: BICHARA; ROGEZ (2011).

Nota: AGS: Ácidos graxos saturados; AGI: Ácidos graxos insaturados;

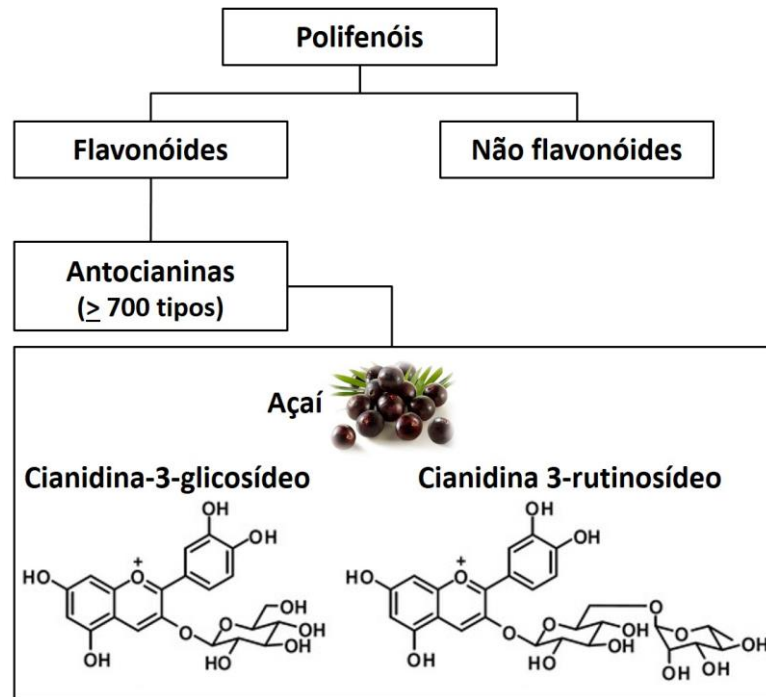
AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: Ácidos graxos poliinsaturados.

Os flavonoides pertencem a um grupo de substâncias naturais com variadas estruturas fenólicas e são encontradas em frutas, vegetais, cascas, raízes, flores, grãos, chá e vinho (MIDDLETON, 1998). Segundo sua base molecular os flavonoides podem ser divididos em 6 classes, cujas principais são: flavan-3-óis, flavanonas, flavonóis, flavonas, antocianidinas e isoflavonas cujos os flavonoides mais conhecidos são catequina, epicatequina, rutina, quercetina e cianidina que estão incluídos em uma gama de alimentos como: chá, pimenta vermelha, vinho tinto, cascas de frutas, azeite de oliva, cebola, cereja, amora, morango (KUMAR; PANDEY, 2013).

Os flavonoides, especificamente as epicatequinas e rutina, têm alta reatividade do grupo hidroxila que estabilizam espécies reativas de oxigênio, podem extrair superóxidos e indiretamente o peroxinitrito, inibir a xantina oxidase e a LDLox (HANASAKI et al., 1994; KERRY; ABBEY, 1997). Além disso, tem efeito antitrombogênico pela inibição do metabolismo do ácido araquidônico através da via enzimática – cicloxigenase e da 5-lipoxigenase – e suprimem a adesão leucocitária, inibem a desgranulação dos neutrófilos e aumentam a função de antioxidantes endógenos (ALCARAZ; FERRANDIZ, 1987; FRIESENECKER et al., 1994; SANHUEZA et al., 1992; SHOSKES, 1998). Diante desse quadro, o consumo de flavonoides parece ter impacto na redução do risco de morte por doença coronária, um efeito positivo na doença de Parkinson, efeito anti-hipertensivo, na redução do risco de incidência de demência e atividade anticâncer (HALLIWELL, 1991; HERTOOG et al., 1995).

As antocianinas são pigmentos polifenólicos que possuem dois anéis de benzeno, ligados por um anel C de pirona, são de cor vermelho-laranja a azul-violeta em frutas, flores e folhas (Figura 2) (DAYEM et al., 2014). A antocianidina está tipicamente ligada a uma ou mais porções de açúcar, comumente conjugadas com o grupo hidroxil C3 no anel C, tornando-os glicosídeos e ocasionalmente esterificados (HARBORNE; WILLIAMS, 1998). As antocianinas existem quase exclusivamente na forma glicosilada enquanto os seus homólogos de antocianidina são instáveis e raramente encontrados na natureza (CNS, 2013).

**Figura 2**— Estrutura molecular das antocianinas



**Fonte:** HRIBAR & ULRIH (2014). Nota: As antocianinas pertencem ao grupo de flavonóides que possuem a estrutura típica de esqueleto de carbono C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>.

As diferentes estruturas químicas das antocianinas diferem quanto à posição e ao número de grupos hidroxil, ao grau de metilação destes grupos hidroxil, à natureza e ao número de porções de açúcar ligadas à molécula fenólica, bem como a natureza e número de ácidos alifáticos ou aromáticos associados aos açúcares (CNS, 2013). Quanto à ingestão dietética de referência, a China definiu um nível específico proposto de 50 mg/dl para antocianinas, mas em outros países como Estados Unidos, Canadá ou União Europeia não existem recomendações estabelecidas (CNS, 2013; WALLACE; GIUSTI, 2014).

Dentro do grupo dos flavonoides, o consumo humano de antocianinas é o mais alto entre todos e sua toxicidade é extremamente baixa (HE; GIUSTI, 2010). O que pode estar relacionado a baixa disponibilidade, uma vez que quando sua ingestão, as antocianinas como a cianidina 3-glicosídeo podem ser absorvidas intactas no trato gastrointestinal superior, principalmente pelo estômago, mas pelo menos 75% das antocianinas atingem o colón, onde são biotransformadas por ação das bactérias entéricas em produtos de degradação fenólica, principalmente fenólicos ácidos, que são absorvidos (FERNANDES et al., 2013). Após a ingestão, sofrem a fase II do metabolismo, especialmente no fígado e em torno de 1% da



quantidade consumida são detectadas no plasma e nos diferentes tecidos (FERNANDES et al., 2013).

Apesar da baixa biodisponibilidade, a capacidade antioxidante total do açaí quando medida em polpas comerciais e não comerciais do norte e sudeste do Brasil, é excelente contra os radicais peroxil, boa para o peroxinitrito e pobres para o  $\text{OH}^\cdot$  quando comparado com sucos de frutas e vegetais europeus, no açaí estima-se que a contribuição das antocianinas para a capacidade antioxidante pelo método de eliminação oxidante é de 10%, o que leva a crer que os outros compostos ainda não identificados também contribuem (LICHTENTHÄLER et al., 2005). Em comparação a outros alimentos com capacidade antioxidante, o açaí apresenta maior conteúdo de polifenóis totais ( $279,3 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ) e capacidade antioxidante de  $26\mu\text{M Trolox g}^{-1}$  que a maçã ( $90,9 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ;  $10,8 \text{ Trolox g}^{-1}$ ) e o cajá ( $77,9 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ;  $7,2 \text{ Trolox g}^{-1}$ ) (PEREIRA et al., 2015). Em outro estudo os polifenóis totais foram de 143,7 de equivalente de ácido gálico/100 mL e a capacidade antioxidante do açaí foi de  $54,4 \mu\text{mol/g}$  de Trolox que foi maior que o mirtilo, framboesa, amora, *cranberry* e morango (PACHECO-PALENCIA et al., 2007; WANG; LIM, 2000). Em um interessante trabalho um índice de potencial antioxidante foi criado a partir dos métodos de capacidade antioxidante, o ensaio de absorção de radicais de oxigênio, proteção antioxidante baseada em células em um modelo de eritrócitos e formação de espécies reativas de oxigênio em células polimorfonucleares. Esse índice foi proporcional ao conteúdo fenólico por equivalente de ácido gálico dos frutos avaliados e foi encontrado maior capacidade do açaí que o *cranberry*, chá verde e maçã e atrás do suco de romã, vinho e mirtilo (SEERAM et al., 2008).

Além disso, muitos estudos de linhagem celular, modelos animais e ensaios clínicos em humanos têm sugerido que a potente propriedade antioxidante das antocianinas possui relação ainda não completamente determinada com a atividade anti-inflamatória e prevenção de doenças cardiovasculares, provavelmente associado a melhora na hipertensão arterial, resistência à insulina, diminuição do colesterol total e LDL, aumento do colesterol HDL e melhora do tamanho das partículas lipoproteicas e controle da obesidade como demonstrado na associação inversa ao infarto do miocárdio e morte por doença coronariana (MCCULLOUGH et al., 2012; CASSIDY et al., 2013; BASU et al., 2014; JENNINGS et al., 2014; NOVOTNY et al., 2015).

Tratando-se de estudos de intervenção com açaí, ainda que poucos, têm mostrado resultados promissores em marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo com impactos em diversos modelos experimentais (MARTINS et al., 2018).

Em células endoteliais de ratos, em torno de 100µg do extrato de açaí foi capaz de induzir vasodilatação de longa duração via NO/GMPc (ROCHA et al., 2007). Já em células endoteliais humanas, cerca de 20 mg de equivalente de ácido gálico/L da polpa de açaí resultou em diminuição de IL-6 e de moléculas de adesão (NORATTO et al., 2011). Em camundongos nocaute para apolipoproteína E (ApoE (-/-)) em torno de 5% da polpa de açaí na dieta por 20 semanas aumentou a GPx e diminuiu os F(2)-isoprostanos, TNF- $\alpha$ , IL-6 e a expressão do NF- $\kappa$ B (XIE et al., 2011). Em ratos com dieta hipercolesterolêmica, 2% de polpa de açaí na dieta durante seis semanas reduziu o colesterol total, LDL e o índice aterogênico bem como aumentou o HDL (SOUZA et al., 2012). Essa mesma concentração de açaí na dieta hipercolesterolêmica também foi capaz de reduzir o LDL, carbonilação proteica e os grupos sulfrídila e aumentou a SOD e a atividade da paraoxonase (SOUZA et al., 2010). A intervenção utilizando outra espécie de açaí, 2% da dieta com a juçara (*Euterpe edulis*), em camundongos com dieta hipercalórica e hiperlipídica foi associada à diminuição da catalase (OYAMA et al., 2016).

Em modelo de diabetes, 200 mg/kg/dia de extrato de açaí por 45 dias diminuiu a produção de colágeno IV, preveniu o aumento da expressão de caspase-3, IL-6, TNF- $\alpha$  e proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1), diminuiu os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), níveis carbonila e a 8-isoprostano e aumentou SOD, catalase e GPx (SILVA et al., 2017). Nos ratos 2R1C, essa mesma concentração do extrato de açaí e no mesmo período de tempo também foi capaz semelhante aos dados anteriores de proteção contra o estresse oxidativo e, além disso, preveniu a albuminúria, o aumento dos níveis séricos de uréia e creatinina, dano glomerular e fibrose renal (COSTA et al., 2017). Quando se avalia em ratos antes da indução renal bilateral isquemia/reperfusão, a intervenção com maiores concentrações de açaí de 500 e 1000 mg/kg, os níveis de MDA e interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) diminuem em um período de 15 dias (EL MORSY et al., 2015).

Em humanos, os estudos sobre o efeito do açaí são ainda escassos, aqueles que foram realizados o fizeram em estudo randomizado com 23 mulheres saudáveis com sobrepeso que consumiram um *smoothie* de açaí contendo 150g de polpa de açaí com aproximadamente 694 mg de compostos fenólicos e verificaram a função endotelial pela dilatação fluxo-mediada da artéria braquial e observaram um aumento a partir da linha de base de 1,4% em duas horas e 0,8% em 6 horas (ALQURASHI et al., 2016). Em outro estudo com 35 mulheres saudáveis, o consumo de 200g/ dia de polpa de açaí por quatro semanas aumentou a atividade da catalase, a capacidade antioxidante total e a redução na produção de EROs. Além disso, houve redução na concentração sérica de carbonilação protéica e aumento sérico dos grupos sulfrídila

(BARBOSA et al., 2016). Essa mesma ingestão e em igual período de suplementação em 40 mulheres saudáveis com açaí parece ter efeito no aumento da concentração plasmática de apo A-I, diminuiu significativamente em 21% a produção de EROs nos neutrófilos, ademais reduziu em 61 e 68% os níveis da LDL-ox e o MDA, respectivamente, e aumentou atividade da paraoxonase e a capacidade antioxidante total no plasma, contudo sem afetar as concentrações da NO e NO sintase (PALA et al., 2017).

Em um relevante estudo clínico piloto, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo de fase I, um suco com mistura de diferentes frutas e bagas, cujo açaí era predominante e com capacidade antioxidante *in vitro* medida pelo ORAC de 22,8  $\mu\text{mol/mL}$ , obteve dose efeito de ensaio da proteção antioxidante baseada em células dos eritrócitos (CAP-e) foi altamente significativo e a inibição significativa da formação de EROs pelo tratamento do suco em células polimorfonucleares. Na etapa *in vivo* com 12 adultos saudáveis o consumo de suco resultou no aumento significante da capacidade antioxidante sérica dentro das duas horas de consumo avaliada, essa capacidade de absorção de antioxidantes está 45% correlacionada com a diminuição da peroxidação lipídica sérica pelo método TBARS dentro das duas horas de consumo em 10 dos 12 voluntários. Além disso, houve um discreto aumento no dano oxidativo em aproximadamente 50% dos participantes ao longo das duas horas após o consumo do placebo. Diante da elevada presença de alguns polifenóis e do efeito exercido na proteção antioxidante em modelo *in vivo* provavelmente oriundas do açaí, são necessários mais estudos que avaliem a possível reversão do açaí em marcadores de risco em condições como obesidade, doença cardiovascular e condições associadas a inflamação crônica (JENSEN et al., 2008).

Portanto, a hipótese deste trabalho é de que a suplementação com açaí melhore os marcadores de estresse oxidativo em pacientes portadores de DRC em HD.

Com base nisso, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da suplementação oral com açaí, sobre os marcadores de estresse oxidativo em pacientes portadores de DRC em HD.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito da suplementação oral com açaí, sobre os marcadores de estresse oxidativo em pacientes portadores de DRC em HD, em comparação com o grupo sem suplementação.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Antes e após a suplementação oral com açaí nos pacientes com DRC em HD pretende-se:

- ✓ Avaliar os marcadores de dano oxidativo pelos níveis plasmáticos de malondialdeído e de nitritos dos pacientes do grupo do grupo com suplementação de açaí e do grupo controle;
- ✓ Avaliar os marcadores enzimáticos de estresse oxidativo pelos níveis plasmáticos da atividade da catalase, e eritrocitária da glutathione total e glutathione peroxidase dos pacientes do grupo com suplementação de açaí e do grupo controle;
- ✓ Avaliar os perfis laboratoriais de prática clínica dos pacientes do grupo com suplementação de açaí e do grupo controle.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi do tipo clínico randomizado, controlado realizado na Clínica *Top Nefro*, localizada na Rua Bom Pastor, 03, rodovia BR 316, PA. A escolha do local é justificada pelo fato do mesmo ser um Centro de tratamento para pacientes portadores de Doença Renal Crônica em tratamento de substituição renal no estado do Pará, com alta concentração de aparelhos para realização de hemodiálise. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical, CAAE: 65456417.7.0000.5172 (ANEXO A).

### 4.1 Delineamento experimental

Os sujeitos foram recrutados da Clínica *Top Nefro*, que atende em torno de 210 pacientes renais crônicos em hemodiálise em três turnos - manhã, tarde e noite. A sessão de hemodiálise é realizada três vezes por semana uma vez ao dia com duração média de 4 horas. Contudo, nosso estudo realizou seleção apenas nos turnos da manhã e tarde, uma vez que o grupo da noite inicia a sessão de hemodiálise às 16h, período inviável para realização de colheita de sangue em jejum. A partir disso, foi realizado o convite direto aos pacientes que atendessem aos critérios de inclusão estabelecidos para o estudo (Quadro 2). Os voluntários que aceitaram participar do projeto foram esclarecidos quanto aos objetivos, protocolos empregados, os possíveis desconfortos e sobre a possibilidade de desistência da pesquisa a qualquer momento conforme a sua vontade. Em seguida, os sujeitos que estiverem de total acordo com o estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que permitirá a utilização dos dados coletados nesta pesquisa (APÊNDICE B).

**Quadro 4** – Critérios utilizados na pesquisa para seleção dos pacientes participantes da pesquisa*Critérios de inclusão*

- ✓ Serão incluídos na pesquisa pacientes de ambos os sexos;
- ✓ Idade acima de 18 anos;
- ✓ Possuir diagnóstico de Doença Renal Crônica, segundo a taxa de filtração glomerular no estágio G5 (NKF/KDIGO, 2013);
- ✓ Possuir fístula arteriovenosa como acesso vascular;
- ✓ Possuir no mínimo seis meses de tratamento em hemodiálise.

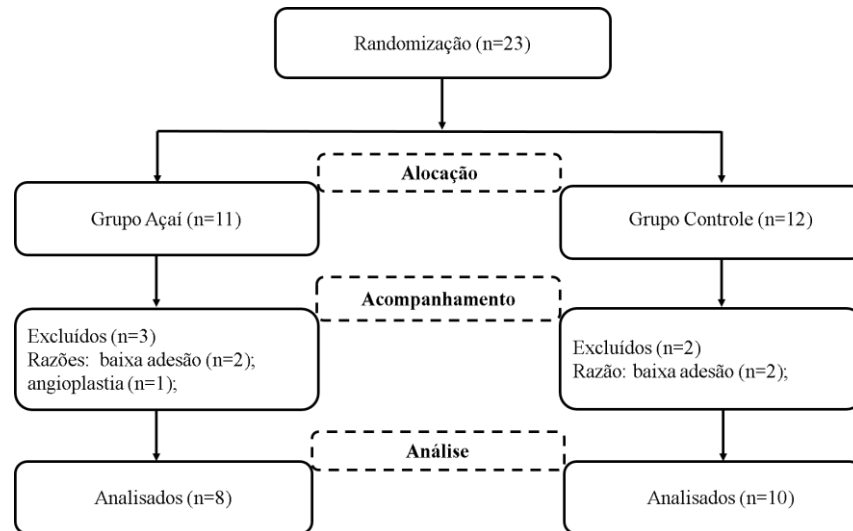
*Critérios de exclusão*

- ✓ Fumantes;
- ✓ Pacientes com doenças autoimunes e infecciosas, câncer e AIDS (Síndrome da imunodeficiência adquirida);
- ✓ Pacientes com nível de fósforo e potássio sérico acima de 5,5 nmol/L;
- ✓ Pacientes em uso de drogas catabolizantes (ex. antiinflamatórios) e suplementos vitamínicos antioxidantes.

**Fonte:** Autor.

Após a seleção dos participantes pelos critérios de inclusão e exclusão, foi determinada uma numeração pelo *site* ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)) para cada indivíduo e partir disso uma pessoa que desconhecia a pesquisa realizou a alocação dos indivíduos em dois grupos como observado no fluxograma abaixo (Figura 3).

**Figura 3** — Fluxograma de alocação, acompanhamento e análise dos pacientes participantes do estudo.

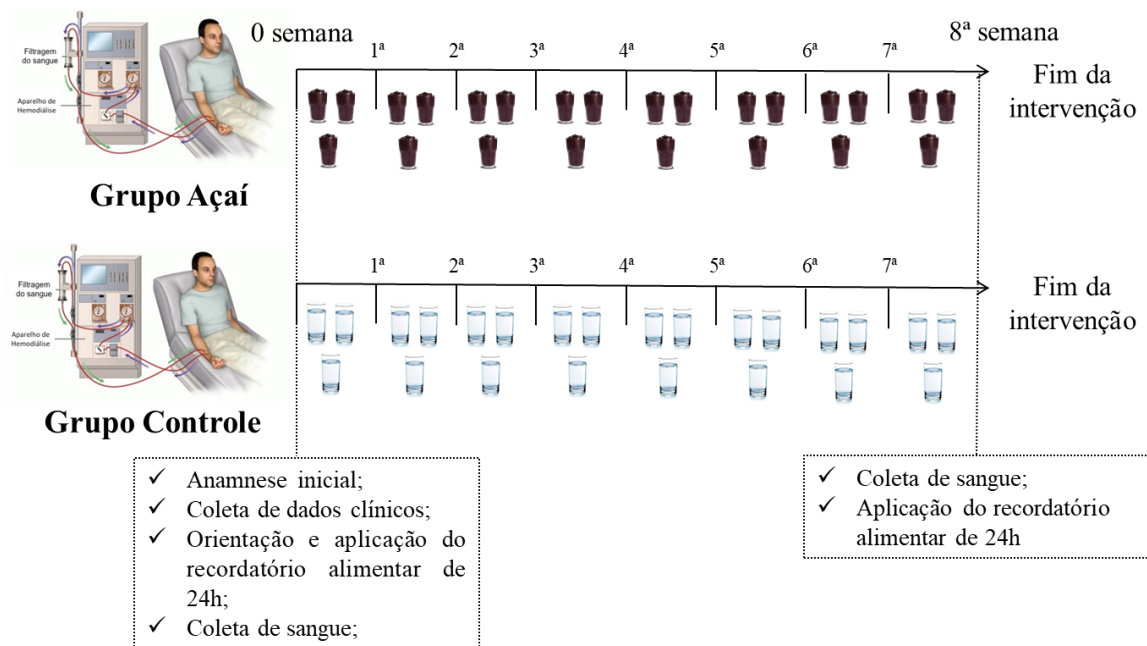


Fonte: Autor.

## 4.2 Experimento

Na suplementação foi ofertada uma quantidade de 20 mL do suco de açai (*Euterpe oleracea* Martius) equivalente a 250 mL do suco, que foram clarificados, liofilizados e seguros no aspecto microbiológico e gentilmente fornecidas por um processo patenteado licenciado pela Amazon Dreams e pela Universidade Federal do Pará (PI 1003060-3) (Belém, Pará, Brasil) (ROGÉZ et al., 2012; POMPEU et al., 2012). Quanto à palatabilidade, apesar de não ter sido realizada análise sensorial, todos os pacientes aceitaram prosseguir na pesquisa. O açai foi oferecido, sem o acréscimo de farinha de mandioca ou tapioca ou açúcar no final de cada diálise, uma vez por dia, três vezes por semana no período de 8 semanas no Centro de Hemodiálise (Figura 4).

**Figura 4** — Desenho do estudo experimental



**Fonte:** Autor. <http://www.institutoendovascular.com.br/doencas-vasculares/fistula-para-hemodialise/>.

Durante o período de intervenção foi realizado a anotação dos exames bioquímicos de rotina da clínica por meio dos prontuários, que incluem:  $Kt/V$  (Índice cinético de adequação de diálise, onde  $K$ : depuração de uréia do dialisador;  $t$ : tempo de tratamento,  $V$ : volume de distribuição da uréia), creatinina, fósforo, potássio, hemoglobina, albumina, potássio e paratormônio. O acompanhamento dos exames bioquímicos e dos marcadores de estresse oxidativo foi realizado antes da suplementação e após a suplementação.

Quanto à avaliação antropométrica, foi realizada antes do período de suplementação com o açaí e após o período de suplementação, constando-se do peso aferido em balança eletrônica (Filizola, São Paulo, Brasil), e para a altura foi medida utilizando-se estadiômetro (Altorexata®). Com os dados destas medidas foi realizado o cálculo para o Índice de Massa Corporal (IMC), classificado segundo referências estabelecidas (LIPSCHITZ, 1994; WHO, 1995).

#### 4.2.1 Coleta de informações demográficas e clínico-epidemiológicas

As informações demográficas e clínico-epidemiológicas foram coletadas no início da intervenção, através de um protocolo com perguntas abertas e fechadas que contemplaram nível socioeconômico (ABEP, 2015), estado civil, escolaridade, telefone, ocupação, renda,



raça autoreferida e hábitos de vida – consumo de álcool e atividade física (MATSUDO et al., 2001) (APÊNDICE A).

#### 4.2.2 Composição do açaí administrado

O teor total de polifenóis foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu*, cuja polpa de açaí continha 1013,2 mg de Equivalente de Ácido Gálico (GAE)/100 mL. As antocianinas totais foram medidas por um método proposto por Rogez *et al.* (2012), com 272,1 mg de antocianinas/100 mL. A determinação do potássio na amostra foi de 1174,69 mg/L realizada em um fotômetro de chama da marca Micronal (modelo B462).

#### 4.2.3 Coleta de material biológico

Foi coletado a quantidade de 8 mL de sangue através de punção venosa, por um profissional qualificado, na região antecubital, com sistema a vácuo (Vacutainer®) em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e acondicionados em gelo para análise dos marcadores de estresse oxidativo. A colheita das amostras foi realizada e em uma sala reservada e cedida pela clínica. O transporte das amostras foi realizado por isopor térmico com gelox para conservação do material e como destino final o Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular/UFPA, onde o plasma e a massa eritrocitária foram separadas a partir do sangue total por centrifugação a 3000 x g durante 15 minutos a 4°C, extraído com pipeta automática, acondicionado em tubos *ependorf*® de polipropileno de 1,5mL e conservados a -80°C para posterior análise.

#### 4.2.4 Determinação da concentração plasmática de malondialdeído (MDA)

O método empregado por Draper & Hadley (1990) consiste na precipitação das lipoproteínas em 10µL de plasma das amostras pela adição do ácido tricloroacético a 0,05 M e 0,67% de ácido tiobarbitúrico (TBAR) em 2 mg de sulfato de sódio que foram adicionados ao precipitado e adicionadas diferentes concentrações de MDA, cuja concentração final foi de 0, 5, 25, 50, 75 e 100 µL para cada padrão. A associação do peróxido lipídico com TBA é realizada pelo aquecimento a 100°C em banho-maria por 1 hora, seguido de resfriamento em água, com gelo, e adição de 4 mL de n-butanol. Os tubos foram agitados em agitador tipo vórtex por 30 segundos. Em seguida, centrifugados a 2000 rpm por 10 minutos. Para o

branco, a amostra é substituída por água destilada. A absorbância do sobrenadante é determinada em 532 nm, a leitura foi realizada por meio do *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (*BioTek Instruments, Inc.*). A concentração de MDA foi expressa  $\mu\text{M}$  MDA/mL.

#### 4.2.5 Determinação da concentração plasmática de nitritos

Os nitritos no plasma foram avaliados pelo método adaptado do Reagente de *Griess* descrito por Green et al., (1982). A reação consiste na adição de diferentes concentrações de nitrito de sódio a 100  $\mu\text{M}$  para curva padrão em seguida em cada poço da curva e das amostras acrescentou-se 50  $\mu\text{L}$  de sulfanilamida mais 50  $\mu\text{L}$  de N-(1-naftil)-etilenodiamina (Reagente de *Griess*). O produto da reação é de coloração roxa. As amostras foram submetidas ao leitor de ELISA com comprimento de onda de 540 nm. As concentrações de nitritos nas amostras foram determinadas através do fator obtido da curva padrão com diluições seriadas de nitrito de sódio a concentrações conhecidas e os valores expressos em  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.6 Determinação da glutathiona total (GSH total)

O ensaio proposto por Rahman *et al.* (2007) consiste na adição das amostras e 150 $\mu\text{L}$  de mistura de trabalho – concentração determinada de tampão 1X, 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzólico) e glutathiona redutase – nos poços. Em seguida a placa foi encubada por 5 minutos a temperatura ambiente agitando a placa. Por último acrescentou-se 50  $\mu\text{L}$  de solução de NADPH. O 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzólico) na concentração de 1,5 mg/mL e a glutathiona (GSH) reagem para gerar ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzólico e dissulfureto de glutathiona (GSSG), cujo produto obtido possui coloração amarela, a concentração de GSH na solução da amostra foi determinada pela medição a uma absorvância de 412 nm por 5 vezes de 1 em 1 minuto pelo ELISA. O GSH é gerado a partir de GSSG pela glutathiona redutase, e reage com 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzólico) novamente para produzir ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzólico.

#### 4.2.7 Determinação plasmática da atividade da catalase (CAT)

Foi descrito por Wheeler *et al.* (1990) baseado na reação da enzima com metanol na presença de uma concentração otimizada de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . O ensaio inicia-se com a adição nos poços

da microplaca de 20µL de cada padrão que consistiu de concentrações determinadas de paraformaldeído e tampão de amostra, cujas concentrações finais foram de 0, 5, 15, 30, 45, 60 e 75µM e de 20µL de amostra de plasma. Foi adicionado 30µL de metanol, 100µL de tampão de ensaio e 20 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) em todos os poços. Depois agitou-se a placa por 20 min e 30 µL de hidróxido de potássio (10M) e a mesma quantidade de *purpald*, uma segunda agitação foi realizada durante 10 minutos. Por último acrescentou-se 10µL de periodato de potássio. O paraformaldeído produzido é medido colorimetricamente com 4-amino-3-hidrazino-5-mercaptop-1,2,4-triazole (*purpald*) como cromógeno. O *Purpald* forma especificamente um heterocíclico bi cíclico com aldeídos, que mediante a alteração de oxidação formam, da representação incolor da solução, uma cor púrpura. A leitura foi realizada por ELISA à 540 nm.

#### 4.2.8 Determinação plasmática da atividade da glutathiona peroxidase (GPx)

A determinação da atividade da glutathiona peroxidase pela determinação colorimétrica foi realizada por meio do kit (Enzo Life Sciences, In). O método baseia-se no uso de 110 µL de glutathiona redutase, 110 µL de GSH + NADPH reconstituída e 880 µL de Tampão de Ensaio e 10 µL glutathiona peroxidase que compõem a amostra padrão. E por meio da adição de 20 µL de hidroperóxido de cumeno às placas inicia-se a reação. A leitura foi realizada pelo espectrofotômetro (*BioTek Instruments, Inc.*) à 340 nm a cada 1 minuto durante 10 a 15 minutos.

#### 4.2.9 Análise estatística

Os dados foram expressos como média e desvio padrão (DP). A distribuição normal dos dados foi verificada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. As variáveis foram em sua maioria com distribuição normal, exceto Kt/V, paratormônio e atividade da catalase.

O teste F foi utilizado em variáveis paramétricas independentes, e como todos apresentaram variações semelhantes entre os grupos, foi aplicado o teste t de *Student* não pareado. O teste de *Mann-Whitney* foi utilizado em variáveis independentes não paramétricas e ordinais, e o teste qui-quadrado foi aplicado a variáveis independentes e dicotômicas. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa *Stata 14*. Os testes foram ajustados com valores de confiança em 95% ( $p < 0,05$ ) e considerados significativos.

## 5 RESULTADOS

As características clínicas, atividade física e consumo alimentar dos pacientes de ambos os grupos no início do estudo são mostradas na Tabela 2, houve diferença significativa em relação ao sexo e causa primária da DRC.

Tabela 2 — Perfil clínico, atividade física e consumo alimentar antes e após 8 semanas de suplementação com suco de açaí clarificado (*Euterpe oleracea*) em pacientes em HD

<b>Parâmetros</b>	<b>Grupo Açaí (n=8)</b>	<b>Grupo Controle (n=10)</b>
<b>Sexo (F/M)</b>	5/3	1/9
<b>Idade (anos)</b>	55,5± 4,9	56,1± 3,4
<b>Causa primária da DRC n (%)</b>		
Diabetes Mellitus	-	1 (10%)
Hipertensão Arterial Sistêmica	2 (25%)	6 (60%)
DM+HAS	6 (75%)	1 (10%)
Outras	-	2 (20%)
<b>Duração da hemodiálise (meses)</b>	50,3 ± 11,3	53,8 ± 10,1
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,8 ± 2,5	25,2 ± 0,7
<b>Kt/V<sup>†</sup></b>	1,3 (1,3-1,4)	1,2 (1,1-1,8)
<b>Atividade Física n (%)</b>		
Sedentário	4 (50%)	5 (50%)
Regularmente ativo	2 (25%)	4 (40%)
Ativo	1 (12,5%)	1 (10%)
Muito ativo	1 (12,5%)	-
<b>Consumo alimentar</b>		
Energia total (Kcal)	1510,8 ± 473,1	1495 ± 662,3
Carboidrato (g)	154,5 ± 51,2	175,6 ± 89
Lipídio (g)	48 ± 24,4	63 ± 24,9
Proteína (g)	63,9 ± 22,4	73,2 ± 27,3

Fonte: Autor. Nota: IMC: Índice de Massa Corporal. Kt/V: Índice cinético de adequação da diálise. Dados apresentados como média ± DP. †Dados apresentados como mediana e intervalo de confiança.

Na Tabela 3 estão descritos os efeitos da suplementação de açaí sobre os dados bioquímicos de rotina. Apenas os níveis plasmáticos de potássio aumentaram significativamente após 8 semanas no grupo açaí e controle.

Tabela 3 – Perfil laboratorial antes e após 8 semanas de suplementação com suco de açaí clarificado (*Euterpe oleracea*) em pacientes em HD

Parâmetros	Grupo Açaí (n=8)			Grupo Controle (n=10)		
	Baseline	8 semanas	P valor	Baseline	8 semanas	P valor
Albumina (g/dL)	4,3 ± 0,08	4,5 ± 0,08	0,820	4,3 ± 0,07	4,5 ± 0,011	0,226
Creatinina (mg/dL)	6,8 ± 0,5	7,5 ± 0,3	0,462	9,2 ± 0,5	9,6 ± 0,8	0,315
Uréia pós HD (mg/dL)	32 (21,9-42,0)	35,1 (19,3-50,8)	0,548	42,6 (36,3-48,8)	38,7 (23,3-54,0)	0,564
Hemoglobina (g/dL)	9,7 ± 0,8	9,7 ± 0,6	0,498	11,3 ± 0,5	11 ± 0,5	0,851
Potássio (mg/dL)	5,0 ± 0,1	6,3 ± 0,7	<b>0,020</b>	4,8 ± 0,1	6,1 ± 0,3	<b>0,002</b>
Fósforo (mg/dL)	4,0 ± 0,3	5,2 ± 0,4	0,486	4,9 ± 0,2	4,9 ± 0,4	0,133
PTH (pg/mL) <sup>†</sup>	189,9 (114,8-408,5)	192,1 (117,8-552,8)	0,321	397 (327,3-763,2)	486,4 (327,1-767,9)	0,973

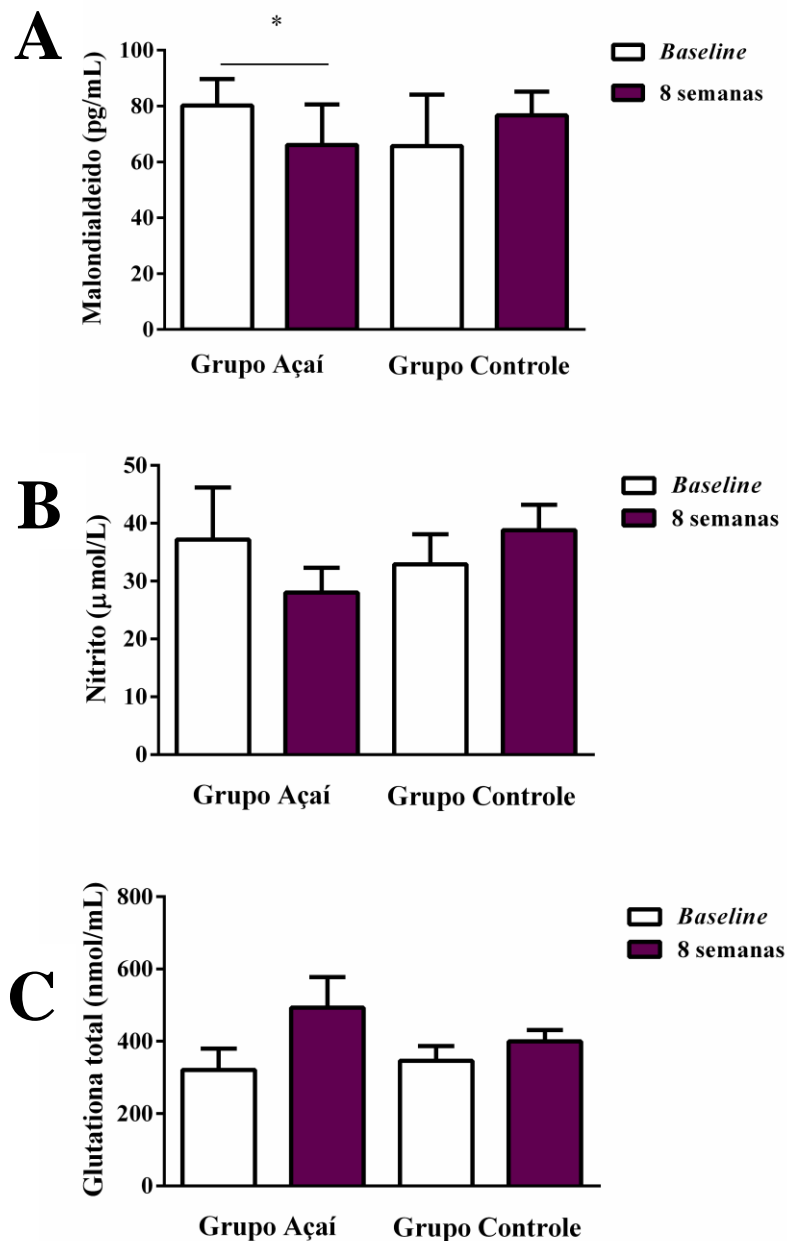
Fonte: Autor.

Nota: Dados apresentados como a média ± DP. O valor de p é representativo da análise intragrupo, os valores foram testados com teste T de *student* pareado.

<sup>†</sup> Os dados são apresentados como mediana e intervalo de confiança.

O gráfico 1 mostra uma diminuição significativa nos níveis plasmáticos de MDA ( $p=0,043$ ) e nitritos, após 8 semanas de suplementação com suco de açaí clarificado (*Euterpe oleracea*) em pacientes em HD.

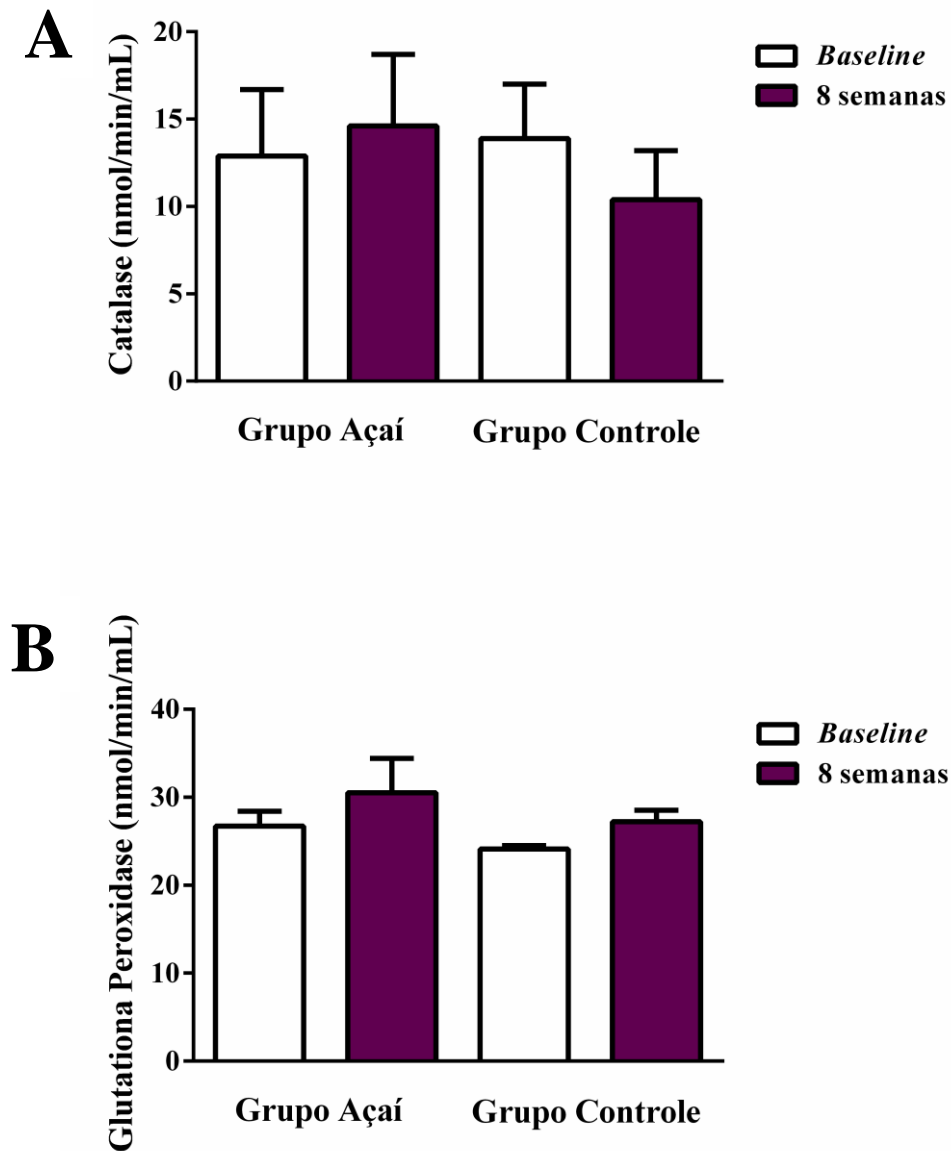
**Gráfico 1**— Comparação intra e intergrupo dos níveis plasmáticos do MDA, Nitritos e GSH total dos pacientes em HD antes e após a intervenção de 8 semanas com açaí (*E. oleracea*) clarificado



**Fonte:** Autor. A suplementação durante 8 semanas com 20 mL do suco de açaí (*E. oleracea*) clarificado alterou significativamente os níveis plasmáticos do malondialdeído. Os dados plasmáticos de (A) malondialdeído, (B) Nitritos e (C) glutaciona total foram representados em média  $\pm$  desvio padrão (Grupo Açaí  $n=8$ ; Grupo Controle  $n=10$ ). \*  $p < 0,05$ .

No gráfico 2 observam-se os níveis das enzimas CAT e GPx após 8 semanas de suplementação com suco de açaí clarificado (*Euterpe oleracea*) em pacientes em HD.

**Gráfico 2** – Comparação intra e intergrupo dos níveis plasmáticos da CAT e GPx dos pacientes em HD antes e após a intervenção de 8 semanas com açaí (*E. oleracea*) clarificado



**Fonte:** Autor. Efeitos da suplementação durante 8 semanas com 20 mL do suco de açaí (*E. oleracea*) clarificado sobre atividade das enzimas antioxidantes. Os dados plasmáticos da atividade da (A) catalase e (B) glutaciona peroxidase foram representados em média  $\pm$  desvio padrão (Grupo Açaí n=8; Grupo Controle n=10). \* Não foi encontrada diferença estatística significativa.

## 6 DISCUSSÃO

Elaboramos uma intervenção dietética para identificar os parâmetros de estresse oxidativo em pacientes com DRC em hemodiálise e demonstramos pela primeira vez que a suplementação oral com açaí por 8 semanas foi capaz de diminuir os níveis plasmáticos de MDA.

Realizamos uma intervenção clínica pioneira com o açaí clarificado, modelo ideal para avaliar o impacto de componentes fenólicos isolados, e com alta capacidade antioxidante, semelhante ao efeito do ácido ascórbico (1 mg/mL) (SOUZA-MONTEIRO et al., 2015). Em comparação com outros alimentos com capacidade antioxidante, o açaí ofertado neste estudo tem maior teor de polifenóis totais (1013,2 mg 100g<sup>-1</sup> GAE/100 mL) que maçã, mirtilo, framboesa, amora, amora e morango (WANG et al., 2000; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; PEREIRA et al., 2015). Além disso, a ingestão de um suco de 120 mL contendo uma mistura de frutas e bagas, incluindo predominantemente o açaí, em humanos, mostra um aumento significativo na capacidade antioxidante do sangue uma hora e duas horas após o consumo (JENSEN et al., 2008).

O mecanismo que explique tal efeito antioxidante parece ser devido a remoção direta de EROs e prevenção da redução do nível de sulfidrilas (BARBOSA et al., 2016; BONOMO et al., 2014). Sabe-se que a ativação de fatores de transcrição via EROs acontece pela transdução de sinal em cascata de sinalização (BIRBEN et al., 2012). O açaí parece estar envolvido na diminuição dessas vias como a NF-κB e proteína quinase ativada por mitógeno p38 (p38MAPK) e translocação e indução da expressão da via Nrf2 (BONOMO et al., 2014, PEIXOTO et al., 2016; POULOSE et al., 2017; XIE et al., 2012).

Sabe-se que a atividade antioxidante diminui em pacientes em hemodiálise, o que pode contribuir para o aumento do dano oxidativo e complicações renais (LIAKOPOULOS et al., 2017). Vários fatores, como a uremia, podem estar relacionados à maior produção de ERO e à atenuação complementar da depuração de pró-oxidantes e à defesa antioxidante (DUNI et al., 2017).

Encontramos redução nos níveis plasmáticos de MDA após a suplementação com açaí, um parâmetro associado à progressão dos estágios da DRC (XU et al., 2015). Em um estudo randomizado duplo-cego, controlado por placebo, cruzado com 12 indivíduos saudáveis, mostrou que o açaí, principalmente na forma de antocianinas, predominantemente cianidina 3-rutosídeo, cianidina 3-diglicidina e cianidina 3-glicina, foi capaz de inibir peroxidação lipídica (EL MORSY et al., 2015). O mesmo foi observado em mulheres saudáveis após 200g/dia de



consumo de polpa de açaí (PALA et al., 2017). Corroborando com esses achados, em modelo animal de hipertensão renovascular, causador de dano oxidativo no rim, o extrato de açaí em torno de 200 mg/kg, também foi capaz de prevenir a peroxidação lipídica (COSTA et al., 2017). O mecanismo envolvido parece estar relacionado às antocianinas que têm um papel importante na proteção das células do dano oxidativo, redução de EROs produzidas nas células polimorfonucleares e redução da migração de pró-inflamatórios (JENSEN et al., 2008).

No entanto, ainda é incerto se a peroxidação lipídica pode não ser apenas a causa, mas também o resultado do dano celular, já que a progressão dos estágios da DRC está associada ao aumento do MDA e do consumo de enzimas antioxidantes e por outro lado pode ser ocasionado pela bioincompatibilidade da membrana dialisadora que leva a reações alérgicas decorrentes da sensibilização ao componente da membrana e à ativação do complemento induzida pela membrana (TOBOREK et al., 1992; XU et al., 2015).

Em geral, ainda é impreciso assumir um efeito dose-tempo devido a ausência de avaliação nos estudos realizados quanto à baixa biodisponibilidade de antocianinas nos organismos e os fatores de absorção associados que levam a componentes sinérgicos do açaí e efeitos metabólicos que induzem a modificação da microbiota intestinal (FERNANDES et al., 2014).

Nosso trabalho sugere que a suplementação com açaí, cuja quantidade foi aproximadamente metade da consumida habitualmente pela população paraense, pode ser benéfica na proteção contra danos causados pelo estresse oxidativo e segura a medida que não há relatos indicando efeitos adversos à saúde com a ingestão de antocianinas em níveis normais de ingestão dietética (BURTON-FREEMAN et al., 2016).

Apesar da elevada quantidade de potássio presente no açaí e o achado de aumento dos níveis séricos de potássio em ambos os grupos, acreditamos que tenha sido influenciado por outros fatores como a prescrição de inibidores da enzima conversora da angiotensina e do bloqueador do receptor da angiotensina, bem como a presença do Diabetes Mellitus e do sexo masculino (NAKHOUL et al., 2015; GILLIGAN et al., 2017). Além disso, a quantificação das recomendações do açaí ainda é necessária porque os fatores de interação dietéticos e farmacológicos são desconhecidos (FERNANDES et al., 2014).

Temos como fator limitante deste trabalho, o pequeno tamanho da amostra, a ausência da avaliação da capacidade antioxidante e os níveis plasmáticos totais dos compostos fenólicos. No entanto, realizamos um estudo piloto pioneiro e randomizado que obteve

associação tempo-resposta entre o suco de açaí clarificado e a redução na peroxidação lipídica em pacientes em hemodialise.

Em conclusão, o consumo de açaí clarificado durante oito semanas melhorou a peroxidação lipídica em pacientes em hemodialise. Esse resultado indica a promissora aplicação do açaí como ação antioxidante em humanos associada à doença. A partir deste achado, estudos futuros em populações maiores são necessários para verificar o quanto o açaí é capaz de auxiliar no combate às sequelas dos radicais livres.

## **7 CONCLUSÃO**

O consumo de açaí clarificado em 8 semanas melhorou a peroxidação lipídica em pacientes em HD. Esse resultado indica a promissora aplicação do açaí como ação antioxidante em humanos associado a doença. A partir desse achado é necessário estudos futuros em populações maiores para verificar quanto o açaí é capaz de auxiliar no combate as sequelas dos radicais livres.

## REFERÊNCIAS

- ABEP - **Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa**. Critério de Classificação Econômica Brasil, 2014.
- ALCARAZ, M.; FERRANDIZ, M. Modification of arachidonic metabolism by flavonoids. **J Ethnopharmacol**, v.21, p. 209–229, 1987.
- ALQURASHI, R. M et al. Consumption of a flavonoid-rich açai meal is associated with acute improvements in vascular function and a reduction in total oxidative status in healthy overweight men. **Am J Clin Nutr**, 2016; v.104, n.5, p.1227-1235, 2016.
- ANDREAS, D et al. New Therapeutic Implications of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Function/Dysfunction in Cardiovascular Disease. **Int J Mol Sci**, v.20, n.1, 2019.
- ARRIFANO, G. F. P.; LICHTENSTEIN, M. P.; SOUZA-MONTEIRO, J. R.; FARINA, M.; Rogéz, H.; CARVALHO, J. C. T.; SUÑOL, C.; CRESPO-LÓPEZ, E. Clarified Açai (*Euterpe oleracea*) Juice as an Anticonvulsant Agent: In Vitro Mechanistic Study of GABAergic Targets. **Oxid Med Cell Longev**, v.20, p.1-6, 2018.
- ATAMER, A et al. Effect of oxidative stress on antioxidant enzyme activities, homocysteine and lipoproteins in chronic kidney disease. **J Nephrol**, v.21, n.6, p.924-930, 2008.
- BARBOSA, P. O et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v. 32, n.6, p. 674-80, 2016.
- BASU, A.; DU, M.; LEYVA, M.J et al. Blueberries decrease cardiovascular risk factors in obese men and women with metabolic syndrome. **J Nutr**, v.140, n.9, p.1582–1587, 2010.
- BECKMAN, J. S et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **PNAS**, v.87, n.4, p.1620-1624, 1990.
- BEZERRA, V. S.; FREITAS-SILVA, O.; DAMASCENO, L. F. Açai: produção de frutos, mercado e consumo. II Jornada Científica da Embrapa, 2016.
- BICHARA, C. M. G.; ROGEZ, H. Açai (*Euterpe oleracea* mart.). In E. M. Yahia eds. **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: Açai to citrus**. 7th ed. Cambridge: Woodhead Publishing; p.1-26, 2011.
- BIRBEN, E. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organ J**, v.5, n.1, p.9-19, 2012.
- BIESALSKI, H. K.; DRAGSTED, E. I.; GROSSKLAUS, R.; MÜLLER, M.; SCHRENK, D.; WALTER, P.; WEBER, P. Bioactive compounds: definition and assessment of activit. **Nutrition**, v.25, n.11-12, p. 1202-5, 2009.
- BONOMO, L. de F et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. **PLoS One**, v.9, n.3, e89933, 2014.

BURTON-FREEMAN, B.; SANDHU, A.; EDIRISINGHE I. Anthocyanins. **Nutraceuticals**, 2016.

BROWNLEE, M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. **Annu Rev Med**, v.46, p.223–234, 1995.

BLANKENBERG, S et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **N Engl J Med**, v.349, n.17, p.1605-13, 2003.

CASSIDY, A.; MUKAMAL, K.J.; LIU, L., et al. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. **Circulation**, v.127, n.2, p. 188–196, 2013.

CASTILLA, P et al. Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. **Am J Clin Nutr**, v.87, n.4, p.1053-61, 2008.

CASTILLA, P et al. Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. **Am J Clin Nutr**, v.84, n.1, p. 252–262, 2006.

CHINESE NUTRITION SOCIETY (CNS). **Chinese DRIs handbook**. Beijing (China): Standards Press of China; 2013.

CHOI, Y. J.; KIM, N.; NAM, R. H.; LEE, S.; LEE, H. S.; HA-NA, et al. Açai Berries Inhibit Colon Tumorigenesis in Azoxymethane/Dextran Sulfate Sodium-Treated Mice. **Gut Liver**, v.11, n.2, p.243-252, 2017.

CLERMONT, G et al. Vitamin E-coated dialyzer reduces oxidative stress in hemodialysis patients. **Free Radic Biol Med**, v. 31, n. 2, pp. 233–241, 2001.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 747p, 1926.

COSTA, C. A de et al. Effect of *Euterpe oleracea* Mart. Seeds Extract on Chronic Ischemic Renal Injury in Renovascular Hypertensive Rats. **J Med Food**, v.20, n.10, p.1002-1010, 2017.

DANIELSKI, M et al. Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. **Am J Kidney Dis**, v.42, n.2, p.286-294, 2003.

DAYEM, A. A et al. The Anti-Cancer Effect of Polyphenols against Breast Cancer and Cancer Stem Cells: Molecular Mechanisms. **Nutrients**, v. 8, n.9, 2016.

DI ANGELANTONIO, E et al. Chronic kidney disease and risk of major cardiovascular disease and non-vascular mortality: prospective population based cohort study. **BMJ**, v.30, n.341, p. 2010.

DOLEGOWSKA, B et al. Does glucose in dialysis fluid protect erythrocytes in patients with chronic renal failure? **Blood Purif**, v.25, n.5-6, p.422-9, 2007.

DOU, L et al. The uremic solute indoxyl sulfate induces oxidative stress in endothelial cells. **J Thromb Haemost**, v.5, n.6, p.1302-8, 2007.

DUNI, A.; LIAKOPOULOS, V.; RAPSOMANIKIS, K. P.; DOUNOUSHI E. Chronic Kidney Disease and Disproportionally Increased Cardiovascular Damage: Does Oxidative Stress Explain the Burden?. **Oxid Med Cell Longev**, v.2017, 9036450, 2017.

DRAPER, H. H, HADLE, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990;186:421-31.

EL MORSY, E. M et al. Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by Açai extract preconditioning in a rat model. **Life Sci**, v.5, n.123, p.35-42, 2015.

ESTERBAUER, H et al. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. **Free Radic Biol Med**, v.13, n.4, p. 341-390, 1992.

FERRARI, D.; SPECIALE, A.; MARIATERESA, C.; FRATANTONIO, D.; MOLONIA, M. S.; RANALDI, G et al. Cyanidin-3-O-glucoside inhibits NF- $\kappa$ B signalling in intestinal epithelial cells exposed to TNF- $\alpha$  and exerts protective effects via Nrf2 pathway activation. **Toxicol Lett**, v.15, n.264, p. 51-58, 2016.

FERNANDES, I et al. Antioxidant and antiproliferative properties of methylated metabolites of anthocyanins. **Food Chem**, v. 141, n.3, p. 2923-33, 2013.

FERNANDES, I. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **J Funct Foods**, v.7,p.54-66, 2014.

FORGIONE, M. A et al. Heterozygous Cellular Glutathione Peroxidase Deficiency in the Mouse Abnormalities in Vascular and Cardiac Function and Structure. **Circulation**, v.106, p.1154–1158, 2002.

FRIESENECKER, B et al. Oral administration of purified micronized flavonoid fraction suppresses leukocyte adhesion in ischemia–reperfusion injury: in-vitro observations in the hamster skin fold. **Int J Microcirc Clin Exp**, v.14, p. 50–55, 1994.

GALLORI, S. Polyphenolic Constituents of Fruit Pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açai palm). **Chromatographia**, v.59, n.11-12, p. 739–743, 2004.

GIARETTA, A. G et al. Apple intake improves antioxidant parameters in hemodialysis patients without affecting serum potassium levels. **Nutr Res**, v.64, p. 56-63, 2019.

GILLIGAN, S.; RAPHAEL, K. L. Hyperkalemia and Hypokalemia in CKD: Prevalence, Risk Factors, and Clinical Outcomes. **Adv Chronic Kidney Dis**, v.24, n.5, p.315-318, 2017.

GUO, C. H et al. Zinc supplementation alters plasma aluminum and selenium status of patients undergoing dialysis: a pilot study. **Nutrients**, v. 5, n.4, p.1456-70, 2013.

GUO, ZM et al. Changes in expression of antioxidant enzymes affect cell-mediated ldl oxidation and oxidized LDL-induced apoptosis in mouse aortic cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.21, p.1131–1138, 2001.

GREEN, L. C et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Anal Biochem**, v.126, p.131-8, 1982.

HALLIWELL, B. Drug antioxidant effects. A basis for drug selection?. **Drugs**, v.42, p.569–605, 1991.

HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. **Free Radic Biol Med**, v.16, p.845–850, 1994.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS C. A. Anthocyanins and other flavonoids. **Nat Prod Rep**, v. 15, p. 631-652, 1998.

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. **Annu Rev Food Sci Technol**, v.1, p.163-87, 2010.

HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN I. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) — A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochem**, n. 4, p.10–21, 2011.

HERTOG, M et al. Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. **Am J Clin Nutr**, v.65, p.1489–1494, 1997.

HIMMELFARB, J.; IKIZLER, A. Hemodialysis. **N Engl J Med**, v.4, n.19, p. 1833-45, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – **Produção da extração vegetal e da silvicultura**, 2015.

IWANO, M.; NEILSON, E. G. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v.13, p. 279-284, 2004.

JENSEN, G. S.; WU, X.; PATTERSON, K. M.; BARNES, J.; CARTER, S. G.; SCHERWITZ, L et al. In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **J Agric Food Chem**, v.56, n.18, p.8326-33, 2008.

JENNINGS, A.; WELCH, A. A.; SPECTOR, T et al. Intakes of anthocyanins and flavones are associated with biomarkers of insulin resistance and inflammation in women. **J Nutr**, v.144, n.2, p.202–208, 2014.

JUNG, K. A.; KWAK, M. K. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. **Molecules**, v.15, n.10, p.7266–7291, 2010.

KARKAR, A. Modalities of hemodialysis: Quality improvement. **Saudi J Kidney Dis Transpl**, v.23, n.6, p. 1145-1161, 2012.

KERRY, N.; ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. **Atherosclerosis**, v.135, p.93–102, 1997.

KIRSZTAJN, G. M.; SOUZA, E.; ROMÃO Jr, J. E.; BASTOS M. G.; MEYER, F.; ANDRADA, N. C. Doença Renal Crônica (Pré-terapia Renal Substitutiva): Diagnóstico. Projeto Diretrizes, 2011.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **Sci World J**, v.2013, 2013.

LANDMESSER, U. L. F et al. Vascular extracellular superoxide dismutase activity in patients with coronary artery disease relation to endothelium-dependent vasodilation. **Circulation**, v.101, p. 2264-2270, 2000.

LAPENNA, D et al. Glutathione-related antioxidant defenses in human atherosclerotic plaques. **Circulation**, v.97, n.19, p.1930-4, 1998.

LIAKOPOULOS, V.; ROUMELIOTIS, S.; GORNY, X.; DOUNOUSI, E.; MERTENS, P. R. Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. **Oxid Med Cell Longev**, v.2017, 3081856, 2017.

LIBETTA, C et al. Oxidative stress and inflammation: Implications in uremia and hemodialysis. **Clin Biochem**, v.44, n. 14-15, p. 1189-1198, 2011.

LICHTENTHALER, R et al. Total oxidant scavenging capacities of Euterpe oleracea  
LIU, Y et al. Renal fibrosis: New insights into the pathogenesis and therapeutics. **Kidney Int**, v. 69, n.2, p. 213-217, 2006.

LING, X. C.; KUO, K-L. Oxidative stress in chronic kidney disease. **Ren Replace Ther**, v.4, n.53, 2018.

LIPSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. **Prim Care**, v. 21, n.1, p.55-67, 1994.

MARTINS, I. C. V. S et al. The value of the Brazilian açai fruit as a therapeutic nutritional strategy for chronic kidney disease patients. **Int Urol Nephrol**, v.50, n.12, p. 2207-20, 2018.

MATSUDO, S et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Rev Bras Ativ Fís Saúde**, v.6, n.2, p.5-18, 2001.

MCCULLOUGH, M.L.; PETERSON, J.J.; PATEL, R., et al. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults. **Am J Clin Nutr**, v.95, n.2, p. 454–464, 2012.

MIDDLETON, E. Jr et al. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. **Adv Exp Med Biol**, v.439, p.175-82, 1998.



MUTELIEFU, G et al. Indoxyl sulphate induces oxidative stress and the expression of osteoblast-specific proteins in vascular smooth muscle cells. **Nephrol Dial Transplant**, v.24, p.2051-2058, 2009.

NAKHOUL, G. N.; HUANG, H.; ARRIGAIN, S.; JOLLY, S. E.; SCHOLD, J. D.; NALLY, J. V Jr, et al. Serum Potassium, End-Stage Renal Disease and Mortality in Chronic Kidney Disease. **Am J Nephrol**, v.41, n.6, p.456-63, 2015.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (NKF). **Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)**, Nova York, 2013.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (NKF). **Updates Clinical Practice Guidelines and Recommendations**, Nova York, 2006.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (NKF): K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, classification and stratification. **Am J Kidney Dis**, 39:S1- S266, 2002 (suppl 1).

NEOVIUS, M et al. Mortality in chronic kidney disease and renal replacement therapy: a population-based cohort study. **BMJ**, v.4, n.2, 2014.

NGUYEN-KHOA, T et al. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. **Nephrol Dial Transplant**, v.16, n.2, p.335-40, 2001.

NIWA, T. Indoxyl sulfate is a nephro-vascular toxin. **J Ren Nutr**, v.20, 20(5 Suppl):S2-6, 2010.

NORATTO, G. D. Polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. **J Agric Food Chem**, v.59, n.14, p.7999-8012, 2011.

NOSRATOLA, D.; VAZIRI, J. Salutary Effects of Hemodialysis on Low-Density Lipoprotein Proinflammatory and High-Density Lipoprotein Anti-inflammatory Properties in Patient With End-Stage Renal Disease. **Natl Med Assoc**, v.103, n.6, p.524-533, 2011.

NOVOTNY, J.A.; BAER, D.J.; KHOO, C et al. Cranberry juice consumption lowers markers of cardiometabolic risk, including blood pressure and circulating C-reactive protein, triglyceride, and glucose concentrations in adults. **J Nutr**, 145, n.6, p. 1185–1193, 2015.

NOYAN, T et al. The investigation of relationship between secondary hyperparathyroidism and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. **Turkish Nephrology, Dialysis and Transplantation Journal**, v.18, n.2, p.69-75, 2009.

OLIVEIRA, L. P. de et al. Programa de Desenvolvimento da Cadeia Produtiva do Açai no Estado do Pará - PROAÇAI – PA. Belém, SEDA, 2016.

OYAMA, L. M. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetol Metab Syndr**, v.8, n.8, 2016.

- PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chem**, v.105, n.1, p.28-35, 2007.
- PALA, D et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. **Clin Nutr**, v.37, n.2, p.30051-1, 2017.
- PEAKE, J. M.; GOBE, G. C.; FASSETT, R. G.; COOMBES, J. S. The effects of dietary fish oil on inflammation, fibrosis and oxidative stress associated with obstructive renal injury in rats. **Mol Nutr Food Res**, v.55, n.3, p. 400-10, 2011.
- PEDRUZZI, L. M et al. Systemic inflammation and oxidative stress in hemodialysis patients are associated with down-regulation of Nrf2. **J Nephrol**, v.28, n.4, p.495-501, 2014.
- PEIXOTO, H et al. An anthocyanin-rich extract of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) increases stress resistance and retards aging-related markers in *Caenorhabditis elegans*. **J Agric Food Chem**, v.64, n.6, p.1283-90, 2016.
- PEREIRA, A. C. S et al. Synergistic, additive and antagonistic effects of fruit mixtures on total antioxidant capacities and bioactive compounds in tropical fruit juices. **Arch Latinoam Nutr**, v.65, n.2, 2015.
- PETRUK, G.; ILLIANO, A.; DEL GIUDICE, R.; RAIOLAB, A.; AMORESANO, A.; RIGANO, M. M et al. Malvidin and cyanidin derivatives from açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) counteract UV-A-induced oxidative stress in immortalized fibroblasts. **J Photochem Photobiol**, v.172, p.42-51, 2017.
- POMPEU, D. R et al. Capacidade antioxidante e triagem farmacológica de extratos brutos de folhas de *Byrsonima crassifolia* e de *Inga edulis*. **Acta Amaz**, v. 42, n.1, 2012.
- POULOSE, S. M et al. Modulation of oxidative stress, inflammation, autophagy and expression of Nrf2 in hippocampus and frontal cortex of rats fed with Açai-enriched diets. **Nutr Neurosci**, v.20, n.5, p.305-315, 2017.
- PUPIM, L. B et al. Influence of initiation of maintenance hemodialysis on biomarkers of inflammation and oxidative stress. **Kidney Int**, v.65, n.6, p. 2371-2379, 2004.
- RAHMAN, I.; KODE, A. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. **Nat Protoc**, v.1, n.6, p.3159-65, 2006.
- ROCHA, A. P. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascul Pharmacol**, v.46, n.2, p.97-104, 2007.
- ROGEZ, H et al. Kinetic modeling of anthocyanin degradation and microorganism growth during postharvest storage of açai fruits (*Euterpe oleracea*). **J Food Sci**, v.77, n.12, C1300-6, 2012.

ROGEZ, H et al. Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: A comparison between açai fruits (*Euterpe oleracea*) and other anthocyanin-rich fruits. **J Food Comp Anal**, v.24, n.6, p. 796-800, 2011.

ROGEZ, H. **Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. 1th ed. Editora; Universidade Federal do Pará; 2002.

ROOZBEH, J et al. Comparative effects of silymarin and vitamin E supplementation on oxidative stress markers, and hemoglobin levels among patients on hemodialysis. **Ren Fail**, v. 33, n.2, p.118-23, 2011.

SAKATA, T et al. Coenzyme Q10 Administration Suppresses both Oxidative and Antioxidative Markers in Hemodialysis Patients. **Blood Purif**, v.26, n.4, 2008.

SANHUEZA, J et al. Changes in the xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase ratio in the rat kidney subjected to ischemia–reperfusion stress: preventive effect of some flavonoids. **Res Commun Chem Pathol Pharmacol**, v.78, p.211–218, 1992.

SARAN, R et al. Impact of vitamin E on plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) in chronic kidney disease (CKD): a pilot study. **Nephrol Dial Transplant**, v.18, n.11, p. 2415–2420, 2003.

SEDIGHI, O.; ZARGARI, M.; VARSHI, G. Effect of selenium supplementation on glutathione peroxidase enzyme activity in patients with chronic kidney disease: a randomized clinical trial. **Nephrourol Mon**, v.6, n.3, 2014.

SEERAM, N. P. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. **J Agric Food Chem**, v.56, n.4, p.1415-22, 2008.

SEFA. Documento mimeografado. Belém, PA; 2015.

SESSO, R. C et al. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2014. **J Bras Nefrol**, v.38, n.1, p.54-61, 2016.

SCHIEBER, M.; CHANDEL, N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Curr biol**, v.24, n.10, 2014.

SHEMA-DIDI, L et al. One year of pomegranate juice intake decreases oxidative stress, inflammation, and incidence of infections in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled trial. **Free Radic Biol Med**, v.53, n.2, p. 297-304, 2012.

SHEMA-DIDI, L et al. Pomegranate juice intake attenuates the increase in oxidative stress induced by intravenous iron during hemodialysis. **Nutr Res**, v.33, n.6, p. 442-6, 2013.

SHIMOISHI, K.; ANRAKU, M.; KITAMURA, K. An oral adsorbent, AST-120 protects against the progression of oxidative stress by reducing the accumulation of indoxyl sulfate in the systemic circulation in renal failure. **Pharm Res**, v. 24, p.1283-1289, 2007.

SHOSKES, D. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. **Transplantation**, v.66, p.147–152, 1998.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. **Annu Rev Biochem**, v.20, n.86, p.715-748, 2017.

SILVA, C. C. V et al. *Euterpe oleracea* Mart. seed extract protects against renal injury in diabetic and spontaneously hypertensive rats: role of inflammation and oxidative stress. **Eur J Nutr**, v.20, 2017.

SINGH, S et al. Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. **Free Radical Res**, v.44, n.11, p.1267–1288, 2002.

SOUZA, M. O et al. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 804-810, 2010.

SOUZA, M. O et al. The hypocholesterolemic activity of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) is mediated by the enhanced expression of the ATP-binding cassette, subfamily G transporters 5 and 8 and low-density lipoprotein receptor genes in the rat. **Nutr Res**, v. 32, n 12, p. 976-984, 2012.

SOUZA-MONTEIRO, J. R.; HAMOY, M.; SANTANA-COELHO, D.; ARRIFANO, G. P.; PARAENSE, R. S.; MALAQUIAS, C. A, et al. Anticonvulsant properties of *Euterpe oleracea* in mice. **Neurochem Int**, v.90, p.20-7, 2015.

SOUZA, L. A. **Insetos pragas em acessos de açaizeiro em viveiro**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental; 5p. 2002, (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, 75).

SPORMANN, T. M et al. Anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an intervention study with patients on hemodialysis. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v.17, n.12, p.3372-80, 2008.

STENVINKEL, P et al. IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly. **Kidney Int**, v. 67, n.4, p.1216-33, 2005.

STINGHEN, A. E. M et al. Uremic toxicity of advanced glycation end products in CKD. **J Am Soc Nephrol**, v.27, p. 354–370, 2016.

TAKAHASHI, N et al. Decreased plasma level of vitamin C in chronic kidney disease: comparison between diabetic and non-diabetic patients. **Nephrol Dial Transplant**, v.26, n.4, p.1252–1257, 2011.

TEPEL, M et al. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure: effect of hemodialysis. **Kidney Int**, v.58, n.2, p. 867-72, 2000.

THILAVECH, T.; ABEYWARDENA, M. Y.; ADAMS, M.; DALLIMORE, J.; ADISAKWATTANA S. Naturally occurring anthocyanin cyanidin-3-rutinoside possesses

inherent vasorelaxant actions and prevents methylglyoxal-induced vascular dysfunction in rat aorta and mesenteric arterial bed. **Biomed Pharmacother**, v.95, p.1251-1259, 2017.

TOBOREK, M et al. Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. **Metabolism**, v.41, n.11, p.1229-32, 1992.

TRIOLO, L et al. Vitamin E--Bonded Cellulose Membrane, Lipoperoxidation, and Anemia in Hemodialysis Patients. **Artif Cell Blood Sub**, v.31, n.2, 2003.

TUMUR, Z.; NIWA, T. Indoxyl Sulfate Inhibits Nitric Oxide Production and Cell Viability by Inducing Oxidative Stress in Vascular Endothelial Cells. **Am J Nephrol**, v.29, p.551–557, 2009.

WALLACE, T. C.; GIUSTI M. M. **Anthocyanins in health and disease**. Boca Raton: Taylor & Francis Group; 2014.

WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Agric Food Chem**, v.48, n.2, p.140-146, 2000.

WATANABE, H et al. p-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase. **Kidney Int**, v.83, p.582–592, 2013.

WHEELER, C. R et al. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. **Anal Biochem**, v. 184, n.2, p.193-9, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO Technical Report Series, 854: Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva. 1995.

XIE, C et al. The Açai flavonoid velutin is a potent anti-inflammatory agent: blockade of LPS-mediated TNF- $\alpha$  and IL-6 production through inhibiting NF- $\kappa$ B activation and MAPK pathway. **J Nutr Biochem**, v.23, n.9, p.1184-91, 2012.

XU, G et al. The progress of inflammation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. **Ren Fail**, v.37, n.1, p.45-9, 2015.

YANG, C. C et al. Effects of vitamin C infusion and vitamin E-coated membrane on hemodialysis-induced oxidative stress. **Kidney Int**, v.69, n.4, p.706-14, 2006.

YANG, H et al. Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E. **Circ Res**, v.95, p.1075–1081, 2004.

ZAZA, G et al. Downregulation of nuclear-encoded genes of oxidative metabolism in dialyzed chronic kidney disease patients. **PLoS One**, v.8, n.10:e77847, 2013.

ZIMMERMANN, J et al. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. **Kidney Int**, v.55, n.2, p. 648-658, 1999.

**APÊNDICE A – Questionário com questões demográficas e clínico-epidemiológicas.**

<b>Nome:</b>	<b>Telefone:</b>
<b>Ocupação atual/anterior:</b>	
<b>Idade:</b>	
<b>Renda mensal:</b>	
<b>Sexo:</b>	
<b>Uso de bebidas alcoólicas: ( ) Sim ( ) Não</b>	
<b>Comorbidades:</b>	
<b>Escolaridade:</b>	
<b>Consumo de álcool ( ) Não ( ) Sim</b>	
<b>Quantidade _____</b>	
<b>Qual nível de estresse da profissão?</b>	
<b>( ) Trabalho normal em ambiente tranquilo</b>	
<b>( ) Trabalho com estresse e preocupação moderada</b>	
<b>( ) Trabalho estafante em ambiente estressante</b>	
<b>( ) Aposentado ou não trabalha</b>	
<b>Estado conjugal:</b>	
<b>Apresenta algum sinal e/ou sintoma?</b>	
<b>Tempo de hemodiálise:</b>	
<b>Usa suplemento de ferro?</b>	

## APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **PROJETO: Efeitos da suplementação com açaí (*Euterpe oleracea*) sobre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise**

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa “**Efeitos da suplementação com açaí (*Euterpe oleracea*) sobre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise**”. Esta pesquisa visa analisar os exames que identificam a condição que acumula muitas substâncias tóxicas, os radicais livres, que em excesso leva a condição conhecida como estresse oxidativo e assim verificar se o açaí pode influenciar na melhora da sua saúde. O trabalho pretende confirmar os efeitos positivos na saúde dos pacientes. Assim poderá beneficiar na recuperação ou minimização dos efeitos da doença renal crônica no tratamento dialítico. Poderão participar da pesquisa pacientes com doença renal crônica em hemodiálise, de ambos os sexos, não fumantes, idade acima de 18 anos e que tenham fístula arteriovenosa como acesso vascular (é uma pequena cirurgia que é realizada para ter acesso aos vasos do organismo para que assim o sangue possa ser filtrado). Não poderão participar pacientes com doenças como lúpus, artrite reumatoide, doenças da tireoide e infecciosa, câncer e AIDS; pacientes com nível de fósforo acima de 5,5 mg/dL; pacientes em uso de drogas que levam ao emagrecimento, de vitaminas e que façam consumo alimentar de açaí frequente.

Caso aceite participar da pesquisa, você precisará responder algumas perguntas que serão feitas e iremos verificar seu peso, altura e faremos perguntas sobre o que você come ao longo do dia. Após isso, uma amostra de 8 mL de sangue e 2 mL de urina que serão coletados para verificar além dos exames de rotina que você já realiza, exames novos tais como a 8-hidróxi-2'-deoxiguanosina (verifica o dano no DNA, ou seja, a molécula que guarda a informação genética) catalase (verifica se o seu organismo está em boas condições de defesa), malondialdeído (é uma substância que indica a quantidade de produtos tóxicos no seu organismo) e a produção total de óxido nítrico (é uma substância que ajuda na memória, no aprendizado e na reação do organismo a uma infecção ou lesão dos tecidos).

Logo após você irá tomar 1 copo de açaí durante 21 dias no horário do lanche durante a hemodiálise, antes de tomar o açaí, coletaremos uma amostra de sangue e urina e após 21 dias faremos a última coleta.

Ressaltamos que não haverá despesa pela participação assim como não haverá forma de pagamento pela participação. Certificamos que não será guardado para material para fins de outras pesquisas.

Poderão ocorrer pequenos traumas no momento da colheita de sangue, comumente observados na rotina da coleta, para reduzir o risco, será utilizado material descartável e a colheita será realizada por profissional habilitado. Quanto a quantidade de sangue e urina coletadas, fazem parte da rotina clínica do tratamento dialítico. Ressalta-se que todos os dados para a pesquisa serão coletados a partir desta quantidade. Caso haja alguma intercorrência, o médico nefrologista da clínica dará o suporte necessário.

Poderá ocorrer o desconforto gástrico, tais como obstipação intestinal e flatulência, proveniente do limitado consumo de fibras pela restrição de alguns alimentos (legumes, verduras e frutas) que não poderão ser consumidos no período da oferta de açaí. Entretanto, para minimizar possíveis desconfortos dos participantes do estudo, terão acompanhamento de nutricionista e médico assistente.

É garantido o direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão.

Espera-se que os resultados deste estudo mostrem que a ingestão de açaí exerça um impacto positivo na melhora do paciente renal crônico particularmente aos submetidos a terapia dialítica, incluindo a melhora na resposta das defesas antioxidantes e nos parâmetros clínicos. Assim poderá beneficiar na recuperação ou minimização dos efeitos da Doença renal crônica no tratamento dialítico.

As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação.

No caso de dúvida poderá entrar em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (CEP-ICS/UFPA)**: Av. Generalíssimo Deodoro, nº 92, Umarizal. CEP: 66055-240 - Belém, Pará, Brasil. Tel. 32016857. E-mail: cepbel@ufpa.br.

---

Responsável: Isabelle Christine Vieira da Silva Martins  
End: Av. Generalíssimo Deodoro, 92. Fone: 98123 5419

### **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, \_\_\_\_\_ fui informado (a) e esclarecido (a) sobre todos os riscos e benefícios, desenvolvimento e procedimentos neste projeto intitulado “Efeitos da suplementação com açaí (*Euterpe oleracea*) sobre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise” bem como a garantia de privacidade e anonimato. Diante do exposto expresso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Belém,        /        /

---

Assinatura do sujeito da pesquisa ou do responsável



## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética.



UFPA - NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Efeitos da suplementação com açai (Euterpe oleracea) sobre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise

**Pesquisador:** Isabelle Christine Vieira da Silva Martins

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 65456417.7.0000.5172

**Instituição Proponente:** Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA.

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.338.781

#### Apresentação do Projeto:

O Projeto em questão é um pré-projeto de uma Tese de Doutorado que envolve a monitorização dos efeitos da polpa do fruto do açai em pacientes hemodialíticos em uma Clínica particular especializada em Hemodiálise e visa avaliar a contribuição do efeito antioxidante dos compostos fenólicos presentes neste fruto amazônico frente aos mecanismos fisiopatológicos que provocam aumento dos peróxidos de oxigênio em pacientes que estão passando por tratamento de Hemodiálise.

#### Objetivo da Pesquisa:

A pesquisa tem como objetivo geral avaliar os efeitos da suplementação oral com açai sobre marcadores de estresse oxidativo em pacientes portadores de doença renal crônica em hemodiálise. Os objetivos específicos são avaliar o antes e o após a suplementação oral com açai nos pacientes com DRC em HD no qual pretende-se: 1 - Avaliar os níveis da 8-hidróxi-2'-deoxiguanosina na urina; 2 - Avaliar os níveis de malondialdeído, catalase e produção total de óxido nítrico no sangue; 3 - Avaliar comparar os perfis dos parâmetros bioquímicos e antropométricos dos pacientes suplementados e não suplementados.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão bem expostos no TCLE. Como risco é informado pela pesquisadora fala que o procedimento pode gerar um pequeno desconforto gástrico, que será minimizado pelo

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 68.055-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0981

E-mail: cepbel@ufpa.br



UFPA - NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT



Continuação do Parecer: 2.336.791

acompanhamento de um nutricionista. O outro risco que é a retirada de 8 ml de sangue do paciente será minimizado pelo acompanhamento de um médico nefropata.

Haverá a possibilidade de diminuir esta quantidade. Este aspecto do risco não foi abordado.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa tem relevância científica, pois o estudo para medidas do stress oxidativo e suas complicações em pacientes costumam ser escassos. Estes pacientes são de difícil manejo clínico e bastante comprometidos metabolicamente e nutricionalmente. A relevância maior deste estudo está em investigar os efeitos antioxidantes de uma fruta da nossa região amazônica que é amplamente consumida pela população em geral e que dados da literatura demonstram trazer diversos benefícios a saúde como fator antioxidante e prevenindo complicações patológicas.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

A Pesquisadora apresentou todos os documentos necessários ao aceite do projeto como o Projeto completo, resumo contendo objetivos gerais e específicos, termo de aceite do Orientador, termo de aceite do local onde será desenvolvida a coleta e termo de aceite do local onde será realizada a parte analítico-laboratorial, cronograma e orçamento do projeto.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Todas as pendências antes referidas foram corrigidas: foram apresentados as ações que serão realizadas para minimizar o risco do desconforto gástrico e da coleta de 8 ml de sangue. O TCLE foi adequado as exigências e cronograma foi revisto.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMAÇÕES BÁSICAS_DO_PROJETO_876441.pdf	18/08/2017 09:43:10		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	18/08/2017 09:42:54	Isabelle Christine Vieira da Silva Martins	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/08/2017 09:40:36	Isabelle Christine Vieira da Silva Martins	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Coorientacao.jpeg	02/08/2017 12:58:59	Isabelle Christine Vieira da Silva Martins	Aceito

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 68.055-340

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0681

E-mail: cepbel@ufpa.br



UFPA - NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT



Continuação do Parecer: 2.030.781

Declaração de Instituição e Intraestrutura	Consentimento_2.pdf	07/03/2017 09:26:30	Isabelle Christine Vieira da Silva Martins	Aceito
Declaração de Instituição e Intraestrutura	Consentimento.pdf	07/03/2017 09:25:13	Isabelle Christine Vieira da Silva Martins	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	07/03/2017 09:11:11	Isabelle Christine Vieira da Silva Martins	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELEM, 19 de Outubro de 2017

---

Assinado por:  
FABIOLA ELIZABETH VILLANOVA  
(Coordenador)