

Andréia Gonçalves Giaretta

**EFEITO DO CONSUMO DE MAÇÃ NOS MARCADORES DE
ESTRESSE OXIDATIVO E NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS
DE POTÁSSIO: ESTUDO DE INTERVENÇÃO EM PACIENTES
SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito para a
obtenção do título de Doutor em
Nutrição.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a Elisabeth
Wazlawik.

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Giaretta, Andréia Gonçalves
Efeito do consumo de maçã nos marcadores de estresse oxidativo e nas concentrações séricas de potássio: estudo de intervenção em pacientes submetidos à hemodiálise / Andréia Gonçalves Giaretta ; orientador, Elisabeth Wazlawik , 2018.
226 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Nutrição. 2. Maçã. 3. Hemodiálise. 4. Estresse oxidativo. 5. Potássio. I. , Elisabeth Wazlawik. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.


Andréia Gonçalves Giaretta

EFEITO DO CONSUMO DE MAÇÃ NOS MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE POTÁSSIO: ESTUDO DE INTERVENÇÃO EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE

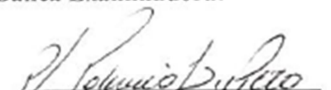
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Nutrição, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 31 de julho de 2018.


Prof.^a Patrícia Faria Di Pietro, Dra.
Coordenadora do Curso

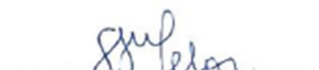

Prof.^a Elisabeth Wazlawik, Dra.
Orientadora e Presidente da banca
Universidade Federal de Santa Catarina

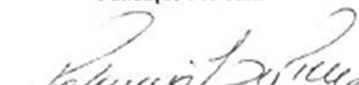
Banca Examinadora:


Prof. Claus Dieter Dummer, Dr.
Universidade de Santa Cruz do Sul
(videoconferência)


Prof.^a Cristina Martins, Dra.
Fundação Pró Renal Brasil
(videoconferência)


Prof.^a Fabiana Baggio Nerbass, Dra.
Fundação Pró-Rim


Prof.^a Sandra Soares Melo, Dra.
Universidade do Vale do Itajaí


Prof.^a Patrícia Faria Di Pietro, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho a todas as
pessoas com Doença Renal Crônica,
em especial aquelas submetidas à
hemodiálise que diariamente travam
uma luta pelo viver!

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Universo por me proporcionar esta oportunidade maravilhosa de aprendizado profissional e pessoal! Gratidão pela vida!

Aos meus pais José e Jussara, por sempre me apoiarem, incentivando-me nesta longa jornada! Obrigada por sempre me estimularem a estudar, mostrando-me que o conhecimento pode transformar as nossas vidas!

Ao meu querido marido Fábio, por me apoiar, incentivar e acalmar ao longa desta trajetória! Obrigada pela paciência e por me amparar nos momentos difíceis!

A minha querida e eterna professora Angela Ghiorzi, por me ajudar e incentivar ao longo desta trajetória! Obrigada mais uma vez por cuidar de mim e me auxiliar a lidar com meus medos e angústias!

Ao Instituto Federal de Santa Catarina por me permitir dedicar-me inteiramente ao Doutorado!

As minhas irmãs de alma, Mariene e Alessandra por sempre me ouvirem, acalmarem e incentivarem nesta caminhada!

As minhas irmãs de jornada que o Doutorado me proporcionou Caroline Moreira e Roberta Caetano! Esta longa jornada ficou muito mais leve com o auxílio de vocês! Obrigada pelo apoio incondicional!

As minhas amigas e parceiras de trabalho Emilaura Alves, Jane Parisenti, Manu Fogaça e Elinete de Lima, pela compreensão e auxílio nesta trajetória!

Aos meus queridos companheiros de jornada de Doutorado, Alyne, Adriana, Carol Camargo, Maiara e Michel pelas conversas, gargalhadas e palavras de apoio compartilhadas ao longo desta caminhada! Obrigada pelo apoio e ajuda!!!!

A minha querida amiga Chalissa Zanon, por me ouvir, incentivar e apoiar imensamente nesta trajetória! Obrigada por aliviar minhas dores físicas e da alma!

Aos meus sogros Esther e Claudio (*In Memoriam*) por me incentivarem e apoiarem nesta jornada!

Às companheiras de análises laboratoriais, Fernanda, Ivana, Marina, Tatiana e Taís pelas risadas, apoio e incentivo!

Às queridas companheiras de jornada Angela Teodósio e Aline Miroski pelo apoio e por sempre estarem à disposição para me ajudar!

Aos queridos parceiros, professores Roseane Fett & Edson Luiz da Silva; Mayara Schulz & Luciano V. Gonzaga pelo apoio e incentivo!

A Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) pela doação das maçãs!

Às clínicas de diálise por me permitirem realizar o meu estudo! A todos os profissionais destas clínicas que sempre estiveram à disposição para me auxiliar, não medindo esforços para a concretização desta pesquisa! Em especial, à enfermeira Rozanea pelo apoio incondicional!

A todos os participantes deste estudo que sempre se mostraram abertos e dispostos a me auxiliar! Obrigada pelo apoio, ajuda, paciência e pelas incontáveis coletas de sangue!!!

Aos meus amigos do Instituto Federal de Santa Catarina pelo apoio e incentivo ao longo desta trajetória!

A todos os professores que me auxiliaram ao longo desta caminhada!

Aos membros da banca por estarem disponíveis desde o início desta jornada e pelas valiosas contribuições!

À professora Elisabeth Wazlawik por me permitir evoluir enquanto ser! Obrigada pelas oportunidades de vencer meus medos e angústias ao longo desta trajetória! Você me impulsionou inúmeras vezes ao longo desta caminhada!

A todos que me incentivaram e apoiaram nesta maravilhosa jornada!

OBRIGADA, OBRIGADA, OBRIGADA!!!!!!!

Andréia G. Giaretta

*...What doesn't kill you makes you stronger
Just me, myself, and I
What doesn't kill you makes you stronger
Stand a little taller
Doesn't mean I'm lonely when I'm alone...
Kelly Clarkson*

“O aprendizado é impossível sem o direito de errar e sem uma longa tolerância para o estado de dúvida”

Olavo de Carvalho

RESUMO

Introdução: O estresse oxidativo (EO) é associado ao aumento da morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à hemodiálise (HD). A ingestão de alimentos antioxidantes é uma alternativa promissora para se diminuir os danos celulares oxidativos. A maçã (*Malus domestica* Borkh) é uma fonte de nutrientes e compostos polifenólicos. Efeitos antioxidantes com o consumo de maçã, foram relatados em intervenções com indivíduos saudáveis, resultando em aumento das defesas antioxidantes e diminuição dos marcadores de EO. **Objetivo:** Avaliar os efeitos do consumo de maçã, na forma de suco e *in natura*, da variedade *Fuji*, nos marcadores antioxidantes e oxidantes, parâmetros bioquímicos e tolerância em pacientes submetidos à HD. **Método:** O estudo caracterizou-se como de intervenção, do tipo antes e depois, sendo dividido em dois ensaios. No primeiro ensaio, 6 pacientes adultos, consumiram agudamente, após a sessão de diálise, 300 e 150 mL de suco de maçã (SM), em dois dias diferentes, separados por um período de 3 semanas. Amostras de sangue foram coletadas nos períodos *baseline*, 30 minutos e 60 minutos após o consumo de SM. Foram quantificados os marcadores antioxidantes, capacidade antioxidante total (CAOT), ácido ascórbico (AA), catalase (CAT), glutaciona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e glutaciona reduzida; os marcadores oxidativos, estado oxidante total (EOT) e índice de estresse oxidativo (IEO) e os parâmetros bioquímicos, potássio, ácido úrico e glicose. No segundo ensaio, 16 pacientes adultos consumiram diariamente, após a sessão de diálise, duas unidades de maçã (~360g), durante 7 dias. As amostras de sangue foram coletadas no *baseline* e no 8º dia após o consumo da maçã. Foram quantificados os marcadores do primeiro ensaio, acrescido dos marcadores frutossamina e fósforo. Além disto, nos dois ensaios do estudo, a fim de observar a tolerância ao consumo da maçã, os participantes foram questionados sobre a presença de efeitos colaterais. **Resultados:** Comparado ao *baseline*, o consumo de 300 mL de SM aumentou as concentrações de ácido ascórbico ($p = 0,001$) e da atividade eritrocitária da enzima SOD ($p = 0,015$). Os níveis de ácido úrico ($p = 0,003$) e de potássio ($p = 0,004$) também aumentaram. Ambas doses de SM, não inibiram o aumento significativo das concentrações do EOT ($p = 0,048$; 300 mL) e os valores do IEO ($p = 0,012$; 150 mL). No segundo ensaio, consumo de maçã aumentou a atividade eritrocitária das enzimas GPx ($p = 0,002$) e SOD ($p = 0,012$); assim como as concentrações de AA ($p = 0,001$). Os níveis séricos de potássio, fósforo, ácido úrico, glicose e frutossamina aumentaram, porém

sem significância estatística. Adicionalmente, houve diminuição na atividade da enzima CAT ($p = 0,007$), nos valores da CAOT ($p = 0,001$), aumento nas concentrações do EOT ($p = 0,002$) e IEO ($p = 0,007$). **Conclusão:** Nos dois ensaios do estudo, o consumo de maçã *Fuji* foi tolerado e melhorou o estado antioxidante em pacientes submetidos à HD. Apesar das intervenções não extrapolarem os limites de referência para a população submetida à hemodiálise, a maçã demonstrou menor alteração nas concentrações séricas de potássio quando comparada ao suco.

PALAVRAS CHAVE: maçã; hemodiálise; estresse oxidativo; potássio.

ABSTRACT

Introduction: Oxidative stress (OS) is associated to increased morbidity and mortality rates in hemodialysis (HD) patients. The consumption of antioxidant foods is a promising alternative to decrease oxidative cell damage. Apple (*Malus domestica* Borkh) is considered a source of nutrients and polyphenolic components. Antioxidant effects of apple consumption have been reported in interventions with healthy individuals, resulting in increased antioxidant defense and decreased OS markers. **Objective:** To evaluate the effects of apple consumption, both *in natura* and in juice, on antioxidant and oxidant markers, biochemical parameters, and tolerance in HD patients. The apple variety chosen was *Fuji*. **Method:** This was a before-after intervention study divided into two stages. In the first stage, six adult patients acutely consumed, after the dialysis session, 300 and 150 mL of apple juice (AJ) on two different days, separated by a washout of 3 weeks. Blood samples were collected at *baseline* periods, 30 minutes and 60 minutes after AJ consumption. The following antioxidant markers were analyzed: total antioxidant capacity (TAC), ascorbic acid (AA), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), and reduced glutathione; the oxidant markers total oxidant status (TOS), and oxidative stress index (OSI); and the biochemical parameters potassium, uric acid, and glucose. In the second stage, 16 adult patients consumed daily two units of apple (~360g) after the dialysis session during 7 days. Blood samples were collected at *baseline* and on the 8th day after apple consumption. First stage markers, as well as fructosamine and phosphorus, were quantified. Moreover, in both stages, in order to identify tolerance to apple consumption, participants were questioned about side effects. **Results:** Compared to *baseline*, the intake of 300 mL of AJ increased ascorbic acid concentrations ($p = .001$) and erythrocyte SOD enzyme activity ($p = .015$). Uric acid ($p = .003$) and potassium ($p = .004$) levels also increased. Both doses of AJ did not inhibit the significant increase of TOS concentrations ($p = .048$; 300 mL) and OSI values ($p = .012$; 150 mL). In the second stage, apple consumption increased erythrocyte GPx ($p = .002$) and SOD ($p = .012$) enzymes activity, as well as AA concentrations ($p = .001$). Potassium, phosphorus, uric acid, glucose, and fructosamine serum levels increased but with no statistical relevance. Furthermore, a decrease in CAT enzyme activity ($p = .007$) and TAC values ($p = .001$) was identified, as well as an increase in TOS ($p = .002$) and OSI ($p = .007$) concentrations. **Conclusion:** In both stages of the study, the consumption of *Fuji* apple

was tolerated and improved HD patients' antioxidant status. Neither intervention extrapolated reference limits for the hemodialysis population, but apple consumption has demonstrated less alteration in serum potassium levels in comparison to apple juice.

KEYWORDS: apple; hemodialysis; oxidative stress; potassium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação dos fotoquímicos dietéticos.	57
Figura 2 - Estrutura básica dos flavonoides.	60
Figura 3 - Representação esquemática do protocolo experimental do ensaio I do estudo.	90
Figura 4 - Representação esquemática do protocolo experimental do ensaio II do estudo.	91
Figura 5 - Fluxo de participantes durante o ensaio I do estudo.	95
Figura 6 - Fluxo de participantes durante o ensaio II do estudo.	96
Figura 7 - Ensaio I da pesquisa.	97
Figura 8 - Ensaio II da pesquisa.	98

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Recomendações diárias de calorias e nutrientes para os pacientes submetidos à hemodiálise.....	67
Quadro 2 - Efeito do consumo de maçã <i>in natura</i> nos marcadores de estresse oxidativo em humanos.....	79
Quadro 3 - Efeito do consumo de suco de maçã nos marcadores de estresse oxidativo em humanos.....	82
Quadro 4 - Informação nutricional do suco e da maçã da variedade Fuji	84
Quadro 5 - Cálculo do tamanho da amostra.....	93
Quadro 6 - Variáveis dependentes marcadores de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estadiamento e classificação da doença renal crônica	32
Tabela 2 - Composição química da maçã da variedade Fuji (por 100 g de parte comestível).	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS *2,2'-azinobis (3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic)* (radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico))

AMT Antocianinas Monoméricas Totais

ANOVA Análise de Variância

AOAC *Association of Official Analytical Chemicals* (Associação de Analistas Químicos Oficiais)

ARE *Antioxidant Responsive Element* (Elemento de Resposta Antioxidante)

ATP *Adenosine Triphosphate* (Adenosina Trifosfato)

CAM Medicina Alternativa e Complementar

CAOT Capacidade Antioxidante Total

CAT Catalase

CytC Citocromo C

DHBS *Dihydroxybenzene Sulfonic acid* (Ácido Dihidroxibenzenosulfônico)

DMACA Dimetilaminocinamaldeído

DNA *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido Desoxirribonucleico)

DNAmt DNA mitocondrial

DRC Doença Renal Crônica

DPPH *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (2,2-difenil-1-picrildrazil)

EBPG *European Best Practice Guidelines* (Diretrizes Europeias de Boas Práticas)

EDTA *Ethylenediamine Tetraacetic Acid* (ácido etilendiamino tetraacético)

EO Estresse Oxidativo

EOT Estado Oxidante Total

EPAGRI Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural

ERCl Espécie Reativa de Cloro

ERN Espécie Reativa de Nitrogênio

ERO Espécie Reativa de Oxigênio

ESRD *End Stage Renal Disease* (Doença Renal em Estágio Terminal)

EUA Estados Unidos da América

EUTox *European Uremic Toxin Work Group* (Grupo de Trabalho Europeu em Toxinas Urêmicas)

FRAP *Ferric Reducing Ability of Plasma* (Determinação do Poder de Redução do Íon Ferro)

GPx Glutationa Peroxidase

GR Glutationa Redutase

GSH Glutationa

SSG *Glutathione Disulfide* (Glutaciona Oxidada)
HD Hemodiálise
HGCR Hospital Governador Celso Ramos
HIV *Human Immunodeficiency Virus* (Vírus da Imunodeficiência Humana)
HNE Hidroxinonenal
HPLC *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
H₂O₂ Peróxido de Hidrogênio
IEO Índice de Estresse Oxidativo
ICAM-1 *Intercellular Adhesion Molecule 1* (Moléculas de Adesão Intercelular-1)
IL-1b Interleucina-1b
IL-6 Interleucina-6
IMC Índice de Massa Corporal
IV Intravenoso
Keap1 *Kelchlike ECH-associated protein 1* (Proteína Keap1)
KCN *Potassium Cyanide* (Cianeto de Potássio)
KOH *Potassium Hydroxide* (Hidróxido de Potássio)
LDLox *oxidized Low Density Lipoprotein* (Lipoproteína de Baixa Densidade oxidada)
MDA Malondialdeído
NADPH *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato)
Nrf2 *Nuclear factor E2-related fator 2* (Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2)
8OHdG *8-hidroxi-2- deoxiguanosina* (8-hidroxi-guanina)
ORAC *Oxygen Radical Absorbancy Capacity* (Capacidade de Absorção dos Radicais Oxigenados)
OSI *Oxidative Stress Index* (Índice de Estresse Oxidativo)
OXPHOS *Oxidative Phosphorylation System* (Sistema de Fosforilação Oxidativa)
PBMCs *Peripheral Blood Mononuclear Cell* (Células Mononucleares do Sangue Periférico)
PEW *Protein-energy wasting* (Depleção Energético-Proteica)
PMMA *Poly(methyl methacrylate)* (Polimetilmetacrilato)
PPGN Programa de Pós-Graduação em Nutrição
R24h Recordatório Alimentar de 24 horas
SOD Superóxido Dismutase
SUS Sistema Único de Saúde
TAS *Total Antioxidant Status* (Estado Antioxidante Total)

TBA *Thiobarbituric Acid* (Ácido Tiobarbitúrico)
TBARS *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico)
TCA *Trichloroacetic Acid* (Ácido Tricloroacético)
TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEAC *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox)
TGF Taxa de Filtração Glomerular
TNF- α *Tumor Necrosis Factor alpha* (Fator de Necrose Tumoral alfa)
TOS *Total Oxidant Status* (Estado Oxidante Total)
TPTZ *2,4,6-tripyridyl-s-triazine* (2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazina))
TRAP *Total Reactive Antioxidant Potential* (Potencial Reativo Antioxidante Total)
TRS Terapia Renal Substituta
UFSC Universidade Federal de Santa Catarina
WAPA *World Apple and Pear Association* (Associação Mundial de Maças e Peras)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 CONTEXTUALIZANDO A PROBLEMÁTICA	25
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	31
2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA	31
2.2 HEMODIÁLISE.....	33
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO	34
2.3.1 Dano oxidativo	35
2.3.2 Dano às proteínas	36
2.3.3 Dano ao DNA	36
2.3.4 Peroxidação lipídica	37
2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E A DOENÇA RENAL CRÔNICA ...	39
2.4.1 Síndrome urêmica	40
2.4.2 As membranas de diálise e a produção de espécies reativas de oxigênio.....	42
2.4.3 Ferro intravenoso	43
2.4.4 Alterações mitocondriais e doença renal crônica	44
2.4.5 Marcadores de estresse oxidativo e hemodiálise.....	45
2.5 DEFESAS ANTIOXIDANTES	48
2.5.1 Defesas antioxidantes enzimáticas	49
2.5.1.1 Defesas antioxidantes enzimáticas e doença renal crônica.....	50
2.5.2 Defesas antioxidantes não enzimáticas	53
2.5.2.1 Vitamina C	54
2.5.2.2 Ácido úrico.....	54
2.5.2.3 Glutathiona.....	55
2.5.2.4 Fitoquímicos.....	56
2.5.2.5 Atividade antioxidante dos flavonoides	60
2.6 NUTRIÇÃO E HEMODIÁLISE.....	62
2.6.1 Recomendações dietéticas para pacientes submetidos à hemodiálise.....	66

2.6.2 Antioxidantes da dieta alimentar e hemodiálise.....	68
2.6.3 Ingestão de alimentos ricos em polifenóis e diminuição do estresse oxidativo em pacientes submetidos à hemodiálise.....	70
2.7 MAÇÃ (<i>MALUS DOMESTICA BORKH</i>).....	73
2.7.1 Antioxidantes da maçã.....	74
2.7.2 Composição química da maçã.....	75
2.7.3 Compostos fenólicos da maçã.....	76
2.7.4 Atividade antioxidante in vivo após o consumo de maçã.....	78
3 OBJETIVOS.....	84
3.1 OBJETIVO GERAL	85
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	85
4 JUSTIFICATIVA, RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO	87
4.1 JUSTIFICATIVA	87
4.2 RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO.....	88
5 MÉTODO	89
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	89
5.2 LOCAL DO ESTUDO E POPULAÇÃO ESTUDADA	92
5.3 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA E PROCESSO DE AMOSTRAGEM	92
5.4 ETAPAS DA PESQUISA.....	96
5.5 PROCESSO DE COLETA DE DADOS	98
5.6 MODELO DE ANÁLISE	99
5.7 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS....	100
5.7.1 Obtenção das maçãs.....	100
5.7.2 Caracterização química do suco e da maçã in natura.....	101
5.7.2.1 Preparo da amostra.....	101
5.7.2.2 Composição química.....	101
5.7.2.3 Procedimentos de extração.....	102
5.7.2.4 Quantificação do teor fenólico total.....	102

5.7.2.5	Quantificação dos flavanóis totais.....	102
5.7.2.6	Quantificação de antocianinas monoméricas totais.....	103
5.7.2.7	Quantificação da atividade antioxidante	103
5.7.2.7.1	<i>Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH....</i>	<i>103</i>
5.7.2.7.2	<i>Avaliação da atividade antioxidante pelo método FRAP....</i>	<i>104</i>
5.7.3	Avaliação antropométrica	104
5.7.4	Monitoramento do consumo alimentar	105
5.7.5	Monitoramento dos efeitos colaterais	106
5.7.6	Análises bioquímicas	107
5.7.6.1	Coleta e tratamento das amostras de sangue	107
5.7.6.2	Determinação dos marcadores de estresse oxidativo	108
5.7.6.2.1	<i>Estado oxidante total.....</i>	<i>108</i>
5.7.6.2.2	<i>Capacidade antioxidante total</i>	<i>108</i>
5.7.6.2.3	<i>Índice de estresse oxidativo.....</i>	<i>109</i>
5.7.6.2.4	<i>Ácido ascórbico.....</i>	<i>109</i>
5.7.6.2.5	<i>Glutathiona reduzida.....</i>	<i>110</i>
5.7.6.2.6	<i>Superóxido dismutase.....</i>	<i>110</i>
5.7.6.2.7	<i>Catalase.....</i>	<i>110</i>
5.7.6.2.8	<i>Glutathiona peroxidase</i>	<i>111</i>
5.7.6.2.9	<i>Ácido úrico.....</i>	<i>111</i>
5.7.6.3	Determinação dos parâmetros bioquímicos.....	112
5.7.6.3.1	<i>Potássio e fósforo</i>	<i>112</i>
5.7.6.3.2	<i>Glicose e frutossamina.....</i>	<i>112</i>
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	113
5.9	PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	114
6	RESULTADOS.....	117
6.1	ARTIGO 1: EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE SUCO DE MAÇÃ NOS MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE: ESTUDO PILOTO.....	118

6.2 ARTIGO 2: CONSUMO DE MAÇÃ MELHORA O ESTADO ANTIOXIDANTE EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE, SEM ALTERAR AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE POTÁSSIO.....	136
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	157
REFERÊNCIAS.....	159
APÊNDICE A: Orientações dietéticas para os pacientes não diabéticos.....	202
APÊNDICE B: Orientações dietéticas para os pacientes diabéticos	206
APÊNDICE C: Orientações para o consumo das maçãs.....	210
APÊNDICE D: Formulário para coleta de dados (Ensaio I)	211
APÊNDICE E: Formulário para coleta de dados (Ensaio II).....	214
APÊNDICE F: Registro alimentar.....	216
APÊNDICE G: Resultados dos registros alimentares... ..	218
APÊNDICE H - Nota de imprensa (<i>Press release</i>).....	219
ANEXO A: Termo de Consentimento.....	221
ANEXO B: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa UFSC.....	225
ANEXO C: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa HGCR	226

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZANDO A PROBLEMÁTICA

A doença renal crônica (DRC) é um problema mundial de saúde pública (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; NIEMCZYK, NIEMCZYK, ROMEJKO-CIEPIELEWSKA, 2012; PEREIRA et al., 2016), que consiste em lesão e perda progressiva e irreversível das funções dos rins (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002). Está relacionada com o aumento na morbimortalidade e também com o decréscimo na qualidade de vida dos pacientes quando comparados à população em geral (NIEMCZYK, NIEMCZYK, ROMEJKO-CIEPIELEWSKA, 2012; CANNEY et al., 2018).

De acordo com o Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil, 2008-2010) que avaliou 14.636 adultos (54,4% mulheres e média de idade de 51 anos), aproximadamente 1 em cada 10 adultos participante, apresentava DRC (BARRETO et al., 2015). Considerando que a estimativa para população brasileira em 2017 foi de 207.660.929 milhões de habitantes (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2017), estima-se que existam de 3 a 6 milhões de brasileiros adultos com DRC (BARRETO MARINHO et al., 2017). Nos estágios mais avançados da doença, a sobrevivência desses pacientes está condicionada à utilização de terapia renal substituta (TRS) (BASTOS, KIRSZTAJN, 2011; RODRÍGUEZ-RIBERA et al., 2014). Dentre elas, a hemodiálise (HD) é o procedimento mais comum (SESSO et al., 2017), e consiste na circulação extracorpórea que promove a extração de solutos metabólicos e solventes em excesso do sangue, restaurando o balanço hidroeletrólítico (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; HIMMELFARB, IKIZLER, 2010; MCDONALD et al., 2014). Desta forma, a HD é efetiva em minimizar as anormalidades metabólicas (SHIVASHEKAR et al., 2012).

Os pacientes com DRC, como também aqueles submetidos à HD, apresentam alteração nas moléculas oxidantes e antioxidantes, resultando em estresse oxidativo (EO) (SINGH et al., 2006; COSTA-HONG et al., 2009; TUCKER et al., 2013; PALLESCHI et al., 2016), o qual, por sua vez, aumenta o comprometimento da função renal (HACIŞEVKI, 2008; COSTA-HONG et al., 2009, KHOSROSHAHI et al., 2018).

O EO é gerado pelo desequilíbrio entre a geração das espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) e o sistema antioxidante que sequestra ou reduz a concentração destas espécies reativas. Esse

desequilíbrio redox, causado pelo aumento na produção das espécies reativas e/ou na diminuição dos antioxidantes, acarreta danos às proteínas, carboidratos, lipídeos e ao ácido desoxirribonucleico (DNA) (SHIVASHEKAR et al., 2012).

Os marcadores de EO, estão elevados nos pacientes submetidos à HD, incluindo o estado oxidante total (EOT), o índice de estresse oxidativo (IEO), os F2-isoprostranos, os hidroperóxidos lipídicos, a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox) e os produtos de oxidação proteica avançada (MAFRA et al., 1999; DOUNOUSI et al., 2006; SINGH et al., 2006; JOHNSON-DAVIS et al., 2011; COOMBES, FASSETT; 2012; TBAHRITI et al., 2013; RUSKOVSKA, JANSEN, ANTAROROV, 2014; YILDIZ et al., 2014; YILMAZ et al., 2016). Além disto, concentrações aumentadas de malondialdeído (MDA) gerado pela peroxidação lipídica e a diminuição do sistema antioxidante, devido às concentrações menores das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), também foram relatados (MAFRA et al., 1999; YILMAZ et al., 2006; SUNG et al., 2013, MODARRESIA et al., 2017).

Os mecanismos de aumento do EO nesses pacientes são multifatoriais e incluem: a doença renal *per se*, limitações dietéticas na ingestão de antioxidantes associados à desnutrição, perda de antioxidantes durante a diálise, o estado de uremia e a interação entre o sangue e a membrana de diálise (VARAN et al., 2010; COOMBES, FASSETT, 2012; SHIVASHEKAR et al., 2012; MCDONALD et al., 2014; RUSKOVSKA, JANSEN, ANTAROROV, 2014). A membrana de diálise tem relação com o aumento na produção de ERO nos pacientes, pois durante a sessão de diálise, há ativação de leucócitos e do sistema complemento através do contato do sangue com as membranas artificiais promovendo a produção de espécies reativas (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000). Somado a isto, tem-se a terapia intravenosa de ferro, que mesmo em doses recomendadas, pode agravar o EO nesta população (COLOMBO et al., 2017). Aliado a isto, o aumento nos níveis de ferro corporais exarceba a deficiência de licopeno e outros antioxidantes lipofílicos (COLOMBO et al., 2017).

Em função do comprometimento da filtração renal, os pacientes com DRC e aqueles submetidos à HD, necessitam restringir, em especial, a ingestão de alimentos fonte de potássio e de fósforo, para evitar a hipercalemia e a hiperfosfatemia, respectivamente (AHMED, WEISBERG, 2001; RAIMANN et al., 2013). Os alimentos ricos em potássio são as frutas, as verduras e os legumes (LIU, 2013), que também fornecem uma variedade de nutrientes como, vitaminas,

minerais, fibras e compostos bioativos, incluindo fitoquímicos, como os polifenóis (LIU, 2013). As fontes alimentares ricas em fósforo são as carnes bovina, suína, de frango, pescados, leite e seus derivados, leguminosas, amendoim e chocolate que contribuem com o conteúdo de macro e micronutrientes para a dieta (CARVALHO, CUPPARI, 2008). Desta forma, a ingestão de micronutrientes e antioxidantes dietéticos pode ficar comprometida nessa população (AHMADPOOR et al., 2009; NOORI et al., 2010; SCHUPP, HEIDLAND, STOPPER, 2010; STEIBER, KOPPLE, 2011; RAIMANN et al., 2013; SUNG et al., 2013), acarretando deficiências nutricionais (INAMOTO, 2003).

É pressuposto que alimentos fonte de antioxidantes, amenizem os danos renais causados pelo EO e que, compostos fenólicos presentes na dieta, atuem como antioxidantes (DORNAS et al., 2007).

A maçã, *Malus domestica* Borkh, é uma das frutas com teores não elevados de potássio (UNICAMP, 2011; MANZOOR et al., 2012), sendo rica em polifênóis, particularmente os flavonoides (AUCLAIR et al., 2008; HUBER; RUPASINGHE, 2009).

Foi demonstrado que a maçã, diminuiu o EO *in vitro* (LOTITO, FREI, 2004a; MAFFEI et al., 2007; CARRASCO-POZO et al., 2010) e *in vivo* em indivíduos saudáveis (MAYER et al., 2001; MAFFEI et al., 2007; BRIVIBA et al., 2007; STRACKE et al., 2010; VIEIRA et al., 2012), devido ao seu efeito antioxidante (MAYER et al., 2001; MAFFEI et al., 2007; BRIVIBA et al., 2007; STRACKE et al., 2010).

Observa-se, entretanto, que a quantidade de maçãs selecionadas por esses estudos *in vivo*, têm sido de grandes porções, tais como 5 unidades ou 1 kg, que não são facilmente consumidas diariamente, considerando-se o volume (MAYER et al., 2001; AVCI et al., 2007; STRACKE et al., 2010).

Desta forma, outros autores sugeriram o suco de maçã como um adjuvante no aumento da capacidade antioxidante plasmática (BITSCH et al., 2001; KO et al., 2005; VIEIRA et al., 2012) e na diminuição da oxidação lipídica (VIEIRA et al., 2012), em indivíduos saudáveis, após o consumo de 150 mL a 700 mL de suco (BITSCH et al., 2001; KO et al., 2005; VIEIRA et al., 2012). Sabe-se que a principal via de eliminação dos líquidos, é a urina e a maior parte dos pacientes submetidos à HD, apresentam diurese residual mínima ou anúria, necessitando de restrição hídrica como parte essencial do tratamento (NERBASS, CUPPARI, 2013).

Desta forma, é pressuposto que intervenções que priorizem a ingestão de antioxidantes dietéticos e que não comprometam as

concentrações séricas de potássio e a ingestão hídrica, sejam benéficas para minimizar o EO desses pacientes.

O grupo do Laboratório de Nutrição Clínica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), desenvolve pesquisas referentes a métodos de avaliação do estado nutricional e a partir de 2010, pesquisa o estado nutricional de pacientes submetidos à HD (GARCIA, 2012; GARCIA et al., 2013; FÜHR; WAZLAWIK; GARCIA, 2015; SZUCK et al., 2014; SILVA et al., 2018).

A partir de 2013, com o ingresso desta pesquisadora ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN) da UFSC, deu-se início à pesquisa relacionada com a temática do estresse oxidativo em pacientes submetidos à HD. A presente proposta tem como diferencial, a avaliação dos efeitos da ingestão de maçã e seu derivado (suco), nas concentrações dos marcadores de EO e nas concentrações séricas de potássio. Desta maneira, esta tese está inserida na linha de pesquisa II do PPGN/UFSC; Estudo Dietético e Bioquímico Relacionado com o Estado Nutricional, sob a orientação da professora Dra. Elisabeth Wazlawik.

Esta tese estrutura-se em sete capítulos. No Capítulo I, é apresentada a contextualização da problemática, expondo uma breve introdução do estudo, ressaltando-se a importância do mesmo e relacionando o potencial da maçã e seu derivado (suco), em modular o EO em pacientes submetidos à HD.

O Capítulo II, compreende a fundamentação teórica do estudo, abrangendo a revisão de literatura sobre os principais temas que permeiam o desequilíbrio redox nos pacientes submetidos à HD. Traz subsídios que suportam a maçã, como alimento antioxidante que pode ser aliado na diminuição do EO. O capítulo finaliza com a pergunta de partida que norteou este estudo.

No Capítulo III, são apresentados os objetivos do estudo, geral e específicos, onde são elencados os marcadores de estresse oxidativo e os parâmetros bioquímicos avaliados.

No Capítulo IV, foram destacados aspectos sobre a relevância e a originalidade da pesquisa, assim como a sua contribuição para a Ciência e para profissionais ligados à área da Nutrição e Nefrologia. Apresenta a justificativa para a realização deste estudo.

No Capítulo V, apresenta-se a descrição detalhada dos aspectos metodológicos que envolveram a estruturação e a condução do protocolo de pesquisa, incluindo a coleta, a análise e os procedimentos éticos adotados.

O Capítulo VI contém os resultados obtidos no estudo, os quais são apresentados na forma de artigos científicos. E por fim, o Capítulo

VII, é dedicado às considerações finais, incluindo conclusões sobre a conformidade dos resultados observados e em relação aos objetivos propostos, limitações do estudo e recomendações para futuras pesquisas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA

Os rins são órgãos fundamentais para a manutenção da homeostase do corpo humano, sendo que a diminuição da função renal implica no comprometimento de outros órgãos (BASTOS, BREGMAN, KIRSZTAJN, 2010). Entre outras funções, regulam a osmolalidade e o volume dos líquidos corporais, o balanço hidroeletrolítico e acidobásico, excretam produtos metabólicos, produzem e secretam hormônios (KOEPPEN, 2009).

A função renal é avaliada pela taxa de filtração glomerular (TFG) e a sua diminuição na doença renal crônica (DRC), é associada à perda das funções regulatória, excretória e endócrina dos rins (BASTOS, BREGMAN, KIRSZTAJN, 2010).

A DRC é um problema de saúde que afeta milhões de pessoas de todas as raças e grupos étnicos (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2012). Dados recentes, revelam que a DRC tem uma prevalência mundial estimada entre 11 a 13% (HILL et al., 2016). No Brasil, sua prevalência é incerta e de acordo com revisão sistemática realizada por Marinho e colaboradores (2017), a prevalência de DRC em adultos, variou de acordo com o método empregado para a definição da doença. De acordo com os inquéritos populacionais (que utilizaram o critério autorreferido), de 3 a 6 milhões de brasileiros seriam renais crônicos (MARINHO et al., 2017).

A definição de DRC de acordo com a *Kidney Disease Outcome Quality Initiative* (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002) é aceita mundialmente (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; BASTOS, KIRSZTAJN, 2011). Os critérios para definição da DRC são: $TFG < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ por um tempo ≥ 3 meses ou dano renal ≥ 3 meses definido como anormalidades estruturais ou funcionais do rim com ou sem decréscimo na TFG, manifestada por anormalidades patológicas ou marcadores de dano renal, incluindo anormalidades na composição do sangue ou urina ou anormalidades em testes por imagem (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002).

De acordo com os valores da TFG, a DRC possui 6 (seis) estágios funcionais, de acordo com o grau da função renal do paciente (Tabela 1) (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002).

Tabela 1 - Estadiamento e classificação da doença renal crônica

Estágio	Filtração glomerular (mL/min)	Descrição
0	> 90	Grupos de risco para DRC, ausência de lesão renal
1	> 90	Lesão renal com função renal normal
2	60 – 89	TFG levemente reduzida
3A	45 – 59	TFG moderadamente reduzida
3B	30 – 44	
4	15 – 29	Redução acentuada da TFG
5	< 15	DRC estando ou não em terapia renal substitutiva

DRC, doença renal crônica; TGF, taxa de filtração glomerular.

Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002.

Vários fatores de risco predisõem à lesão renal ou contribuem para a progressão da DRC (FALODIA, SINGLA, 2012). Entre as doenças que podem conduzir à DRC, destacam-se o diabetes *melittus*, a hipertensão arterial sistêmica e as glomerulonefrites (CHERCHIGLIA et al., 2010). Além destas causas, as genéticas como, por exemplo, a doença renal policística; as malformações, as doenças auto-imunes como o lúpus eritematoso sistêmico e as obstruções provocadas por tumores e cálculos renais, também podem levar à DRC (ERMIDA, 2009; SIVIERO, MACHADO, RODRIGUES, 2013). Destaca-se que no Brasil, de acordo com o último Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016, as causas mais frequentes de doença renal primária foram a hipertensão arterial sistêmica (34%), o diabetes *melittus* (30%), seguidos por glomerulonefrite crônica (9%) e rins policísticos (4%) (SESSO et al., 2017).

O tratamento ideal da DRC consiste no diagnóstico precoce da doença, encaminhamento imediato para tratamento nefrológico e implementação de medidas para preservar a função renal (BASTOS, KIRSZTAJN, 2011).

O estágio final da DRC é denominado insuficiência renal crônica em estágio final (do inglês *End Stage Renal Disease*, ESRD), e a sobrevivência do paciente está condicionada à utilização de métodos de filtragem artificial do sangue, tais como a hemodiálise (HD) e a diálise peritoneal ou à realização do transplante renal (AZEVEDO et al., 2009; MOURA et al., 2009; CHERCHIGLIA et al., 2010; PERES et al., 2010; BASTOS, KIRSZTAJN, 2011). Tais procedimentos são denominados terapias renais substitutivas (TRS) e, no Brasil, são autorizados, regulamentados e em sua grande maioria, subsidiados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (LUGON, 2009, BARRETO MARINHO et al.,

2017, SESSO et al., 2017). No Brasil, a prevalência de pacientes mantidos em diálise, vem aumentando consideravelmente nos últimos anos. De acordo com o Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016, o número total estimado de pacientes no país em 1º de julho de 2016 foi de 122.825 pessoas. Este número representa um aumento de 6,3% (31,5 mil pacientes) em relação ao ano de 2011 (SESSO et al., 2017).

Ainda de acordo com o Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016, 92% dos pacientes estavam em hemodiálise, sendo que para aproximadamente 91% destes, o tratamento (hemodiálise convencional – 3x/semana) foi pago com recursos do SUS (SESSO et al., 2017). Os gastos anuais do SUS, para o pagamento da terapia de diálise aumentou de R\$ 600 milhões em 2000, para R\$ 1,7 bilhões em 2009 e tem comprometido mais de 3% do orçamento do Sistema de Saúde Nacional, sendo, aproximadamente 90% deste pagamento direcionado às instituições privadas que oferecem o serviço (SCHMIDT et al., 2011). O SUS desembolsou, nos anos de 2008 e 2011, os valores de US\$ 723.841.688,56 e US\$ 970.354.599,98, respectivamente, com procedimentos de HD no país, sendo estimado um custo anual médio por paciente de US\$ 7.932,52 em 2008 e de US\$ 9.112,75 em 2011 (MENEZES et al., 2015).

2.2 HEMODIÁLISE

A HD objetiva eliminar o excesso de solutos e líquidos do sangue, utilizando uma máquina, que promove a circulação sanguínea extracorpórea, por meio de acesso sanguíneo, como a fístula arteriovenosa. O sangue obtido por meio deste acesso é impulsionado por uma bomba ao dialisador, o qual é separado da solução de diálise (dialisato), por uma membrana semipermeável, através do qual ocorre a filtração. Geralmente a HD é realizada três vezes na semana, por um período de quatro horas por sessão (CANZIANI; DRAIBE; NADALETTO, 2004; LUGON; MATOS; WARRAK, 2010). Cada sessão de HD, objetiva eliminar o excesso de líquidos até atingir o peso seco do paciente, que é definido como o menor peso que o paciente pode tolerar, sem o desenvolvimento de sintomas como caimbrãs, tonturas, náuseas, mal-estar e/ou hipotensão (HENDERSON, 1980; JAEGER, MEHTA, 1999).

O dialisato é uma solução eletrolítica com concentração semelhante à do plasma de indivíduos saudáveis. O sangue circula no dialisador em sentido contrário ao dialisato, proporcionando, assim, maior área para as trocas que ocorrem principalmente por difusão,

transferindo solutos do lado de maior concentração para o lado de menor concentração e por convecção, envolvendo a movimentação de solventes e água, devido à diferença de osmolaridade. Esse processo permite a restauração e manutenção dos equilíbrios hidroeletrolítico e ácido-básico (CANZIANI; DRAIBE; NADALETTO, 2004; LUGON; MATOS; WARRAK, 2010).

Embora a HD seja a TRS mais empregada e traga muitos benefícios, esta também pode levar a consequências clinicamente significativas. Entre estas, destaca-se um estado pró-oxidativo, devido à baixa biocompatibilidade das membranas da máquina e pela troca de endotoxinas (REDDY et al., 2010; TBAHRITI et al., 2013; MCDONALD et al., 2014). Estas alterações são pronunciadas em pacientes submetidos à HD, apesar de se manifestarem na doença, mesmo antes do início do tratamento hemodialítico (LOCATELLI et al., 2003; STOCKLER-PINTO et al., 2010, TABRIZIANI, LIPKOWITZ, VUONG, 2018).

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

Todos os animais necessitam de oxigênio para uma eficiente produção de energia, por meio da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria (KOHEN, NYSKA, 2002; HALLIWELL, 2006). A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo humano e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (HALLIWELL, 2006).

Estes radicais livres, cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio, são denominados de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou espécies reativas de nitrogênio (ERN) (HALLIWELL, 2006; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006; GUTTERIDGE, HALLIWELL, 2010).

As ERO e ERN têm importantes funções biológicas como a produção de energia, a fagocitose, a regulação do crescimento celular, a sinalização intercelular, a imunidade e a defesa celular e a síntese de substâncias biológicas (GOODYEAR-BRUCH, PIERCE, 2002). Quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio (HALLIWELL, 2006; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS et al., 2007; POSSAMAI, 2009).

O organismo humano sofre ação das ERO e ERN geradas por fontes exógenas, tais como: irradiação γ , alimentos, ultrassom, agrotóxicos, drogas, poluentes, raios X, radiação ultravioleta,

xenobióticos, toxinas; ou por fontes endógenas (KOHEN, NYSKA, 2002; POSSAMAI, 2009).

As principais ERO distribuem-se em dois grupos: as radiculares como hidroxila ($\text{HO}\cdot$), superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxila ($\text{ROO}\cdot$) e alcóxila ($\text{RO}\cdot$); e as não radiculares como oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HClO). Dentre as ERN incluem-se o óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (HALLIWELL, 2006; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).

O conceito de estresse oxidativo (EO) foi introduzido em pesquisas nas áreas da Biologia e da Medicina em 1985 (SIES, 2015). Ele ocorre devido ao desequilíbrio entre os sistemas antioxidante e pró-oxidante, com predomínio da ação oxidante, resultando em rompimento da sinalização e controle redox e/ou dano celular (SIES, 1993; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS et al, 2007; POSSAMAI, 2009, SIES, 2015). É resultado da diminuição das defesas antioxidantes, do aumento na produção de espécies reativas ou da combinação de ambos (SIES, 1985; POSSAMAI, 2009). A ocorrência de EO moderado, frequentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção excessiva de radicais livres pode causar dano e morte celular (ANDERSON, 1996; BIANCHI, ANTUNES, 1999).

2.3.1 Dano oxidativo

A excessiva produção de espécies reativas, induz ao dano molecular e/ou morte celular, que podem ocasionar alterações fisiológicas e processos patológicos (SIES, 1985; VALKO et al., 2006). Em sistemas biológicos, a membrana celular constitui um dos focos de atuação das ERO e ERN. Além da membrana que envolve a célula, as membranas das organelas intracelulares, entre elas, mitocôndria, retículo endoplasmático e núcleo, apresentam uma estrutura bilipídica e uma variedade de proteínas e açúcares (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 1990; MINOTTI, AUST, 1992). O dano celular resulta basicamente da ação das ERO e ERN em macromoléculas, como proteínas, ácido nucléico e lipídios (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 1990); podendo também, inibir a atividade enzimática na cadeia respiratória celular (MODARESI, NAFAR, SAHRAEI, 2015).

2.3.2 Dano às proteínas

As proteínas compõem as membranas celulares e as enzimas e são susceptíveis ao dano por ERO e ERN (GOODYEAR-BRUCH, PIERCE, 2002). Durante o EO, ocorre a fragmentação das cadeias proteicas e oxidação de quase todos os tipos de aminoácidos, particularmente a prolina, arginina e lisina, com produção de compostos carbonilados (BERGER et al., 1999). Os ataques aos aminoácidos que compõem as proteínas, podem gerar dano como, clivagens de ligações com ou sem geração de fragmentos, o que pode ter como consequência a perda da atividade enzimática, dificuldade no transporte ativo nas membranas celulares e morte celular (BERGER et al., 1999; GOODYEAR-BRUCH, PIERCE, 2002). As ERO e ERN que levam à oxidação proteica, incluem espécies radicalares, como a hidroxila e o superóxido, e espécies não radicalares, como o peróxido de hidrogênio, o oxigênio singlete e os peroxinitritos (KOHEN, NYSKA, 2002).

A formação do grupo carbonil é comum durante a oxidação e sua quantificação pode ser usada para medir a extensão do dano, sob condições de EO (URSO, CLARKSON, 2003; POSSAMAI, 2009). É necessário, porém, identificar a natureza do grupo carbonil, isto é, qual dos resíduos de aminoácido apresentou o dano. A ligação de certos aldeídos às proteínas, pode gerar carbonilas por glicoxidação, de modo que a presença de grupo carbonila não é, necessariamente, indicativa de oxidação de aminoácidos (VASCONCELLOS et al., 2007).

2.3.3 Dano ao DNA

O DNA é normalmente uma molécula estável, entretanto na presença de altas concentrações do radical hidroxila, ocorre o dano oxidativo (COOKE et al., 2003). As ERO podem atacar o açúcar desoxirribose e as bases purínicas e pirimidínicas. Como resultado, ocorrem: modificação nas bases do DNA, perda de purinas, quebra da cadeia do DNA, quebra das ligações entre as fitas e modificações nas suas bases, levando a mutações e apoptose. As células possuem mecanismos de reparo ao dano no DNA, que podem não ser suficientes na presença excessiva de ERO (BECKMAN, AMES, 1997; COOKE et al., 2003).

2.3.4 Peroxidação lipídica

As membranas das células e organelas contêm grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados. A fluidez da membrana, relaciona-se à presença de cadeias insaturadas dos fosfolipídios e do colesterol. Danos a esta camada lipídica, tendem a diminuir a fluidez e a permeabilidade, com expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com consequente morte celular (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 1990; MINOTTI, AUST, 1992; GIUSTARINI et al., 2009; FRANÇA et al., 2013).

A peroxidação lipídica é um processo de oxidação dos lipídios poli-insaturados (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007). A peroxidação lipídica das membranas das células e organelas mediada pelas ERO e ERN, altera a integridade estrutural, o transporte celular e a produção de energia (NIKI, 2009). O ataque por algumas espécies reativas que extraem um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poli-insaturados da membrana fosfolipídica, inicia o processo de peroxidação (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 1990; MINOTTI, AUST, 1992). Os radicais de carbono formados dessa maneira podem reagir espontaneamente com o oxigênio, formando radicais peroxila que propagam a cadeia de peroxidação, abstraindo átomos de hidrogênio para formar hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e novos radicais de carbono, levando à oxidação das moléculas de ácidos graxos (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 1990; MINOTTI, AUST, 1992; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007).

Os marcadores de peroxidação lipídica são classificados em primários (hidroperóxidos lipídicos) e secundários, que derivam da β -ruptura dos hidroperóxidos lipídicos. As principais técnicas utilizadas para a avaliação do EO, são baseadas na mensuração dos marcadores gerados pela peroxidação lipídica e utilizam amostras de plasma, soro ou urina (MARITIM, SANDERS, WATKINS, 2003; CODONER-FRANCH, et al., 2011).

Os hidroperóxidos lipídicos são produtos da peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados. Um dos métodos utilizados para se determinar a sua concentração em amostras biológicas, é o que utiliza o alaranjado de xilenol. Este método baseia-se no princípio de que os hidroperóxidos oxidam ferro Fe^{2+} a Fe^{3+} , que reagem com o alaranjado de xilenol, produzindo um cromóforo que tem absorção máxima em 560 nm (KNUTSON, HANDELMAN, VITERI, 2000; FRANÇA et al., 2013). Uma vez formado, os hidroperóxidos estão sujeitos à degradação, aumentando o potencial citotóxico (GIROTTI, 1998).

O malondialdeído (MDA) é um produto secundário da peroxidação lipídica, derivado da β -ruptura de endociclicização de ácidos graxos poli-insaturados, tais como o ácido linoléico, araquidônico e docosa-hexaenóico. O MDA é medido pela reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) formando como produto, um cromógeno de cor rosa fluorescente capaz de ser detectado através de leitura espectrofotométrica (FRANÇA et al., 2013). O teste do TBA não é específico para a detecção dos produtos de peroxidação lipídica, uma vez que quantifica a soma das diferentes substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, denominadas TBARS (do inglês *Thiobarbituric Acid-Reactive Substances*). Desta forma, os valores de TBARS incluem interferentes provenientes da reação do TBA com outras substâncias presentes na amostra, como açúcares, aminoácidos, proteínas, aminas e bilirrubina (GROTTO et al., 2007; FRANÇA et al., 2013).

Os isoprostanos (8-epi-prostaglandina $2\alpha,8$ -epi-PGF 2α) pertencem à família dos eicosanóides, de origem não enzimática e são produzidos pela oxidação do ácido araquidônico. Inicialmente, são formados nos fosfolípidios da membrana celular e depois liberados para os fluidos biológicos pela fosfolipase (VASCONCELOS et al., 2007; FRANÇA et al., 2013). Os F2-isoprostanos são produtos secundários da peroxidação lipídica, quimicamente estáveis, podendo ser dosados na urina (FLORENS et al., 2016).

As concentrações de diferentes espécies oxidantes podem ser medidas separadamente, pelas técnicas citadas anteriormente, para se determinar o EO (BONNEFONT-ROUSSELOT, 2000; EREL; 2005; CODOÑER-FRANCH, et al, 2010). Entretanto, foi constatado que estas técnicas, podem sub ou superestimar os resultados e/ou detectar falsos positivos (EREL; 2005); além de serem técnicas demoradas, onerosas e complexas (BONNEFONT-ROUSSELOT, 2000; EREL; 2005; HOROZ et al., 2011; CODOÑER-FRANCH, et al, 2010). Ainda, a mensuração de forma isolada, é pouco fidedigna, visto que, a síntese e os efeitos dos diferentes oxidantes no organismo são sinérgicos (CODOÑER-FRANCH, et al, 2010). Por conta disto, torna-se difícil definir um desequilíbrio entre o sistema antioxidante e oxidante; sendo interessante mensurá-lo, uma vez que o dano oxidativo ocorre quando há desequilíbrio neste sistema (EREL, 2005; VASCONCELOS et al., 2007).

Desta forma, tem sido sugerida a utilização da técnica estado oxidante total (EOT) (do inglês *Total Oxidant Status*, TOS) (EREL; 2005), a qual é utilizada como parâmetro adequado e prático para representar o estado oxidativo (CUMURCU, et al., 2009; ALTINDAG,

et al., 2008; WEI, et al., 2010; KILIC, et al., 2016); e o Índice de Estresse Oxidativo (IEO) (do inglês *Oxidative Stress Index*, OSI), um indicador do grau do EO (EREL, 2005).

Dentre as ERO medidas por meio da técnica EOT no soro, destaca-se como principais componentes o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos lipídicos (EREL, 2005). O IEO é baseado na razão entre o EOT e a capacidade antioxidante total (CAOT), refletindo o estado redox (AYCICEK, EREL, KOCYIGIT, 2005; HARMA, HARMA, EREL, 2005).

2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E A DOENÇA RENAL CRÔNICA

O EO é uma manifestação comum e um mediador das complicações da falência renal (TIRYAKI et al., 2014; TABRIZIANI, LIPKOWITZ, VUONG, 2018). Na progressão da DRC, o estado redox não está em equilíbrio e tende à oxidação, resultando em desajuste dos processos celulares com subsequente lesão tecidual (CRISTOL et al., 1994; SUNG et al., 2013; POULIANITI et al., 2016).

Existe correlação inversa entre os marcadores de EO (como por exemplo, o MDA e F2-isoprostranos) e a TFG em pacientes com DRC (FLORENS et al., 2016). À medida que os estágios da DRC avançam, o nível de EO aumenta (YILMAZ et al., 2006; DOUNOUSI et al., 2006; KAO et al., 2010; TBAHRITI et al., 2013, TUCKER et al., 2013; MODARESI, NAFAR, SAHRAEI, 2015).

É pressuposto que o EO é um fator contribuinte para a elevada morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares em pacientes com DRC e nos submetidos à HD (MAFRA et al., 1999; LOCATELLI et al., 2003; HACIŞEVKI, 2008; ALAMDARI et al., 2009, JOHNSON-DAVIS et al., 2011; COOMBES, FASSETT; 2012; CELIK et al., 2013; MCDONALD et al., 2014; RUSKOVSKA, JANSEN, ANTAROROV, 2014; MODARESI, NAFAR, SAHRAEI, 2015; FLORENS et al., 2016). O EO e o ambiente urêmico podem modificar os lipídeos e as lipoproteínas circulantes, alterando suas propriedades biológicas (FLORENS et al., 2016).

Nos estágios iniciais 1 e 2, a DRC é uma doença crônica inflamatória, principalmente devido à produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina-1b (IL-1b) e a interleucina-6 (IL-6) que promovem o EO (KDIGO, 2013; TBAHRITI et al., 2014; TAMAY-CACH et al., 2015). Nos estágios 3 e 4, há uma diminuição significativa nas concentrações plasmáticas das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD),

catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx) e glutationa redutase; levando a um aumento dos produtos oxidativos e à rápida progressão para o estágio final da insuficiência renal (estágio 5) (Tabela 1) (KDIGO, 2013; TAMAY-CACH et al., 2015).

É postulado que o EO nos pacientes submetidos à HD, é influenciado pela combinação da produção aumentada de ERO, da diminuição nas defesas antioxidantes e da influência genética (CRAWFORD et al., 2011; CRAWFORD et al., 2012; LIN et al., 2009; SUNG et al., 2013; TIRYAKI et al., 2014), sendo, o estado urêmico, a bioincompatibilidade das membranas de diálise, a hemodiálise *per se* e o tratamento medicamentoso, considerados os principais contribuintes ao EO (WARD, MCLEISH, 2003; WARD, OUSEPH, MCLEISH, 2003; WU et al., 2005; VARAN et al., 2010; SUNG et al., 2013; POULIANITI et al., 2016).

2.4.1 Síndrome urêmica

A síndrome urêmica é caracterizada pela retenção de compostos que normalmente seriam excretados pelos rins. Se estes compostos interferem com as funções biológicas são denominados de toxinas urêmicas ou solutos de retenção urêmica (DURANTON et al., 2012; STOCKLER-PINTO et al., 2016; FLORENS et al., 2016; KAMIŃSK et al., 2017). O comprometimento de funções bioquímicas e biológicas dos rins, resulta na perda de inúmeras funções, favorecendo a retenção urêmica (VANHOLDER et al., 2006; TAKI, TSURUTA, NIWA; 2007; SUNG et al., 2013).

Em 2003, o *European Uremic Toxin Work Group* (EUTox) publicou uma revisão dos solutos de retenção (DURANTON et al., 2012). Nesta análise, 90 diferentes solutos urêmicos foram identificados e subdivididos de acordo com suas características físico-químicas em: (1) compostos pequenos solúveis em água (peso molecular < 500 Da), (2) solutos ligados a proteínas, e (3) moléculas maiores (peso molecular > 500 Da) (VANHOLDER et al., 2003). Destes solutos, 68 foram caracterizados como tendo peso molecular menor que 500 Da. Entre as 22 moléculas maiores, 12 (54,5%) tinham peso molecular maior que 12.000 Da (VANHOLDER et al., 2003).

Na hemodiálise, os compostos pequenos solúveis em água são removidos facilmente, enquanto que as moléculas maiores são difíceis de remover, a menos que os dialisadores de alto fluxo, com maior permeabilidade, sejam utilizados. Os compostos ligados às proteínas são difíceis de remover, apesar do baixo peso molecular, porque a proteína

de ligação impõe resistência contra a transmembrana (VANHOLDER et al., 2006).

Em 2012, o EUTox publicou uma atualização sobre as toxinas urêmicas. Oitenta e sete registros forneceram medições no soro ou no sangue de um ou mais solutos em pacientes com DRC. Estes registros, descreveram 32 toxinas urêmicas previamente conhecidas e 56 solutos recém-relatados. Os artigos relataram com maior frequência, concentrações de β 2-microglobulina, indoxil sulfato, homocisteína, ácido úrico e o hormônio paratormônio. Comparado aos resultados anteriores, os artigos mais recentes relataram maiores concentrações urêmicas de muitos solutos, incluindo carboximetil-lisina, cistatina C e paratormônio (DURANTON et al., 2012).

Os solutos urêmicos estão frequentemente presentes, em ambiente pró-inflamatório, o que pode resultar na modificação oxidativa de moléculas retidas. Modificações oxidativas, por sua vez, alteram as propriedades das moléculas retidas que podem tornar-se pró-inflamatórias (WITKO-SARSAT et al., 1998). Torna-se difícil identificar, se todos os solutos urêmicos são resultado da oxidação (VANHOLDER et al., 2006).

Ainda, as toxinas urêmicas, como indol sulfato, p-cresol e p-cresol sulfato, que são produzidos a partir do metabolismo do triptofano dietético pelas bactérias intestinais, podem aumentar o EO, a inflamação ou ativar o sistema neuro-hormonal, resultando em fibrose cardiovascular e injúria oxidativa (HUANG et al., 2016).

Os pacientes em estágio final da DRC, possuem elevada concentração plasmática de homocisteína. Isto pode ser devido a: (1) excreção renal reduzida; (2) deficiências nutricionais das vitaminas cofatores B12, B6 e ácido fólico, levando a menor degradação da homocisteína; e (3) deficiência homozigótica em duas enzimas envolvidas no metabolismo da homocisteína (BIASIOLI et al., 2000; MASSY et al., 2001; SUNG et al., 2013).

A homocisteína induz ao EO, porque ela contém um grupo tiol altamente reativo que pode rapidamente se oxidar, na presença de oxigênio e metais de transição gerando ERO, incluindo, ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (LONG, NIE, 2016). Além disto, a homocisteína pode inibir a atividade das enzimas antioxidantes GPx e SOD (BIASIOLI et al., 2000; MASSY et al., 2001; SUNG et al., 2013).

2.4.2 As membranas de diálise e a produção de espécies reativas de oxigênio

As membranas de diálise estão envolvidas na produção de ERO em pacientes submetidos à HD. Neste procedimento, o contato das células mononucleares do sangue periférico (do inglês *Peripheral Blood Mononuclear Cell*, PBMC), dos fatores de complemento e das plaquetas, com os filtros e o dialisado, induzem a produção de ERO como parte da resposta imune, em poucos minutos após o início da sessão de diálise (WARD, MCLEISH, 2003; WU et al., 2005; GONZÁLEZ RICO et al., 2006; NÚÑEZ et al., 2010; ERRAKONDA et al., 2011; SUNG et al., 2013; GRANATA et al., 2015; LIAKOPOULOS et al., 2017).

O estudo de Wu et al. (2005) demonstrou que durante uma única sessão de diálise, o uso da membrana de polisulfona, teve um efeito mais brando sobre a produção de ERO quando comparado à membrana de celulose regenerada.

Varan et al. (2010) compararam duas membranas de diálise: a de cuprofano e a de polisulfona; nos marcadores do estado redox durante uma única sessão e concluíram que mesmo com uma membrana biocompatível como a polisulfona, houve desequilíbrio entre os compostos oxidantes e o sistema antioxidante. Os pesquisadores demonstraram que a sessão de diálise, tanto com a membrana de cuprofano ou polisulfona, aumentou as concentrações de MDA, sendo, no entanto, este aumento maior, com o uso da membrana de cuprofano.

No estudo de Núñez et al. (2010), concluiu-se que a membrana de polimetilmetacrilato (PMMA) diminuiu o EO, por diminuir as concentrações do marcador TBARS, quando comparada à membrana de celulose. Isto pode ser atribuído a algumas propriedades da membrana PMMA, como: melhor biocompatibilidade e consequentemente menor estímulo para as reações de peroxidação lipídica e/ou melhor capacidade de absorção das moléculas oxidantes (NÚÑEZ et al., 2010).

Ogunro et al. (2014) avaliaram os efeitos das membranas de celulose e polisulfona, sobre o estado redox antes e após a sessão de diálise. Os autores demonstraram que a atividade eritrocitária da SOD, foi significativamente reduzida após o uso de ambas membranas, assim como a capacidade antioxidante total plasmática, avaliada pela técnica TAS (do inglês *Total Antioxidant Status*) e das concentrações de glutathiona (GSH). Por sua vez, os níveis de MDA, aumentaram após o uso de ambos tipos de membrana (OGUNRO et al., 2014).

Zargari & Sedighi (2015) avaliaram o efeito da membrana de polisulfona nos marcadores de EO antes e após sessão de diálise. A atividade eritrocitária das enzimas SOD, CAT e GPx diminuíram significativamente após a sessão, assim como a capacidade antioxidante total, avaliada pelo método FRAP (do inglês *Ferric-Reducing Ability of Plasma*). Somado a isto, houve um aumento significativo nos níveis de peroxidação lipídica, avaliado pelo marcador TBARS, após a sessão de diálise. Os autores concluíram que a membrana de polisulfona pode causar EO na população que realiza HD (ZARGARI, SEDIGHI, 2015).

Além do EO gerado pelas membranas de diálise, estas podem propiciar a perda de antioxidantes hidrofílicos não-enzimáticos, como a vitamina C e ácido úrico, perpetuando o EO nos pacientes submetidos à HD (WARD, OUSEPH, MCLEISH, 2003; SUNG et al., 2013; MCDONALD et al., 2014; ZARGARI, SEDIGHI, 2015).

Aliado à bioincompatibilidade das membranas de diálise, contribuem para o EO em pacientes com doença renal: idade avançada, diabetes *melittus*, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, tabagismo, inflamação crônica, desnutrição e administração intravenosa de ferro (LOCATELLI et al., 2003; DOUNOUSI et al., 2006; AHMADPOOR et al., 2009; ALAMDARI et al., 2009; KAO et al., 2010; MEKKI et al., 2010; NÚÑEZ et al., 2010; COOMBES, FASSETT, 2012).

2.4.3 Ferro intravenoso

A anemia ocorre no início da doença renal e sua prevalência aumenta à medida que ocorre a diminuição da função renal (ABENSUR, 2010). A deficiência de eritropoietina é a causa mais comum de anemia nestes pacientes, mas também contribuem: a deficiência de ferro na dieta; a perda sanguínea; o hiperparatireoidismo; o estado inflamatório; a diminuição da meia-vida das hemácias; e a deficiência de ácido fólico e/ou vitamina B12 (AGARWAL et al., 2004).

A deficiência funcional de ferro nos pacientes submetidos à HD, pode estar ligada à eritropoiese aumentada, após a terapia com eritropoietina humana recombinante, no qual muitas vezes necessita de terapia intravenosa (IV) com ferro (LI, KSHIRSAGAR, BROOKHART, 2017). A correção da anemia, leva à melhora da qualidade de vida (AGARWAL et al., 2004), no entanto, a administração de ferro IV foi identificado como um fator contribuinte para o EO, nos pacientes submetidos à HD (DEL VECCHIO, LONGHI, LOCATELLI, 2016).

Em condições fisiológicas, no plasma, o ferro é transportado para outros tecidos ligado à proteína transferrina. Esta ligação impede que o ferro esteja disponível para as reações de oxido-redução. No entanto, na administração IV, o ferro férrico (Fe^{3+}) é liberado diretamente no plasma, permitindo que o peróxido de hidrogênio, gerado pelas mitocôndrias e células inflamatórias, reaja com Fe^{3+} , gerando Fe^{2+} , o radical hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) e o ânion superóxido. O Fe^{2+} gerado também reage com o peróxido de hidrogênio (reação de Fenton) gerando o radical hidroxila (AGUIAR et al., 2007). Além disto, o ânion superóxido, por sua vez, converte o Fe^{3+} a ferro Fe^{2+} (reação de Haber-Weiss), que fornece combustível para a produção contínua de radical hidroxila e perpetuação do EO (VAZIRI, 2016).

A administração IV de ferro aumentou os marcadores de EO em pacientes submetidos à HD, incluindo os produtos de oxidação lipídica (MDA) (VAN CAMPENHOUT et al., 2008; PEDRUZZI et al., 2015), do DNA e de proteínas (KUO et al., 2005).

2.4.4 Alterações mitocondriais e doença renal crônica

A mitocôndria participa da manutenção de funções celulares vitais, tais como: respiração celular e síntese de ATP, modulação do estado redox da célula, regulação osmótica, controle do pH, homeostasia do cálcio no citosol e sinalização intra-celular (PAROLIN, REASON, 2001). A função principal desta organela, é gerar energia para o metabolismo celular, a partir do sistema de fosforilação oxidativa (do inglês *Oxidative Phosphorylation System*, OXPHOS). (GRANATA et al., 2015a).

As células renais contêm mitocôndrias em abundância, e, portanto, a disfunção mitocondrial é fundamental no desenvolvimento de doenças renais (PEDRAZA-CHAVERRI et al., 2016). Achados recentes, demonstram o envolvimento da mitocôndria na progressão do dano renal na DRC (GRANATA et al., 2009; CHE et al., 2014), particularmente devido à redução no número de cópias do DNA mitocondrial (DNAm), perda do potencial de membrana da mitocôndria e queda na produção de ATP (SU et al., 2013). Essa queda na produção de ATP, exacerba o EO, pelo fato da desregulação mitocondrial gerar uma quantidade aumentada de ERO (GRANATA et al., 2015b).

A perda do potencial da membrana mitocondrial, por sua vez, resulta no aumento da permeabilidade mitocondrial, libertando o citocromo C (CytC), um fator pró-apoptótico. O EO resulta na dissociação do CytC da cardiolipina e forma um apoptossoma, levando à

ativação de caspases causadoras do processo de apoptose (PAROLIN, REASON, 2001; RASOOL et al., 2017).

Além disto, a atividade do complexo IV (fator chave na regulação da cadeia transportadora de elétrons) está diminuída nas PBMCs de pacientes com DRC e submetidos à HD (CHE et al., 2014). Isto causa uma queda na produção de ATP, gerando uma quantidade aumentada de ERO. Além disto, essa geração de ERO pela mitocôndria, ativa o inflamassoma de NLRP3 contribuindo com a microinflamação crônica relacionada à DRC (GRANATA et al., 2015b).

2.4.5 Marcadores de estresse oxidativo e hemodiálise

É esperado que após a sessão de diálise, ocorra uma diminuição nas concentrações dos marcadores de EO, em comparação ao período pré sessão. Entretanto, um significativo aumento nos valores desses marcadores é notado imediatamente após a sessão de diálise (SRINIVASA et al., 2001; YAVUZ et al., 2004; ALAMDARI et al., 2009; OGUNRO et al., 2014; RUSKOVSKA et al., 2014; ZARGARI, SEDIGHI, 2015), sendo este aumento, observado após uma única sessão (KOREVAAR et al., 2004; WU et al., 2005; MALAPONTE et al., 2007; KAO et al., 2010; MEKKI et al., 2010; ERRAKONDA et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2013; NAGANE, GANU, JAGTAP, 2013; YILDIZ et al., 2014).

Ruskovska et al. (2014) demonstraram que o estado oxidante de 32 pacientes submetidos à HD, avaliado pela técnica do EOT, estava significamente aumentado em comparação aos controles saudáveis (n = 47; sem DRC). Verificaram que os valores de EOT, elevaram-se em 22,4%, após uma única sessão de diálise. Horoz et al. (2011) também verificaram que os valores do EOT e IEO foram maiores em 47 pacientes submetidos à HD, do que em 24 controles saudáveis (sem DRC).

O tempo de tratamento em hemodiálise também é um fator que contribui para o EO. Valentini et al. (2008) demonstraram que as concentrações dos marcadores MDA e TBARS eram menores em pacientes que realizavam HD há pouco tempo (n = 36; duração da HD: $17,7 \pm 1,71$ meses), comparado aos pacientes que realizavam HD há mais tempo (n = 26; duração da HD: $82,2 \pm 6,32$ meses).

Os pacientes submetidos à HD são caracterizados por aumento dos produtos da peroxidação lipídica (LIAKOPOULOS et al., 2017). O aumento dos marcadores, MDA, F2-isoprostanos e hidroxinonenal (HNE) têm sido relatados nesta população (MORENA et al., 2005;

ATAMER et al., 2008; DE VECCHI et al., 2009; MEKKI et al., 2010; SUNG et al., 2013; OGUNRO et al., 2014). Maher e colaboradores, em 1987, relataram que após 30 minutos do início da sessão de diálise, os produtos de peroxidação lipídica aumentavam e hipotetizaram que a ativação do fator de complemento ou a produção de ácidos graxos livres induzidos pela heparina, poderiam ser os mecanismos fisiopatológicos subjacentes ao aumento do EO (MAHER et al., 1987). Desta forma, o processo de HD promove a formação e o acúmulo de produtos oxidativos por meio da ativação de plaquetas, do sistema complemento e das células polimorfonucleares (PMNs) (LIAKOPOULOS et al., 2017).

Os marcadores TBARS e os hidroperóxidos lipídicos estavam aumentados nos pacientes submetidos à HD, mesmo após um ano do início do tratamento hemodialítico (RAMOS, MARTÍNEZ-CASTELAO, 2008; CAIMI et al., 2009; TUCKER et al., 2013). Além disto, foi constatado que as concentrações de MDA diminuíram em 68%, 15 meses após o transplante renal, quando comparados às concentrações séricas de pacientes em diálise peritoneal (EMRE et al., 2011). Soleymanian et al. (2015) verificaram uma diminuição de 10,5% nas concentrações plasmáticas de TBARS, 3 meses após o transplante renal, em 32 pacientes iranianos.

Nguyen-Khoa et al. (2001) avaliaram 31 pacientes submetidos à HD na França e verificaram aumento no EO comparado a 18 controles saudáveis (sem DRC). O grupo dialisado, apresentou elevação nos marcadores TBARS e proteínas carboniladas e diminuição nas concentrações das enzimas SOD e GPx. Observaram também, uma relação inversa entre o tempo de duração da sessão de diálise e as concentrações de antioxidantes lipossolúveis, α tocoferol e ubiquinol.

Hacısevki (2008), em estudo realizado na Turquia, avaliou 64 pacientes submetidos à HD e verificou que as concentrações de MDA foram significativamente aumentadas, quando comparadas a 22 controles saudáveis (sem DRC). Além disto, a concentração plasmática da enzima GPx estava significativamente diminuída quando comparada aos controles.

No Irã, Montazerifar e colaboradores (2012) compararam 31 pacientes submetidos à HD com 31 controles saudáveis (sem DRC) e demonstraram aumento nos níveis de MDA e diminuição no sistema antioxidante enzimático (GPx e SOD) na população em HD. Na sequência, compararam somente os pacientes em HD, antes e após a sessão de diálise e encontraram os mesmos achados.

Zargari & Sedighi (2015) conduziram um estudo com 31 pacientes submetidos à HD e 31 controles saudáveis (sem DRC),

pareados por idade e sexo no Irã. Os autores relataram que as concentrações das enzimas antioxidantes SOD, GPx e CAT, diminuíram significativamente após à sessão de diálise. Somado a isto, ainda após a sessão, a capacidade antioxidante total plasmática diminuiu e os níveis eritrocitários do marcador TBARS aumentaram em comparação aos controles.

Antes de iniciar a HD e durante o tratamento, os leucócitos de pacientes com DRC apresentaram elevado dano no DNA, quando comparados aos de indivíduos saudáveis (CEPPIOĞLU, YURDUN, CANBAKAN, 2011; SUNG et al., 2013; TUCKER et al., 2013). Ceppioglu, Yurdun e Canbakan (2011) avaliaram 84 pacientes com DRC (41 pacientes submetidos à HD e 43 pacientes com DRC nos estágios 3 e 4) e 37 controles saudáveis (sem DRC) na Turquia e concluíram que o dano ao DNA avaliado pelo Teste Cometa, foi significativamente maior nos pacientes com DRC do que nos controles. Outros estudos, evidenciaram dano ao DNA associado com aumento no marcador 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8OHdG) (FUJIWARA et al., 2011) e com a oxidação de proteínas em pacientes com DRC (TUCKER et al., 2013). Xu et al. (2015) avaliaram o dano ao DNA, através do marcador 8-OHdG (8-hidróxi-2'-deoxiguanosina) em uma corte de 220 pacientes (55% homens; idade: $62,9 \pm 14,2$ anos) submetidos à HD (3x/semana; dialisados de 4 a 5 h/sessão), na Suécia. Concluíram que os níveis de 8-OHdG estavam aumentados nesta população quando comparados aos 83 pacientes (68% homens; idade: 64 ± 14 anos) em diálise peritoneal.

Na doença renal, as concentrações de proteínas carboniladas estão elevadas (KALOGERAKIS et al., 2005; FATOUROS et al., 2008) juntamente com as concentrações de F2-isoprostanos (TUCKER et al., 2013) e TBARS (FATOUROS et al., 2008). Além disto, as proteínas carboniladas aumentam com a severidade da DRC, sugerindo que este marcador acompanha a progressão da doença (MITROGIANNI et al., 2009).

Para diminuir as concentrações dos marcadores de EO, os oxidantes necessitam ser neutralizados através de um sistema antioxidante intra e extracelular, incluindo o enzimático e o não-enzimático (SUNG et al., 2013). A diminuição na atividade das enzimas antioxidantes plasmática e sérica em pacientes submetidos à HD, pode contribuir para o aumento no dano oxidativo e no desenvolvimento das complicações renais (MORENA, CRISTOL, CANAUD, 2000; HACIŞEVKI, 2008; TBAHRITI et al., 2013; MCDONALD et al., 2014).

2.5 DEFESAS ANTIOXIDANTES

A produção contínua de radicais livres, durante os processos metabólicos, leva ao desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante para limitar as concentrações intracelulares e impedir a indução de dano (SIES, 1993). Os antioxidantes são qualquer substância que, quando presente em baixa concentração, comparada a do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne a sua oxidação (HALLIWELL, 1995).

Os antioxidantes atuam de diferentes maneiras. Podem impedir a formação de radicais livres, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Ainda, interceptam os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, e podem reparar as moléculas oxidadas (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 1990; NOORI, 2012). Em algumas situações, pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta à geração desses radicais, com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (BIANCHI, ANTUNES, 1999).

O sistema antioxidante classifica-se em: enzimático e não-enzimático (SIES, 1993). As concentrações das enzimas antioxidantes nas células são importantes para a sobrevivência no ambiente aeróbico (BARNETT, KING, 1995).

Os eucariotos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase que reagem com os compostos oxidantes, protegendo as células e os tecidos do EO (HALLIWELL, 1995). O sistema antioxidante não-enzimático é formado por muitas substâncias, entre elas, a glutathione (GSH), principal composto antioxidante intracelular; o ácido úrico; pelas vitaminas C, E e carotenoides; minerais e pelos polifenóis (BIANCHI, ANTUNES, 1999; VESKOUKIS, TSATSAKIS, KOURETAS, 2012). Destaca-se que, a alimentação é fundamental para a obtenção de vitaminas, minerais e polifenóis (HALLIWELL, 1995; BIANCHI, ANTUNES, 1999).

Em estudos epidemiológicos e clínicos, além da avaliação dos antioxidantes separadamente, tem sido proposta a avaliação da capacidade antioxidante total (CAOT) dos fluidos biológicos. A CAOT é utilizada por ser considerada a interação que existe entre os antioxidantes no plasma ou no soro (VASCONCELOS et al., 2007) e a resistência aos agentes oxidantes (AHMADPOOR et al., 2009; MONTAZERIFAR et al., 2010) e ao EO (EVELSON et al., 2001; MONTAZERIFAR et al., 2010).

Os diversos métodos propostos na literatura para avaliar a CAOT, variam quanto ao tipo de radical gerado, ao indicador de oxidação escolhido e ao método usado para a sua detecção e quantificação. São chamados *trap assays*. Nestes ensaios, um radical é gerado e reage com moléculas-alvo, para produzir cor, fluorescência, quimioluminescência, perda ou ganho de sinais de ESR (do inglês *Electron Spin Resonance*). A presença de antioxidantes altera esses sinais, o que permite sua análise quantitativa (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007).

Dentre os métodos de avaliação utilizados, citam-se aqueles conhecidos pelas siglas TRAP (do inglês *Total Reactive Antioxidant Potential*), ORAC (do inglês *Oxygen-Radical Absorbancy Capacity*), FRAP (do inglês *Ferric-Reducing Ability of Plasma*) e TEAC (do inglês *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) (RE et al., 1999; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS et al., 2007). A determinação analítica de TRAP e ORAC envolve reações de transferência de átomos de hidrogênio, enquanto que FRAP e TEAC, referem-se a reações de transferência de elétrons (HUANG et al., 2005).

Medindo-se a CAOT pelo método FRAP, no plasma humano, observou-se que a CAOT é formada pela presença de: ácido úrico (60%), vitamina C (15%), proteínas (10%), α -tocoferol (5%), bilirrubina (5%) e outros (5%) (BENZIE, STRAIN, 1996).

Erel (2004) descreveu o método *Total Antioxidant Status* (TAS) para medir a capacidade antioxidante total em amostras biológicas, baseado na habilidade dos antioxidantes bloquearem o cátion radical estável ABTS (do inglês *2,2'-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic) diammonium salt*). A medição do TAS reflete o estado antioxidante geral do organismo (BASER et al., 2015). Por meio desse método, avaliado no plasma, a contribuição individual dos antioxidantes é: proteínas (53%), ácido úrico (33%), vitamina C (5%), α -tocoferol (2%), bilirrubina (2%) e outros (5%) (EREL, 2004).

2.5.1 Defesas antioxidantes enzimáticas

O sistema antioxidante enzimático evita o acúmulo do ânion radical superóxido e do peróxido de hidrogênio, sendo formado por diversas enzimas, destacando-se a SOD, a CAT e a GPx (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007).

A SOD representa o maior sistema de defesa contra o dano oxidativo. Ela dismuta enzimaticamente o radical superóxido, convertendo-o a oxigênio e peróxido de hidrogênio, que é menos reativo e pode ser metabolizado por outras enzimas, como a CAT e a GPx

(HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007). É importante ressaltar, que nenhuma outra enzima catalisa esta reação (MCCORD, EDEAS, 2005) e que a SOD é a primeira linha de defesa contra os danos causados pelas ERO (FRIDOVICH, 1995).

A CAT é uma hemeoproteína citoplasmática encontrada no sangue, medula óssea, mucosas, rim e fígado, cuja principal função é dismutar o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007). Está presente principalmente no peroxissoma das células, que é a principal organela responsável pela desintoxicação celular e pela oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, porém também existe no citosol das células. Sua atividade é dependente da nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase (GOODYEAR-BRUCH, PIERCE, 2002).

A GPx é uma selenoenzima, cuja função é catalisar a dismutação de peróxidos orgânicos e peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, utilizando a GSH. A GSH é oxidada neste processo, formando a glutathiona oxidada (GSSG) que é tóxica para as células. Desta forma, na presença de glutathiona redutase (GR), a GSSG é reduzida novamente à GSH às custas do NADPH (BABIOR, 1997; GOODYEAR-BRUCH, PIERCE, 2002; VALENTINI et al., 2007). A GPx apresenta-se sob 4 formas: GPx 1, encontrada nas hemácias e citoplasma de quase todos os tecidos; GPx 2, específica do trato gastrointestinal; GPx 3, encontrada no fluido do revestimento interno do pulmão e no leite materno, além do plasma de mamíferos, e a GPx 4, que atua nos peróxidos de resíduos de ácidos graxos nas membranas e lipoproteínas (URSINI et al., 1985; AVISSAR et al., 1994).

2.5.1.1 Defesas antioxidantes enzimáticas e doença renal crônica

Os rins são o principal sítio de síntese da GPx plasmática, que é capaz de acumular selênio (TEPEL et al., 2003; MODARESI, NAFAR, SAHRAEI, 2015). Os túbulos renais são o local proeminente da síntese de GPx e, em pacientes submetidos à HD, a atividade da GPx é reduzida à metade, como resultado da redução da massa ativa do néfron (MODARESI, NAFAR, SAHRAEI, 2015). Ahmadpoor et al. (2009), demonstraram que a atividade desta enzima estava notavelmente diminuída (60%) nos pacientes submetidos à HD e em diálise peritoneal, quando comparada aos controles saudáveis (sem DRC). Alguns autores têm indicado uma diminuição gradual na atividade da GPx com o avanço da DRC (ZACHARA et al., 2004; AHMADPOOR et al., 2009).

A GSH está diminuída em pacientes com DRC (EISELT et al., 2000; TUCKER et al., 2013; RASOOL et al., 2017). Na DRC, a GSH está negativamente correlacionada com as toxinas urêmicas (RUTKOWSKI et al., 2006; RUTKOWSKI et al., 2007; MODARESI, NAFAR, SAHRAEI, 2015) e positivamente correlacionada com o *clearance* de creatinina (TUCKER et al., 2013). Durante a sessão de diálise, foi observada significativa redução da GSH (HEMMATI et al., 2008; STĘPNIEWSKA et al., 2014; OGUNRO et al., 2014). Isto pode ser em decorrência a sua excessiva oxidação, à falta da sua forma reduzida ou à baixa atividade da γ -glutamil-cisteína sintetase necessária para a sua recuperação (ALHAMDANI, 2005; HEMMATI et al., 2008). Outro fator, poderia ser a perda de GSH durante a HD (VARAN et al., 2010). Foi proposto que quanto maior o tempo em que um paciente está submetido à HD, menores as concentrações de GSH (STĘPNIEWSKA et al., 2014). Uma diminuição na atividade da glutathione redutase também foi observada nestes pacientes (AHMADPOOR et al., 2009; STĘPNIEWSKA et al., 2014), o que propiciaria uma diminuída regeneração da GSH e um inadequado funcionamento do sistema antioxidante (TANDOĞAN, ULUSU, 2006). Além disto, a depleção da síntese de ATP pela mitocôndria, demonstrou redução nos níveis de GSH, uma vez que sua taxa de formação é mediada pelo ATP. É postulado que isso ocorra em todos os segmentos dos néfrons, exceto nos túbulos proximais (RASOOL et al., 2017).

Os polimorfismos podem contribuir para a modulação do grau de EO em pacientes submetidos à HD (CRAWFORD et al., 2011; CAI et al., 2012; TRABULUS et al., 2012; SUVAKOV et al., 2013). Pacientes em HD que apresentaram polimorfismos na família das proteínas da glutathione S transferase, que protege o DNA celular contra o dano oxidativo, estavam mais vulneráveis ao EO, quando comparados aos pacientes que não possuíam este polimorfismo (LIN et al., 2009; SUVAKOV et al., 2013).

Os estudos que avaliaram as concentrações da enzima SOD na DRC são contraditórios. Alguns relataram atividade diminuída (NAGA et al., 2007; VARAN et al., 2010; SHIVASHEKAR et al., 2012; GÜNAL et al., 2013; STĘPNIEWSKA et al., 2014; RASOOL et al., 2017), enquanto outros citam que a sua atividade estava dentro de concentrações consideradas normais (ATAMER et al., 2008) ou aumentada (KUO et al., 2005; COACCIOLI et al., 2010; NÚÑEZ et al., 2010; PUGALENDHI et al., 2012; STĘPNIEWSKA et al., 2014). Como existem várias isoformas de SOD (citossólica, mitocondrial e

extracelular), é difícil extrapolar os ensaios nos diferentes estudos (COACCIOLI et al., 2010; FLORENS et al., 2016).

A SOD tem relação inversa com a concentração de creatinina sérica e está positivamente correlacionada com a TFG (YILMAZ et al., 2006). Assim, a falta de consistência dos resultados, sugere que os achados das pesquisas devam ser cuidadosamente interpretados (TUCKER et al., 2013). O acúmulo do radical superóxido, especialmente em pacientes com DRC sem tratamento em HD, pode ser o responsável pelo aumento na peroxidação lipídica, o que poderia levar ao decréscimo na atividade da SOD (TBAHRITI et al., 2013).

A hipótese de que a DRC pode levar à sub regulação da SOD foi confirmada no estudo de Vaziri et al. (2003). Os autores conduziram a pesquisa com modelos animais de DRC e observaram que este grupo, exibiu uma significativa diminuição nas concentrações das enzimas CuZn-SOD e Mn-SOD nos tecidos renal e hepático. Diante disto, foi suposto que a DRC, resulte em severa redução das isoformas celulares da SOD e que a deficiência nesta enzima, pode contribuir, em parte, para a patogênese do EO no modelo experimental em animais (VAZIRI et al., 2003).

A CAT é uma enzima chave na defesa antioxidante durante a lesão renal. A perda da sua função leva ao aumento nos produtos de oxidação e à fibrose renal severa, resultando em doença renal progressiva (RASOOL et al., 2017). É proposto que a atividade da CAT esteja diminuída em pacientes com DRC (MEKKI et al., 2010; SHIVASHEKAR et al., 2012; GÜNAL et al., 2013; STĘPNIEWSKA et al., 2014; (RASOOL et al., 2017). Entretanto, outros estudos indicaram que a sua atividade enzimática estava normal (ATAMER et al., 2008; ROMEU et al., 2010) ou elevada na DRC (FATOUROS et al., 2008; KNAP et al., 2009), sugerindo que os resultados devam ser interpretados com cautela (TUCKER et al., 2013).

A relação entre a CAOT e a saúde do rim é influenciada por variáveis de confusão como o ácido úrico, (DOUNOUSI et al., 2006; PALLESCHI et al., 2007; AHMADPOOR et al., 2009) e como descrito previamente, existe uma variedade de técnicas utilizadas para a sua determinação, não se tendo um método de referência para este marcador (DOUNOUSI et al., 2006; AHMADPOOR et al., 2009; KUCHTA et al., 2011; MEHMETOGLU et al., 2012).

Em pacientes com DRC, os estudos que avaliaram a CAOT são controversos (AHMADPOOR et al., 2009; MONTAZERIFAR et al., 2010). Em pacientes submetidos à HD, antes da sessão de diálise, as concentrações da CAOT, estavam significativamente aumentadas em

comparação aos controles saudáveis (sem DRC) (JACKSON et al., 1995; SAMOUILIDOU, GRAPSA, 2003; PALLESCHI et al., 2007; AHMADPOOR et al., 2009; MONTAZERIFAR et al., 2010; REDDY et al., 2010; RUSKOVSKA, JANSEN, ANTAROROV, 2014), e após a sessão de diálise, significativamente diminuída (JACKSON et al., 1995; MALLIARAKI et al., 2003; SAMOUILIDOU, GRAPSA, 2003; PALLESCHI et al., 2007; MONTAZERIFAR et al., 2010; REDDY et al., 2010; RUSKOVSKA, JANSEN, ANTAROROV, 2014). Estes resultados, sugerem fragilidade no sistema de defesa antioxidante, devido à perda de ácido úrico e vitaminas antioxidantes, especialmente a vitamina C durante a HD (JACKSON et al., 1995; PALLESCHI et al., 2007; AHMADPOOR et al., 2009; MONTAZERIFAR et al., 2010; REDDY et al., 2010). Apesar da existência de correlação positiva entre as concentrações da CAOT e de ácido úrico antes da sessão de diálise, o ácido úrico isoladamente não pode ser considerado suficiente para proteger do aumento do EO em pacientes submetidos à HD (AHMADPOOR et al., 2009; MONTAZERIFAR et al., 2010). A capacidade antioxidante aumentada, não indica proteção contra o EO e não exclui a deficiência de antioxidantes (AHMADPOOR et al., 2009; MONTAZERIFAR et al., 2010).

Ruskovska et al. (2014) demonstraram que a capacidade antioxidante total, avaliada pela técnica do TAS, em 32 pacientes submetidos à HD, estava significativamente diminuída em comparação aos controles saudáveis (n = 47; sem DRC). Verificaram que nos pacientes, os valores do TAS diminuíram 35,2% após uma única sessão de diálise, reforçando a perda de antioxidantes durante o processo de diálise. Já Horoz et al. (2011) verificaram que os valores do TAS estavam diminuídos em 47 pacientes submetidos à HD, antes de realizarem a sessão de diálise, quando comparados aos 24 controles saudáveis (sem DRC).

Assim, a diferença entre os resultados, pode estar relacionada aos diferentes métodos utilizados para se avaliar a capacidade antioxidante total; como também a duração da doença e o protocolo de tratamento dos pacientes, idade, sexo e condições ambientais (MEHMETOGLU et al., 2012).

2.5.2 Defesas antioxidantes não enzimáticas

As defesas antioxidantes não enzimáticas, podem ser produzidas *in vivo*, como é o caso da GSH, da ubiquinona e do ácido

úrico, e obtidas por meio da dieta, como as vitaminas C, E, β -caroteno e os polifenóis (LIU, 2013).

O potencial antioxidante *in vivo* dos antioxidantes não-enzimáticos depende de algumas variáveis como: absorção e biodisponibilidade, condições fisiológicas, concentração plasmática; tipos de radicais livres gerados no processo oxidativo, em qual compartimento celular foram gerados e como foram gerados (BIANCHI, ANTUNES, 1999).

2.5.2.1 Vitamina C

A vitamina C ou ácido ascórbico é hidrossolúvel e termolábil, essencial ao homem, pois não pode ser sintetizada a partir da glicose que é seu precursor, como ocorre nas plantas e na maioria dos animais (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS et al., 2007).

Em sistemas biológicos, em pH fisiológico, 99,95% da vitamina C encontra-se na forma de ascorbato que é a forma em que atua como antioxidante, ao doar um H^{\bullet} ou $[H^+ + e^-]$ para um radical. O ascorbato atua como antioxidante sobre ERO e ERN, em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semidesidroascorbato ou ascorbila, pouco reativo. Atua eficientemente sobre o radical superóxido, o peróxido de hidrogênio, o hipoclorito e os radicais hidroxila e peroxila. O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, por impedir a iniciação da peroxidação lipídica ou indiretamente por regenerar a vitamina E que atua como antioxidante na face lipofílica da membrana. Além disto, o ascorbato pode regenerar o ânion radical urato, a partir do urato fechando o ciclo de atuação antioxidante do mesmo (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS et al., 2007).

2.5.2.2 Ácido úrico

O ácido úrico é a principal forma de excreção de nitrogênio das aves e dos répteis. Nos mamíferos, é um produto secundário de excreção, derivado das bases purínicas. Na maioria dos tecidos orgânicos, encontra-se na forma de ânion urato (LARSON, 1997; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).

O ácido úrico apresenta atividade antioxidante significativa e sua concentração no plasma, é superior a de outros antioxidantes. Em pH fisiológico, o ácido úrico é dissociado a urato. Este tem solubilidade menor em água e sua concentração encontra-se muito próxima de seu limite de solubilidade. O urato reage com o radical hidroxila, no entanto, é inerte aos radicais superóxido, ânion superóxido e peróxido de hidrogênio. Sozinho não é capaz de desativar o oxigênio singlete, porém no meio biológico, ele causa indiretamente sua desativação devido à desativação de outras espécies reativas. Sua reação mais importante é com os radicais peroxila e dióxido de nitrogênio. A desativação do radical peroxila é a base do efeito antioxidante protetor do DNA e de lipídios. Como ocorre em meio aquoso, o urato reage com o radical peroxila antes deste penetrar a membrana celular e iniciar o dano. O urato é capaz de recuperar estruturas atacadas previamente que se tornaram radicais livres, através da doação de um elétron e um próton. Ele também é responsável pela estabilização do ascorbato no plasma sanguíneo, inibindo a reação de Fenton através de sua capacidade de quelar íons metálicos como Fe^{+3} , Fe^{+2} , Cu^{+2} e Cu^{+} (LARSON, 1997; BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006; HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007).

Entretanto, em casos de hiperuricemia, a atividade antioxidante do ácido úrico é superada pela atividade pró-oxidante e pelos efeitos pró-inflamatórios resultantes do acúmulo de ERO. Assim, estes achados sugerem que o ácido úrico sérico poderia ser tanto um fator de risco ou de proteção, quando presente em concentrações aumentadas ou normais, respectivamente (SAUTIN, JOHNSON, 2008; MARION et al., 2011).

2.5.2.3 Glutathiona

A GSH é um tripeptídeo (*L*- γ -glutamil-*L*-cisteinilglicina) que exerce funções essenciais à célula, destacando-se como cofator da família das enzimas GPx, com sua oxidação à glutathiona dissulfeto (GSSG) (HUBER, ALMEIDA, FÁTIMA, 2008).

A GSH é encontrada em concentrações milimolares na maior parte das células e é, a principal contribuinte para o estado redox da célula. A capacidade redutora da GSH é determinada pelo grupamento SH, presente na cisteína e seu papel intracelular antioxidante inclui a desintoxicação de xenobióticos e de ERO (TORRES, SOARES, MAIA, 2004). Existe nas células na forma reduzida (GSH) e na forma oxidada (GSSG); podendo também estar covalentemente ligada às proteínas, por meio de um processo chamado glutathionação. A razão de

GSH/GSSG é determinada pelo estado redox da célula (MOSKAUG et al., 2005). A GSH é sintetizada enzimaticamente pela γ -glutamilcisteína sintetase (γ GCS) e pela glutatona sintetase, sendo a primeira, a enzima limitante da velocidade de sua formação (MOSKAUG et al., 2005).

A GSH é um tampão redox sulfidrílico que mantém os resíduos cisteinila da hemoglobina e de outras proteínas do eritrócito no estado reduzido. A GSH é o único tiol não protéico presente em espécies aeróbias e seu papel intracelular antioxidante inclui a detoxificação de xenobióticos e a neutralização de ERO. A falha nesta função resulta na formação de meta-hemoglobina e consequente incapacidade do eritrócito em transportar oxigênio, além de causar uma variação na forma do eritrócito, impedindo sua passagem para órgãos vitais. Além de sua função antioxidante, a GSH destaca-se na regulação da proliferação celular e resposta imune (SANTANGELO et al., 2004).

2.5.2.4 Fitoquímicos

Os antioxidantes provenientes da dieta constituem o sistema exógeno de defesa. Dentro deste contexto, têm-se os fitoquímicos provenientes de diferentes partes das plantas, tais como, sementes, vegetais, frutos, folhas, raízes, especiarias e ervas (SKERGET et al, 2005).

Os fitoquímicos englobam carotenóides (α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, astaxantina e licopeno); polifenóis: ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos), flavonóides (flavonóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, antocianidinas e isoflavonóides), estilbenos, cumarinas e taninos; alcalóides; compostos azotados (derivados da clorofila, aminoácidos e amins) e compostos organossulfurados (isotiocianatos, indoles, compostos de enxofre alílicos) (HALL, CUPPETT, 1997; LIU, 2003).

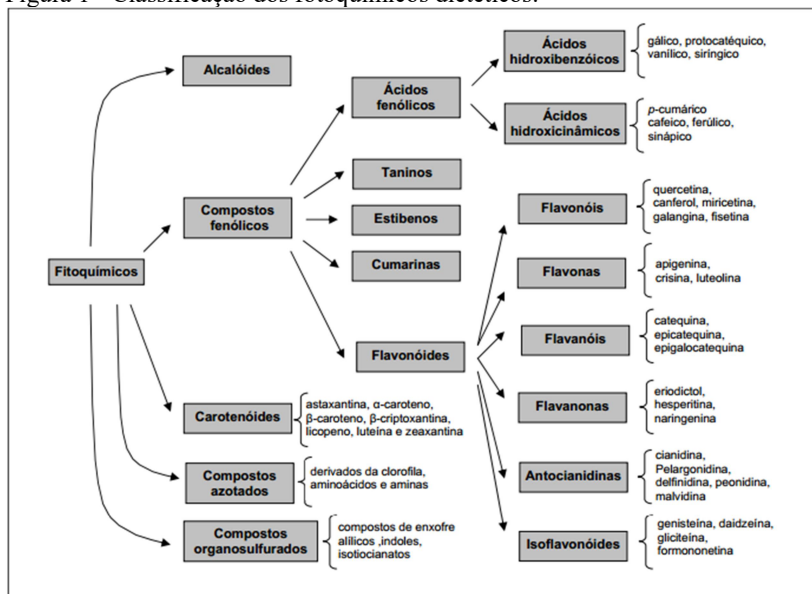
Os polifenóis são o maior grupo de fitoquímicos, com mais de 40.000 metabólitos secundários de plantas e as protegem de condições adversas do meio ambiente, do ataque de microorganismos e contribuem com o desenvolvimento de características que lhe conferem propriedades específicas, assim como proteção antioxidante contra os radicais livres gerados pela fotossíntese (DORNAS et al, 2007; VESKOUKIS, TSATSAKIS, KOURETAS, 2012; LIU, 2013; AMARARATHNA, JOHNSTON, RUPASINGHE, 2016). São frequentemente encontrados unidos a glicosídeos, sendo portanto, hidrossolúveis. Eventualmente podem ser encontrados nas plantas como agliconas (HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002; MANACH et

al., 2005). Mais de 8.000 compostos polifenólicos foram descritos (VESKOUKIS, TSATSAKIS, KOURETAS, 2012) e possuem como característica, mais de um grupo hidroxila ligado a um ou mais anéis aromáticos (SCALBERT, WILLIAMSON, 2000; MANACH et al., 2004; LIU, 2013).

Os compostos fenólicos se acumulam nas plantas (raízes, caules, folhas, flores, frutos), de acordo com as características da espécie, e são geralmente mais abundantes no tecido epidérmico, como nas cascas das frutas. Esta localização preferencial, é definida de acordo com o efeito da luz no metabolismo fenólico, bem como, com a proteção dos compostos fenólicos contra a radiação ultravioleta e fatores de estresse (FRANCINI, SEBASTIANI, 2013).

Os constituintes fitoquímicos são subdivididos em classes, de acordo com a estrutura química de cada substância. E dentre os compostos fenólicos, destacam-se: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos e cumarinas (Figura 1) (SCALBERT, WILLIAMSON, 2000; MANACH et al., 2004; MANACH et al., 2005; LIU, 2013).

Figura 1 - Classificação dos fotoquímicos dietéticos.



Fonte: LIU, 2003.

A maior fonte de ingestão de polifenóis é a dieta (PANICKAR, ANDERSON, 2011). É estimado que a ingestão diária seja de aproximadamente 1g/dia (SCALBERT, WILLIAMSON, 2000). São largamente encontrados em frutas, vegetais, cereais e bebidas. Foi estimado que frutas como uva, maçã, perá, cereja e *berries* contenham entre 200 – 300 mg de polifenóis por 100 g de peso fresco. Os produtos feitos a partir destas frutas, também contém polifenóis em quantidade significativa (PANDEY, RIZVI, 2009; ZHANG, TSAO, 2016).

As propriedades biológicas dos polifenóis dependem da sua biodisponibilidade. A evidência indireta de sua absorção por meio da barreira intestinal é o aumento da capacidade antioxidante do plasma após o consumo de alimentos ricos em polifenóis. A estrutura química dos polifenóis determina a sua taxa de absorção intestinal e a natureza dos metabólitos que circulam no plasma (SCALBERT, WILLIAMSON, 2000; MANACH et al., 2005). A absorção depende da quantidade, do veículo de administração, da dieta e da microbiota do cólon (HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002).

Dentre os benefícios dos polifenóis para a saúde humana, destacam-se seus efeitos antioxidante e anti-inflamatório. Os mecanismos destes efeitos são considerados decorrentes da sua capacidade em neutralizar os radicais livres, restaurar as atividades das enzimas antioxidantes e regular a inflamação induzida por citocinas (ZHANG, TSAO, 2016).

Os polifenóis podem inativar os radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a uma gama de ERO, ERN e espécies reativas de cloro (ERCl), incluindo: radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila (OH^{\cdot}), radical peroxil (RO_2^{\cdot}), ácido hipocloroso (HOCl) e ácido peroxinitroso (ONOOH) (TSAO, 2010; ZHANG, TSAO, 2016).

Os compostos fenólicos interrompem o estágio de propagação das reações em cadeia de autoxidação de lipídeos, atuando como neutralizadores de radicais ou como quelantes de metais, convertendo hidroperóxidos ou metais pró-oxidantes em compostos estáveis. Como quelante de metais, os compostos fenólicos podem inibir a redução do Fe^{3+} , diminuindo a produção de radical hidroxila (OH^{\cdot}) via reação de Fenton (PERRON, BRUMAGHIM, 2009; ZHANG, TSAO, 2016). Tanto os ácidos fenólicos como os flavonóides, possuem atividade de neutralização de radicais, no entanto, o potencial de quelar metais e de redução podem variar dependendo das suas características estruturais (TSAO, 2010; ZHANG, TSAO, 2016). Os polifenóis atuam como co-antioxidantes e estão envolvidos na regeneração de antioxidantes (TSAO, 2010).

O consumo de polifenóis tem demonstrado restaurar o estado *redox* celular, por aumentar a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx (ZHANG, TSAO, 2016). A modulação dessas enzimas pelos polifenóis, parece ocorrer via ativação do fator de transcrição Nrf2 (do inglês *Nuclear factor E2-related factor 2*) (CHUANG, MCINTOSH, 2011; PALSAMY, SUBRAMANIAN, 2011).

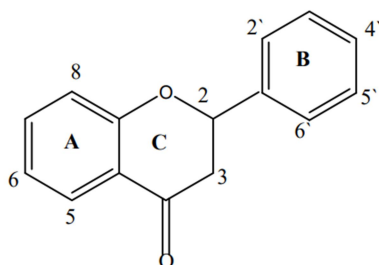
Em condições basais, o Nrf2 encontra-se inativo no citoplasma, ligado ao complexo Keap1 (do inglês *Kelch ECH associating protein 1*), o qual impede sua translocação para o núcleo. No entanto, em resposta ao EO, o Nrf2 dissocia-se do Keap1 e transloca-se para o núcleo, onde se liga aos elementos de resposta antioxidante (do inglês *Antioxidant responsive elemento*, ARE), ativando a transcrição de enzimas antioxidantes (CHAPPLE, SIOW, MANN, 2012; TAKAYA et al., 2012; SÉFORA-SOUSA, DE ANGELIS-PEREIRA, 2013). Neste contexto, os flavonoides e seus metabólitos podem induzir a dissociação do complexo Keap1/Nrf2, induzindo a atividade transcricional do Nrf2, regulando a atividade das enzimas antioxidantes (ZHANG, TSAO, 2016).

Os flavonoides, os fitoquímicos mais abundantes em nossa dieta (60% dos polifenóis), contribuem com a elevada capacidade antioxidante observada em frutas e vegetais (KO et al., 2005; RAMOS, 2007). Mais de 10.000 flavonoides já foram identificados (KOZŁOWSKA, SZOSTAK-WĘGIEREK, 2014), e são definidos como compostos que têm núcleo aromático com substituintes hidroxilados e/ou derivados funcionais (SANTOS, 2010). Estes compostos apresentam uma estrutura comum de difenilpropano ($C_6O_3C_6$), consistindo em dois anéis aromáticos unidos por três carbonos. O anel A apresenta um padrão característico de hidroxilação na posição cinco e sete. O anel B é normalmente hidroxilado nas posições 4', 3'4' ou 3'4'5' (Figura 2) (DORNAS et al., 2007; CAMMERER, 2012). Os flavonoides apresentam intrínseca variação estrutural devido às diferenças estruturais no anel aglicona e no seu estado de oxido-redução; diferenças no número e posicionamento de hidroxilas; e por diferenças na derivação dos grupos hidroxila (SANTOS, 2010). São subdivididos em seis grandes subclasses, baseado na variação do anel heterocíclico C (KOZŁOWSKA, SZOSTAK-WĘGIEREK, 2014), conforme demonstrado na Figura 1.

2.5.2.5 Atividade antioxidante dos flavonoides

As dietas ricas em frutas e vegetais parecem diminuir o risco de doenças, como as cardiovasculares e de alguns tipos de câncer (PANDEY, RIZVI, 2009; PALOMO et al., 2010; ZAMORA-ROSA et al., 2011; BAO et al., 2013, FRANCINI, SEBASTIANI, 2013; LIU, 2013; HUYUT, BEYDEMIR, GÜLÇİN, 2017), interferindo na produção de ERO e minimizando o EO (STEFFEN et al., 2003; GOTTLIEB et al., 2010; HUYUT, BEYDEMIR, GÜLÇİN, 2017).

Figura 2 - Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: Dornas et al., 2007.

A capacidade antioxidante dos polifenóis é determinada pela sua estrutura; em particular por hidroxilas que podem doar elétrons e suportar como resultado a deslocalização em torno do sistema aromático (HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002; HALLIWELL, 2007; CAMMERER, 2012). Outro determinante estrutural importante, é a capacidade antioxidante dos flavonoides, atribuída às hidroxilas que atuam no aumento do potencial antioxidante (DORNAS et al., 2007)

Os flavonoides podem agir como agentes redutores, doadores de hidrogênio, sequestrantes do radical superóxido e oxigênio singlete e como quelante de metais de transição, diminuindo a formação de espécies reativas (HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002; HALLIWELL, 2007). Os flavonoides também reduzem os radicais de α -tocoferol, inibem as oxidases, atenuam o estresse de nitrosaminas e aumentam as concentrações de ácido úrico e moléculas de baixo peso molecular (HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002; PROCHÁZKOVÁ, BOUŠOVÁ, WILHELMOVÁ, 2011). Mesmo

baixas concentrações de flavonoides, estimulam a transcrição gênica para a síntese de GSH nas células (MOSKAUG et al., 2005).

Evidências sugerem que os flavonoides protegem o DNA do dano induzido por radicais livres por meio de mecanismo sequestrante, podendo diminuir a incidência de quebra da cadeia dupla (ANDERSON et al., 2000; CAMMERER, 2012). Por atuarem como agentes quelantes de íons metálicos, é proposto que inibam o início da peroxidação lipídica (RIETVELD, WISEMAN, 2003; CAMMERER, 2012).

Muitos flavonoides podem diminuir o EO, induzindo a formação da glutathione S-transferase e propiciando a detoxificação de agentes alquilantes, como herbicidas, pesticidas e xenobióticos (FIANDER, SCHNEIDER, 2000; CAMMERER, 2012).

Apesar dos flavonoides apresentarem uma grande capacidade antioxidante *in vitro*, a sua eficiência *in vivo* é limitada por sua biodisponibilidade que depende de alguns fatores, especialmente da matriz dos alimentos (MANACH et al., 2005; WRUSS et al., 2015). Além disto, a absorção dos flavonoides é baixa comparada a outros antioxidantes dietéticos (MANACH et al., 2004; CAMMERER, 2012). Muitos flavonoides são encontrados como β -glicosídeos ou polímeros e apresentam redução na absorção, a não ser que esta ligação seja rompida através da hidrólise pela microbiota intestinal. Desta forma, a biodisponibilidade de muitos flavonoides dietéticos pode ser limitada (ERLUND, 2004; CAMMERER, 2012).

A meia vida dos polifenóis no plasma raramente pode ser calculada com precisão. A meia vida das isoflavonas e da quercetina é de 4-8 horas e 11-28 horas, respectivamente. É considerado que seja de, aproximadamente 2 horas para antocianinas e 2-3 horas para flavanóis. Por sua vez, é considerado que algumas catequinas tenham eliminação mais lenta, provavelmente devido à elevada excreção biliar ou complexidade com as proteínas do plasma (STOCKER, BOWRY, FREI, 1991; CAMMERER, 2012). A concentração plasmática máxima para a maioria dos polifenóis é observada entre 1-8 horas após o consumo (MANACH et al., 2004), sendo no entanto, para os flavonoides entre 1-3 horas (MANACH et al., 2005).

Apesar das informações sobre os flavonoides e sua ação antioxidante *in vivo* serem escassas, é suposto que tenham uma contribuição significativa nas defesas antioxidantes (CAMMERER, 2012). Portanto, a ingestão/inclusão de frutas e vegetais na dieta dos pacientes submetidos à HD, torna-se uma promissora alternativa em se diminuir o EO e aumentar as defesas antioxidantes.

2.6 NUTRIÇÃO E HEMODIÁLISE

A desnutrição é comum em pacientes com DRC e naqueles submetidos à HD, sendo o comprometimento do estado nutricional relacionado ao aumento da morbidade, mortalidade e hospitalizações nesta população (MORAIS et al., 2005; RAIMUNDO et al., 2002; BARBOSA, JÚNIOR, BASTOS, 2007; SANTOS et al., 2013, CHAN et al., 2014; PALMER et al., 2015). O desequilíbrio nutricional torna-se mais grave com o progresso da DRC, devido à diminuição da ingestão dietética, enquanto a necessidade de uma ingestão diária adequada de macro e micronutrientes aumenta com as perdas de nutrientes e pelo catabolismo (KIM, LIM, CHOUÉ, 2015).

As características inerentes à modalidade dialítica podem interferir no hábito alimentar e/ou no estado nutricional do paciente (AVESANI et al., 2001). A variação no estado de hidratação imposta pelo próprio esquema de diálise, o longo tempo que o paciente permanece no centro de diálise, o uso de medicamentos e a ocorrência de comorbidades podem impor modificações nos hábitos alimentares dessa população (AHMED, KOPPLE, 1997).

Além disto, os especialistas em nutrição renal recomendam o termo *protein-energy wasting* (PEW) ou desnutrição energético-proteica, para referir-se ao comprometimento do estado nutricional de pacientes com DRC, no qual a diminuição nos estoques corporais de proteína e gordura não pode ser solucionada unicamente por meio da dieta (FOUQUE et al., 2008).

Os pacientes submetidos à HD, podem desenvolver deficiências de macro e micronutrientes devido: ao estado nutricional e inflamatório; às restrições dietéticas; à anorexia induzida pelas toxinas urêmicas; às alterações funcionais no sistema digestivo; às mudanças no paladar; à depressão e ao estresse emocional; à fadiga; ao uso de medicamentos que podem influenciar na absorção dos nutrientes; às constantes enfermidades intercorrentes; às perdas de nutrientes no dialisato, às alterações metabólicas e à diálise inadequada (LOMBARDO, CUSUMANO, 1996; MARTINS, 2001; CUPPARI et al., 2005; RAIMUNDO et al., 2002; BOSSOLA et al., 2011; KHOUEIRY et al., 2011; RIBEIRO et al., 2011; CHAN et al., 2014; KIM, LIM, CHOUÉ, 2015; JANKOWSKA et al., 2016; JANKOWSKA, RUTKOWSKI, DĘBSKA-ŚLIZIENÍ, 2017). Somado a isto, o contato do sangue com a membrana do capilar não totalmente biocompatível, estimula a resposta imunológica, aumentando o catabolismo (KAISEN, 1998; LOWRIE, 1998; YEUN, 1998).

Os pacientes submetidos à HD, podem apresentar deficiência de micronutrientes, como vitaminas do complexo B (tiamina, piridoxina, ácido fólico); vitamina C; ferro, selênio e zinco (DESCOMBES et al., 1993; BOHM et al., 1997; ERTEN, KAYATAS, 1998; MARTINS, 2001; SCHMITT, 2006; RIBEIRO et al., 2011; BOSSOLA et al., 2014; CHAN et al., 2014; JANKOWSKA, RUTKOWSKI, DEBSKA-ŚLIZIEN, 2017). A perda de micronutrientes pode ocorrer em todos os estágios da DRC. Nos estágios iniciais da doença, os micronutrientes são perdidos pela urina, devido a insuficiente reabsorção por transportadores específicos e/ou também, devido ao uso de diuréticos (JANKOWSKA, RUTKOWSKI, DEBSKA-ŚLIZIEN, 2017). Durante o procedimento de HD, além da ação catabólica, são perdidos aminoácidos, peptídeos e vitaminas hidrossolúveis para o dialisato. Esta perda pode estar ligada à hidrossolubilidade e ao baixo peso molecular destes compostos (BOHM et al., 1997; SCHMITT, 2006; BOSSOLA et al., 2014; CHAN et al., 2014).

A perda de ácido ascórbico durante uma única sessão de hemodiálise pode ser de 28% (JANKOWSKA et al., 2003). Recentemente, demonstrou-se que as perdas intradialíticas podem chegar a 60% (SIROVER et al., 2015). Essa perda de vitamina C, altera as vias dos antioxidantes enzimáticos, bem como a ação de antioxidantes hidrofóbicos como a vitamina E (GALLI et al., 1999; SCHIMITT, 2006). A perda de antioxidantes associada ao aumento na produção de ERO, decorrente da condição urêmica e da HD *per se*, contribuem para o aumento do EO (MORENA et al., 2002; SCHIMITT, 2006).

Em estudo realizado com 128 pacientes submetidos à HD, na Itália, com o objetivo de identificar a ingestão de nutrientes desta população, por meio do recordatório alimentar de três dias, a média de ingestão calórica e proteica foi de $22,9 \pm 9,1$ kcal/kg/dia e $0,95 \pm 0,76$ g/kg/dia, respectivamente. A ingestão diária de carboidratos e lipídeos representada como percentual calórico do total ingerido foi de $51,8\% \pm 8,9$ e $32,1\% \pm 7,1$, respectivamente. A média diária de ingestão de fibras foi de $11,8 \pm 6,1$ g. Os autores concluíram que a ingestão diária de calorias, proteínas e fibras estava abaixo dos valores recomendados pelo guia da *American Heart Association* (2000) (BOSSOLA et al., 2013).

Avesani et al. (2001) avaliaram os hábitos alimentares de 30 pacientes submetidos à HD, na cidade de São Paulo (SP) e concluíram que 43% deles trocavam uma refeição (almoço ou jantar) por um lanche no dia da diálise. Com relação à aversão a alimentos, 40% referiram a algum tipo de carne (boi, frango, porco, peixe ou embutidos). Dentre os

sabores, 63% referiram preferir o sabor salgado. Quanto às preferências alimentares, os alimentos ricos em proteínas foram referidos por 50% e os outros 50% preferiram os alimentos ricos em carboidratos. Os alimentos mais consumidos diariamente foram: arroz, pão, frutas, feijão e leite. A frequência de consumo diário de hortaliças foi significativamente menor do que a de frutas (27% e 67%, respectivamente).

Ribeiro et al. (2011) analisaram o comportamento alimentar de 90 pacientes submetidos à HD, na cidade de Belo Horizonte (MG), quanto ao hábito de jantar ou substituir esta refeição por lanches e a ingestão de macro e micronutrientes. Foi verificado que grande parte dos pacientes, possuía o hábito de jantar e fracionava suas refeições em 4 - 5 vezes ao dia. As pessoas que jantavam, apresentaram maiores valores medianos na ingestão calórica e protéica e as que faziam lanches, maiores valores no consumo lipídico. Em geral, com relação aos micronutrientes, foi observada uma baixa ingestão, inclusive nos pacientes que tinham o hábito de jantar (sendo ainda menor nos que substituíam esta refeição por lanche). Na maioria, os participantes não apresentaram ingestão excessiva de potássio e fósforo.

Machado, Bazanelli, Simony (2014) avaliaram o consumo de energia, proteína, fósforo e potássio, em 34 pacientes submetidos à HD, na cidade de Guarulhos (SP), por meio de registro alimentar de 3 dias. Os autores verificaram que o consumo médio de energia, proteína, fósforo e potássio correspondeu a 19,0 kcal/kg, 0,9 g/kg, 612,5 mg e 1400,2 mg, respectivamente, sendo inferior às recomendações estabelecidas pela *National Kidney Foudation* (2000).

Nos Estados Unidos, Khoueiry et al. (2011) avaliaram a dieta de 70 pacientes submetidos à HD que recebiam ou não suplementação vitamínica, sendo constatado que ambos os grupos apresentaram uma ingestão calórica e proteica abaixo da recomendada pela *National Kidney Foudation* (2000). Além disto, a maioria consumia uma dieta aterogênica, rica em gorduras saturadas e colesterol. A média de ingestão diária de fibras foi abaixo da recomendada (10,77 g) (KHOUEIRY et al., 2011).

Bovio et al. (2016), na Itália, avaliaram a ingestão alimentar durante 7 dias, de 14 pacientes submetidos à HD e a compararam com as recomendações do guia *European Best Practice Guidelines (EBPG)* (2007). Os autores concluíram que a média de ingestão diária de macronutrientes (energia, proteínas e fibras) e micronutrientes (cálcio, ferro, niacina, tiamina e riboflavina) estava inadequada, quando comparada ao *EBPG*.

Luis et al. (2016), na Espanha, avaliaram a qualidade da dieta utilizando o recordatório alimentar de três dias em 91 pacientes submetidos à HD. Setenta e sete por cento e 50% dos pacientes, apresentaram respectivamente, uma ingestão energética e protéica abaixo do recomendado pelos *guidelines: European Best Practice Guideline on Nutrition and Chronic Kidney Disease, Clinical Practice Guidelines for Nutrition in Chronic Renal Failure e K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Management of Dyslipidemias in Patients With Kidney Disease*. Embora metade dos pacientes atendesse às recomendações para a ingestão de gordura dietética, 92% dos participantes apresentaram excesso no consumo de gordura saturada. Apenas 22% dos pacientes, consumiam fibras adequadamente. Menos de 50% dos participantes atingiu as recomendações para ingestão de vitaminas e micronutrientes. Houve excesso na ingestão de fósforo, cálcio, sódio e potássio e deficiência em magnésio. Desta forma, de maneira geral, os pacientes submetidos à HD, não atendiam às recomendações dietéticas renais específicas.

Na Polônia, Jankowska et al. (2016) analisaram a ingestão dietética de vitaminas em 202 pacientes com DRC: 50 pacientes não dialisados, 62 pacientes em diálise peritoneal, 45 em hemodiálise e 45 transplantados. Os autores constataram que o conteúdo de vitaminas lipossolúveis da dieta foi insuficiente em todos os grupos analisados, com uma prevalência notavelmente elevada de deficiência de vitamina D. A ingestão média das vitaminas hidrossolúveis estava próxima da recomendada, com exceção do ácido fólico, que estava deficiente em todos os grupos. Os pacientes submetidos à HD estavam em maior risco de deficiência, enquanto que os transplantados tiveram uma ingestão mais apropriada de vitaminas por meio da dieta.

Kelly et al. (2017), conduziram uma metanálise com estudos de coorte, para avaliar a associação entre padrão dietético e mortalidade em pacientes com DRC. Um total de sete estudos envolvendo 15.285 participantes foram incluídos. O padrão alimentar saudável foi associado a um consumo maior de frutas e vegetais, peixes, legumes, cereais, grãos integrais e fibras; e a um baixo consumo de carne vermelha, sal e açúcar refinado. Esse padrão alimentar saudável foi associado com uma mortalidade menor (46 menos mortes por 1.000 pessoas ao longo de 5 anos) em pacientes com DRC.

Martins et al. (2017) investigaram a qualidade dietética e o consumo de alimentos ultraprocessados, em 153 idosos (≥ 60 anos) não institucionalizados submetidos à HD e em 47 idosos saudáveis (sem DRC), no Rio de Janeiro e São Paulo. Os autores concluíram que o

grupo de idosos submetidos à HD, apresentou pior qualidade dietética (consumo menor de frutas, folhosos verde escuros, vegetais, legumes, carnes e ovos) e maior consumo de alimentos processados e ultraprocessados. Além disto, a qualidade da dieta foi pior no dia de diálise, quando comparado ao dia de não-diálise.

Desta forma, destaca-se a importância de uma alimentação adequada, uma vez que a inadequação de nutrientes na dieta é frequente em pacientes submetidos à HD, podendo ser associada, ao aumento da morbidade e mortalidade (CHAN et al., 2014; KELLY et al., 2017).

2.6.1 Recomendações dietéticas para pacientes submetidos à hemodiálise

Apesar da importância de consenso nas recomendações dietéticas, para nortear a prescrição dietética (Quadro 1), deve ser destacado que a ingestão calórica deve ser adequada ao balanço nitrogenado e ao peso (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2000) e que a dieta deve atender às necessidades individuais de macro e micronutrientes.

A ingestão inadequada de nutrientes resultará em alterações no estado nutricional e na composição corporal que irão propiciar as complicações relacionadas à DRC (FOUQUE et al, 2008). O aumento da gliconeogênese e da formação de produtos residuais do metabolismo proteico agravam os sintomas urêmicos, além de estimular o catabolismo dos tecidos corporais (FAUSTO et al., 1996).

A cada sessão de diálise são perdidos em torno de 5 a 8 g de aminoácidos livres (LONDON et al., 2003; BATISTA, VIEIRA, AZEVEDO, 2004). Desta forma, a recomendação proteica, tem o objetivo de manter o balanço nitrogenado positivo ou neutro, dependendo do nível de estresse e do metabolismo (KALANTAR-ZADEH, KOPPLE, 2004; PINTO et al., 2009). A qualidade da proteína também é relevante, sendo priorizados no mínimo 50% de proteínas de alto valor biológico, com a finalidade de assegurar a ingestão de aminoácidos essenciais (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2000; SANTOS et al., 2006). As proteínas de alto valor biológico apresentam boa digestibilidade e aminoácidos essenciais, sendo fonte as carnes em geral, ovos e laticínios (PIRES et al., 2006).

Quadro 1 - Recomendações diárias de calorias e nutrientes para os pacientes submetidos à hemodiálise

Calorias e Nutrientes	Recomendação
Energia (kcal)	35 kcal/kg/dia para pessoas com < 60 anos 30 – 35 kcal/kg/dia para pessoas com ≥ 60 anos
Proteínas	1,2 g/kg/dia
Lipídeos	25 - 35% das kcal totais da dieta
Gordura saturada	≤ 7% das kcal totais
Gordura monoinsaturada	≤ 20% das kcal totais
Gordura poli-insaturada	≤10% das kcal totais
Carboidratos	50 – 60% das kcal totais
Fibras	20 – 25 g/dia
Sódio*	1.000 a 2.300 mg/dia
Potássio*	1.000 a 3.000 mg, ou 40 mg/kg de peso atual
Fósforo*	800 a 1.000 mg ou ≤ 17 mg/kg
Cálcio	≤ 2 g/dia
Magnésio	200 – 300 mg/dia
Ferro	Individualizado
Zinco	15 mg/dia
Vitamina B1	1,1 – 1,2 mg/dia
Vitamina B2	1,1 – 1,3 mg/dia
Ácido pantotênico	5 mg/dia
Biotina	30 µg/dia
Niacina	14 – 16 mg/dia
Vitamina B6	2 – 10 mg/dia
Vitamina B12	3 µg/dia
Vitamina C	60 – 100 mg/dia
Ácido fólico	1 – 5 mg/dia
Vitamina A	80 - 100 µg/dia
Vitamina D	Individualizada
Vitamina E	15 UI/dia

Fonte: Adaptado de Kalantar-Zadeh, Kopple, 2004; *Martins, Sato, Riella, 2013.

A recomendação dietética de fósforo deve ser individualizada, pois depende de fatores como a fase da doença, uso do medicamento Calcitriol, presença de doença óssea e concentração sérica de fósforo (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2000). A HD não é eficiente para a remoção do fósforo quando em excesso no plasma e, por isso, o controle deste mineral pela dieta é fundamental, visando a homeostase do cálcio e do fósforo para a manutenção da massa óssea. Entretanto, como é recomendado aos pacientes submetidos à HD uma dieta

hiperproteica e os alimentos com alto teor de proteína são naturalmente ricos em fósforo, isso pode contribuir para o aumento na ingestão do mesmo, cuja ingestão adequada é um desafio (RUFINO et al., 1998; CABRAL et al., 2005).

Em relação ao potássio, interfere na concentração plasmática desse mineral: a função renal residual, acidose, medicamentos, eficácia da diálise, constipação intestinal e o uso desse eletrólito nas soluções dialíticas (CUPPARI, AVESANI, KAMIMURA, 2013). Desta forma, a ingestão de potássio pela dieta, deve ser individualizada, observando-se a sua concentração plasmática. Conseqüentemente, na hipercalemia faz-se necessária a restrição de potássio, o que, por sua vez, propicia menor ingestão de constituintes fitoquímicos.

A maioria dos alimentos ricos em potássio, contêm elevado teor em fibras, vitaminas, antioxidantes e resíduos alcalinos (como frutas e vegetais frescos). Portanto, o principal desafio do manejo dietético do potássio, é manter um consumo de fibras adequado, ajustando-se a ingestão de água e de resíduos ácidos; porque a constipação e a acidose metabólica são, por si só, os principais fatores de risco para a hipercalemia (CUPISTI et al., 2018).

De acordo com o exposto, a fim de se estabelecer uma adequada recomendação dietética, é necessária uma análise rigorosa que inclui, além da ingestão calórica e proteica; a de potássio e fósforo; a de outros macro e micronutrientes e a de constituintes fitoquímicos. Desta forma, são fundamentais as informações sobre os padrões alimentares; a presença de sintomas e indicadores clínicos e de avaliação do estado nutricional de pacientes submetidos à HD (CHAN et al., 2014).

Sabe-se que as principais fontes de antioxidantes, fitoquímicos, vitaminas e minerais são as frutas e vegetais, seus sucos e chás. Como já referido, devido à necessidade de restrição na ingestão de potássio e água, pode haver deficiência na ingestão de antioxidantes presentes nos alimentos (KALANTAR-ZADEH, KOPPLE, 2004; ŞANLIER, DEMIRCIÖĞLU, 2007; STARK et al., 2011; KRISHNAMURTHY et al., 2012; SAHNI et al., 2012; BOSSOLA et al., 2014; CHAN et al., 2014).

2.6.2 Antioxidantes da dieta alimentar e hemodiálise

Espera-se que os alimentos, como as frutas, vegetais e chás atenuem os danos renais causados pelo EO, tendo em vista que os compostos fenólicos abundantes nestes alimentos, são antioxidantes (SCALBERT, WILLIAMSON, 2000; DORNAS et al., 2007).

Avesani et al. (2001) analisaram os hábitos alimentares de 30 pacientes submetidos à diálise peritoneal ambulatorial contínua e de 30 pacientes submetidos à HD, no Brasil, e concluíram que somente 67% dos pacientes que realizavam HD consumiam frutas diariamente, 13% o faziam de 2 a 3 vezes por semana e 3% raramente as ingeriam. A ingestão de frutas não foi diferente entre os dois grupos.

Lou et al. (2007) avaliaram a dieta de 28 pacientes submetidos à HD na Espanha e concluíram que a frequência diária de ingestão de frutas foi de 1,3 (\pm 0,4) porções/dia.

Com o objetivo de descrever as características nutricionais de 210 pacientes com DRC em estágio final, antes de iniciarem a terapia dialítica, Chan et al (2014) concluíram que o consumo de frutas e legumes, foi insuficiente em 41,3% (abaixo de 2 porções/dia) e 89,2% (abaixo de 5 porções/dia) dos participantes, respectivamente.

Wai et al. (2017) avaliaram a relação entre os hábitos alimentares e os desfechos clínicos relacionados à função renal, em uma coorte de 145 pacientes com DRC (estágios 3 e 4), na Austrália. Os autores concluíram que o padrão dietético saudável, definido como consumo de frutas e vegetais e consumo limitado de álcool, foi associado à progressão mais lenta da DRC e à maior sobrevida dos pacientes em estágio 3 ou 4.

Goraya et al. (2013) comparam se a ingestão *ad libitum* de frutas e vegetais (n = 36) ou de bicarbonato de sódio oral (1.0 mEq/kg por dia) (n = 35), durante 1 ano, poderia melhorar a acidose metabólica e diminuir o dano renal quando adicionados à dieta de pacientes com DRC no estágio 4 (TFG 15–29 ml/min per 1,73 m², potássio plasmático < 4,6 mEq/L). Os pacientes foram orientados a consumir as seguintes frutas: maçã, damasco, laranja, pêsego, pêra, uva passa e morango; assim como os vegetais: cenoura, couve-flor, berinjela, alface, batata, espinafre, tomate e abobrinha. Os autores concluíram que uma dieta *ad libitum* em frutas e vegetais frescos, propiciou o controle da acidose metabólica de maneira comparável ao bicarbonato de sódio, assim como reduziu o dano renal (avaliado pelo cálculo da TFG e dosagem da creatinina e albumina urinária) nos pacientes. Além disto, nenhum evento de hipercalcemia (> 4,6 mEq/L) foi relatado após um ano de seguimento com a dieta *ad libitum* em frutas e vegetais. Os autores atribuíram este fato, à excreção urinária de potássio que foi favorecida pela ingestão de ânions não cloretos provenientes dos alimentos vegetais.

Portanto, a utilização de frutas e vegetais, associado a um monitoramento nas concentrações plasmáticas de potássio, poderia ser

preconizado para pacientes com DRC (CHAUVEAU et al., 2018). Desta maneira, a utilização de frutas e legumes na dieta poderia tornar os pacientes submetidos à HD, menos susceptíveis ao aumento do EO.

2.6.3 Ingestão de alimentos ricos em polifenóis e diminuição do estresse oxidativo em pacientes submetidos à hemodiálise

Os estudos que relacionam a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes e os seus efeitos nos marcadores de EO em pacientes submetidos à HD são escassos.

Spormann et al. (2008) avaliaram o dano oxidativo em 21 pacientes submetidos à HD (14 homens, idade 21-79 anos, não fumantes, IMC= $26,04 \pm 3,83 \text{ kg/m}^2$), dialisados 3x/semana, por 4 a 5 horas. Após a ingestão de 200 mL de suco de frutas vermelhas, por quatro semanas, os pesquisadores concluíram que houve um decréscimo significativo na oxidação do DNA e de proteínas, na peroxidação lipídica e na ligação do fator NF- κ B ao núcleo, além de aumento da GSH. Esta redução no dano oxidativo foi atribuída ao alto conteúdo de antocianinas/polifenóis do suco.

Castilla et al. (2006) avaliaram os efeitos da suplementação dietética de 100 mL de suco de uva concentrado, por 14 dias, em 26 pacientes submetidos à HD (13 homens; idade média de 62 anos $\pm 3,4$) e 15 controles saudáveis (10 mulheres; média de idade 34,4 anos $\pm 3,3$; sem DRC). Foi constatado que, nos dois grupos, o consumo do suco aumentou a CAOT, avaliada pelo método TEAC, o conteúdo de α -tocoferol na partícula de LDL, não havendo alterações nas concentrações séricas de ácido úrico e vitamina C. Houve também, diminuição na concentração da proteína plasmática quimo-atrativa de monócitos, de LDL e apolipoproteína B e aumento do HDL e apolipoproteína A.

Shema-Didi et al. (2012) investigaram o efeito da ingestão do suco de romã nos marcadores de EO, inflamação, incidência de hospitalizações por infecções e progressão do processo aterosclerótico, com base numa combinação de variáveis de medição das artérias carótidas: espessura média da íntima, número e a estrutura das placas. O estudo foi randomizado, duplo cego, com 101 pacientes submetidos à HD que receberam 100 mL do suco (0,7mmol de polifenóis totais por porção) (n = 66) ou 100 mL de suco placebo (suco semelhante ao de romã em cor e sabor, sem polifenóis) (n = 35), três vezes por semana, durante a primeira hora da sessão de diálise, por 12 meses. As coletas de sangue aconteceram antes da intervenção, 3, 6 e 12 meses após o início

do estudo e 3 meses após o término. O processo aterosclerótico foi avaliado duas vezes: no início do estudo e após 12 meses da intervenção. A ingestão de suco de romã diminuiu significativamente a oxidação de proteínas (produtos da oxidação avançada de proteínas), a oxidação lipídica (MDA) e as concentrações de biomarcadores de inflamação (interleucina-6, fator de necrose tumoral, albumina e fibrinogênio). Esses efeitos benéficos foram anulados 3 meses após a interrupção da intervenção. A ingestão de suco de romã diminuiu significativamente a taxa de incidência de re-hospitalização por infecções durante os 12 meses do estudo. Além disso, 25% dos pacientes do grupo que ingeriram o suco de romã, tiveram diminuição na progressão do processo aterosclerótico. Em relação ao grupo placebo, 50% tiveram progressão do processo aterosclerótico. Os autores sugeriram que a ingestão prolongada do suco de romã, diminuiu os fatores de risco para as doenças cardiovasculares, atenuou a progressão da aterosclerose, melhorou a imunidade e, portanto, reduziu a morbidade dos pacientes submetidos à HD.

O mesmo grupo de pesquisadores, em 2013, num estudo randomizado, avaliou se uma única dose de suco de romã poderia atenuar o aumento do EO, avaliado pelos marcadores AOPP (produtos da oxidação avançada de proteínas) e MDA, induzido pela diálise e pela administração intravenosa de ferro. Vinte e sete pacientes submetidos à HD (média de idade $65,8 \pm 11,8$ anos) foram randomizados em dois grupos: 100mL de suco de romã que possuía 0,7 mmol de polifenóis ($n = 17$) e 100 mL de suco placebo ($n = 10$). O suco foi ingerido durante a primeira hora da sessão de diálise, juntamente com a administração de ferro. As amostras de sangue foram coletadas antes e após a sessão de diálise, sendo concluído que a ingestão do suco de romã, atenuou o aumento do EO induzida pela administração de ferro, durante a TRS (SHEMA-DIDI et al., 2013).

Em 2014, os mesmos pesquisadores, investigaram se o consumo do suco de romã, afetaria a pressão arterial e o perfil lipídico em pacientes submetidos à HD. O estudo foi randomizado, duplo cego com 101 pacientes que receberam 100 mL de suco de romã (0,7 mmol de polifenóis totais por porção) ($n = 66$) ou 100 mL de suco placebo ($n = 35$), 3 vezes por semana, durante a primeira hora da sessão de diálise, por 12 meses. As coletas de sangue e as três medidas de pressão arterial aconteceram antes da intervenção, 3, 6 e 12 meses após o início do estudo, sempre antes da sessão de diálise. O consumo de suco de romã diminuiu a pressão arterial sistólica, pressão de pulso (pressão arterial sistólica menos pressão arterial diastólica), diminuiu as concentrações

de triglicerídeos e aumentou as de HDL-colesterol; o que não foi observado no grupo que ingeriu o suco placebo. Estes resultados foram mais pronunciados em pacientes hipertensos, com concentrações aumentada de triglicerídeos e diminuída de HDL-colesterol. Os autores concluíram que o consumo regular de suco de romã, pode diminuir a pressão arterial sistólica e melhorar o perfil lipídico, podendo reduzir o aumento do processo aterosclerótico e a elevada incidência de doenças cardiovasculares nos pacientes submetidos à HD.

Stockler-Pinto et al. (2010), avaliaram o efeito da suplementação de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*, família *Lecythidaceae*) nos níveis de selênio e da enzima GPx. Oitenta e um pacientes submetidos à HD ($52 \pm 15,2$ anos; 55 homens e 26 mulheres; tempo de diálise $82,3 \pm 91,4$ meses) receberam durante 3 meses, 1 unidade de castanha (~ 5 g; $290,5 \mu\text{g}$ de selênio) por dia. As coletas de sangue aconteceram antes e após a intervenção. Os autores evidenciaram que as concentrações plasmáticas e eritrocitárias de selênio, aumentaram após a suplementação, assim como as concentrações eritrocitárias da GPx. Antes da suplementação, 11% dos pacientes tinham uma baixa atividade eritrocitária da enzima, sendo que após a intervenção, a atividade enzimática retornou aos níveis de normalidade em todos os pacientes.

O mesmo grupo de pesquisadores, em 2014, avaliou se o consumo de 1 unidade (~ 5 g) de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) por dia, durante 3 meses, teria efeito sobre os marcadores de EO e inflamatório em 40 pacientes ($53,3 \pm 16,1$ anos) submetidos à HD. Os autores verificaram que após 3 meses de suplementação, os níveis plasmáticos de selênio aumentaram, assim como os níveis eritrocitários da enzima GPx. Além disso, os marcadores de EO; 8-isoprostanos e 8-OH-dG e os marcadores de inflamação; TNF- α e interleucina-6, diminuíram após o período de intervenção. Os autores concluíram que a suplementação com a castanha do Brasil, foi efetiva em diminuir os marcadores de EO e de inflamação e em aumentar as defesas antioxidantes em pacientes submetidos à HD.

Rivara et al. (2015), avaliaram se a suplementação com suco de romã e seu extrato, eram seguros e tolerados (definidos como a ocorrência de eventos adversos e a capacidade dos participantes em completar cada segmento do estudo, respectivamente) por 24 pacientes submetidos à HD. Além disto, avaliaram os marcadores de EO (F2-isoprostanos e isofuranos) e de inflamação (proteína C reativa e interleucina 6). O estudo foi randomizado, *crossover* e os participantes (média de idade 61 ± 14 anos) foram divididos em 2 grupos: por 4 semanas receberam 100 mL de suco de romã (ingerido antes da sessão

de diálise) seguido por 4 semanas de 1.050 mg de extrato seco de romã ou vice-versa. Em cada caso, entre os dois períodos de intervenção, houve um período de *washout* de 4 semanas. Cada dose de suco de romã e extrato foi padronizada para fornecer 650 equivalentes de ácido gálico. Os autores concluíram que tanto o suco de romã como o extrato, foram seguros e tolerados pelos participantes do estudo. Entretanto, ao longo do período de estudo, nenhuma intervenção teve efeito significativo nos marcadores de EO e inflamação.

Na Espanha, Corredor et al. (2016), avaliaram os efeitos da suplementação de 100 mL de suco de uva não fermentado (5.888 ± 262 mg/L de polifenóis totais, 1.515 ± 98 mg/L de antocianinas e $7,5$ mEq/100mL de potássio), administrado na última meia hora de cada sessão de diálise, por 6 meses em 39 pacientes submetidos à HD (3x/semana; 3 h 30 min – 4 h/sessão). Os pacientes foram randomizados em dois grupos: 25 pacientes (15 homens; idade média de $66,16 \pm 2,55$ anos) que receberam a suplementação com suco e 14 pacientes controle (9 homens; média de idade $59,71 \pm 4,61$ anos). As coletas de sangue aconteceram duas vezes ao longo da intervenção (antes e após os 6 meses), sempre antes da sessão de diálise. Foi constatado que, o consumo do suco diminuiu o dano ao DNA (teste do Cometa), sem aumentar a CAOT, avaliada pelo método TEAC. Houve também, diminuição na concentração de LDL e de colesterol.

Desta forma, é fundamental avaliar se a ingestão de frutas com teores não elevados em potássio, pode contribuir para a diminuição dos marcadores de EO nos pacientes submetidos à HD, sem acarretar prejuízos a sua saúde. Neste cenário, a maçã destaca-se pela sua atividade antioxidante e pelo elevado conteúdo de compostos fenólicos (BOYER, LIU, 2004).

2.7 MAÇÃ (*MALUS DOMESTICA BORKH*)

A maçã (*Malus domestica* Borkh) é a fruta mais consumida no mundo. Para 2017/18, a produção mundial de maçã foi prevista em 77 milhões de toneladas (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2018). De acordo com a *World Apple and Pear Association* (WAPA) (2017), em 2013, o Brasil ficou em 12º lugar no *ranking* mundial de produção. Segundo dados do INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), em 2015, o Brasil produziu 613.828 toneladas de maçã, sendo que Santa Catarina contribuiu com 49%, Rio Grande do Sul 48% e Paraná 3% (IBGE, 2017). A previsão de cultivo de maçã no Brasil, para a safra 2016/17, foi

de aproximadamente 1,2 milhões de toneladas, distribuídos entre os estados de Santa Catarina (51,8%), Rio Grande do Sul (43,9%) e Paraná (3,6%) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ, 2017).

Aproximadamente, 55% das maçãs produzidas no Brasil são da variedade *Gala* e 40% *Fuji* (BRASIL, 2013a; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ, 2017).

No estado de Santa Catarina, têm-se como principais regiões produtoras São Joaquim, no Planalto Serrano e Fraiburgo, no Oeste do estado (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ, 2017). A região de São Joaquim tem apresentado crescimento na área plantada e na participação da produção. Contrário a este comportamento, a região de Fraiburgo apresenta redução atribuída à reestruturação pela qual passaram seus pomares. Essa região se caracteriza por possuir um clima mais quente e o relevo com pouca declividade, o que proporciona a utilização mais intensa da mecanização e de práticas de cultivo mais modernas. A variedade mais cultivada na região é a *Gala* (BITTENCOURT et al., 2011).

As características climáticas da região de São Joaquim são as mais favoráveis à produção da maçã. O clima frio e a oscilação da temperatura do início ao fim do dia, conferem mais açúcar e maior coloração às frutas. A variedade que mais se adapta às condições climáticas de São Joaquim e também a mais produzida é a *Fuji*, originária do Japão (BITTENCOURT et al., 2011).

O consumo de maçã no Brasil, em 2012, foi de 5,78 kg/habitante/ano, o qual pode ser considerado baixo se comparado à Argentina (13,4 kg/habitante/ano) e Chile (9,9 kg/habitante/ano), e baixíssimo, quando comparado aos Estados Unidos da América (EUA) (24,2 kg/habitante/ano), Alemanha (25,9 kg/habitante/ano) e Reino Unido (27,8 kg/habitante/ano) (BRASIL, 2013a; KSCHONSEK et al., 2018).

As maçãs são amplamente consumidas frescas ou em forma processada, como sucos e maçã seca (FERRETTI, TURCO, BACCETTI, 2014) e possuem em sua composição pectina, fibras, vitaminas, oligossacarídeos e compostos fenólicos de diferentes classes (RAUDONE et al., 2016).

2.7.1 Antioxidantes da maçã

A maçã é rica em polifenóis, sendo a maior fonte de flavonoides na dieta Ocidental (BOYER, LIU, 2004; BRIVIBA et al., 2007). Em

estudo envolvendo as 25 frutas mais consumidas nos EUA, a maçã foi a maior fornecedora de polifenóis da dieta dos norte-americanos (33,1%), seguida pela laranja (14%), uva (12,8%) e morango (9,8%) (WOLFE, WU, LIU, 2003). Ainda de acordo com este estudo, as frutas que forneceram a maior atividade antioxidante foram: maçã (45,6%), morango (22%) e uva (12,5%) (WOLFE, WU, LIU, 2003).

A atividade biológica dos polifenóis da maçã foi avaliada *in vitro*, em culturas de células, e em modelos animais (BOYER, LIU, 2004; OSADA, SUZUKI, KAWAKAMI, 2006; MIURA, MIURA, YAGASAKI, 2007; D'ANGELO et al., 2017; DENIS et al., 2016; CHEN et al., 2017). Evidências sugerem que o consumo de maçã reduz o risco de câncer, asma, diabetes *melittus*, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e aquelas relacionadas à formação de ERO (BOYER, LIU, 2004; GERHAUSER, 2008; WOJDYŁO, OSZMIAŃSKI, LASKOWSK, 2008; HYSON, 2011; SOYALAN et al., 2011; FRANCINI, SEBASTIANI, 2013; RIBEIRO et al., 2014). As maçãs e seus subprodutos, como suco e extrato, têm sido incluídos em estudos relacionados com a saúde humana no mundo, devido ao seu valor nutricional (HYSON, 2011).

As maçãs contêm uma variedade de compostos fenólicos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos, além de nutrientes, como por exemplo, vitaminas e fibras (SETORKI et al., 2009; WANG et al., 2009; SERRA et al., 2010; RAVN-HAREN et al., 2013).

2.7.2 Composição química da maçã

A composição química da maçã, depende da variedade e da maturação da fruta que está associada à sua qualidade nutricional e sensorial, tais como sabor e cor (WU et al., 2007; VIEIRA, 2010).

A tabela 2 apresenta a composição química da maçã da variedade *Fuji* (UNICAMP, 2011).

A vitamina C encontrada na maçã, contribui com menos de 0,4% para a sua atividade antioxidante total, sugerindo que os compostos fenólicos encontrados na fruta, sejam os principais contribuintes da sua atividade antioxidante (EBERHARDT, LEE, LIU, 2000; GLISZCZYNSKA-SWIGLO, TYRAKOWSKA, 2003; TSAO et al., 2003; WOLFE et al., 2008; TSAO et al., 2005; SOYALAN et al., 2011; GIOMARO et al., 2014; SORIANO-MALDONADO et al., 2014; KSCHONSEK et al., 2018).

O principal fator determinante para a quantidade de compostos bioativos na maçã é a sua variedade. Existem diferenças significativas dos

compostos fenólicos em diferentes variedades de maçã. Foram identificados os constituintes: flavanóis (catequina, epicatequina e procianidinas), ácidos fenólicos (principalmente ácido clorogênico), dihidrochalconas (floreína), flavonóis (quercetina) e antocianinas (cianidinas) em diferentes variedades de maçã e seus derivados (KARAMAN et al., 2013; RAUDONE et al., 2016; KSCHONSEK et al., 2018). Dependendo da variedade, a maçã pode conter entre 110 a 357 mg de compostos fenólicos em 100 g da fruta (WOLFE et al., 2008).

Tabela 2 - Composição química da maçã da variedade Fuji (por 100 g de parte comestível).

Nutriente	Quantidade
Umidade (%)	84,3
Calorias (Kcal)	56
Proteínas (g)	0,3
Carboidratos (g)	15,2
Gorduras totais (g)	Tr*
Fibras (g)	1,3
Cálcio (mg)	2
Magnésio (mg)	2
Fósforo (mg)	9
Potássio (mg)	75
Zinco (mg)	Tr*
Cobre (mg)	0,06
Sódio (mg)	Tr*
Vitamina C (mg)	2,4

*Traço; Fonte: Informações nutricionais referentes à Tabela Brasileira de Composição Química de Alimentos versão 2011 (UNICAMP, 2011).

2.7.3 Compostos fenólicos da maçã

O teor e a composição dos compostos fenólicos podem variar dependendo da variedade da maçã, nutrição da planta, local de cultivo, clima, período de colheita, armazenamento refrigerado e tipo de tecido (casca ou polpa) (THIELEN et al., 2004; KAHLE et al., 2005; LATA et

al., 2005; LATA, TOMALA, 2007; PALOMO et al., 2010; KARAMAN et al., 2013; RAUDONE et al., 2016; LONČARIĆ, KOPJAR, PILIŽOTA, 2017; KSCHONSEK et al., 2018). Yuri et al. (2009) observaram que a atividade antioxidante foi de 4 a 15 vezes maior na casca do que na polpa, dependendo da variedade, indicando que a fruta deve ser ingerida por inteiro (WOLFE et al., 2008; KSCHONSEK et al., 2018).

Das dez variedades de maçã mais consumidas nos EUA, a *Fuji* e a *Red Delicious* apresentaram o maior teor fenólico e as maiores propriedades antioxidantes (BOYER, LIU, 2004). No estudo de Carbone et al (2011), realizado na Itália, avaliando três diferentes variedades de maçãs (*Fuji*, *Kiku* e *Hillwell*), a *Fuji* também apresentou o maior teor fenólico. O teor total de compostos fenólicos das maçãs representa 0,01 a 1% do peso da fruta *in natura* (GERHAUSER, 2008).

Estudos *in vitro* demonstraram que a maçã e seus extratos, assim como os seus polifenóis, possuem uma elevada capacidade antioxidante *in vitro*, incluindo a inibição da oxidação de LDL induzida pelo cobre (PEARSON et al., 1999; LOTITO, FREI, 2004a; BRIVIBA et al., 2007; GODYCKI-CWIRKO et al., 2010). A atividade antioxidante da maçã foi positivamente associada ao teor fenólico (GODYCKI-CWIRKO et al., 2010; CARBONE et al., 2011). Entretanto, esse aumento na capacidade antioxidante *in vitro*, não assegura os mesmos efeitos *in vivo*, após o consumo de maçã e seus derivados (BRIVIBA et al., 2007; GODYCKI-CWIRKO et al., 2010).

Têm sido questionado, se os polifenóis são a causa do aumento na capacidade antioxidante no plasma humano após a ingestão de maçã (LOTITO, FREI, 2004a; LOTITO, FREI, 2006; LOTITO, FREI, 2004b; GODYCKI-CWIRKO et al., 2010). Estas observações são baseadas, no fato que o consumo de maçã, fornece frutose que por sua vez propicia um rápido aumento nas concentrações plasmáticas de ácido úrico (LOTITO, FREI, 2004b; ZAWIASA et al., 2009). Uma vez que o ácido úrico tem atividade antioxidante (BENZIE, STRAIN, 1996; CHRZCZANOWICZ et al., 2008), isso pode resultar no aumento da CAOT no plasma, após o consumo de maçã *in natura* ou do seu suco (LOTITO, FREI, 2006). Além disto, sugere-se que a elevação dos polifenóis no sangue, induzida após o consumo de maçã, possa ser insuficiente, para ser o fator chave responsável pelo aumento da CAOT plasmática (LOTITO, FREI, 2006), por conta do seu rápido metabolismo (decorridas 12 h, os níveis de flavonóides plasmáticos estariam abaixo do limite de detecção) (DUPONT et al., 2002; SORIANO-MALDONADO et al., 2014).

A explicação para as diferenças entre os resultados dos estudos *in vitro* e *in vivo*, pode ser a baixa biodisponibilidade e as modificações enzimáticas (hidrólise e conjugação) dos polifenóis após serem consumidos. Isto pode afetar a sua atividade antioxidante e absorção, não sendo capaz de melhorar o sistema antioxidante endógeno em indivíduos saudáveis (BRIVIBA et al., 2007; GODYCKI-CWIRKO et al., 2010; RANA, SHASHI, 2016).

Dos ácidos fenólicos, os ácidos hidroxicinâmicos são os principais representantes (PETKOVSEK et al., 2007), sendo o ácido clorogênico identificado em maior quantidade tanto na polpa quanto na casca de diferentes variedades de maçã (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2003; PETKOVSEK et al., 2007; RAUDONE et al., 2016). As principais dihidrochalconas são a floridzina e a fletina e frequentemente, estão associadas a açúcares como a glicose e a xiloglicose (TSAO et al., 2003; KHANIZADEH et al., 2008).

Dentre os flavonoides, os flavonóis são encontrados principalmente na casca e frequentemente ligados a açúcares, tais como galactose, glicose, raminose, arabinose e xilose, sendo a quercetina 3-glicosídeo a principal representante deste grupo (HOLLMAN et al., 1997). Os flavanóis são a maior classe de compostos fenólicos presentes na maçã, tanto na casca quanto na polpa, podendo ser encontrados nas formas monoméricas, (+)-catequina e (-)-epicatequina, e em vários oligômeros e polímeros destas estruturas monoméricas (TSAO et al., 2005). A cianidina 3-galactosídeo foi a antocianina presente em maior quantidade em variedades de maçã vermelha ou parcialmente vermelhas sendo responsável pela coloração característica da mesma (TSAO et al., 2005; IGLESIAS, ECHEVERRÍA, SORIA, 2008; GERHAUSER, 2008).

Dentre os compostos fenólicos da maçã com atividade antioxidante, sugere-se que a quercetina tenha considerável contribuição. Com relação a sua biodisponibilidade, 2,5 h após a ingestão de maçã *in natura*, a concentração plasmática é de 90 ng/mL, tendo concentração maior na casca em relação à polpa (MAFFEI et al., 2007).

2.7.4 Atividade antioxidante *in vivo* após o consumo de maçã

Por meio de diferentes estudos e intervenções, foi verificado o efeito do consumo de maçã *in natura* nos marcadores oxidativos em humanos, demonstrado a seguir (Quadro 2).

Quadro 2 - Efeito do consumo de maçã *in natura* nos marcadores de estresse oxidativo em humanos (Continua).

Autores/Ano País/ População da pesquisa	Variedade da maçã/ Quantidade ingerida na intervenção	Conteúdo total de polifenóis da porção ingerida	Delineamento	Resultados/Conclusão
Mayer et al. (2001) Áustria 19 mulheres e 28 homens saudáveis	Mix das variedades: <i>Jonagold, Golden Delicious, Elstar e Gala</i> 1 kg/dia	2,71 ± 0,15 g/kg de equivalente de ácido ferúlico	5 dias Sangue coletado antes da intervenção, 3 h e 24 h após a ingestão do primeiro consumo e 24 h após o quinto dia da intervenção.	Aumento na capacidade antioxidante e nas concentrações de quercetina plasmática, 3 h após o primeiro consumo. O efeito foi transitório e não aumentou com a ingestão continuada da maçã, durante os dias de intervenção.
Lotito e Frei (2004) Estados Unidos 3 homens e 3 mulheres saudáveis	<i>Red Delicious</i> com casca 5 unidades	1.037 ± 38 g	Estudo de consumo agudo Sangue coletado antes, 1, 2, 3 e 6 h após a intervenção	Aumento da CAOT plasmática avaliada pela técnica FRAP e da concentração sérica de ácido úrico 1 hora após a ingestão das frutas.
Avci et al. (2007) Turquia 15 idosos	Não informado 1 unidade/dia	Não informado	30 dias Sangue coletado antes e após a intervenção	Aumento da GPx e SOD nos eritrócitos, da CAOT no plasma e diminuição nas concentrações de MDA após o período de intervenção.
Maffei et al. (2007) Itália 6 homens saudáveis (3 voluntários por grupo)	Homogeneizado de maçãs <i>Red Delicious</i> com casca 600 g	Não informado	Estudo <i>crossover</i> de consumo agudo (600g de homogeneizado de maçã ou 500 mL de água) Sangue coletado antes da intervenção, 3, 6 e 24 h após	Aumento de 64% na capacidade antioxidante do plasma após 3 e 6 h da ingestão de maçã, com retorno aos valores basais após 24 h. Diminuição na formação de espécies reativas de oxigênio geradas pela exposição ao peróxido de hidrogênio em linfócitos isolados, após 3 e 6 h. Diminuição do dano ao DNA de linfócitos isolados, 3 h após o consumo de maçã, com perda gradual do efeito protetor 24 h após o consumo.

CAOT, capacidade antioxidante total; FRAP, *ferric-reducing ability of plasma*; GPx, glutatona peroxidase; SOD, superóxido dismutase; MDA, malondialdeído.

Quadro 3 - Efeito do consumo de maçã *in natura* nos marcadores de estresse oxidativo em humanos (Continua).

Autores/Ano País/ População da pesquisa	Variedade da maçã/ Quantidade ingerida na intervenção	Conteúdo total de polifenóis da porção ingerida	Delineamento	Resultados/Conclusão
Briviba et al. (2007) Alemanha 6 homens saudáveis (3 voluntários por grupo)	<i>Golden Delicious</i> orgânica e convencional com casca 1 kg de maçãs em cada segmento do estudo	Orgânica (308 µg/g); convencional (321 µg/g).	Estudo <i>crossover</i> de consumo agudo, randomizado, duplo cego Sangue coletado antes e 1, 2, 3, 4,5, 6, 9, 12 e 24 h após a intervenção	Não houve alteração na capacidade antioxidante no plasma, nas quebras endógenas no DNA ou na proteção do DNA aos danos causados pelo peróxido de hidrogénio em linfócitos isolados. Diminuição significativa nas concentrações de endonuclease III e maior capacidade de proteção ao DNA contra danos induzidos por cloreto de ferro, verificados 24 h após o consumo, em ambos os grupos, indicando potencial antigenotóxico semelhante em ambas as formas de cultivo.
Stracke et al. (2010) Alemanha 6 homens saudáveis (3 voluntários por grupo)	<i>Golden Delicious</i> orgânica e convencional com casca 1 kg de maçãs em cada segmento do estudo	Orgânica (308 µg/g); convencional (321 µg/g).	Estudo <i>crossover</i> de consumo agudo, randomizado, duplo cego	Após a intervenção, as concentrações plasmáticas de fletretina (C_{\max} 13 ± 5 nmol / l, t_{\max} $1,7 \pm 1,2$ h) e ácido cumárico (C_{\max} ± 35 12 nmol / l, t_{\max} de $3,0 \pm 0,8$ h), aumentaram significativamente em ambos grupos, sem diferenças entre as formas de cultivo. A intervenção não teve efeito sobre a CAOT plasmática, avaliada pelos métodos TEAC e ORAC. Entretanto, a CAOT, avaliada pelo método FRAP, aumentou significativamente após 1 h do consumo das frutas de ambos cultivos.

CAOT, capacidade antioxidante total; TEAC, *trolox equivalent antioxidant capacity*; ORAC, *oxygen-radical absorbancy capacity*; FRAP, *ferric-reducing ability of plasma*.

Quadro 4 - Efeito do consumo de maçã *in natura* nos marcadores de estresse oxidativo em humanos (Conclusão).

Autores/Ano País/ População da pesquisa	Variedade da maçã/ Quantidade ingerida na intervenção	Conteúdo total de polifenóis da porção ingerida	Delineamento	Resultados/Conclusão
Stracke et al. (2010) Alemanha 43 voluntários saudáveis (divididos em 3 grupos)	<i>Golden Delicious</i> orgânica e convencional com casca Grupo 1 (n=16): 500 g de maçãs orgânicas, grupo 2 (n=16): 500 g de maçãs convencionais; grupo 3 (n=11): controle (dieta restrita de polifenóis e maçã)	Orgânica (518,5 ± 40,4 µg/g) e convencional (508,4 ± 76,6 µg/g)	5 semanas: 1 semana de dieta restrita de polifenóis e maçã e 4 semanas de intervenção Estudo randomizado, duplo cego	A ingestão de maçã não aumentou as concentrações plasmática e urinária de polifenóis após 4 semanas de intervenção. Não houve aumento na CAOT plasmática, avaliada pelos métodos TEAC, ORAC e FRAP.

CAOT, capacidade antioxidante total; TEAC, *trolox equivalent antioxidant capacity*; ORAC, *oxygen-radical absorbancy capacity*; FRAP, *ferric-reducing ability of plasma*.

Além de intervenções avaliando o consumo de maçã *in natura*, o suco da fruta, também tem despertado interesse e estudos recentes têm se concentrado na modulação do estado antioxidante e dos marcadores de EO (BITSCH et al., 2001; KO et al., 2005; VIEIRA et al., 2012).

2.7.5 Atividade antioxidante *in vivo* após o consumo do suco de maçã

O suco de maçã tem sido apontado como um adjuvante na diminuição do EO em indivíduos saudáveis, devido à sua atividade antioxidante (Quadro 3) (BITSCH et al., 2001; KO et al., 2005; VIEIRA et al., 2012).

Destaca-se que o suco de maçã extraído próximo ao seu consumo, tem concentração mais elevada em polifenóis do que o obtido comercialmente (GUYOT et al., 2003).

Quadro 5 - Efeito do consumo de suco de maçã nos marcadores de estresse oxidativo em humanos (Continua).

Autores/Ano País/ População	Delineamento	Período de intervenção	Resultados/Conclusão
Hyson et al. (2000) Estados Unidos 28 homens e mulheres saudáveis	Estudo <i>crossover</i> , randomizado, sem cegamento. Um grupo (n=14) ingeriu 375 mL de suco de maçã ao longo do dia e outro grupo (n=14) ingeriu 340 g de uma mistura de diferentes variedades de maçãs inteiras com casca (<i>Fuji</i> , <i>Red Delicious</i> , <i>Golden Delicious</i> e <i>Granny Smith</i>)	6 semanas	O consumo de suco de maçã aumentou o tempo <i>ex vivo</i> de oxidação da LDL mediada pelo cobre em 20% em comparação com o <i>baseline</i> . Após, o consumo da maçã e do suco houve diminuição na formação de dienos conjugados.
Bitsch et al. (2001) Alemanha 5 homens e 5 mulheres	Estudo de consumo agudo. 700 mL (248 mg de polifenóis totais) de suco de maçã da variedade <i>Bretbacher</i>	Agudo	Aumento na atividade antioxidante do plasma nos voluntários até 2 h após o consumo do suco.
Chrzczanowicz et al. (2008) Polônia 12 voluntários saudáveis	Estudo de consumo agudo. 1 litro de suco de maçã	Agudo	Aumento na atividade antioxidante no soro dos voluntários 1 h após a ingestão de suco.
Ko et al. (2005) Japão 10 homens saudáveis	Estudo de consumo agudo. 150 mL de suco de maçã, preparado a partir de homogeneizado da polpa da fruta	Agudo	O sangue dos participantes foi avaliado utilizando uma prova fluorescente (do inglês <i>2,7-dichlorofluorescin</i>) como indicador da formação de ERO e EO. O suco de maçã exibiu poder antioxidante decorridos 30 min e mantido por até 90 min após a ingestão do suco.
Vieira et al. (2012) Brasil 9 mulheres saudáveis	Estudo <i>crossover</i> . 300 mL (média de 5 maçãs com casca) de suco de maçã da variedade <i>Catarina</i> (163,83 mg de equivalente de ácido gálico) ou 300 mL de suco de maçã da variedade <i>Golden Delicious</i> (108,27 mg de equivalente de ácido gálico) ou 300 mL de água	Agudo	Aumento significativo na capacidade antioxidante do soro, 1 h após o consumo do suco de maçã das duas variedades, em relação aos valores basais ou em comparação ao consumo de água. As concentrações séricas de hidroperóxidos lipídicos e de espécies reativas ao TBARS diminuíram após o consumo do suco de maçã de ambas variedades, mesmo sendo a quantidade de polifenóis dos sucos estatisticamente diferentes.

LDL, *low density lipoprotein*; ERO, espécie reativa de oxigênio, EO, estresse oxidativo; TBARS, *thiobarbituric acid-reactive substances*.

Quadro 6 - Efeito do consumo de suco de maçã nos marcadores de estresse oxidativo em humanos (Conclusão).

Autores/Ano País/ População	Delineamento	Período de intervenção	Resultados/Conclusão
Soriano-Maldonado et al. (2014) Espanha 20 voluntários saudáveis (12 mulheres e 8 homens saudáveis)	Estudo <i>crossover</i> , randomizado. 500 mL suco VCR (vitamin C-rich; rico em vitamina C e com polifenóis; 60 mg/L e 510 mg equivalentes de epicatequina/L, respectivamente) ou 500 mL suco PR (polyphenol-rich, com vitamina C e rico em polifenóis; 22 mg/L e 993 mg equivalentes de epicatequina/L, respectivamente). Os sucos foram produzidos com as variedades: <i>Cox Orange</i> , <i>Jonagold</i> , <i>Elstar</i> , <i>Gala</i> , <i>Braeburn</i> , <i>Delicious</i> e <i>Idared</i> .	11 semanas (1 semana de dieta isenta em polifenóis; 4 semanas de intervenção; 2 semanas de <i>washout</i> , 4 semanas de intervenção)	Após o período de consumo do suco VCR, a capacidade antioxidante total plasmática, avaliada pelo método FRAP, aumentou significativamente, enquanto que as moléculas de adesão intercelular-1 e o colesterol total diminuíram. Após o período de consumo do suco PR, houve uma diminuição significativa nos níveis de glutatona total e aumento nos níveis plasmáticos de insulina e do índice HOMA-IR.

VCR, vitamin C-rich; FRAP, *ferric-reducing ability of plasma*; PR, polyphenol-rich; HOMA-IR, *homeostatic model assessment*.

De acordo com os estudos apresentados anteriormente, foi demonstrado que o consumo de maçã *in natura* e do suco beneficiam a saúde humana (FERRETTI, TURCO, BACCHETTI, 2014). Entretanto, os efeitos antioxidantes demonstrados com o consumo do suco e da maçã foram transitórios, até 3 h após a sua ingestão. Estes dados confirmam a importância da ingestão regular da fruta para a manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes (HOLLMAN et al., 1997; LOTITO, FREI, 2004, KO et al., 2005; MAFFEI et al., 2007; GERHAUSER, 2008). Em relação à biodisponibilidade da quercetina, após o consumo da maçã, foi demonstrada meia-vida entre 11 e 28 h, sugerindo que o consumo frequente pode favorecer a manutenção da quercetina no sangue (HOLLMAN et al., 1997; MANACH et al., 2005).

2.7.6 Contribuição da maçã na dieta de pacientes submetidos à hemodiálise

Para exemplificar a contribuição do suco de maçã e das maçãs *in natura* da variedade *Fuji* na dieta dos participantes, o quadro 4 sintetiza a composição química do suco e da fruta, nas quantidades propostas para o presente estudo.

Quadro 7 - Informação nutricional do suco e da maçã da variedade Fuji

Nutriente	Formas de Administração		
	300mL de suco de maçã (5 maçãs <i>in natura</i>)	150mL de suco (3 maçãs <i>in natura</i>)	2 unidades de maçã <i>in natura</i> (360 g)
Quantidade (kg)	0,725	0,415	0,360
Calorias (kcal)	406	232,4	201,6
Proteínas (g)	2,18	1,25	1,09
Carboidratos (g)	110,2	63,1	54,7
Gorduras totais (g)	*	*	*
Fibras (g)	9,4	5,4	4,7
Fósforo (mg)	65,3	37,4	32,4
Potássio (mg)	543,8	311,3	270,0
Sódio (mg)	*	*	*
Vitamina C (mg)	17,4	9,96	8,64

*Traço; Fonte: Informações nutricionais referentes à Tabela Brasileira de Composição Química de Alimentos versão 2011 (UNICAMP, 2011).

Diante destes argumentos, pergunta-se: qual é o efeito do consumo agudo de 300 mL e 150 mL de suco de maçã e do consumo diário de 2 unidades de maçã *in natura*, durante 7 dias, da variedade *Fuji*, nos marcadores de estresse oxidativo e nas concentrações séricas de potássio em pacientes submetidos à hemodiálise?

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os marcadores de estresse oxidativo e as concentrações séricas de potássio em pacientes submetidos à hemodiálise antes e após a intervenção com a maçã (*Malus domestica* Borkh), da variedade *Fuji*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a composição fitoquímica do suco e da maçã *in natura*;
- Analisar o efeito da ingestão aguda de 300 mL e 150 mL de suco de maçã e da ingestão diária de 2 unidades de maçã *in natura* durante 7 dias em:
 - Concentrações dos marcadores antioxidantes não-enzimáticos; capacidade antioxidante total, vitamina C, glutathione reduzida e ácido úrico no soro; e enzimas eritrocitárias; superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase;
 - Concentração sérica do marcador de oxidação, estado oxidante total (EOT);
 - Concentrações séricas dos parâmetros bioquímicos: potássio, fósforo, glicose e frutamina;
- Determinar o índice de estresse oxidativo (IEO);
- Avaliar a presença de efeitos colaterais decorrentes da ingestão de suco de maçã e da maçã *in natura*.

4 JUSTIFICATIVA, RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO

4.1 JUSTIFICATIVA

Os pacientes submetidos à HD possuem baixo consumo de alimentos ricos em polifenóis devido às restrições dietéticas em potássio (NOORI et al., 2010); apresentam uma capacidade antioxidante plasmática diminuída (SINGH et al., 2006; COSTA-HONG et al., 2009), com aumento nos marcadores de EO (LOCATELLI et al., 2003; COSTA-HONG et al., 2009); a maçã é uma fruta com teores não elevados em potássio (UNICAMP, 2011; MANZOOR et al., 2012) e fonte de polifenóis (AUCLAIR et al., 2008; HUBER; RUPASINGHE, 2009), havendo poucos estudos que avaliaram a sua ação sobre os marcadores de EO *in vivo* em indivíduos saudáveis (MAYER et al., 2001; MAFFEI et al., 2007; BRIVIBA et al., 2007; STRACKE et al., 2010; VIEIRA et al., 2012).

Considerando-se, a inexistência de estudos que avaliaram o consumo de maçã nos marcadores de EO em pacientes submetidos à HD, torna-se relevante verificar se a ingestão de suco e de maçã *in natura*, irão proporcionar uma diminuição nestes marcadores. Desta forma, a dose de 300 mL foi escolhida, levando-se em consideração os efeitos favoráveis descritos anteriormente em voluntários saudáveis (VIEIRA et al., 2012), e a de 150 mL foi testada, considerando-se as restrições de líquidos imposta à população em HD. A quantidade de duas unidades por dia, de maçã *in natura* foi escolhida, considerando-se os efeitos favoráveis previamente descritos em indivíduos saudáveis (AVCI et al., 2007), e a recomendação de ingestão de 2 a 3 porções de frutas com teores não elevados de potássio para pacientes em HD (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2010).

O fato de Santa Catarina ser um dos estados líderes nacionais na produção desta fruta, tendo como uma das principais regiões produtoras São Joaquim/SC, facilitando seu acesso à população, contribuiu para a realização do estudo (BONETI et al., 2002; BITTENCOURT et al., 2011; IBGE, 2017). A utilização da variedade *Fuji* é justificada por ser a mais cultivada na região de São Joaquim/SC (BITTENCOURT et al., 2011) e por ser o local onde se situa a Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), doadora das amostras da fruta.

4.2 RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO

Os compostos biologicamente ativos das plantas, têm merecido destaque, devido à sua capacidade na prevenção de doenças. Os pacientes submetidos à HD são orientados a limitar a sua ingestão de frutas, verduras, legumes e oleaginosas para controlar as concentrações séricas de potássio. Estas restrições alimentares, interferem no estado nutricional dos pacientes, sendo desta forma, necessário a realização de estudos que evidenciem se a ingestão de alimentos com teores não elevados em potássio, em porções controladas, possa trazer efeitos positivos sobre a saúde, a fim de que sua aplicabilidade na prática clínica seja fundamentada.

Neste contexto, poucos estudos avaliaram o consumo de frutas, em especial àquelas com um conteúdo não elevado em potássio, nos marcadores de EO e nas concentrações séricas de potássio, em pacientes submetidos à HD. Desta forma, identificou-se lacunas no conhecimento, no que diz respeito ao consumo destes alimentos e sua avaliação nos marcadores de EO na população em questão.

Buscando contribuir para o esclarecimento destas lacunas, direcionamos nossa atenção e interesse pela maçã, da variedade *Fuji*, em razão de suas propriedades antioxidantes e, ainda, por ser de fácil acesso em nosso estado.

Até o presente momento, os possíveis benefícios do consumo de maçã e seu suco, nos marcadores de EO e nas concentrações séricas de potássio em pacientes submetidos à HD, não haviam sido investigados. O presente estudo demonstrou que o consumo de maçã (suco e fruta *in natura*), não aumentou significativamente as concentrações séricas de potássio na amostra selecionada, melhorando o estado antioxidante dos pacientes. Além disto, a intervenção foi tolerada pela população estudada. Assim, o estudo contribuiu com conhecimentos originais sobre os efeitos do consumo de maçã, uma fruta de fácil acesso à população e com teores não elevados em potássio, nos marcadores de estresse oxidativo.

Desta forma, o estudo propiciou *insights* que poderão nortear a conduta dos profissionais nutricionistas no planejamento dietético de pacientes submetidos à hemodiálise.

5 MÉTODO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi do tipo quantitativo, experimental, de intervenção, tipo antes e depois. No estudo antes e depois, todos os pacientes recebem o mesmo tratamento e sua condição é verificada antes do início e em momentos após a intervenção (ESCOSTEGUY, 2009). Este estudo é uma modalidade de ensaio clínico não randomizado. O objetivo deste desenho, é examinar se a exposição altera o desfecho ao longo do tempo, devido à intervenção, avaliando-se o impacto de um tratamento (ECCLES et al., 2003).

O protocolo experimental foi dividido em dois ensaios (ensaio I e ensaio II): o primeiro, de consumo agudo com 300 e 150 mL de suco de maçã da variedade *Fuji* (Figura 3) e o segundo, de consumo de 7 dias, com 2 unidades de maçã *Fuji in natura* por dia (Figura 4).

No ensaio I, para melhor observar o efeito do consumo agudo do suco de maçã na atividade antioxidante *in vivo*, os participantes foram orientados, verbalmente e por escrito, para que durante as 48h antecedentes aos 2 dias experimentais do estudo (DUPONT et al., 2002), evitassem alimentos e bebidas ricos em antioxidantes, como frutas, verduras, chocolate, café e chás, além de não consumirem bebidas alcoólicas (APÊNDICE A e B). Além disto, nos dois dias de intervenção, os participantes receberam um lanche padronizado durante a sessão de diálise (1 h 30 min antes da ingestão do suco) composto por: 200 mL de leite puro e 1 pão de trigo com margarina e 1 fatia de queijo prato.

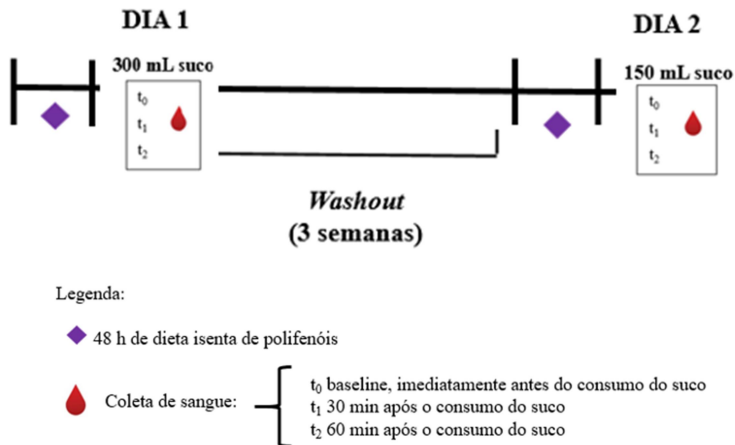
Cada participante consumiu 300 mL de suco de maçã da variedade *Fuji*, imediatamente após a sessão de diálise. Após um intervalo de 3 semanas (*washout period*) (WU et al., 2006; WATERS et al., 2007; BARONA et al., 2012; PRYOR, CRAIG, SWENSEM, 2012; SLATTERY et al., 2014;), os mesmos voluntários consumiram 150 mL de suco de maneira similar a descrita previamente (Figura 2). As coletas de sangue foram realizadas antes do início da intervenção (*baseline*, t_0), 30 minutos (t_1) e 60 minutos (t_2) após a ingestão de ambas quantidades de suco (Figura 3).

A ordem do consumo da quantidade de suco não foi randomizada. A quantidade de 300 mL foi escolhida, levando-se em consideração o estudo de Vieira et al. (2012), que verificaram que 300 mL de suco de maçã de duas variedades da fruta (*Golden Delicius* e *Catarina*), aumentaram a capacidade antioxidante no soro e diminuíram

a oxidação lipídica em mulheres saudáveis. A diminuição da quantidade de suco para 150 mL, foi suportada pelo fato de que os pacientes submetidos à HD necessitam controlar a ingestão hídrica (MARTINS, SATO, RIELLA, 2013), sendo assim, torna-se necessário verificar o efeito de um volume menor e, conseqüentemente, o efeito de menor quantidade de constituintes fitoquímicos sobre os desfechos estudados.

Nos dias em que os participantes receberam o suco, as perdas de líquido durante a sessão de diálise foram ajustadas conforme a quantidade de suco administrada, a fim de adequar a diálise à ingestão das diferentes quantidades de suco.

Figura 3 - Representação esquemática do protocolo experimental do ensaio I do estudo.



No ensaio II da pesquisa, os participantes consumiram, diariamente, 2 unidades de maçã *Fuji* (~360 g), por um período de 7 dias (HOLLMAN et al., 1997; MANACH et al., 2005). As coletas de sangue foram realizadas antes do início da intervenção (*baseline*) e nos dias 3, 6 e 8 (dia após o último dia da intervenção) (Figura 4).

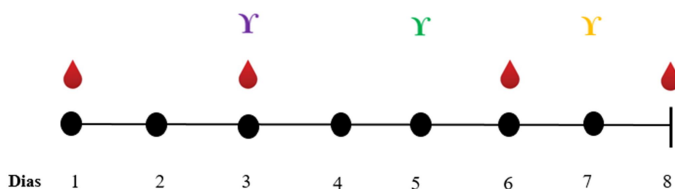
A quantidade de maçã proposta inicialmente, foi de 3 unidades pelo fato dessa quantidade ser equivalente a 150 mL de suco. Entretanto, após um piloto com pacientes (jovem e idoso) para se verificar a tolerância, houve relatos de desconforto gastrointestinal e sensação de saciedade desconfortável. Desta forma, optou-se por utilizar-se diariamente 2 unidades de maçã. Os participantes foram orientados

verbalmente e por escrito, a fracionar o consumo das maçãs ao longo do dia, porém sempre ingerindo-as após a sessão de diálise (APÊNDICE C).

Em ambos ensaios, os participantes foram orientados a manter o uso de seus medicamentos regulares, sua dieta e atividade física habituais. Além disto, os participantes foram caracterizados quanto à: a) dados pessoais: nome completo, sexo, data de nascimento, estado civil, grau de instrução (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA, 2008), procedência, endereço residencial, telefone e meio de transporte utilizado para chegar à clínica de diálise; b) dados clínicos: causa da doença renal, tempo de hemodiálise, duração da sessão de diálise, tipo de membrana utilizada, uso de cateter, comorbidades associadas, fármacos e suplementos nutricionais, uso de quelante de fósforo, ferro intravenoso e eritropoietina; c) exames bioquímicos: uréia pré e pós diálise (coleta mensal pelas clínicas), índice Kt/v (coleta mensal pelas clínicas), hemograma (coleta mensal pelas clínicas), hematócrito (coleta mensal pelas clínicas), fosfatase alcalina (coleta trimestral pelas clínicas), linfócitos (coleta trimestral pelas clínicas), paratormônio (coleta semestral pelas clínicas) e creatinina (coleta semestral pelas clínicas).

As informações referentes ao *item a*, foram obtidas por meio de entrevista com os participantes e as demais informações, coletadas dos prontuários. Todas as informações foram registradas em formulário (APÊNDICE D e E).

Figura 4 - Representação esquemática do protocolo experimental do ensaio II do estudo.



Legenda:

-  Coleta de sangue
-  R24h – dia de diálise
-  R24h – fim de semana
-  R24h – dia de diálise

5.2 LOCAL DO ESTUDO E POPULAÇÃO ESTUDADA

O ensaio I do estudo foi realizado na Clínica AparVida entre os meses de junho a agosto de 2015. O ensaio II do estudo foi realizado nas Clínicas AparVida e na clínica de diálise do Hospital Governador Celso Ramos (HGCR) entre os meses de junho a julho de 2016. A população do estudo foi composta pelo universo total de pacientes submetidos à HD, em ambas clínicas que se adequaram aos critérios de inclusão e exclusão do estudo (Figuras 5 e 6).

A clínica AparVida, localizada no município de São José/SC, é uma das quatro clínicas de diálise localizadas na grande Florianópolis/SC. É uma clínica de referência que possui 26 máquinas de diálise e capacidade total de atendimento para 156 pessoas por semana. O atendimento é realizado em três turnos diários, de 2ª feira a sábado. A grande maioria dos pacientes é residente na Grande Florianópolis e, em geral, cada paciente é submetido a uma sessão de hemodiálise, 3 vezes por semana.

Para o ensaio II da pesquisa, os pacientes da clínica de diálise do Hospital Governador Celso Ramos (HGCR), localizada no município de Florianópolis/SC, foram convidados a participar do estudo. Essa inclusão foi realizada com o intuito de captar um maior número de participantes. A clínica de diálise do HGCR fica localizada dentro do hospital. Seu objetivo é dialisar os pacientes que estão internados, assim como, atender os pacientes com quadro complexo que necessitam de um suporte hospitalar. Possui duas salas de diálise: uma com 6 máquinas que atende pacientes HIV (vírus da imunodeficiência adquirida) positivo e com hepatite, e uma outra, com 13 máquinas que atende os demais pacientes. O atendimento é realizado em três turnos diários, de 2ª feira a 6ª feira. A grande maioria dos pacientes é residente da Grande Florianópolis. A clínica possui pacientes que realizam diálise 2 vezes por semana e 3 vezes por semana.

5.3 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA E PROCESSO DE AMOSTRAGEM

O número mínimo de indivíduos na amostra necessário para detectar diferença estatisticamente significativa ($\alpha < 0,05$) foi calculado assumindo-se um poder do teste de 0,80. Para o cálculo do tamanho da amostra, tomou-se como base o tamanho necessário para se detectar diferença significativa nos valores do marcador 8-isoprostanos (Quadro 5). Esta escolha, justificou-se pelo fato do desenho

experimental deste estudo ser semelhante ao deste, do tipo antes e depois. Tendo-se em vista possíveis perdas e desistências, considerou-se um acréscimo de 20% (MIOT, 2011), totalizando, assim, 24 indivíduos em cada ensaio da pesquisa. Os cálculos de tamanho da amostra foram realizados utilizando-se o programa estatístico OpenEpi 3.01.

Quadro 8 - Cálculo do tamanho da amostra

Marcador	Antes da intervenção	Após a intervenção	Amostra
TEAC (mEq Trolox/L) ¹	0,616 ± 0,017	0,665 ± 0,021	6 voluntários
LDLox (mU/L) ¹	19,9 ± 1,7	11,4 ± 1,0	2 voluntários
Glutaciona peroxidase (nmol/mL/min) ²	33,6 ± 5,1	40,0 ± 8,5	38 voluntários
8-isoprostanos (pg/mL) ²	12,2 ± 4,6	6,6 ± 4,1	20 voluntários
8-OHdG (pg/mL) ²	53,4 (31,4–66,1)	11,3 (7,8–14,4)	10 voluntários
Atividade da glutaciona peroxidase (nmol/min/ml) ³	16,5 (41,0)	42,0 (43,3)	43 voluntários
TEAC (mMol/L) ⁴	0,21 ± 0,02	0,17 ± 0,01	6 voluntários
Dano ao DNA (%) ⁴	26,36 ± 1,30	22,41 ± 1,18	4 voluntários

Todos os marcadores foram avaliados em intervenções após o consumo de alimento em pacientes submetidos à hemodiálise. TEAC, *Total antioxidant capacity*; LDLox, LDL oxidada; 8-OHdG, 8-hidróxi-2'-deoxiguanosina.

¹CASTILLA et al., 2006; ²STOCKLER-PINTO et al., 2014; ³JANIKUES et al., 2014; ⁴CORREDOR et al., 2016.

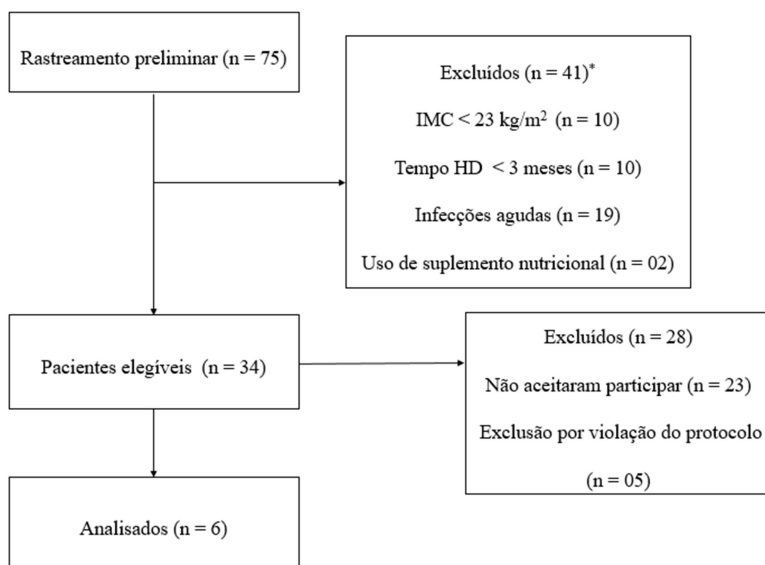
A amostragem foi intencional, de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: (a) ter diagnóstico de doença renal crônica e estar em hemodiálise por período ≥ 3 meses; (b) ter idade ≥ 20 anos (WHO, 2004; WHO, 2014); (RODRÍGUEZ-RIBERA et al., 2014; SHEMA-DIDI et al., 2012); e (c) índice de massa corporal ≥ 23 kg/m² (FOUQUE et al., 2008). Os critérios de exclusão foram: (a) apresentar intolerância à maçã; (b) ser fumante; (c) fazer uso de suplemento nutricional; (d) apresentar câncer, doença auto-imune, HIV, hepatite, angina, infarto do miocárdio; (e) utilizar anti-inflamatório e/ou antibiótico três meses antes ou durante a realização do estudo.

No ensaio I, foram convidados a participar do estudo os pacientes que realizavam diálise nos turnos matutino e vespertino. Isto se justificou pela viabilidade em conduzir as amostras de sangue para o Laboratório de Pesquisa de Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose da UFSC. No ensaio II, participaram os voluntários que realizavam diálise nos 3 turnos das clínicas.

No ensaio I, dos 75 pacientes identificados para participar do estudo, 34 eram elegíveis. Entretanto, 23 pacientes declinaram o convite para participar do estudo. Dos 11 voluntários incluídos na amostra, 05 participantes foram excluídos ao longo do estudo, por terem violado o protocolo (não terem realizado restrição na ingestão de alimentos e bebidas ricos em antioxidantes nas 48h antecedentes aos dias experimentais do estudo). Desta forma, somente 06 voluntários concluíram o ensaio I. O fluxo de participantes desse ensaio está representado na Figura 5.

No ensaio II, 60 pacientes foram identificados para participar do estudo. Destes, 35 foram excluídos por não atenderem os critérios estabelecidos. Dos 25 voluntários elegíveis, 03 indivíduos desistiram por razões pessoais e 06 foram excluídos da amostra por terem violado o protocolo (não consumiram as duas unidades de maçã ao dia). Desta forma, somente 16 voluntários concluíram o ensaio II. O fluxo de participantes desse ensaio está representado na Figura 6.

Figura 5 - Fluxo de participantes durante o ensaio I do estudo.

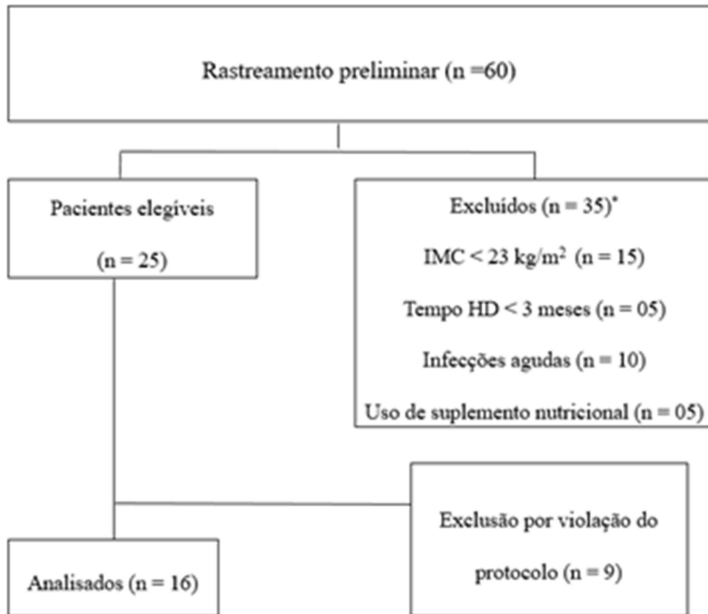


Legenda:

IMC (Índice de Massa Corporal); HD (Hemodiálise)

* Excluídos por não atenderem os critérios de inclusão.

Figura 6 - Fluxo de participantes durante o ensaio II do estudo.



Legenda:

IMC (Índice de Massa Corporal); HD (Hemodiálise)

*Excluídos por não atenderem os critérios de inclusão.

5.4 ETAPAS DA PESQUISA

As figuras 7 e 8 representam resumidamente os ensaios da pesquisa.

Figura 7 - Ensaio I da pesquisa.

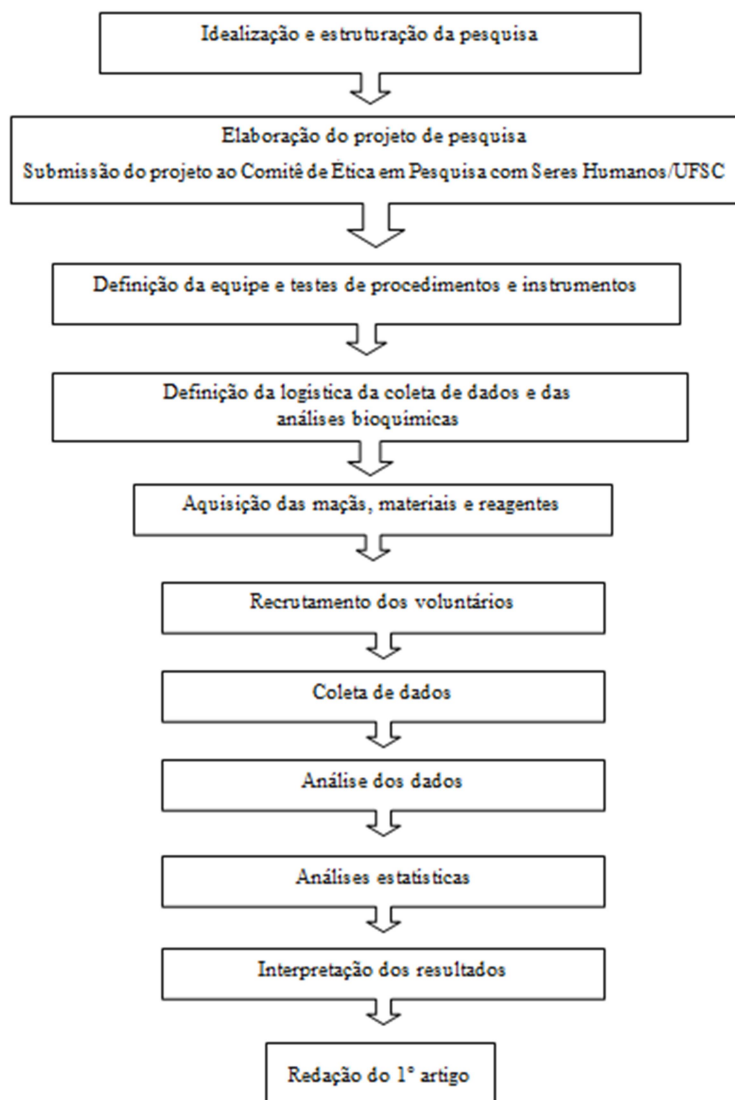
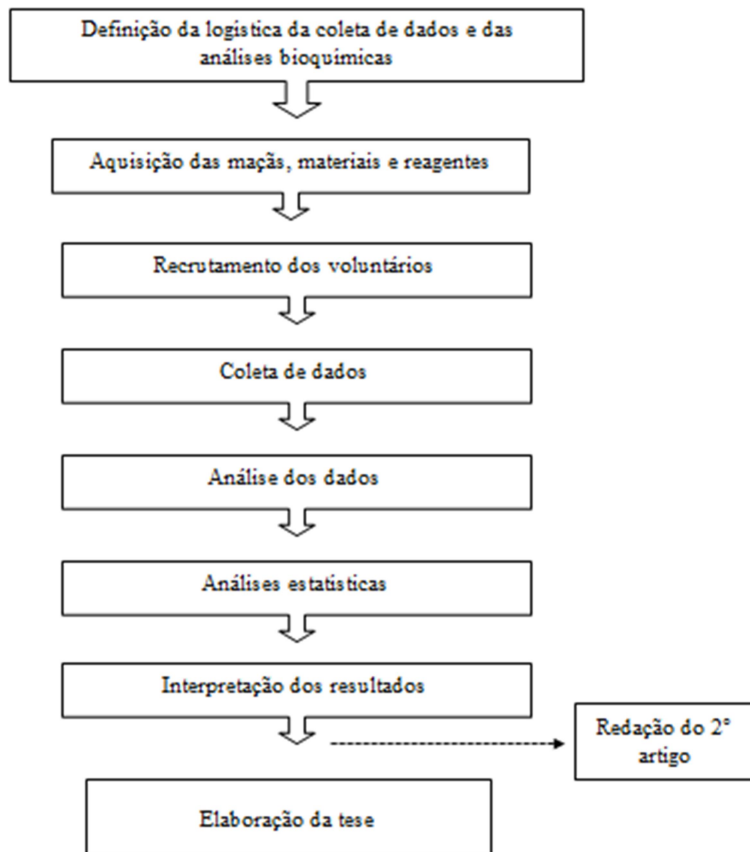


Figura 8 - Ensaio II da pesquisa.



5.5 PROCESSO DE COLETA DE DADOS

As análises para caracterização química do suco e das maçãs *in natura* foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias (UFSC) e as análises bioquímicas do sangue foram feitas no Laboratório de Antioxidantes, Lipídeos, no Departamento de Análises Clínicas (UFSC). As maçãs foram armazenadas no Laboratório de Nutrição Clínica (UFSC).

5.6 MODELO DE ANÁLISE

O consumo do suco e da maçã *in natura* representou a variável independente do estudo. As variáveis dependentes, examinadas como indicadores do estresse oxidativo e dos parâmetros bioquímicos, estão relacionadas no Quadro 6. As variáveis sexo, idade, estado civil, grau de instrução, tempo de hemodiálise e IMC foram utilizados para a caracterização dos participantes do estudo. As variáveis de controle foram: ensaio I; lanche padronizado e consumo de alimentos/bebidas com propriedades antioxidantes e ensaio II; monitoramento por telefone.

Quadro 9 - Variáveis dependentes marcadores de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos.

Variável	Amostra	Unidade de medida
Capacidade antioxidante total	Soro	mmol/L
Estado oxidante total	Soro	mmol/L
Catalase	Eritrócitos	U/mg Hb
Superóxido dismutase	Eritrócitos	U/mg Hb
Glutaciona peroxidase	Eritrócitos	U/mg Hb
Glutaciona reduzida	Sangue	μmol/g Hb
Vitamina C	Plasma	μmol/L
Ácido úrico	Soro	μmol/L
Potássio	Soro	mmol/L
Fósforo	Soro	mmol/L
Glicose	Soro	mmol/L
Frutosamina	Soro	μmol/L

5.7 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

5.7.1 Obtenção das maçãs

A variedade da maçã utilizada neste estudo foi a *Fuji*. A escolha desta variedade, como referido anteriormente, se justifica, pela mesma ser cultivada no estado de Santa Catarina (BRASIL, 2013a); ter demonstrado capacidade antioxidante; e ser rica em constituintes fenólicos, com destaque para os flavonóis (BOYER, LIU, 2004; CARBONE et al., 2011; VIEIRA et al., 2011; VIEIRA et al., 2012; PLAZA, KARIUKI, TURNER, 2014).

As maçãs foram obtidas dos campos experimentais sazonais da estação da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), localizada em São Joaquim, SC, Brasil (latitude 28° 17' 39", longitude 49° 55' 56" e altitude 1.415 m). Todas as maçãs foram colhidas por pessoal treinado, no estágio de maturação para consumo, na fase de meia estação de colheita, nas safras de 2015 (ensaio I) e 2016 (ensaio II).

As frutas foram armazenadas em atmosfera não controlada, sob refrigeração (Bosch[®], São Paulo, Brasil), a temperatura de $4,2 \pm 1,3$ °C (GOLDING et al, 2001).

A quantidade de maçãs selecionada nos estudos prévios *in vivo* tem sido de grandes quantidades, tais como cinco maçãs ou 1 kg (LOTITO, FREI, 2004; BRIVIDA et al., 2007), que não são facilmente consumidas, considerando-se o volume. Desta forma, no ensaio I do estudo, os participantes consumiram 300 mL (o equivalente a cinco maçãs) e 150 mL (o equivalente a três maçãs) de suco, para obter-se um maior consumo de constituintes fitoquímicos polifenólicos, em menor volume. No ensaio II do estudo, os participantes consumiram diariamente 2 unidades de maçã (~ 360 g), por um período de 7 dias. O período de consumo escolhido, é justificado pelo fato de que o consumo frequente, poderá favorecer a manutenção dos constituintes fitoquímicos no sangue (HOLLMAN et al., 1997; MANACH et al., 2005).

No ensaio I, as maçãs foram previamente higienizadas com hipoclorito de sódio a 1% (DAI et al., 2012). O suco foi preparado pela pesquisadora na copa da clínica onde o estudo foi realizado. As maçãs foram cortadas ao meio, retiradas as sementes e o receptáculo e as frutas inteiras (casca e polpa juntas) foram processadas em centrífuga de alimentos (Britânia[®], São Paulo, Brasil) para obtenção do suco, o qual foi consumido imediatamente após o preparo.

Para o ensaio II, as maçãs foram previamente higienizadas com hipoclorito de sódio a 1% (DAI et al., 2012), pesadas e embaladas em filme plástico. Cada participante recebeu nos dias de diálise um *cooler* contendo: as porções de maçã previamente pesadas e embaladas (para consumo até a sessão seguinte de HD), um extrator de miolo e gelo reciclável para manter as frutas frescas. Os participantes foram orientados verbalmente e por escrito, a acondicionar as maçãs na gaveta de suas geladeiras, imediatamente ao chegar em suas residências e a ingeri-las com casca.

5.7.2 Caracterização química do suco e da maçã *in natura*

5.7.2.1 Preparo da amostra

Para a caracterização química do suco e da maçã *in natura*, após seleção aleatória, as frutas foram higienizadas com hipoclorito de sódio a 1% (DAI et al., 2012). Em seguida, para a obtenção do suco, as maçãs foram cortadas ao meio, as sementes e o receptáculo foram retirados e descartados e as frutas inteiras (casca e polpa juntas) processadas em centrífuga de alimentos (Britânia[®], São Paulo, Brasil). Para a fruta *in natura*, a casca e a polpa juntas, foram trituradas em moinho de bancada (IKA A49, SP, Brasil). Nos ensaios I e II, as análises foram conduzidas nos dias das intervenções, em triplicata.

5.7.2.2 Composição química

Os parâmetros matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável foram mensurados de acordo com os métodos oficiais da *Association of Official Analytical Chemicals* (AOAC, 2005). A matéria seca foi determinada através de secagem em estufa a 70 °C até obtenção de peso constante (método 934.06); os sólidos solúveis totais, expresso em °Brix, foram medidos a 20 °C em refratômetro marca *Abbe*[®] (Japão) (método 932.12); o pH foi determinado a 20 °C em leitura no pHmetro digital (modelo Digimed[®] DM-20, Brasil) calibrado com solução tampão pH 4,0 e 7,0 (método 981.12); a acidez titulável foi determinada titulando-se as amostras com 0,1M de hidróxido de sódio e calculado como g de ácido málico 100 g⁻¹ de peso fresco (método 942.15).

5.7.2.3 Procedimentos de extração

O preparo dos extratos para quantificação dos compostos fenólicos totais, flavanóis totais e atividade antioxidante foi realizado com base na metodologia proposta por Rufino et al. (2010), no qual 10 mL de suco de maçã ou 10 g de maçã *in natura* foram extraídos com 10 mL de metanol em ultrassom USC-1400 (Unique[®], São Paulo, Brasil) a 25 ± 2 °C por 60 minutos. Os extratos foram centrifugados a 5300/g por 15 minutos (Fanen[®] 280R, São Paulo, Brasil). Em seguida, coletou-se o sobrenadante e o resíduo centrifugado foi submetido a um novo processo de extração com 5 mL de acetona 70:30 (v/v) nas mesmas condições citadas acima. O novo sobrenadante extraído foi adicionado ao sobrenadante da primeira extração e o volume foi aferido para 25 mL em balão volumétrico.

A extração das antocianinas monoméricas totais foi realizada por maceração a frio com base na metodologia descrita por Borges et al. (2011), na qual 10 mL de suco de maçã ou 10 g de maçã *in natura* foram extraídos com 50 mL de metanol 1,5 M HCl em frasco âmbar a temperatura de 5 ± 2 °C por 24 horas. Na sequência, os extratos foram filtrados em papel filtro *Whatman* n° 1.

5.7.2.4 Quantificação do teor fenólico total

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método espectrofotométrico com reativo de *Folin-Ciocalteu* (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em balões volumétricos de 10 mL, foram adicionados 4 mL de água desionizada e 100 µL dos extratos, seguido da adição de 0,5 mL do reagente *Folin-Ciocalteu* e 1,5 mL de solução de carbonato de sódio 20 % m/v. O volume foi ajustado para 10 mL com água desionizada e o conteúdo homogeneizado. Após 2 horas ao abrigo da luz, foi realizada a leitura da absorbância em 765 nm utilizando espectrofotômetro Spectro Vision, modelo SB1810-S (Beijing, China). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico 100g⁻¹ de matéria fresca.

5.7.2.5 Quantificação dos flavanóis totais

O conteúdo de flavanóis totais foi estimado pelo método espectrofotométrico dimetilaminocinamaldeído (DMACA) segundo Arnous, Markis e Kefalas (2002). Em 1 mL de solução DMACA (0,1 % em MeOH HCl 1 M) foi adicionado 200 µL de extrato da amostra. A

mistura foi homogeneizada e em seguida mantida em temperatura ambiente por 10 minutos. A leitura de absorbância foi realizada a 640 nm e os resultados expressos em miligramas de equivalentes a catequina 100 g⁻¹ de matéria fresca.

5.7.2.6 Quantificação de antocianinas monoméricas totais

As antocianinas monoméricas totais (AMT) dos extratos das amostras foram mensuradas aplicando o método diferencial de pH proposto por Giusti e Wrolstad (2001), onde alíquotas de 0,2 mL dos extratos diluídos foram adicionadas de 1,8 mL de solução tampão cloreto de potássio 0,025M (pH 1,0) e acetato de sódio 0,4M (pH 4,5), separadamente, com absorbâncias medidas após 10 minutos em ausência de luz nos comprimentos de onda 515 e 700 nm. O conteúdo de AMT foi calculado por meio da equação:

$$AMT = \frac{A \times MM \times FD \times 100}{\epsilon \times C}$$

Onde A = absorbância (A₅₁₅-A₇₀₀) pH 1,0 - (A₅₁₅-A₇₀₀) pH 4,5; MM = massa molecular da cianidina 3-glicosídeo (449,2 g mol⁻¹); FD = fator de diluição; ε = absorvidade molar de cianidina 3-glicosídeo (26900 mol L⁻¹); e C = concentração (mg mL⁻¹). O conteúdo total de antocianinas monoméricas foi expresso em mg equivalentes de cianidina-3- glicosídeo 100 g⁻¹ de matéria fresca.

5.7.2.7 Quantificação da atividade antioxidante

5.7.2.7.1 Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A capacidade de desativação do radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrildrazil) por antioxidantes presentes nos extratos foi realizada conforme descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). O percentual de inibição do radical foi medido através da leitura de absorbância a 515 nm antes (A₀) e após (A_t) a adição de 100 µL do extrato diluído em 2,9 mL do radical DPPH 0,1 mM em metanol 80% com tempo de reação fixado em 30 minutos ao abrigo da luz em temperatura ambiente. A percentagem (%) de inibição de radicais DPPH foi dada pela seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{absorbância da amostra } t=30\text{min}}{\text{absorbância do controle } t=0\text{mi}} \times 100$$

A partir de diferentes concentrações de extrato, um gráfico das absorbâncias *versus* percentuais de inibição foi plotado para determinação de uma equação da reta, a qual foi utilizada para cálculo da concentração do extrato necessária para reduzir 50 % da concentração inicial do radical DPPH.

5.7.2.7.2 Avaliação da atividade antioxidante pelo método FRAP

A capacidade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP) foi avaliada através do método descrito por Benzie e Strain (1996). Alíquotas de 200 µL dos extratos diluídos foram adicionadas a 200 µL de cloreto férrico FeCl₃, homogeneizados e acondicionados em banho de água por 30 minutos a 37 ± 2 °C. Em seguida, 3,6 mL da solução de TPTZ (do inglês *2,4,6-tripyridyl-s-triazine*) foram adicionados aos tubos e novamente homogeneizados. Após 10 minutos de repouso a absorbância foi mensurada em 620 nm. Os resultados foram expressos em µmol equivalente em ácido ascórbico e sulfato ferroso 100 g⁻¹ de matéria fresca.

5.7.3 Avaliação antropométrica

Para a classificação do estado nutricional dos participantes, foi utilizado o índice de massa corporal (IMC). A avaliação antropométrica incluiu mensurações de peso e altura. Essas medidas foram utilizadas para o cálculo do IMC, expresso como a relação do peso atual (kg) pela altura (m) elevada ao quadrado, com o resultado expresso em kg/m² (WHO, 2008). Para a classificação do estado nutricional dos pacientes submetidos à HD, foi considerado o ponto de corte para desnutrição < 23 kg/m² (FOUQUE et al., 2008).

No ensaio I, os dados antropométricos foram aferidos após a sessão de diálise nos 2 dias de intervenção (APÊNDICE D) e no ensaio II, foram aferidos antes da sessão de diálise em dois momentos: *baseline* e dia 8 (APÊNDICE E).

Para a medida de peso foi utilizada a balança eletrônica Marte[®] (Marte Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda - Santa Rita do Sapucaí Minas Gerais, Brasil), com capacidade máxima de 150 kg e variação de 100 g. Para verificação deste dado, o indivíduo foi situado no centro da

plataforma, com seu peso distribuído igualmente entre os pés, utilizando uma roupa leve e sem calçados (WHO, 1995).

A altura foi aferida utilizando o estadiômetro da clínica que possuía comprimento máximo de 2 m e escala de 1 cm. Para a medida, o indivíduo estava descalço, com os pés unidos e seu peso corporal distribuído igualmente entre os pés, braços pendentes ao lado do corpo e encostando a superfície posterior da cabeça, costas, nádegas e calcanhares na escala de medida. A cabeça foi posicionada de modo que a linha de visão ficasse perpendicular ao corpo. O indivíduo foi orientado a inspirar profundamente e manter-se nessa posição, até a régua móvel ser trazida até o ponto mais alto da cabeça, comprimindo somente o cabelo e não exercendo pressão sobre o mastóide (WHO, 1995).

5.7.4 Monitoramento do consumo alimentar

Com o intuito de avaliar o consumo dietético dos participantes e de verificar a adesão à intervenção, durante o ensaio II do estudo, foi aplicado o registro alimentar (FISBERG et al., 2009) (APÊNDICE F). Durante os 7 dias de intervenção, foram coletados três registros sendo: um dia de diálise, um dia sem diálise e um dia de final de semana.

Os participantes foram instruídos (verbalmente e por escrito) a relatar, com o máximo de detalhes (tipo, forma de preparo, ingredientes, quantidades em medidas caseiras), todos os alimentos e bebidas consumidos no dia, em cada refeição (GUENTHER et al., 1996). O registro do dia de diálise foi iniciado pela nutricionista da clínica AparVida. Neste dia, ela explicou os procedimentos de preenchimento do registro para os participantes. Após, a entrega dos outros dois registros preenchidos pelos participantes, a nutricionista conferiu junto aos voluntários as informações preenchidas por eles.

Para a transformação das medidas caseiras em gramaturas de alimentos, foi utilizada a tabela de equivalências de Pinheiro et al. (2002). Para a análise estimada do quantitativo de nutrientes (carboidratos; proteínas; gorduras total, saturada, monoinsaturadas e poli-insaturadas; fibra alimentar; vitamina D, ferro, potássio, fósforo, selênio, zinco, cálcio e sódio) foi utilizada a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNICAMP, 2011) e o software de nutrição Dietbox[®] (Porto Alegre, RS, Brasil). As preparações sem registro na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos foram desmembradas em ingredientes e quantidades/porção de acordo com o Manual de

Receitas e Medidas Caseiras para Cálculos de Inquéritos Alimentares (FISBERG, VILLAR, 2002).

5.7.5 Monitoramento dos efeitos colaterais

A fim de medir a tolerância, os efeitos colaterais decorrentes da ingestão do suco e da maçã *in natura*, foram avaliados segundo os relatos de sinais e sintomas: constipação, náusea, enjôo, vômito, diarreia ou outro.

No ensaio I, os participantes foram questionados com relação à frequência de cada sinal e sintoma, por ligação telefônica, no dia das intervenções e um dia após (APÊNDICE D). No ensaio II, esses sinais e sintomas foram monitorados durante os 7 dias de intervenção por ligação telefônica (APÊNDICE E).

A constipação intestinal funcional inclui definições mensuráveis – frequência menor que três evacuações/semana, peso diário das fezes menor que 35 g, esforço para evacuar em mais que 25% das evacuações e tempo de trânsito intestinal total ou colônico prolongado e definições subjetivas – esforço evacuatório, fezes endurecidas ou em cíbalas, estímulos evacuatórios improdutivos (ausência de eliminação de fezes) ou sensação de evacuação incompleta (LONGSTRETH et al., 2006).

A diarreia é caracterizada pelo aumento da frequência das evacuações intestinais (três ou mais vezes ao dia), aumento da quantidade de fezes (mais de 200 g/dia) e consistência alterada das mesmas (SMELTZER; BARE, 2005).

A náusea é definida como uma sensação subjetiva e desagradável associada à vontade de vomitar, acompanhada de palidez ou rubor, taquicardia, impulso do vômito (BECKER, 2010; LAGES et al., 2005; GOLEMBIEWSKI; O'BRIEN, 2002), aumento de salivação e transpiração (GAN, 2006).

O vômito é caracterizado pela contração da musculatura abdominal, abaixamento do diafragma, relaxamento da cárdia gástrica, resultando em expulsão do conteúdo do estômago em direção à boca (BECKER, 2010; GOLEMBIEWSKI; O'BRIEN, 2002).

O enjôo é um acontecimento desagradável, manifestando-se através de sensação de desmaio, náusea e vertigem, suores frios e mal-estar geral, frequentemente acompanhado por vômito (SCHIFFMAN, 1990).

5.7.6 Análises bioquímicas

5.7.6.1 Coleta e tratamento das amostras de sangue

No ensaio I do estudo, as coletas de sangue foram feitas nos períodos *baseline*, 30 e 60 minutos após o consumo do suco, nos 2 dias de intervenção (Figura 3). Estes tempos de coleta, foram estipulados com base em outros estudos, que avaliaram o efeito do consumo e eliminação dos polifenóis da cidra de maçã não alcóolica e do suco de maçã em indivíduos saudáveis (BITSCH et al., 2001; DUPONT et al., 2002; VIEIRA et al., 2012).

No ensaio II, as coletas de sangue ocorreram antes da sessão de diálise, nos períodos *baseline* e nos dias 3, 6 e 8 (dia após o último dia da intervenção) (Figura 4). Esses tempos de coletas foram estipulados com base em estudos realizados com pacientes submetidos à HD, em que se avaliou os marcadores de EO após o consumo de alimentos ricos em polifenóis (CASTILLA et al., 2006; CASTILLA et al., 2008). Apesar da maçã ser uma fruta com teores não elevados de potássio, foram realizadas duas coletas de sangue adicionais, nos dias 3 e 6, com o objetivo de monitorar este mineral no soro, após a inclusão das 2 unidades de maçã na dieta dos pacientes.

O sangue venoso foi coletado pelo profissional técnico em Enfermagem das clínicas, a partir da fístula arteriovenosa. O sangue (32 mL) foi coletado usando-se sistema a vácuo (*BD Vacuntainer*[®], São Paulo, Brasil) em quatro tubos: um contendo heparina sódica, dois tubos com ácido etileno-diaminoacético (EDTA) e um tubo sem anticoagulante ou aditivos. O sangue foi centrifugado imediatamente (3,000 RPM, 10 minutos, temperatura ambiente) nas clínicas, para a obtenção do plasma e do soro.

Para as análises do *status* da glutatona, uma alíquota de sangue total-EDTA (1 mL) foi transferida para um tubo Eppendorf contendo 100 µL de N-etilmaleimida 310 mM (NEM310).

Para a determinação das enzimas antioxidantes, GPx, SOD e CAT foi utilizado um hemolisado, a partir de 100 µL de células (hemácias) juntamente com 1 mL de solução hemolisante (solução de MgSO₄ 4nM e ácido acético 1 nM). Para obter o hemolisado, alíquotas de sangue total foram centrifugadas (3,000 RPM, 10 minutos, temperatura ambiente), sendo o plasma desprezado e as hemáceas utilizadas. Ocorreram 3 lavagens com solução fisiológica, de maneira suave, homogeneizando as células com pipeta de Pasteur, havendo a

centrifugação a 3,000 RPM por 10 minutos a temperatura ambiente, a cada lavagem. Após a última centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e houve o complemento com o mesmo volume de solução fisiológica, sendo separados 100 µL destas células juntamente com 1 mL de solução hemolisante. Esse processo ocorreu nas clínicas.

Todas as amostras foram congeladas, armazenadas e transportadas em gelo seco das clínicas até a UFSC e foram congeladas a -80 °C até o momento das análises. O tempo de armazenagem foi padronizado para os dois ensaios do estudo (30 dias). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

5.7.6.2 Determinação dos marcadores de estresse oxidativo

5.7.6.2.1 *Estado oxidante total*

Os oxidantes presentes na amostra de soro oxidam o complexo formado com o íon ferroso e a *o*-dianisidina para íon férrico. A reação é facilitada pelas moléculas de glicerol presentes em grande quantidade no meio reacional. O íon férrico forma um complexo colorido com o alaranjado de xilenol em meio ácido. A intensidade de cor é proporcional ao número total de moléculas oxidantes presentes e foi lida em 560 nm (*Spectrophotometer UV-1800 – Shimadzu*[®], *Kyoto, Japan*). O peróxido de hidrogênio foi usado como padrão e os resultados foram expressos em µmol H₂O₂ Equiv/L (EREL, 2005).

5.7.6.2.2 *Capacidade antioxidante total*

O método se baseia na habilidade dos antioxidantes bloquearem o cátion radical estável ABTS (do inglês *2,2''-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) diammonium salt*), um cromóforo azul-esverdeado com absorção máxima em 660 nm, em comparação com a capacidade antioxidante do Trolox (do inglês *6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid*), um análogo hidrossolúvel da vitamina E.

O cátion radical ABTS é preparado pela reação do cátion ABTS⁺ 10 mM e peróxido de hidrogênio 2 mM (concentração final) em meio ácido (tampão acetato 30 mM pH 3,6). Após a adição de alíquotas de Trolox em diferentes concentrações (curva-padrão) ou amostras de soro na solução ABTS diluída, a leitura da absorbância foi monitorada a 30 °C (*Spectrophotometer UV-1800 – Shimadzu*[®], *Kyoto, Japan*), durante 5 min após a mistura inicial. A adição de antioxidantes ao radical pré-

formado (azul-esverdeado) reduz o radical a ABTS com a consequente descoloração da solução. A extensão da descoloração, como porcentagem de inibição do radical ABTS, foi determinada em função da concentração de antioxidantes no soro e calculada em comparação com a reatividade do Trolox. Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox em $\mu\text{mol/L}$ (EREL, 2004).

5.7.6.2.3 Índice de estresse oxidativo

O IEO é definido como a razão entre EOT e CAOT (AYCICEK, EREL, KOCYIGIT, 2005; HARMA, HARMA, EREL, 2005). O cálculo foi realizado de acordo com a seguinte fórmula: IEO (unidade arbitrária) = $[(\text{EOT}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv/L})/(\text{TAC}, \mu\text{mol Equiv de Trolox/L}) \times 100]$ (AYCICEK, EREL, 2007).

5.7.6.2.4 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High performance liquid chromatography* HPLC) em equipamento com injetor manual, conectado ao degaseificador DGU 20A5 com integrador CBM 20A, bomba LC-20AD, detector UV-Visível DAD SPD-M20A (*Shimadzu*[®], *Kyoto, Japan*), com software LC Solutions. Para as separações cromatográficas foram utilizadas coluna de fase reversa Shimpack C18 (4,6 mm x 250 mm, 5 μm) e pré-coluna Shimpack C18 (4 mm x 10 mm, 5 μm). A fase móvel foi composta por solução de fosfato monobásico de potássio e ácido fosfórico 0,2 M pH 3,0 contendo EDTA (do inglês *ethylenediamine tetraacetic acid*) 2 mM, com grau de pureza para cromatografia e filtrada em membrana de 0,45 μm . Seguindo eluição isocrática com fluxo de 1,0 mL/min a detecção do ácido ascórbico foi monitorada no comprimento de onda 245 nm. Aliquotas do plasma foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) a 30%. Após centrifugação (23.000 x g, 4 °C, 15 minutos), 20 μL do sobrenadante foi injetado no sistema. O tempo de retenção estimado foi 2,6 min, e para evitar interferência de leituras do ácido úrico foi recomendado um intervalo de 7 min entre cada injeção de amostra. Para os cálculos, utilizou-se curva padrão de ácido ascórbico com diferentes concentrações (200, 100, 50, 25 e 12,5 μM) e análise de regressão linear (equação da reta: $y=a+bx$). A partir da equação da reta obtida pela curva

padrão, foi calculada a concentração na amostra. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$ (CHUNG et al., 2001).

5.7.6.2.5 *Glutationa reduzida*

A GSH, forma majoritária de tióis de baixo peso molecular nas células, foi quantificada no sangue total por HPLC, de acordo com o método descrito por Giustarini et al. (2013). Nesse método, a fase móvel foi preparada com ácido acético 0,25% e acetonitrila, ambos grau HPLC e filtrados em membrana de 0,45 μm . Alíquotas de sangue total-EDTA tratadas com NEM310 (ver o tópico *Coleta e tratamento das amostras de sangue*) foram desproteinizadas pela adição de ácido tricloroacético (TCA) a 15%, e em seguida centrifugados (14.000 x g, 25 °C, 2 minutos). Para a análise da GSH, o sobrenadante resultante foi utilizado para a análise por HPLC (*Shimadzu*[®], Tokyo, Japan) em coluna C18 (Tosoh - TSK-gel ODS-80Ts; 4,6 mm x 150 mm x 5 mm) e detecção em comprimento de onda 265 nm, com 400 nm como referência. Condicionou-se a composição da fase móvel a 94% de ácido acético 0,25% e 6% de acetonitrila, com fluxo de 1,25 mL/min. Após a cromatografia, o conjugado GS-NEM eluiu como dois picos separados e de áreas iguais. O primeiro pico foi utilizado para o cálculo da concentração de GSH na amostra de sangue. Para os cálculos da concentração de GSH no sangue, utilizou-se a curva padrão de GSH com diferentes concentrações (0,125, 0,25, 0,5, 1,0 e 20 mM) e análise de regressão linear (equação da reta: $y=a+bx$). A partir da equação da reta obtida pela curva padrão de GSH, foi calculada a concentração de GSH total na amostra. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/g Hb}$.

5.7.6.2.6 *Superóxido dismutase*

A atividade da SOD foi determinada utilizando-se o *SOD Assay Kit* (*Sigma Aldrich*[®], St. Louis, MO, USA) conforme procedimentos descritos pelo fabricante, e lida a 450 nm em espectrofômetro de placas *Epoch* (*Biotek*[®] Instruments, Winooski, VT, EUA). A atividade da SOD foi obtida a partir de fórmula descrita pelo fabricante. Os resultados foram expressos em U/mg Hb.

5.7.6.2.7 *Catalase*

A atividade da CAT foi determinada através da sua função peroxidativa (JOHANSSON, BORG, 1988). O método é baseado na

reação da enzima com metanol em presença de uma concentração ideal de peróxido de hidrogênio. Nessa reação é produzido formaldeído, o qual foi medido colorimetricamente com Purpald. O reagente Purpald formou um heterociclo bicíclico com aldeídos que, ao oxidar, passou a ter cor roxa.

A reação consistiu na mistura de 20 μL de amostra, 100 μL de tampão composto por fosfato monobásico de potássio e fosfato dibásico de potássio dihidratado (pH 7,0), 30 μL de metanol, 20 μL de formaldeído e 20 μL de tampão composto por fosfato monobásico de potássio 25 mM (pH 7,5), EDTA 1 mM e 0,1% de albumina sérica bovina. Para iniciar a reação, foi utilizado 20 μL de H_2O_2 e 30 μL de hidróxido de potássio (KOH), para encerrar a reação. Na sequência, pipetou-se 30 μL de Purpald e 10 μL de periodato de potássio. Leu-se a absorbância em espectrofotômetro de placas *Epoch (Biotek® Instruments, Winooski, VT, EUA)* a 540 nm. Os resultados foram expressos em U/mg Hb.

5.7.6.2.8 *Glutathione peroxidase*

A atividade da GPx foi determinada pela medida da taxa de oxidação de NADPH na presença de glutathione reduzida e glutathione redutase (GR) (WENDEL, 1981). Para iniciar a reação, 10 μL de amostra foi adicionada à mistura contendo 82,5 μL de tampão fosfato (143 mM fosfato de sódio, 1 mM EDTA, pH 7,5), 125 μL de NADPH (0,29 mM), 12,5 μL de GSH (20 mM), 2,5 μL de GR (10 U/mL), 12,5 μL t-butil- hidroperóxido (10 mM) e 2,67 μL de cianeto de potássio (KCN) (9 mM). A taxa de oxidação do NADPH foi monitorada a 340 nm em intervalos de 60 segundos por 3 minutos em espectrofotômetro de placas *Epoch (Biotek® Instruments, Winooski, VT, EUA)*. Os resultados foram expressos em U/mg Hb.

5.7.6.2.9 *Ácido úrico*

O conjunto de reagentes para as determinações de ácido úrico sérico foi obtido da empresa Labtest® Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa-MG), e os procedimentos realizados conforme descrição do fabricante. A concentração de ácido úrico foi determinada pelo método colorimétrico e de ponto final utilizando a reação de Trinder. Nesse método, o ácido úrico é oxidado a alantoina e peróxido de hidrogênio, por meio da ação catalisadora da uricase. O peróxido de hidrogênio por meio da ação catalisadora da peroxidase e juntamente com a 4-

aminoantipirina e o ácido di-hidroxi-benzeno-sulfônico (DHBS), forma a antipirilquinoneína, com absorvância máxima em 510 nm e cuja intensidade de cor é proporcional à quantidade de ácido úrico na amostra. As medidas foram realizadas em equipamento automatizado *Cobas Miras Plus* (Roche[®], Basel, Switzerland). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$.

5.7.6.3 Determinação dos parâmetros bioquímicos

5.7.6.3.1 Potássio e fósforo

Os conjuntos de reagentes para as determinações de potássio e fósforo séricos foram obtidos da empresa Labtest[®] Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa-MG), e as análises seguiram as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos em mmol/L .

No ensaio I, a concentração de potássio foi determinada por reação enzimática, em modo cinético. O substrato fosfoenolpiruvato é convertido a piruvato, pela piruvato quinase dependente de potássio. O piruvato gerado é convertido à lactato, na presença de NADH, em reação catalisada pela lactato desidrogenase. A oxidação de NADH a NAD e consequente redução da densidade ótica em 380 nm é proporcional à concentração de potássio presente na amostra. As medidas foram realizadas em equipamento automatizado *Cobas Miras Plus* (Roche[®], Basel, Switzerland). No ensaio II, as medidas de potássio foram realizadas em equipamento automatizado *Dimension RXL Max System* (Siemens Healthcare Diagnostics Products GMBH[®], Alemanha)

A concentração de fósforo foi determinada pelo método colorimétrico e de ponto final. Os íons fosfato reagem com o molibdênio em meio ácido, formando um complexo amarelo, o qual, por ação de um tampão alcalino é reduzido a azul-molibdênio cuja absorvância é medida a 650 nm. As medidas foram realizadas em equipamento automatizado *Cobas Miras Plus* (Roche[®], Basel, Switzerland).

5.7.6.3.2 Glicose e frutossamina

Os conjuntos de reagentes para as determinações de glicose e frutossamina séricas foram obtidos da empresa Labtest[®] Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa-MG), e os procedimentos foram realizados conforme descrito pelo fabricante.

A concentração de glicose foi determinada pelo método colorimétrico e de ponto final utilizando a reação de Trinder. Neste método, a glicose é oxidada formando peróxido de hidrogênio que, por meio da ação catalisadora da peroxidase e juntamente com a 4-aminoantipirina e o diclorofenol, forma a antipirilquinoneimina, com absorvância máxima em 510 nm e cuja intensidade de cor é proporcional à quantidade de glicose na amostra. As medidas foram realizadas em equipamento automatizado *Cobas Miras Plus (Roche®, Basel, Switzerland)*. Os resultados foram expressos em mmol/L.

A concentração de frutosamina foi determinada por método cinético utilizando a reação de redução do NBT. A glicose se liga aos grupamentos amino das proteínas formando uma base de *Schiff* (aldimina), que após um rearranjo molecular, transforma-se em uma cetoamina estável denominada frutosamina. Em pH alcalino, a frutosamina é convertida à forma enólica que reduz o azul de nitrotetrazólio a um “formazan púrpura”, com absorvância máxima em 530 nm e cuja intensidade de cor é proporcional à quantidade de frutosamina na amostra. As medidas foram realizadas em equipamento automatizado *Cobas Miras Plus (Roche®, Basel, Switzerland)*. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis cuja distribuição dos dados apresentou simetria, foram apresentadas sob a forma de média e desvio padrão, caso contrário, em mediana e intervalo interquartil.

No ensaio I, para verificar as diferenças na composição química entre as duas doses de suco de maçã, utilizou-se o teste T de Student. Para verificar as diferenças promovidas pela administração de 300 mL e 150 mL de suco e os tempos analisados (*baseline*, 30 minutos e 60 minutos) sobre os desfechos intragrupo, foi aplicada a análise de variância para amostras dependentes (ANOVA *one-way* para medidas repetidas) e o teste complementar de Bonferroni para as variáveis com distribuição simétrica (direta ou após transformação logarítmica – GSH da dose de 150 mL). Para os valores que permaneceram não paramétricos após a transformação logarítmica (SOD da dose de 150 mL), as variáveis foram comparadas pelo teste de Friedman, seguidas pelo teste complementar de Wilcoxon com correção de Bonferroni (nível de significância ajustado para $p < 0,033$). Para verificar as

diferenças entre as duas doses de suco e os efeitos colaterais, aplicou-se o teste T de Student.

No ensaio II, o teste de Wilcoxon foi aplicado para detectar as diferenças intragrupo nos períodos *baseline* e dia 8. Para verificar as diferenças promovidas pela intervenção e os tempos analisados (*baseline*, dias 3, 6 e 8) sobre os desfechos intragrupo, foi aplicado o teste de Wilcoxon.

Para avaliar as diferenças entre os três registros alimentares analisados, foi aplicado ANOVA *One-Way* para médias repetidas, seguido do teste complementar de Bonferroni. As variáveis que não apresentaram normalidade dos resíduos, foram log-transformadas (carboidratos, sódio, cálcio, fósforo, vitaminas A, D e E). Apenas uma variável não apresentou normalidade dos resíduos mesmo log-transformada (vitamina B12), e empregou-se o teste de Kruskal Wallis.

O tamanho do efeito foi calculado usando a estatística *d* de Cohen (COHEN, 1993; DUNLAP et al., 1996) ajustadas para uso em medições repetidas e para a remoção de vieses de amostras pequenas na estimativa do efeito padronizado. Os tamanhos do efeito foram assumidos como triviais ($<0,20$), pequenos (entre 0,20 e 0,49), médios (entre 0,50 e 0,79) ou grandes ($> 0,80$) (COHEN, 1993; DUNLAP et al., 1996).

As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). O nível de significância adotado foi inferior a 5% ($p < 0,05$). O tamanho do efeito de *Cohen's d* foi calculado usando-se calculadora de tamanho de efeito (<http://www.cem.org/effect-size-calculator>).

5.9 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O estudo foi realizado de acordo com as diretrizes e normas da Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013b) e a Declaração de Helsinki (RICKHAM, 1964). Os voluntários participaram do estudo somente após concordância e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A), por meio do qual foram informados acerca do propósito, benefícios e riscos da pesquisa.

Todas as informações ligadas à identidade dos participantes foram mantidas sob sigilo e destruídas após a conclusão da pesquisa. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, sob o CAAE 37090614.6.0000.0118 (ANEXO B) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Governador Celso Ramos, sob o CAAE 37090614.6.3001.5360

(ANEXO C). Número de identificação no *ClinicalTrials.gov*:
NCT02974491.

6 RESULTADOS

Os resultados desta tese são apresentados na forma de dois artigos científicos. O artigo 1, aborda os resultados e discussão da intervenção com o suco de maçã. O artigo 2, disserta sobre os resultados e discussão da intervenção com o consumo de maçã. Os resultados dos registros alimentares realizados no estudo com o consumo de maçã, estão apresentados no APÊNDICE G.

6.1 ARTIGO 1: EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE SUCO DE MAÇÃ NOS MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE: ESTUDO PILOTO.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do consumo agudo de suco de maçã (SM), da variedade *Fuji*, nos marcadores de estresse oxidativo, parâmetros bioquímicos e tolerância ao consumo do SM, em pacientes submetidos à hemodiálise (HD). Seis pacientes adultos, após 48 horas de restrição de alimentos ricos em antioxidantes, consumiram 300 e 150 mL de SM, imediatamente após a sessão de diálise, em dois dias diferentes. Entre as intervenções, houve um intervalo de 3 semanas e amostras de sangue foram coletadas nos períodos *baseline*, 30 minutos e 60 minutos após o consumo de SM. Foram analisados marcadores antioxidantes (capacidade antioxidante total, catalase, glutathione peroxidase, superóxido dismutase (SOD) e glutathione reduzida); marcadores oxidativos (estado oxidante total (EOT) e índice de estresse oxidativo (IEO)) e parâmetros bioquímicos séricos (potássio, ácido úrico e glicose). A fim de medir a tolerância ao SM, os participantes foram questionados sobre a presença de efeitos colaterais. Comparado ao *baseline*, o consumo de 300 mL de SM aumentou significativamente as concentrações de ácido ascórbico ($p = 0,001$) e da atividade eritrocitária da enzima SOD ($p = 0,015$). Os níveis de ácido úrico ($p = 0,003$) e potássio ($p = 0,004$) também aumentaram, porém não ultrapassaram os valores de referência para a população. Ambas doses de SM, não inibiram o aumento significativo das concentrações do EOT ($p = 0,048$; 300 mL) e os valores de IEO ($p = 0,012$; 150 mL). Os hábitos intestinais foram preservados ($p = 0,357$). O consumo agudo de 300 mL de SM melhorou o estado antioxidante de pacientes submetidos à HD, e ambas as doses de doses de suco apresentaram boa tolerância.

Palavras-chave: hemodiálise; suco de maçã; consumo agudo; estado antioxidante; estresse oxidativo; potássio.

1 Introdução

O estresse oxidativo (EO) ocorre devido à produção excessiva de radicais-livres e/ou diminuição das defesas antioxidantes e resulta em alterações químicas nas moléculas, tais como açúcares, proteínas e lipídios, causando modificações funcionais e estruturais [1].

O EO é comumente associado a taxas elevadas de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à hemodiálise (HD) [2]. Nestes pacientes, o EO tem sido relatado em decorrência a: idade avançada, diabetes *mellitus*, estado inflamatório crônico, síndrome urêmica, bioincompatibilidade das membranas de diálise, hipertensão, dislipidemia, tabagismo, administração de ferro intravenoso, desnutrição e deficiência no sistema antioxidante; incluindo diminuição nas concentrações de vitamina C, selênio, vitamina E e na atividade das enzimas antioxidantes [3].

A ingestão de alimentos antioxidantes é uma alternativa promissora, para se diminuir os danos celulares oxidativos. Diversas frutas e vegetais, além de vitaminas antioxidantes, são ricos em polifenóis, agindo como antioxidantes, *in vitro* e *in vivo*, ao sequestrar espécies reativas de oxigênio ou inibindo a sua formação [4].

Um pequeno número de estudos clínicos, de curto prazo, demonstraram os efeitos benéficos do consumo de sucos de frutas *in natura*, ricas em polifenóis, nos marcadores do estado antioxidante e de estresse oxidativo em pacientes submetidos à HD [5,6]. A maçã é uma das frutas mais consumidas no mundo e é considerada uma fonte de nutrientes e fitoquímicos [7,8]. Os efeitos antioxidantes do suco de maçã (SM) foram relatados em intervenções com voluntários saudáveis, resultando no aumento das defesas antioxidantes [9,10] e na diminuição dos marcadores de estresse oxidativo [10]. Foi demonstrado que o consumo único da dose de 150 mL de SM, resultou em aumento na atividade antioxidante plasmática em sujeitos saudáveis [9]. Este efeito antioxidante pode ser em decorrência aos seus compostos polifenólicos, mas também pode ser justificado, pelo aumento do ácido úrico estimulado via frutose [11,12].

Os pacientes submetidos à HD, necessitam controlar os níveis séricos de minerais, como o potássio e desta forma estão sujeitos a restrições dietéticas. Isto pode limitar o consumo de antioxidantes e micronutrientes. Somado a isto, os efeitos do SM em pacientes submetidos à HD são desconhecidos. Portanto, o principal objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do consumo agudo de 300 mL e 150 mL de suco de maçã, da variedade *Fuji*, nos marcadores de estresse

oxidativo e parâmetros bioquímicos em pacientes submetidos à HD. Nosso objetivo secundário, foi verificar se o consumo agudo de ambas as doses de SM, foi tolerado por essa população.

2 Material e métodos

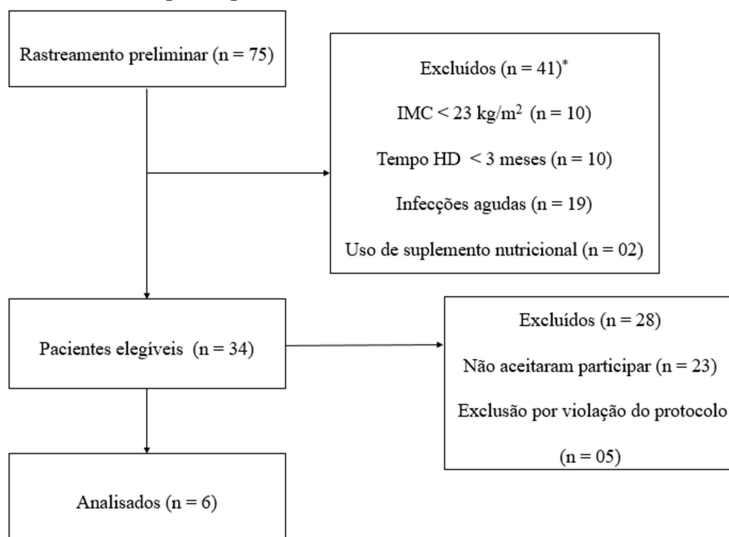
2.1 Sujeitos e design do estudo

Neste estudo piloto de intervenção, pacientes adultos foram recrutados numa clínica de diálise (Florianópolis, SC, Brasil), entre junho e agosto de 2015. Os critérios de inclusão para os voluntários foram: estar em hemodiálise por um período ≥ 3 meses, ter idade ≥ 20 anos e índice de massa corporal (IMC) $\geq 23 \text{ kg/m}^2$. Os critérios de exclusão foram: ter alergia à maçã, ter feito transplante renal a menos de 6 meses do início do estudo, fazer uso de suplementos nutricionais ou antioxidantes nos 30 dias antecedendo a participação no estudo, ter sido hospitalizado 6 semanas antes do início do estudo ou sofrer de alguma doença aguda (Figura 1). Todos os participantes receberam monitoramento e aconselhamento dietético por nutricionista.

Os participantes foram instruídos a manter sua dieta habitual durante o estudo, com a exceção de evitar o consumo de alimentos ricos em polifenóis (i.e., vegetais, frutas, chocolate, chá, café, mel) e de consumir bebidas alcóolicas, durante as 48 horas que antecederam os 2 dias de intervenção e nos dias da intervenção (Figura 2). Além disso, nos dois dias de intervenção, os participantes receberam um lanche padronizado durante a sessão de diálise (1 h 30 min antes da ingestão do suco) composto por: 200 mL de leite puro e 1 pão de trigo com margarina e 1 fatia de queijo prato.

Cada participante consumiu 300 mL de SM da variedade *Fuji*, imediatamente após a sessão de diálise e, após um intervalo de 3 semanas (*washout period*), os mesmos voluntários consumiram 150 mL de suco de maneira similar a descrita previamente (Figura 2). As coletas de sangue foram realizadas antes do início da intervenção (*baseline*, t_0), 30 minutos (t_1) e 60 minutos (t_2) após a ingestão de ambas quantidades de suco (Figura 2). Os participantes serviram como seus próprios controles, visto que todos os dados obtidos durante a intervenção, foram comparados aos valores do *baseline*.

Figura 1 - Fluxo de participantes do estudo.



Legenda:

IMC (Índice de Massa Corporal); HD (hemodiálise)

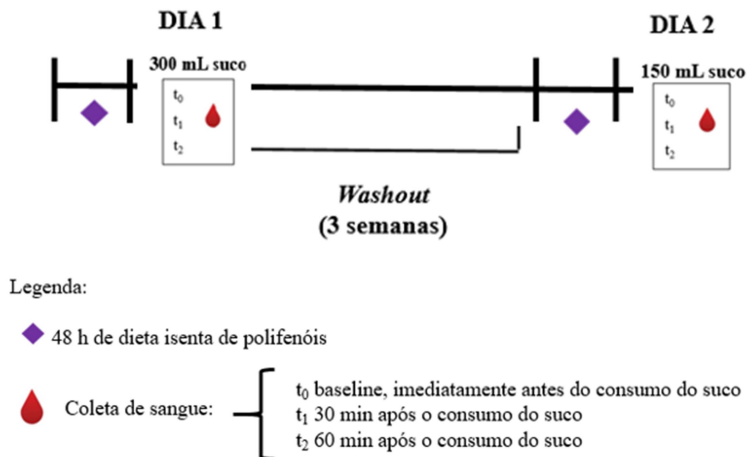
* Excluídos por não atenderem os critérios de inclusão

A maçã *Fuji* foi escolhida por ser uma fruta, com teores não elevados de potássio, e por ser recomendada a pacientes submetidos à HD pela *National Kidney Foundation* [13]. Além disso, o estado de Santa Catarina é o maior produtor desta fruta no Brasil, sendo a variedade *Fuji* uma das mais produzidas [14], proporcionando fácil acesso à fruta. A dose de 300 mL foi escolhida, levando-se em consideração os efeitos favoráveis descritos anteriormente em voluntários saudáveis [10], e a de 150 mL foi testada, considerando-se as restrições de fluidos para esses pacientes. Os dados clínicos e bioquímicos foram obtidos dos prontuários médicos. A fim de medir a tolerância, os participantes foram questionados por telefone, nos dias do consumo do SM, e um dia após, sobre a frequência do número de evacuações, dores abdominais, inchaço abdominal, flatulência e sobre o aparecimento de náusea e vômito.

Este estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética de Pesquisa com Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (protocolo 37090614.6.0000.0118) e todos os participantes forneceram

consentimento por escrito. O identificador no *ClinicalTrials.gov* é NCT02974491.

Figura 2 – Representação esquemática do protocolo experimental do estudo.



2.2 Análise do suco de maçã

As maçãs da variedade *Fuji*, foram obtidas dos campos experimentais sazonais da estação da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), na cidade de São Joaquim-SC (latitude 28° 17' 39", longitude 49° 55' 56" e altitude 1.415 m), colhidas em seu estágio de maturação comercial durante a safra de 2015. Após a colheita, as maçãs foram armazenadas a 4 ± 1 °C. Antes da preparação do suco, as frutas foram higienizadas com hipoclorito de sódio a 1%. Maçãs com casca e sem sementes foram centrifugadas em um extrator de suco (Britânia®, São Paulo, Brasil), sem a adição de água. Cada dose de SM (300 e 150 mL) foi preparada e consumida imediatamente.

Os conteúdos de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH e acidez titulável das maçãs, foram medidos utilizando-se as metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemists* [15]. Os conteúdos de compostos fenólicos totais [16], flavanóis totais [17], capacidade antioxidante total [18] e antocianinas monoméricas totais [19], foram analisados, utilizando-se as metodologias previamente

descritas. As análises foram conduzidas nos dois dias de experimento, em triplicata.

2.3 Amostras de sangue

As amostras de sangue venoso foram coletadas em tubos *Vacutainer*[®] (São Paulo, Brasil) contendo EDTA, heparina ou sem anticoagulante; a partir da fistula arteriovenosa. Plasma e soro foram obtidos imediatamente por centrifugação (3.000 rpm, 10 min, temperatura ambiente) para a medição de ácido úrico, glicose, potássio, capacidade antioxidante total (CAOT) e estado oxidante total. Para quantificar as enzimas antioxidantes, uma alíquota de sangue foi lisada. Para a análise de glutatona reduzida (GSH), foi transferido sangue total-EDTA para tubo *Eppendorf* contendo 100 µL de N-etilmaleimida 310 mM (NEM310; *Sigma-Aldrich*) e misturado em vórtice. Todas as amostras foram armazenadas imediatamente a -80 °C para posteriormente serem analisadas em duplicata.

2.4 Parâmetros bioquímicos

As concentrações séricas de ácido úrico, glicose e potássio foram determinadas usando-se kits comerciais (Labtest[®], Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil) em equipamento automático *Cobas Miras Plus* (Roche[®], Basel, Switzerland).

2.5 Marcadores de estresse oxidativo

Com a finalidade de dosar os marcadores oxidativos, o estado oxidante total (EOT) sérico foi medido conforme técnica descrita previamente [20] e o índice de estresse oxidativo (IEO) calculado [21]. A fim de quantificar os marcadores antioxidantes, a capacidade antioxidante total (CAOT) foi medida espectrofotometricamente [22]. As concentrações de ácido ascórbico [23] e glutatona reduzida (GSH) [24] foram determinadas utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A atividade eritrocitária da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada através de kit (*Sigma Aldrich*[®], St. Louis, MO, USA), e as atividades eritrocitárias da catalase (CAT) [25] e da glutatona peroxidase (GPx) [26] foram determinadas conforme descrito previamente.

2.6 Análise Estatística

O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a normalidade dos dados. As variáveis foram apresentadas sob a forma de média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil. Para verificar as diferenças na composição química entre as duas doses de SM, utilizou-se o teste T de Student. Para verificar as diferenças promovidas pelo consumo de 300 mL e 150 mL de suco e os tempos analisados (*baseline*, 30 min e 60 min) sobre os desfechos intragrupo, foi aplicada a análise de variância para amostras dependentes (ANOVA *one-way* para medidas repetidas) e o teste complementar de Bonferroni para as variáveis com distribuição simétrica (direta ou após transformação logarítmica – GSH da dose de 150 mL). Para os valores que permaneceram não paramétricos após a transformação logarítmica (SOD da dose de 150 mL), as variáveis foram comparadas pelo teste de Friedman, seguidas pelo teste complementar de Wilcoxon com correção de Bonferroni (nível de significância ajustado para $p < 0,033$). Para verificar as diferenças entre as doses de suco e os efeitos colaterais, aplicou-se o teste T de Student. As análises estatísticas foram realizadas com o software SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). O nível de significância adotado foi inferior a 5% ($p < 0,05$).

3 Resultados

Nenhuma diferença significativa na composição química, no conteúdo de polifenóis e na capacidade antioxidante total do SM foi observada nos dois dias de intervenção (Tabela 1).

Participaram deste estudo, 6 pacientes submetidos à HD que frequentavam a diálise três vezes por semana, de 3 a 4 horas/sessão, com membrana dialisadora de polisulfona. A idade média dos pacientes foi de $49,3 \pm 11,4$ anos e 88,3% dos pacientes eram homens (5 pacientes). As principais etiologias da doença renal crônica foram as seguintes: diabetes (66,7%) e hipertensão (33,4%). As comorbidades associadas eram o diabetes (66,7%) e a hipertensão (83,3%). As características clínicas dos participantes foram as seguintes: duração da diálise: $38,8 \pm 51,1$ meses; IMC: $28,5 \pm 5,8$ Kg/m²; creatinina: $1140,3 \pm 234,2$ µmol/L; Kt/V: $1,29 \pm 0,16$; taxa de filtração glomerular: $4,33 \pm 1,21$ mL/min/1,73²; hematócrito: $33,5 \pm 2,58$ %; hemoglobina: $109 \pm 9,6$ g/L. Todos os pacientes recebiam quelantes de fósforo, eritropoetina intravenosa e estavam sendo tratados em regimes terapêuticos, incluindo

drogas anti-hipertensivas e/ou anti-diabéticas. Apenas um paciente (6,3%) fazia uso de suplemento de ferro por via oral.

Tabela 1 - Composição química do suco de maçã dos dois dias de intervenção.

Variável	300 mL	150 mL	valor <i>p</i>
Matéria seca (%)	42,24 ± 1,89	21,42 ± 0,51	0,416
Sólidos solúveis totais (°Brix)	42,39 ± 2,43	21,01 ± 1,38	0,660
pH	4,59 ± 0,19	4,49 ± 0,15	0,220
Acidez titulável (g eq ácido málico)	6,12 ± 1,86	4,74 ± 0,81	0,059
Fenólicos totais (mg eq ácido gálico)	129,72 ± 48,0	75,60 ± 3,78	0,204
Flavonóis totais (mg eq catequina)	13,98 ± 0,81	7,56 ± 0,22	0,264
Antocianinas monoméricas totais (mg eq cianidina-3-glicosídeo)	1,41 ± 15,54	0,50 ± 0,06	0,099
Atividade antioxidante total (CE ₅₀ mg/L) ¹	18,06 ± 8,71	17,40 ± 3,17	0,833

¹Método DPPH; 2, 2-Difenil-1-picrildrazil; CE₅₀; concentração eficiente do extrato para inativar 50% do radical DPPH. As análises foram conduzidas nos dias de intervenção. Valores apresentados como média ± desvio padrão.

A tabela 2 apresenta os marcadores de estresse oxidativo e os parâmetros bioquímicos antes e após o consumo das duas doses de SM da variedade *Fuji*. O consumo agudo de 300 mL de SM, aumentou significativamente os valores de ácido ascórbico ($p = 0,001$), ácido úrico ($p = 0,003$), EOT ($p = 0,048$) e as concentrações de potássio ($p = 0,004$) ao longo do tempo (Figura 11). A atividade eritrocitária da enzima SOD também aumentou significativamente ($p = 0,015$), 30 min após o consumo de 300 mL de SM (tabela 4). Os valores de CAOT, GPx e CAT, e as concentrações de glicose não se alteraram (tabela 2). Entretanto, um aumento que exedeu os valores de referência para a glicose, foi observado ao longo do tempo em 3 dos 4 pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 (T2DM) (material suplementar), após o consumo de 300 mL de SM. Após o consumo de 150 mL de SM, os níveis de IEO ($p = 0,012$) e ácido úrico aumentaram significativamente ($p < 0,001$) (Figura 4).

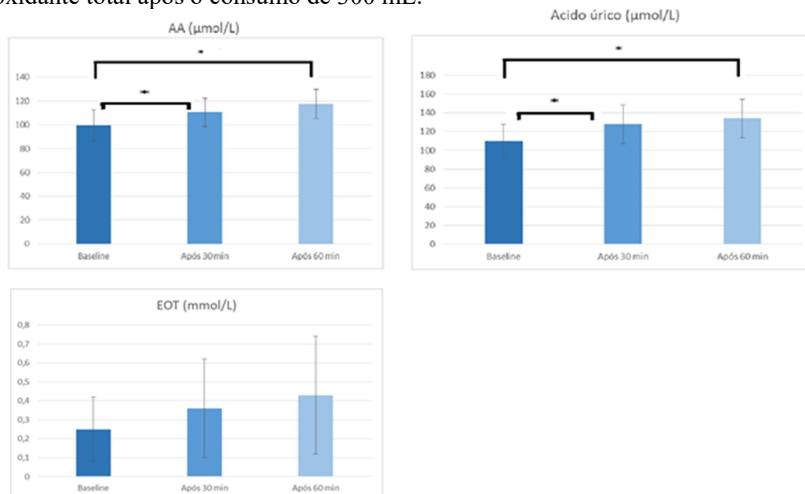
Nenhuma mudança significativa nos hábitos intestinais (número mediano de defecações = 1,5, $p = 0,357$), nem outros efeitos gastrointestinais adversos foram relatados (dados não mostrados).

Tabela 2 - Marcadores de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos antes e após o consumo do suco de maçã.

Variável	300 mL SM				150 mL SM			
	Baseline	Após 30 min	Após 60 min	valor p	Baseline	Após 30 min	Após 60 min	valor p
CAOT (mmol/L)	0,45 (0,24)	0,44 (0,32)	0,44 (0,34)	0,958	0,34 (0,09)	0,33 (0,07)	0,31 (0,6)	0,394
EOT (mmol/L)	0,25 (0,17)	0,36 (0,26)	0,43 (0,31)	0,048	0,16 (0,07)	0,18 (0,04)	0,20 (0,04)	0,086
IEO	0,64 (0,51)	1,38 (1,36)	1,43 (1,70)	0,190	0,52 (0,27)	0,57 (0,21)	0,67 (0,20)	0,012
Catalase (U/mg Hb)	0,65 (0,27)	0,96 (0,59)	0,73 (0,27)	0,305	1,5 (0,63)	2,06 (0,73)	1,8 (0,87)	0,224
SOD (U/mg Hb)	121,8 (114,1; 32,4)	136,0 (128,8; 59,3)	118,3 (104,6; 142,8)	0,015 [†]	152,5 (23,3)	158,9 (43,0)	129,2 (20,6)	0,264
GPx (U/mg Hb)	16,5 (12,1)	19,7 (13,5)	14,1 (8,7)	0,388	22,0 (15,2)	21,0 (11,5)	13,8 (4,22)	0,277 [#]
GSH (µmol/g Hb)	6,23 (2,71)	5,71 (1,87)	6,65 (1,97)	0,595	1,85 (0,23)	1,97 (0,30)	1,90 (0,31)	0,389
AA (µmol/L)	99,5 (13,1) [*]	110,6 (12,1) [#]	117,5 (12,4) [#]	0,001	28,5 (15,0)	29,6 (14,3)	31,0 (15,8)	0,385
Acido úrico (µmol/L)	109,9 (18,2) [*]	128,1 (20,4) [#]	134,2 (20,5) [#]	0,003	135,0 (33,3) ^a	151,1 (33,9) ^b	157,6 (36,3) ^b	< 0,001
Potássio (mmol/L)	3,6 (0,23) [*]	3,71 (0,41) ^b	4,11 (0,44) ^c	0,004	4,0 (0,50)	3,91 (0,38)	4,12 (0,31)	0,328
Glicose (mmol/L)	5,95 (1,35)	8,62 (3,68)	9,19 (4,84)	0,086	6,46 (1,45)	7,86 (2,85)	7,90 (4,0)	0,268

Valores apresentados como média (desvio padrão) (n=6). SM, suco de maçã; CAOT, capacidade antioxidante total; EOT, estado oxidante total; IEO, índice de estresse oxidativo; SOD, superóxido dismutase; GPx, glutatona peroxidase; GSH, glutatona reduzida; AA, ácido ascórbico. Valores de p obtidos utilizando-se ANOVA-RM e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). [#]Valores de p obtidos utilizando-se ANOVA-RM e teste de Bonferroni após transformação logarítmica ($p < 0,05$). [†]Valores de p obtidos utilizando-se teste de Friedman, teste complementar de Wilcoxon com correção de Bonferroni (nível de significância ajustado para $p < 0,033$). Valores com letras diferentes na linha são significativamente diferentes (comparação entre os períodos baseline, 30 e 60 min para cada dose de SM).

Figura 3 - Aumento das concentrações de ácido ascórbico, ácido úrico e estado oxidante total após o consumo de 300 mL.

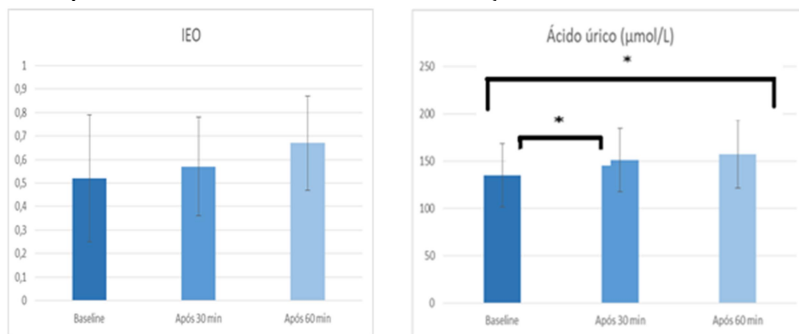


Valores de *p* obtidos utilizando-se ANOVA-RM e teste de Bonferroni após transformação logarítmica (**p* < 0,05). Comparação entre os períodos baseline, 30 e 60 min.

4 Discussão

Demonstrou-se, pela primeira vez, que o consumo agudo de SM foi tolerado por pacientes submetidos à HD e promoveu efeitos moderadamente positivos, particularmente no estado antioxidante. Com base em nossos achados, a dose de 300 mL de SM, aumentou os valores plasmáticos de ácido ascórbico (18%), 60 minutos após o seu consumo. Apesar da maçã não ser uma fonte dietética rica em ácido ascórbico [27], estes resultados estão em acordo com estudo semelhante, conduzido com indivíduos saudáveis [10]. Este achado pode ser explicado, em parte, pela deficiência de ácido ascórbico em pacientes submetidos à HD [28], o que pode ter favorecido a sua absorção.

Figura 4 - Aumento das concentrações de índice de estresse oxidativo e ácido úrico após o consumo de 150 mL de suco de maçã.



IEO, índice de estresse oxidativo. Valores de p obtidos utilizando-se ANOVA-RM e teste de Bonferroni após transformação logarítmica (* $p < 0,05$). Comparação entre os períodos baseline, 30 e 60 min.

Foi demonstrado que os radicais livres gerados após a diálise, podem inativar as enzimas antioxidantes [29]. Entretanto, apesar dos níveis elevados de oxidantes no plasma dos pacientes submetidos à HD, como demonstrado pelos valores de EOT (300 mL) e o IEO (150 mL), não observou-se uma diminuição na atividade das enzimas antioxidantes. Pelo contrário, foi achado um aumento significativo na atividade da SOD 30 minutos após o consumo de 300 mL de SM, o que pode ter ocorrido devido à resposta compensatória ao estado oxidante elevado [20] e/ou ao conteúdo de polifenóis do SM [30]. Entretanto, um efeito similar não foi visto para a atividade das enzimas catalase e GPx, após o consumo agudo de SM, e mais estudos devem esclarecer esses achados.

O consumo agudo de SM, não alterou a concentração da CAOT dos pacientes, apesar da concentração de ácido úrico ter se elevado (após o consumo de 300 mL). Após o consumo de maçã, comumente, a CAOT pode ser afetada pelo aumento na concentração sérica de ácido úrico, induzido via frutose, como descrito em indivíduos saudáveis [10,12,31]. Tais diferenças podem ser explicadas pela dose do suco e pela variedade de maçã utilizada nos estudos [10,11,31]. Além disso, neste estudo, o não aumento da CAOT também pode ser explicado, pelo aumento do estresse oxidativo, como medido pelos valores do EOT.

Após o consumo de 300 mL de SM, observou-se um aumento significativo nos valores do EOT ao longo do tempo. Aumento nos marcadores de estresse oxidativo foi relatado principalmente, durante a

primeira hora de diálise [32], e em estudo conduzido com pacientes submetidos à HD, mostrou que, uma única sessão de diálise produz um aumento no EOT [33]. Assim, sugere-se que os componentes antioxidantes do SM, não foram efetivos em diminuir os valores do EOT, apesar de estudos anteriores demonstrarem tais efeitos, com outras frutas nesta população [5,6,34]. Nossos achados contrastam com estudos prévios que demonstraram que o SM diminui os marcadores oxidativos em voluntários saudáveis [35]. Esta discrepância pode ser explicada, pelo elevado estresse oxidativo na população submetida à HD, em comparação aos indivíduos saudáveis [36]. Além disto, sugere-se que ambas as doses de SM podem ter promovido um efeito pró-oxidante. Alguns polifenóis podem ter atividade pró-oxidante na presença de metais [37]. Em pacientes submetidos à HD, íons metálicos podem ser originários de eritrócitos lisados durante a passagem do sangue pelos dialisadores e por contaminação do dialisado por agentes oxidantes, como o cobre [37,38].

O consumo de SM não está associado com o aumento da glicose sérica em indivíduos saudáveis [39], entretanto, neste estudo, a ingestão de 300 mL de SM, aumentou as concentrações séricas de glicose em 3 dos 4 pacientes com T2DM (material suplementar), em um nível que excedeu os valores de referência para a glicose pós-prandial [40]. Assim, sugere-se que o seu consumo por pacientes submetidos à HD com T2DM, deva ser visto com cautela.

Algumas limitações deste estudo devem ser consideradas. O principal desafio enfrentado, foi a baixa adesão à participação, que foi associada ao tempo de espera após a sessão de diálise para a ingestão do suco e para a coleta das amostras de sangue. Por conta disto, também não foi possível fazer um grupo controle. O fato do consumo ter sido agudo, também pode ser um fator limitante para alguns desfechos, como a CAOT, que é influenciada por mudanças prévias em outras variáveis, como o ácido úrico [41]. Adicionalmente, observou-se variabilidade nas medidas inter e intra participantes. Por fim, o pequeno tamanho da amostra e esta variabilidade sugerem cautela na interpretação dos achados.

Após o consumo de 300 mL de SM, os níveis séricos de potássio aumentaram significativamente. Entretanto, ressalta-se que tal aumento, não excedeu os valores de referência, estabelecidos para a população em HD [42]. Os pacientes submetidos à HD são geralmente instruídos a limitar o seu consumo de frutas, vegetais, nozes e legumes, devido às preocupações com a elevação sérica desse mineral. Visto que estes alimentos são fontes importantes de fibras, micronutrientes e

antioxidantes, restrições severas não são recomendadas [43]. Portanto, é importante que intervenções envolvendo alimentos sejam conduzidas, de forma a permitir a esses pacientes, o consumo de alimentos com teores não elevados em potássio; como a maçã, em porções controladas, permitindo maior variedade de alimentos em sua dieta.

5 Conclusão

O consumo agudo de SM foi tolerado pelos pacientes submetidos à HD, sendo que a dose de 300 mL foi capaz de melhorar o estado antioxidante, através do aumento nas concentrações da enzima antioxidante SOD e do ácido ascórbico. Entretanto, outros estudos são necessários para melhor compreender o aumento nos marcadores de estresse oxidativo (EOT e IEO) verificados após a ingestão aguda do SM. Adicionalmente, o consumo de SM deve ser avaliado com cautela para pacientes diabéticos submetidos à HD. Desta forma, este estudo preliminar, fornece *insights* para que estudos de médio e longo prazo explorem o papel do consumo de SM em pacientes submetidos à HD.

Referências

1. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radical in Biology and Medicine**, 4 th ed, Oxford University Press: Oxford, 2007.
2. HILL, N. R.; et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. e0158765, 2016.
3. KAO, M. P. C.; et al. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. **Journal of Human Hypertension**, v. 24, p. 1–8, 2010.
4. ALVAREZ-PARRILLA, E.; et al. Daily consumption of apple, pear and orange juice differently affects plasma lipids and antioxidant capacity of smoking and non-smoking adults. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 61, p. 369–80, 2010.
5. CASTILLA, P.; et al. Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis

patients and healthy subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.84, p. 252– 62, 2006.

6. SPORMANN, T. M.; et al. Anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an intervention study with patients on hemodialysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.17, n. 12, p. 3372–3380, 2008.

7. BITSCH, R.; et al. Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 245-249, 2001.

8. SERRA, A. T.; et al. Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 2 – antioxidant and antiproliferative activities. **Journal of Functional Foods**, v. 2, p. 46–53, 2010.

9. KO, S-H.; et al. Comparison of the antioxidant activities of nine different fruits in human plasma. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, n. 1, p. 41–46, 2005.

10. VIEIRA, F. G. K. et al. Improvement of serum antioxidant status in humans after the acute intake of apple juices. **Nutrition Research**, v. 32, p. 229-232, 2012.

11. LOTITO, S.B.; FREI, B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, n. 2, p. 201 – 211, 2004.

12. LOTITO, S.B.; FREI, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 12, p. 1727–1746, 2006.

13. NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **If you need to limit potassium**, 2010. Disponível em:
<https://www.kidney.org/sites/default/files/02-10-0410_EBB_Potassium.pdf>. Acesso em 14 maio 2017.

14. BITTENCOURT, C. C.; et al. A cadeia produtiva da maçã em Santa Catarina: competitividade segundo produção e *packing house*. **Revista de Administração Pública**, v.45, n.4, p. 1199-1222, 2011.

15. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of the AOAC International**, 18 ed. Maryland: AOAC, 2005.
16. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology & Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.
17. ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.
18. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Science & Technology**, vl. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
19. GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, in **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, R. E. Wrolstald, ed., p. 1-13, John Wiley and Sons, New York, NY, 2001.
20. EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103–1111, 2005.
21. AYCICEK, A.; EREL, O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. **Jornal de Pediatria**, v. 83, p. 319–322, 2007.
22. EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 277-285, 2004.
23. CHUNG, W. Y.; et al. Plasma ascorbic acid: measurement, stability and clinical utility revisited. **Clinical Biochemistry**, v. 34, n. 8. p. 623-627, 2001.
24. GIUSTARINI, D.; et al. Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. **Nature Protocols**, v. 8, n. 9, p. 1660-1669, 2013.

25. JOHANSSON, L. H.; BORG, L. A. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Analytical Biochemistry**, v. 174, n. 1, p. 331-336, 1988.
26. WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 325-333, 1981.
27. KANG, D. W.; et al. The effect of intravenous ascorbic acid in hemodialysis patients with normoferritinemic anemia. **Kidney Research & Clinical Practice**, v. 31, p. 48–53, 2012.
28. SIROVER, W.D.; et al. Plasma ascorbic acid concentrations in prevalent patients with end-stage renal disease on hemodialysis. **Journal of Renal Nutrition**, v. 25, p. 292–300, 2015.
29. VARAN, H. I.; et al. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: Comparison of two dialysis membranes. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 3, p. 39 – 45, 2010.
30. DENIS, M. C.; et al. Apple peel polyphenols and their beneficial actions on oxidative stress and inflammation. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e53725, 2013.
31. GODYCKI-CWIRKO, M.; et al. Uric acid but not apple polyphenols is responsible for the rise of plasma antioxidant activity after apple juice consumption in healthy subjects. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 29, p. 397-406, 2010.
32. RAMAKRISHNA, P.; et al. Effect of reuse of polysulfone membrane on oxidative stress during hemodialysis. **Indian Journal of Nephrology**, v. 22, n. 3, p. 200–205, 2012.
33. MCDONALD, C. I.; et al. Oxidative stress during extracorporeal circulation. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery Advance**, p. 1-7, 2014.
34. SHEMA-DIDI, L.; et al. Pomegranate juice intake attenuates the increase in oxidative stress induced by intravenous iron during hemodialysis. **Nutrition Research**, n. 33, p. 442 – 446, 2013.

35. HYSON, D.; et al. Apple juice consumption reduces plasma low-density lipoprotein oxidation in healthy men and women. **Journal of Medicinal Food**, v. 3, p. 159-166, 2000.
36. COOMBES, J. S.; FASSETT, R.G. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. **Kidney international**, v. 81, n. 3, p.233 -246, 2012.
37. KAULMANN, A.; BOHN, T. Bioactivity of polyphenols: preventive and adjuvant strategies toward reducing inflammatory bowel diseases - promises, perspectives, and pitfalls. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, n. 29, 2016.
38. DUFFT, R.; et al. Multistate outbreak of hemolysis in hemodialysis patients traced to faulty blood tubing sets. **Kidney International**, v. 57, p. 1668–1674, 2000.
39. SORIANO-MALDONADO, A.; et al. Effects of regular consumption of vitamin C-rich or polyphenol-rich apple juice on cardiometabolic markers in healthy adults: a randomized crossover trial. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 8, p. 1645-57, 2014.
40. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Guideline for management of post-meal glucose in diabetes**, 2011. Disponível em: <<http://www.idf.org/sites/default/files/postmeal%20glucose%20guidelines.pdf>> Acesso em 03 outubro 2016.
41. BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.
42. PANI, A.; et al. Hyperkalemia in hemodialysis patients. **Seminars in Dialysis**, v. 27, n. 6, p. 571-576, 2014.
43. CUPPARI, L.; et al. A practical approach to dietary interventions for nondialysis-dependent CKD patients: the experience of a reference nephrology center in Brazil. **BMC Nephrology**, v. 17, p. 1-11, 2016.

Material Suplementar

Tabela 5 - Parâmetros bioquímicos individuais antes e após 60 minutos do consumo de 300 mL de suco de maçã.

Paciente	Acido úrico ($\mu\text{mol/L}$)	Glicose (mmol/L)	Potássio (mmol/L)
	antes – depois	antes – depois	antes – depois
1*	112,4 – 161,2	7,6 – 17,9	3,5 – 4,3
2*†	125,5 – 136,8	4,9 – 6,2	3,8 – 4,6
3*	127,9 – 142,8	7,3 – 9,9	3,9 – 4,5
4*	115,4 – 134,4	5,7 – 10,5	3,4 – 3,5
5	99,3 – 132,0	4,0 – 4,9	3,7 – 4,1
6	79,1 – 98,1	6,2 – 5,8	3,3 – 3,7

*Paciente com diabetes mellitus tipo 2. †Feminino. Valores de referência: ácido úrico: 208,2-428,3 $\mu\text{mol/L}$ (homens), 154,7-356,9 $\mu\text{mol/L}$ (mulheres)¹; glicose pós-prandial <7,8 mmol/L ²; potássio: < 5,5 mmol/L ³. Referência: ¹DESIDERI et al. Is it time to revise the normal range of serum uric acid levels? *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, v. 18, p. 1295-1306, 2014; ²International Diabetes Federation. *Guideline for management of post-meal glucose in diabetes*, 2011; ³National Kidney Foundation. *Best practices in managing hyperkalemia in chronic kidney disease*, 2016.

6.2 ARTIGO 2: CONSUMO DE MAÇÃ MELHORA O ESTADO ANTIOXIDANTE EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE, SEM ALTERAR AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE POTÁSSIO.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do consumo de maçã, da variedade *Fuji*, nos marcadores antioxidantes e oxidantes, parâmetros bioquímicos e tolerância em pacientes submetidos à hemodiálise (HD). Nossa hipótese foi que o consumo de maçã pudesse melhorar o estado antioxidante e/ou reduzir os marcadores oxidativos em pacientes submetidos à HD, sem aumentar as concentrações séricas de potássio. Neste ensaio clínico, tipo antes e depois, participaram 16 pacientes, que estavam em HD por período ≥ 3 meses e sem qualquer doença aguda ou hipercalemia. Cada voluntário consumiu diariamente duas unidades de maçã (~360g), durante 7 dias. Amostras de sangue foram coletadas nos períodos *baseline* e no 8º dia após o consumo da maçã. Foram analisados os parâmetros antioxidantes (capacidade antioxidante total (CAOT), ácido ascórbico (AA), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e glutathione reduzida); os marcadores oxidativos (estado oxidante total (EOT) e índice de estresse oxidativo (IEO)) e as concentrações séricas de parâmetros bioquímicos (potássio, fósforo, ácido úrico, glicose e frutossamina). A fim de medir a tolerância ao consumo da maçã, os participantes foram questionados sobre a presença de efeitos colaterais. O consumo de maçã aumentou a atividade das enzimas antioxidantes GPx ($p = 0,002$) e SOD ($p = 0,012$); assim como as concentrações de AA ($p = 0,001$). As concentrações de potássio, fósforo, ácido úrico, glicose e frutossamina foram mantidos antes e após a intervenção. Entretanto, houve diminuição na atividade da enzima CAT ($p = 0,007$), nos valores da CAOT ($p = 0,001$), nas concentrações de EOT ($p = 0,002$) e IEO ($p = 0,007$). O consumo de maçã *Fuji* foi tolerado e melhorou o estado antioxidante em pacientes submetidos à HD, sem aumentar as concentrações séricas de potássio.

Palavras-chave: hemodiálise, maçã, estado antioxidante, estresse oxidativo, potássio.

1 Introdução

O estresse oxidativo (EO) ocorre devido à produção excessiva de radicais-livres e/ou diminuição no sistema antioxidante e resulta em alterações químicas de moléculas, causando modificações funcionais e estruturais (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007). É sugerido que o consumo de frutas ricas em antioxidantes, como vitaminas, minerais e polifenóis possam atenuar o EO e melhorar as defesas antioxidantes em indivíduos saudáveis (DA SILVA, RUDKOWSKA, 2016).

O EO é comumente associado a taxas elevadas de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à hemodiálise (HD) (MCDONALD et al., 2014). Estes são acometidos por deficiências em micronutrientes, vitaminas e antioxidantes, podendo ser agravado pelo baixo consumo de frutas e vegetais, considerando-se as restrições dietéticas impostas para controlar principalmente, as concentrações séricas de potássio (LUIS et al., 2016; ST-JULES et al., 2016). Isto limita também, o consumo de antioxidantes (RAIMANN et al., 2013), especialmente os polifenóis, exarcebando o EO. Para pacientes submetidos à HD, informações sobre os efeitos protetivos causados pela eficácia antioxidante de alimentos ricos em polifenóis são escassos (SPORMANN et al., 2008; SHEMA-DIDI et al., 2012).

A maçã é considerada uma fonte de nutrientes e compostos polifenólicos. Efeitos antioxidantes do consumo de maçã, foram relatados em intervenções com indivíduos saudáveis, resultando em aumento nas defesas antioxidantes (MAYER et al., 2001; AVCI et al., 2007; STRACKE et al., 2010) e diminuição nos marcadores de EO (AVCI et al., 2007). A quantidade de maçã utilizada nestes estudos, variou de 1 unidade (~144g) a 1 kg (MAYER et al., 2001; AVCI et al., 2007; STRACKE et al., 2010). Dentre os constituintes, a maçã possui polifenóis e potássio (MANZOOOR et al., 2012), sendo o seu efeito em pacientes submetidos à HD desconhecido. Portanto, neste estudo, investigou-se como o consumo de 2 unidades por dia, de maçã da variedade *Fuji* (*Malus domestica* Borkh), durante 7 dias, poderia afetar os marcadores antioxidantes e oxidantes e os parâmetros bioquímicos, em pacientes submetidos à HD. Nossa hipótese foi que o consumo de maçã *Fuji* pudesse melhorar o estado antioxidante e/ou diminuir os marcadores de EO em pacientes submetidos à HD, sem aumentar as concentrações séricas de potássio.

2 Material e métodos

2.1 Maçãs *Fuji*

As maçãs da variedade *Fuji*, foram obtidas dos campos experimentais sazonais da estação da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), São Joaquim/SC (latitude 28° 17' 39", longitude 49° 55' 56" e altitude 1.415 m), colhidas no seu estágio de maturação comercial na colheita de 2016. Após a colheita, as maçãs foram armazenadas a $4,2 \pm 1,3$ °C por dois meses sob refrigeração (Bosch[®], São Paulo, Brasil). Antes do consumo, as frutas foram higienizadas com hipoclorito de sódio a 1% (DAI et al., 2012) e embaladas em filme plástico. Os participantes receberam as maçãs durante os dias de diálise e as transportaram da clínica até suas casas, em um *cooler*. Os mesmos foram instruídos a manterem as maçãs armazenadas sob refrigeração até o momento do consumo e consumi-las com casca e sem miolo.

2.2 Composição química da maçã

Os conteúdos de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH e acidez titulável foram analisados, utilizando-se as metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemists* (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2005). As concentrações de compostos fenólicos totais (SINGLETON, ROSSI, 1965), flavanóis totais (ARNOUS, MARKIS, KEFALAS, 2002), capacidade antioxidante total métodos DPPH (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER, BERSET, 1995) e FRAP (BENZIE, STRAIN, 1996) e antocianinas monoméricas totais (GIUSTI, WROLSTAD, 2001) foram analisadas utilizando-se as metodologias previamente descritas. Para a análise das frutas, estas foram armazenadas no Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, de maneira similar a descrita para os participantes. Isto foi realizado com a finalidade de se evitar variação na composição química da maçã. As análises foram conduzidas no laboratório citado, durante o período de intervenção, em triplicata.

2.3 Participantes

Os participantes foram recrutados em duas clínicas de diálise localizadas na área metropolitana de Florianópolis/SC, entre junho e

julho de 2016. Os critérios de inclusão foram: estar em hemodiálise por período ≥ 3 meses, ter idade ≥ 20 anos e índice de massa corporal (IMC) $\geq 23 \text{ kg/m}^2$. Foram excluídos os participantes alérgicos à maçã, com hipercalemia ($> 6 \text{ mmol/L}$), com câncer ou síndrome da imunodeficiência adquirida, que passaram por transplante renal menos de 6 meses antes do início do estudo, em uso de suplementos nutricionais ou antioxidante antes de 30 dias do início do estudo e pacientes que foram hospitalizados menos de 6 semanas antes do início do estudo ou sofrendo de doença aguda (Figura 1). O acesso venoso dos pacientes foi obtido através de fistula arteriovenosa. Durante a intervenção, os procedimentos de diálise e o tipo de membrana foram mantidos para todos os pacientes.

Vinte e cinco voluntários foram elegíveis para participar do estudo. Nove voluntários foram excluídos por violarem o protocolo, portanto, 16 voluntários concluíram a intervenção (Figura 1). Este estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética de Pesquisa com Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (protocolo 37090614.6.0000.0118) e todos os participantes forneceram consentimento por escrito.

2.4 Design do estudo

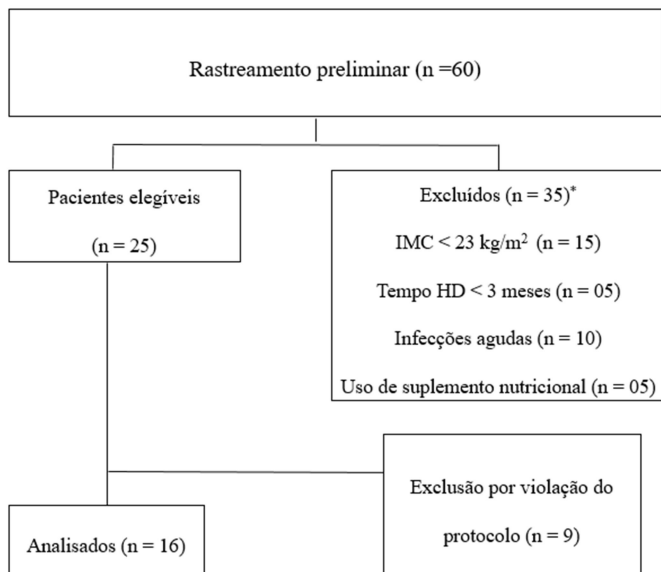
Neste ensaio clínico antes e depois, os participantes serviram como seus próprios controles, i.e., todos os dados obtidos durante o período de consumo de maçã, foram comparados aos valores do *baseline*. Durante o período de intervenção (7 dias), cada participante consumiu diariamente duas unidades de maçã, da variedade *Fuji* (~360 g). Durante os dias de diálise, os voluntários consumiram as maçãs após a sessão, e, nos dias sem diálise, distribuídas ao longo do dia. As amostras de sangue foram obtidas imediatamente antes do começo da sessão de diálise, nos seguintes períodos: *baseline* (antes do início da intervenção) e no dia 8 (dia após o último dia de intervenção) (Figura 2).

A maçã *Fuji* foi escolhida por ser uma fruta, com teores não elevados de potássio, e por ser recomendada para pacientes submetidos à HD pela *National Kidney Foundation* (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2010). Além disto, Santa Catarina é líder nacional em sua produção (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015), sendo a variedade *Fuji* uma das mais produzidas (BITTENCOURT et al., 2011), proporcionando fácil acesso à fruta. A quantidade de duas unidades por dia, foi escolhida, considerando-se os efeitos favoráveis em indivíduos saudáveis, previamente descritos

(AVCI et al., 2007), e a recomendação a pacientes em HD, para que consumam de 2 a 3 porções de frutas com teores não elevados de potássio ao dia (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2010).

Apesar da maçã ser uma fruta com teores não elevados de potássio, foi necessário controlar o comportamento sérico deste mineral, com a inclusão das duas unidades de maçã. Portanto, duas coletas adicionais de sangue nos dias 3 e 6, serviram para monitorar os níveis deste mineral (material suplementar). Os voluntários foram instruídos a não alterarem seus hábitos, incluindo a prática de atividade física e a manterem o consumo de seus medicamentos. Foram orientados a evitar a ingestão de maçã ou derivado (i.e. suco de maçã), além do recomendado pelo estudo.

Figura 1 – Fluxo de participantes do estudo.



Legenda:

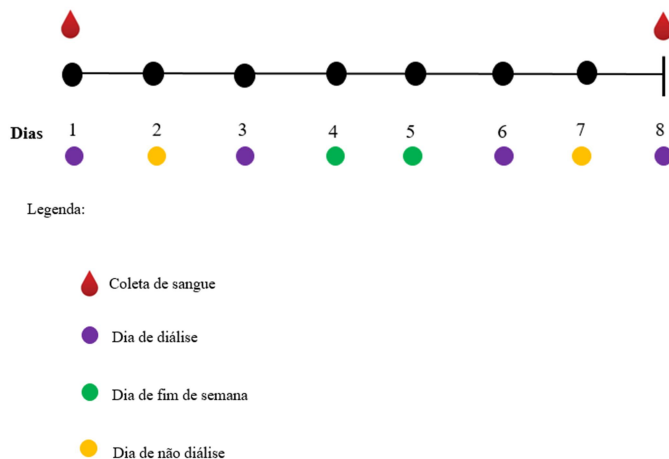
IMC (Índice de Massa Corporal); HD (hemodiálise)

* Excluídos por não atenderem os critérios de inclusão

Os dados clínicos e bioquímicos foram obtidos dos prontuários médicos. A fim de medir a tolerância e aderência ao consumo de maçã,

os participantes foram questionados por telefone, durante os 7 dias de intervenção, sobre a frequência do número de evacuações, dores abdominais, inchaço abdominal, flatulência e sobre o aparecimento de náusea e vômito.

Figura 2 - Representação esquemática do protocolo experimental do estudo.



2.5 Amostras de sangue

As amostras de sangue venoso foram coletadas em tubos *Vacutainer*[®] (São Paulo, Brasil) contendo EDTA, heparina ou sem anticoagulante; a partir da fístula arteriovenosa. Plasma e soro foram obtidos imediatamente por centrifugação (3.000 rpm, 10 min, temperatura ambiente) para a medição de ácido ascórbico (AA), ácido úrico, fósforo, glicose, frutossamina, potássio, capacidade antioxidante total (CAOT) e estado oxidante total (EOT). Para quantificar as enzimas antioxidantes, uma alíquota de sangue foi lisada. Para a análise de glutatona reduzida (GSH), foi transferido sangue total-EDTA para tubo *Eppendorf* contendo 100 µL de N-etilmaleimida 310 mM (NEM310; *Sigma-Aldrich*) e misturado em vórtice (GIUSTARINI et al., 2013). Todas as amostras foram armazenadas imediatamente a -80 °C para posteriormente serem analisadas em duplicata.

2.6 Parâmetros bioquímicos

As concentrações séricas de ácido úrico, fósforo, glicose e frutossamina foram determinadas utilizando-se kits comerciais (Labtest[®], Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil) em equipamento automático *Cobas Miras Plus* (Roche[®], Basel, Switzerland). As concentrações de potássio sérico foram determinadas em equipamento automático *Dimension RXL Max System* (Siemens Healthcare Diagnostics Products GMBH[®], Marburg, Germany).

2.7 Marcadores de estresse oxidativo

Os marcadores oxidativos, estado oxidante total (EOT) sérico (EREL, 2005) foi medido como descrito previamente, assim como o cálculo do índice de estresse oxidativo (IEO) (AYCICEK, EREL, 2007). A fim de quantificar os parâmetros antioxidantes, a capacidade antioxidante total (CAOT) foi dosada espectrofotometricamente (EREL, 2004). As concentrações de ácido ascórbico no plasma (AA) (CHUNG et al., 2001) e da glutathiona reduzida (GSH) no sangue (GIUSTARINI et al., 2013) foram determinadas utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) conforme descrito previamente. A atividade eritrocitária da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada através de kit (Sigma Aldrich[®], St. Louis, MO, USA), de acordo com as instruções do fabricante. A atividade eritrocitária da catalase (CAT) foi determinada espectrofotometricamente de acordo com o método descrito previamente (JOHANSSON, BORG, 1988) e a atividade eritrocitária da glutathiona peroxidase (GPx) foi determinada utilizando o método de taxa de oxidação NADPH (WENDEL, 1981).

2.8 Análise estatística

O teste Shapiro-Wilk foi aplicado para determinar a normalidade dos dados. As variáveis contínuas foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil e as variáveis categóricas foram apresentadas como frequência absoluta. O teste de Wilcoxon para amostras pareadas foi utilizado para testar as diferenças entre os valores dos desfechos nos períodos *baseline* e no dia 8. O tamanho do efeito foi calculado, utilizando-se a estatística *d* de Cohen (COHEN, 1993), ajustada para uso em medições repetidas e para a remoção de vieses de amostras pequenas na estimativa do efeito padronizado. Os tamanhos do efeito foram assumidos como triviais (<0,20), pequenos (entre 0,20 e 0,49), médios

(entre 0,50 e 0,79) ou grandes ($> 0,80$) (COHEN, 1993). As análises estatísticas foram conduzidas no software SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). O nível de significância adotado foi inferior a 5% ($p < 0,05$). O tamanho do efeito de *Cohen's d* foi calculado utilizando-se calculadora de tamanho de efeito (<http://www.cem.org/effect-size-calculator>).

3 Resultados

3.1 Características do Participantes

Dezesseis pacientes submetidos à HD ($54,4 \pm 11,5$ anos; 10 homens; 14 com hipertensão e 6 com diabetes mellitus tipo 2 - T2DM) participaram deste estudo. Todos os participantes frequentavam a diálise 3 vezes por semana, de 3 a 4 horas/sessão, com membrana dialisadora de polisulfona. Além disso, todos os pacientes recebiam quelantes de fósforo e eritropoetina intravenosa. Igualmente, 62,5%, 18,8% e 18,8% dos pacientes eram tratados com medicamentos para hipertensão, diabetes e suplemento oral de ferro, respectivamente. As características clínicas dos pacientes estão apresentadas na tabela 1.

3.2 Efeito do consumo de maçã nos marcadores de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos

A tabela 2 mostra a composição química da porção de maçã consumida pelos pacientes, incluindo a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico total. Em comparação com outras maçãs da variedade *Fuji* cultivadas em Santa Catarina (VIEIRA, 2010) e no sul do país (VIEIRA et al., 2011), os participantes consumiram, por porção, uma quantidade menor de compostos fenólicos totais.

A tabela 3 mostra os marcadores de EO e os parâmetros bioquímicos antes e depois da intervenção. Em comparação com os valores do período *baseline*, o consumo de maçã aumentou significativamente as atividades enzimáticas da GPx ($p = 0,002$; tamanho do efeito grande, $d = 0,94$) e SOD ($p = 0,012$; tamanho do efeito médio, $d = 0,67$) em 75% e 20,6% respectivamente. Além do mais, as concentrações plasmáticas de AA duplicaram ($p = 0,001$, tamanho do efeito grande, $d = 1,07$).

Por outro lado, a concentração de GSH no sangue não foi alterada ($d = -0,76$) e uma redução significativa de 19,2% ($p = 0,007$; $d = -0,74$) na atividade da CAT foi observada após o consumo de maçã. Além

disso, os valores séricos da CAOT diminuíram (15%; $p = 0,001$; $d = -0,40$), enquanto os níveis de EOT e IEO aumentaram ($p = 0,002$; $d = 0,80$ e $p = 0,007$; $d = 0,85$), respectivamente (tabela 3).

O consumo das duas unidades de maçã não alterou de forma significativa os níveis séricos de potássio ($d = 0,14$), fósforo ($d = 0,07$), ácido úrico ($d = 0,18$), glicose ($d = -0,05$) e frutossamina ($d = -0,04$) (tabela 3).

O consumo diário de duas unidades de maçã foi tolerado, não havendo a presença de efeitos colaterais. Nenhuma mudança significativa nos hábitos intestinais, nem outros efeitos gastrointestinais adversos foram relatados (dados não mostrados).

Tabela 1 – Características clínicas dos pacientes

Parâmetros	Participantes (n = 16)
Idade (anos), média ± DP	54,4 ± 11,5
Sexo masculino, n (%)	10 (62,5)
Altura (m), média ± DP	1,69 ± 0,1
Peso (kg), média ± DP	81,9 ± 12,3
IMC pré-intervenção (kg/m ²), média ± DP	28,6 ± 4,1
IMC pós-intervenção (kg/m ²), média ± DP	28,5 ± 3,9
Etiologia da DRC, n (%)	
Hipertensão	6 (37,5)
Rim policístico	5 (31,2)
Diabetes	2 (12,5)
Diabetes e hipertensão	3 (18,8)
Tempo de diálise (meses), média ± DP	28,6 ± 31,4
Hipertensos, n (%)	14 (87,5)
Diabéticos, n (%)	6 (37,5)
Kt/V, média ± DP	1,26 ± 0,15
Creatinina sérica (µmol/L), média ± DP	954,7 ± 282,9
Albumina sérica (g/dL), média ± DP	4,0 ± 0,3
Potássio sérico pré-intervenção* (mmol/L), média ± DP	1,48 ± 0,28
Fósforo sérico pré-intervenção* (mmol/L), média ± DP	1,94 ± 0,42
Uréia sérica pré-diálise (mg/dL), média ± DP	156,8 ± 28,4
Uréia sérica pós-diálise (mg/dL), média ± DP	49,9 ± 14,3
Hematócrito (%), média ± DP	35,4 ± 3,7
Hemoglobina (g/L), média ± DP	119 ± 11,6

DP, desvio padrão; IMC, índice de massa corporal; DRC, doença renal crônica.

* Coletado mensalmente pela clínica de diálise, antes do início da intervenção.

Tabela 2 – Composição química da porção de maçã Fuji (360 g)

Componente	Maçã Fuji (360 g)
Matéria seca (%)	59,18 ± 2,30
Sólidos solúveis totais (°Brix)	52,16 ± 1,94
pH	4,18 ± 0,29
Acidez titulável (mg EAA)	0,72 ± 0,09
Fenólicos totais (mg EAA)	88,38 ± 15,52
Flavanóis totais (mg EAA)	14,76 ± 2,45
Antocianinas monoméricas totais (mg eq cianidina-3-glicosídeo/100 mL)	4,10 ± 1,69
FRAP (mg EAA)	168,77 ± 20,56
DPPH (mg EAA)	58,28 ± 10,51

FRAP, ensaio antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro; EAA, equivalente de ácido ascórbico; DPPH, ensaio antioxidante de captura do radical livre DPPH (2, 2-difenil-1-picrildrazil). Análises conduzidas nos dias da intervenção. Dados expressos como média ± desvio padrão.

Tabela 3 – Marcadores de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos antes e após o consumo de maçã Fuji.

Variável	Baseline	Dia 8	p
CAOT (mmol/L)	0,71 (0,63-0,81)	0,60 (0,52-0,69)	0,001
EOT (mmol/L)	3,97 (2,23-4,34)	6,58 (4,93-8,00)	0,002
IEO	4,22 (3,2-6,9)	8,33 (7,7-13,9)	0,007
CAT (U/mg Hb)	596,9 (598,1-744,6)	482,0 (360,1-556,9)	0,007
SOD (U/mg Hb)	217,6 (195,5-240,9)	262,4 (227,9-289,0)	0,012
GPx (U/mg Hb)	14,0 (9,6-18,9)	24,5 (22,8-27,4)	0,002
GSH (µmol/g Hb)	7,17 (6,5-7,5)	7,69 (6,2-8,6)	0,064
AA (µmol/L)	0,49 (0,35-0,85)	1,18 (0,87-1,94)	0,001
Ácido úrico (µmol/L)	320,4 (265,3-380,1)	332,6 (298,3-398,8)	0,791
Fósforo (mmol/L)	1,95 (1,7-2,2)	2,01 (1,7-2,2)	0,461
Potássio (mmol/L)	5,18 (4,7-5,8)	5,22 (4,9-6,1)	0,141
Glicose (mmol/L)	7,17 (5,7-8,2)	6,9 (5,3-8,2)	0,406
Frutosamina (µmol/L)	328,3 (275,5-370,5)	325,6 (286,0-373,0)	0,619

CAOT, capacidade antioxidante total; EOT, estado oxidante total; IEO, índice de estresse oxidativo; CAT, catalase; SOD, superóxido dismutase; GPx, glutatona peroxidase; GSH, glutatona reduzida; AA, ácido ascórbico. Valores apresentados como mediana (intervalo interquartil) (n=16). Valores de p obtidos utilizando-se teste de Wilcoxon (p < 0,05).

4 Discussão

Neste estudo, demonstrou-se que o consumo diário de duas unidades de maçã *Fuji*, durante 7 dias, melhorou a atividade eritrocitária das enzimas antioxidantes GPx e SOD e as concentrações plasmáticas de AA em pacientes submetidos à HD. Além disto, a intervenção foi tolerada pelos participantes e não alterou as concentrações séricas de potássio. Portanto, nossa hipótese de que o consumo de maçã pudesse melhorar o estado antioxidante em pacientes em HD, sem aumentar as concentrações séricas de potássio, foi sustentada. Até o momento, este é o primeiro estudo, que avaliou os efeitos do consumo de maçã da variedade *Fuji*, nos marcadores de EO e nos parâmetros bioquímicos, em pacientes submetidos à HD.

O aumento na atividade das enzimas SOD e GPx após o consumo de maçã, pode ser associado, pelo menos em parte, aos polifenóis desta fruta. Estas enzimas, compartilham regulação transcricional através do sistema Keap1-Nrf2 (fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2-Kelch-like ECH proteína 1) (BAIRD, DINKOVA-KOSTOVA, 2011), e estudos indicam uma associação entre os polifenóis, incluindo os da maçã, e a expressão de enzimas antioxidantes, através da ativação de Nrf2 em modelos animais (SOYALAN et al., 2011) e em linhagens celulares (DENIS et al., 2013; NAKAYAMAA et al., 2015). Entretanto, uma associação entre o aumento na atividade destas enzimas antioxidantes com as espécies oxidantes, não pode ser desconsiderada. Por outro lado, observou-se que o consumo de maçã, não aumentou a atividade da CAT nos pacientes. O efeito foi médio e significativo, e uma possível explicação é que os polifenóis da maçã, não induziram a expressão do gene da CAT (SEPTEMBRE-MALATERRE et al., 2016). Adicionalmente, o aumento das concentrações do EOT observado, pode ter influenciado esta enzima, já que foi demonstrado que os radicais livres gerados após a diálise, podem diminuir a sua atividade (VARAN et al., 2010).

Além das enzimas antioxidantes, os antioxidantes não-enzimáticos, como o AA, também atuam no sequestro das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (NOORI, 2012). Apesar da maçã não ser uma fonte dietética rica em AA (SORIANO-MALDONADO et al., 2014), observou-se que o consumo de maçã aumentou significativamente os níveis plasmáticos desta vitamina. Este achado é particularmente importante, porque os pacientes submetidos à HD estão suscetíveis à deficiência de AA, por conta das restrições dietéticas, desnutrição e/ou perdas durante o tratamento dialítico (SIROVER et al.,

2015). Portanto, nossos achados corroboram com estudo prévio que demonstrou que indivíduos com baixos níveis de AA, podem ter uma absorção favorecida (SIROVER et al., 2015).

Em estudos prévios, após o consumo de maçã, comumente, a CAOT pode ser afetada pelo aumento nas concentrações de ácido úrico sérico, induzido via frutose, como descrito em indivíduos saudáveis (AVCI et al., 2007; MAFFEI et al., 2007; STRACKE et al., 2010). Neste estudo, observou-se que o consumo de maçã, não aumentou os valores séricos da CAOT nos pacientes submetidos à HD. Isto pode ser explicado, em parte, pela não elevação nos níveis séricos de ácido úrico. Somado à isto, o aumento nas concentrações plasmáticas de AA, não foi suficiente para sustentar o aumento nas concentrações séricas da CAOT, visto que esses dois compostos antioxidantes são os maiores contribuintes para sua formação (EREL, 2004).

Em contrapartida, observou-se que após a intervenção, os níveis séricos de EOT e IEO aumentaram nos pacientes submetidos à HD. É sugerido que estes pacientes tenham estresse oxidativo contínuo e sistêmico (RYSZ et al., 2006), e que a hemodiálise *per se* contribui para isto. Estudos com outras frutas, como o romã (SHEMA-DIDI et al., 2013), a uva (CASTILLA et al., 2006) e um mix de frutas vermelhas (SPORMANN et al., 2008), demonstraram o efeito positivo dos polifenóis, na diminuição de marcadores oxidativos em pacientes submetidos à HD. A ausência de efeito nestes marcadores, pode ser explicada, em parte, pelo fato das duas unidades de maçã *Fuji* consumida, não ter fornecido uma quantidade suficiente de polifenóis para diminuir os marcadores oxidantes avaliados neste estudo (MAFFEI et al., 2007).

Os pacientes submetidos à HD são geralmente instruídos a limitar o consumo de frutas, vegetais, nozes e legumes, devido à elevação do potássio sérico. Sendo estes alimentos fontes de fibras, micronutrientes e antioxidantes, uma restrição severa não é recomendada (CUPPARI et al., 2016). Apesar dos efeitos adversos da hipercalemia, e a fim de se evitar que restrições dietéticas afetem o estado nutricional dos pacientes (CUPPARI et al., 2016), é importante que intervenções envolvendo alimentos sejam conduzidas, de forma a permitir a esses pacientes, o consumo de alimentos com teores não elevados em potássio; como a maçã, em porções controladas, permitindo maior variedade de alimentos em sua dieta. Além disto, sabe-se que o consumo de alimentos é preferido ao consumo de suplementos de vitaminas, tanto para se evitar efeitos colaterais, quanto para se aproveitar a sinergia entre os fitoquímicos encontrados nos alimentos de origem vegetal (AVCI et al.,

2007). Neste sentido, este estudo é promissor, especialmente porque o consumo diário de duas unidades de maçã *Fuji*, durante 7 dias, não aumentou a concentração sérica de potássio, numa população de hemodialisados, sem hipercalemia. Isto pode ser explicado, pelo fato de que os alimentos vegetais promovem uma maior distribuição desse mineral intracelularmente, assim como, sua excreção pelas fezes (ST-JULES et al., 2016).

Em nosso estudo, 37,5% dos pacientes tinham T2DM, corroborando com a prevalência de 24-51% descrita na literatura (NARRES et al., 2016). Observou-se que a intervenção com as maçãs, não afetou os níveis séricos de glicose e frutamina, indicando portanto, que a intervenção não teve efeito desfavorável no controle glicêmico destes pacientes. Ao contrário, os polifenóis da maçã podem melhorar a homeostase da glicose através de múltiplos mecanismos de ação, como no intestino, fígado, adipócitos musculares e células beta pancreáticas (KIM, KEOGH, CLIFTON, 2016).

Apesar da novidade dos nossos achados, este estudo possui limitações metodológicas, que incluem não ter avaliado as concentrações plasmáticas de compostos fenólicos totais e a falta de um grupo de controle. Estudos prévios observaram diferenças na farmacocinética dos polifenóis (WRUSS et al., 2015), portanto, a avaliação dos metabolitos fenólicos torna-se complexa e pode ser afetada pela dosagem, tamanho do composto fenólico, dieta e pela matriz alimentar (KIM, KEOGH, CLIFTON, 2016). Adicionalmente, neste estudo, observou-se variabilidade nas medidas inter e intra participantes. Esse conhecimento é crucial para se avaliar a eficácia da intervenção (ESGALHADO et al., 2015). Contudo, até o presente momento, não há estudos que tenham analisado a possível variação desses parâmetros nos diferentes dias de diálise (DAHWA et al., 2014). Apesar do tamanho da amostra deste estudo ter sido pequena, e além da variabilidade inter e intra paciente, o tamanho amostral foi adequado para verificar parte de nossas premissas. O tamanho do efeito para o aumento da atividade da GPx e das concentrações de AA foi grande, e médio para a atividade da SOD, após 7 dias de intervenção com a maçã. Isso indica que, para estes parâmetros, mesmo com o tamanho reduzido da amostra, o estudo possuiu magnitude para demonstrar o efeito real e a significância em aumentar estes marcadores antioxidantes.

Desta foma, conclui-se que o consumo diário de duas unidades de maçã da variedade *Fuji*, durante 7 dias, melhorou as defesas antioxidantes enzimáticas (GPx e SOD) e não-enzimáticas (AA) em pacientes submetidos à HD. Além disto, a intervenção foi tolerada e não

foi observado aumento nas concentrações séricas de potássio na amostra selecionada.

Referências

AVCI, A.; et al. Effects of apple consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in elderly subjects. **Experimental Aging Research**, v. 33, p. 429–437, 2007.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of the AOAC International**, 18 ed. Maryland: AOAC, 2005.

AYCICEK, A.; EREL, O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. **Jornal de Pediatria**, v. 83, p. 319–322, 2007.

BAIRD, L.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T. The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway. **Archives of Toxicology**, v. 85, p. 241–272, 2011.

BARRETO MARINHO, A. W. G.; et al. Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 25, n. 3, p. 379-388, 2017.

BITTENCOURT, C. C.; et al. A cadeia produtiva da maçã em Santa Catarina: competitividade segundo produção e *packing house*. **Revista de Administração Pública**, v.45, n.4, p. 1199-1222, 2011.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Science & Technology**, vl. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

CASTILLA, P.; et al. Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.84, p. 252– 62, 2006.

CHEN, L.; et al. A mix of apple pomace polysaccharide improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the liver of high-fat diet-induced obese mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 3, 2017.

CHUNG, W. Y.; et al. Plasma ascorbic acid: measurement, stability and clinical utility revisited. **Clinical Biochemistry**, v. 34, n. 8. p. 623-627, 2001.

COHEN J. A power primer. **Psychological Bulletin**, v. 112, p. 155–159, 1993.

CUPPARI, L.; et al. A practical approach to dietary interventions for nondialysis-dependent CKD patients: the experience of a reference nephrology center in Brazil. **BMC Nephrology**, v. 17, p. 1-11, 2016.

DAI, X.; et al. Efficacy of different sanitizing agents and their combination on microbe population and quality of fresh-cut Chinese chives. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 7, p. 348-353, 2012.

DA SILVA, M. S.; RUDKOWSKA, I. Novel functional foods for optimal oxidative status in healthy ageing. **Maturitas**, v. 93, p. 100–107, 2016.

DENIS, M. C.; et al. Apple peel polyphenols and their beneficial actions on oxidative stress and inflammation. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e53725, 2013.

_____ et al. Apple peel polyphenols: a key player in the prevention and treatment of experimental inflammatory bowel disease. **Clinical Science**, v. 130, p. 2217–2237, 2016.

DAHWA, R.; et al. Variability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients. **Biomarkers**, v. 19, n. 2, p. 154–158, 2014.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103–1111, 2005.

_____ A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 277-285, 2004.

ESGALHADO, M.; et al. Effect of acute intradialytic strength physical exercise on oxidative stress and inflammatory responses in hemodialysis patients. **Kidney Research and Clinical Practice**, v. 34, n. 1, p. 35–40, 2015.

GIUSTARINI, D.; et al. Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. **Nature Protocols**, v. 8, n. 9, p. 1660-1669, 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, in **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, R. E. Wrolstald, ed., p. 1-13, John Wiley and Sons, New York, NY, 2001.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radical in Biology and Medicine**, 4 th ed, Oxford University Press: Oxford, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo agropecuário**. 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/default.shtm>>. Acesso em 05 maio 2017.

JOHANSSON, L. H.; BORG, L. A. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Analytical Biochemistry**, v. 174, n. 1, p. 331-336, 1988.

LUIS, D.; et al. Dietary quality and adherence to dietary recommendations in patients undergoing hemodialysis. **Journal of Renal Nutrition**, v. 26, n. 3, p. 190-195, 2016.

KIM, Y.; KEOGH, J. B.; CLIFTON, P. M. Polyphenols and glycemic control. **Nutrients**, v. 8, n. 1, p. 1-27, 2016.

MAYER, B.; et al. High-throughput fluorescence screening of antioxidative capacity in human serum. **Biochemistry**, v. 297, n. 153, p. 144-153, 2001.

MANZOOR, M.; et al. Variations of antioxidant characteristics and mineral contents in pulp and peel of different apple (*Malus domestica Borkh*) cultivars from Pakistan. **Molecules**, v. 17, p. 390-407, 2012.

MAFFEI, F.; et al. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 921–927, 2007.

MCDONALD, C. I.; et al. Oxidative stress during extracorporeal circulation. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery Advance**, p. 1-7, 2014.

NARRES, M.; et al. The incidence of endstage renal disease in the diabetic (compared to the non-diabetic) population: a systematic review. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0147329, 2016.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **If you need to limit potassium**, 2010. Disponível em:

<https://www.kidney.org/sites/default/files/02-10-0410_EBB_Potassium.pdf>. Acesso em 14 maio 2017.

NAKAYAMAA, S.; et al. Pine bark extract prevents low-density lipoprotein oxidation and regulates monocytic expression of antioxidant enzymes. **Nutrition Research**, v. 35, n. 1, p. 56-64, 2015.

NOORI, S. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. **Journal of Clinical & Cellula Immunology**, v. 1, n. 8, p. 1-8, 2012.

RAIMANN, J. G.; et al. Is vitamin C intake too low in dialysis patients? **Seminars in Dialysis**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2013.

RYSZ, J.; et al. Increased whole blood chemiluminescence in patients with chronic renal failure independent of hemodialysis treatment. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 54, n. 5, p. 347–355, 2006.

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 Radical Biology and Medicine**, v. 53, p. 297–304, 2012.

_____ et al. Pomegranate juice intake attenuates the increase in oxidative stress induced by intravenous iron during hemodialysis. **Nutrition Research**, n. 33, p. 442 – 446, 2013.

STRACKE, B. A.; et al. No effect of the farming system (organic/conventional) on the bioavailability of apple (*Malus domestica* Bork) polyphenols in healthy men: a comparative study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 49, p. 301-310, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology & Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SIROVER, W.D.; et al. Plasma ascorbic acid concentrations in prevalent patients with end-stage renal disease on hemodialysis. **Journal of Renal Nutrition**, v. 25, p. 292–300, 2015.

SOYALAN, B.; et al. Apple juice intervention modulates expression of are-dependent genes in rat colon and liver. **European Journal of Nutrition**, v. 50, n. 2, p. 135–143, 2011.

ST-JULES, D. E.; et al. Nutrient non-equivalence: Does restricting high-potassium plant foods help to prevent hyperkalemia in hemodialysis patients? **Journal of Renal Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 282-287, 2016.

SEPTEMBRE-MALATERRE, A.; et al. Curcuma longa polyphenols improve insulin-mediated lipid accumulation and attenuate proinflammatory response of 3T3-L1 adipose cells during oxidative stress through regulation of key adipokines and antioxidant enzymes. **Biofactors**, v. 42, n. 4, p. 418-430, 2016.

SORIANO-MALDONADO, A.; et al. Effects of regular consumption of vitamin C-rich or polyphenol-rich apple juice on cardiometabolic markers in healthy adults: a randomized crossover trial. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 8, p. 1645-57, 2014.

SPORMANN, T. M.; et al. Anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an intervention study with patients on hemodialysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.17, n. 12, p. 3372–3380, 2008.

VARAN, H. I.; et al. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: Comparison of two dialysis membranes. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 3, p. 39 – 45, 2010.

VIEIRA, F. G. K. Atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de diferentes cultivares de maçã (*Malus domestica Borkh*) do estado de Santa Catarina. **Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.** 170 p.

VIEIRA, R. G.; et al. Chemical pattern of Brazilian apples. A chemometric approach based on the Fuji and Gala varieties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 418-426, 2011.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 325-333, 1981.

WRUSS, J.; et al. Differences in pharmacokinetics of apple polyphenols after standardized oral consumption of unprocessed apple juice. **Nutrition Journal**, v. 1, p. 14-32, 2015.

Material Suplementar

Tabela 1. Marcadores de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos ao longo da intervenção com a maçã Fuji.

Variável	Baseline	Dia 3	Dia 5	Dia 8	p
CAOT (mmol/L)	0,71 (0,63-0,81) ^a	0,68 (0,59-0,76) ^b	0,66 (0,55-0,70)	0,60 (0,52-0,69) ^c	< 0,001
EOT (mmol/L)	3,97 (2,23-4,34) ^a	4,0 (2,58-5,59) ^b	7,00 (4,96-9,17)	6,58 (4,93-8,00) ^c	< 0,001
IEO	4,22 (3,2-6,9) ^a	4,80 (3,71-7,10)	9,90 (3,87-12,00) ^b	8,33 (7,7-13,9) ^c	0,033
CAT (U/mg Hb)	596,9 (598,1-744,6)	626,8 (304,7-729,3)	398,50 (310,3-513,5)	482,0 (360,1-556,9)	0,021
SOD (U/mg Hb)	217,6 (195,5-240,9)	205,2 (164,2-242,1)	212,6 (142,5-261,9)	262,4 (227,9-289,0)	0,006
GPx (U/mg Hb)	14,0 (9,6-18,9) ^a	13,2 (8,9-21,7)	16,4 (13,3-21,3) ^b	24,5 (22,8-27,4) ^c	0,006
GSH (µmol/g Hb)	7,2 (6,5-7,5)	8,2 (4,9-9,0)	6,2 (5,7-8,4)	7,69 (6,2-8,6)	0,576
AA (µmol/L)	0,49 (0,35-0,85) ^a	1,64 (1,34-2,36) ^b	1,59 (1,24-2,08) ^c	1,18 (0,87-1,94)	0,002
Ácido úrico (µmol/L)	320,4 (265,3-380,1) ^a	297,7 (248,3-353,9) ^b	354,8 (322,6-392,2) ^c	332,6 (298,3-398,8) ^d	< 0,001
Fósforo (mmol/L)	1,95 (1,7-2,2)	1,95 (1,77-2,17)	1,91 (1,60-2,38)	2,01 (1,7-2,2)	< 0,001
Potássio (mmol/L)	5,18 (4,7-5,8)	5,10 (4,65-5,40)	5,50 (4,40-5,80)	5,22 (4,9-6,1)	< 0,001
Glicose (mmol/L)	7,17 (5,7-8,2)	6,27 (5,07-8,82)	5,7 (5,08-8,27)	6,99 (5,3-8,2)	0,755
Frutossamina (µmol/L)	328,3 (275,5-370,5)	-	-	325,6 (286,0-373,0)	0,617

CAOT, capacidade antioxidante total; EOT, estado oxidante total; IEO, índice de estresse oxidativo; SOD, superóxido dismutase; GPx, glutatona peroxidase; GSH, glutatona reduzida; AA, ácido ascórbico. Valores apresentados como mediana (intervalo interquartil) (n=16). Valores de p obtidos utilizando-se teste de Wilcoxon (p < 0,05).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese, foi a primeira a investigar, os efeitos do consumo de maçã *Fuji*, ofertados na forma de suco e *in natura*, nos marcadores de estresse oxidativo e nos parâmetros bioquímicos em pacientes submetidos à hemodiálise.

Embora este estudo seja promissor para a população dialisada, possuiu limitações que impactaram nos achados. O principal desafio enfrentado, foi a baixa adesão à participação nos dois ensaios do estudo. Em especial no ensaio I, esta baixa adesão, foi associada ao tempo de espera após a sessão de diálise para a ingestão do suco e a coleta de sangue. Foi difícil manter os pacientes na clínica, por um período superior a 1 hora, porque a grande maioria dos pacientes dependia de transporte municipal para retornar aos seus lares. A recusa de uma das duas maiores clínicas de diálise da grande Florianópolis em participar do estudo, contribuiu fortemente para o menor índice de recrutamento. Estes dois fatores impossibilitaram a formação do grupo controle.

Outro fator de forte impacto em nossos achados foi a variabilidade inter e intra participantes. Este fato pode ter tido uma relação direta com os resultados das intervenções propostas, tanto no ensaio I, quanto no II. Além disto, um tamanho maior de amostra, talvez, pudesse minimizar o impacto desta variabilidade nos resultados.

Outra razão que pode ter afetado nossos achados, especialmente nos marcadores oxidativos, foi o alimento utilizado no estudo. A maçã, comparada às frutas vermelhas, por exemplo, apresenta um menor teor de compostos polifenólicos. Entretanto, é uma fruta cultivada em nosso estado e de fácil acesso à população, o que poderia contribuir para a viabilização de seu consumo futuro pela população estudada. Além disto, é uma fruta com teores não elevados em potássio.

Desta forma, nossa hipótese de que o consumo de maçã da variedade *Fuji*, na forma de suco ou *in natura* diminuiriam os marcadores de estresse oxidativo em pacientes submetidos à hemodiálise, sem comprometer as concentrações séricas de potássio, foi parcialmente sustentada. No ensaio I deste estudo, o consumo agudo de 300 mL de suco de maçã, melhorou o estado antioxidante (superóxido dismutase e ácido ascórbico). No ensaio II, o consumo diário de duas unidades de maçã, durante 7 dias, aumentou as defesas antioxidantes enzimáticas (glutathione peroxidase e superóxido dismutase) e não-enzimáticas (ácido ascórbico), em pacientes submetidos à hemodiálise.

Um achado importante do nosso estudo foi a tolerância ao consumo do suco e da fruta *in natura* pela população estudada. Muitos

pacientes submetidos à hemodiálise apresentam náusea, vômito, dor estomacal e constipação. Desta forma, a nossa intervenção não causou e nem exacerbou nenhuma destas ou outras possíveis complicações relacionadas ao funcionamento do sistema gastrointestinal.

Uma das grandes preocupações quando se aborda a temática alimentação em hemodiálise, é o controle sérico do mineral potássio. Apesar de ambas intervenções não extrapolarem os valores de referência para este mineral, na população submetida à hemodiálise, o consumo da maçã demonstrou menor alteração nas concentrações séricas de potássio quando comparada à ingestão do suco. Além disto, o consumo de maçã melhorou, especialmente, o estado antioxidante dos pacientes submetidos à hemodiálise, sem diminuir os marcadores oxidantes.

Desta forma, para pacientes submetidos à hemodiálise, sem hipercalemia, pode-se sugerir o consumo de 2 unidades de maçã *Fuji* ao dia. Desde que este consumo, faça parte de uma estratégia nutricional que permita a ingestão de 2 a 3 porções de frutas pobre em potássio. Desta forma, este estudo, forneceu *insights* para que estudos de médio e longo prazo explorem o papel do consumo de maçã em pacientes submetidos à hemodiálise.

REFERÊNCIAS

ABENSUR, H. Deficiência de ferro na doença renal crônica. **Rev Bras Hemat Hemot**, v. 32, n. 2, p. 84-88, 2010.

AGARWAL, R. et al. Oxidative stress and renal injury with intravenous iron in patients with chronic kidney disease. **Kidney Int**, v. 65, p. 2279–2289, 2004.

AGUIAR, A. et al. Mecanismo e aplicações da relação de Fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. **Quim Nova**, v. 30, n. 3, p. 623-628, 2007.

AHMADPOOR, P. et al. Glutathione, glutathione-related enzymes, and total antioxidant capacity in patients on maintenance dialysis. **Iran J Kidney Dis**, v. 3, p. 22–27, 2009.

AHMED, K.; KOPPLE, J. D. Nutrition in maintenance hemodialysis patients. In: KOPPLE, J.D, MASSR Y, S.G (Eds.) **Nutritional management of renal disease**. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 563-600, 1997.

AHMED, J.; WEISBERG, L. S. Hyperkalemia in dialysis patients. **Semin Dial**, v. 14, n. 5, p. 348-356, 2001.

ALAMDARI, D. H. et al. Oxidative stress modulation immediately after hemodialysis. **Dialy Transplant**, v. 38, n. 9, p. 1-4, 2009.

ALHAMDANI, M. S. Impairment of glutathione biosynthetic pathway in uraemia and dialysis. **Nephrol Dial Transplant**, v. 20, p. 124-128, 2005.

ALTINDAG, O. et al. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. **Rheumatol Int**, v. 28, n. 4, p. 317-21, 2008.

AMARARATHNA, M.; JOHNSTON, M. R.; RUPASINGHE, H. P. V. Plant polyphenols as chemopreventive agents for lung cancer. **Int J Mol Sci**, v. 17, n. 8, p. 1352, 2016.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutat Res**, v. 350, n. 1, p. 103-108, 1996.

ANDERSON, R. F. et al. Reduction in free-radical-induced DNA strand breaks and base damage through fast chemical repair by flavonoids. **Free Rad Res**, v. 1, n. 33, p. 91-103, 2000.

ARNOUS, A.; MARKIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **J Food Compos Anal**, v. 15, p. 655-665, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA **Critério de Classificação Econômica do Brasil**. 2008. Disponível em: <[http://file:///C:/Users/Andreia/Downloads/07_cceb_2008_em_vigor_em_2008_base_lse_2005%20\(1\).pdf](http://file:///C:/Users/Andreia/Downloads/07_cceb_2008_em_vigor_em_2008_base_lse_2005%20(1).pdf)>. Acesso em: 20 março 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. **Anuário brasileiro da maçã 2017**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 56 p. Disponível em: <http://www.abpm.org.br/wp-content/uploads/2018/02/Anuario_maca_2017.pdf>. Acesso em 17 maio 2018.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of the AOAC International**, 18 ed. Maryland: AOAC, 2005.

ATAMER, A. et al. Effect of oxidative stress on antioxidant enzyme activities, homocysteine and lipoproteins in chronic kidney disease. **J Nephrol**, v. 21, p. 924–30, 2008.

AUCLAIR, S. et al. Apple polyphenols and fibers attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **J Agric Food Chem**, v. 56, p. 5558-5563, 2008.

AVESANI, C.M. et al. Food habits of patients in dialysis. **Nutrire**, v. 21, p. 17-30, 2001.

AVCI, A. et al. Effects of apple consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in elderly subjects. **Exp Aging Res**, v. 33, p. 429–437, 2007.

AVISSAR, N. et al. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. **Am J Physiol**, v. 266, n. 2, p. C367–C375, 1994.

AZEVEDO, D. F. et al. Sobrevida e causas de mortalidade em pacientes hemodialíticos. **Rev Med Minas Gerais**, v. 19, n. 2, p. 117–122, 2009.

AYCICEK, A.; EREL, O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. **J Pediatr**, v. 83, p. 319–322, 2007.

AYCICEK, A.; EREL, O.; KOCYIGIT, A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. **Pediatr Int**, v. 47, p. 635–639, 2005.

BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. **Braz J Med Biol Res**, v. 30, p. 141-155, 1997.

BAO, M.J. et al. Apple polyphenol protects against cigarette smoke-induced acute lung injury. **Nutrition**, v. 29, p. 235–243, 2013.

BARBOSA, L. M. M.; JÚNIOR, M. P. A.; BASTOS, K. A. Preditores de qualidade de vida em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. 29, n. 4, p. 222-229, 2007.

BARNETT, Y. A.; KING, C. M. An investigation of antioxidant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans. **Mutat Res**, v. 338, n. 6, p.115-128, 1995.

BARONA, J. et al. Grape polyphenols reduce blood pressure and increase flow-mediated vasodilation in men with metabolic syndrome. **J Nutr**, v. 142, n. 9, p. 1626-1632, 2012.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova**, v. 29, n.1, p. 113-123, 2006.

BARRETO, S. M. et al. Chronic kidney disease among adult participants of the ELSA-Brasil cohort: association with race and socioeconomic position. **J Epidemiol Community Health**, v. 70, n. 4, p. 380–389, 2015.

BARRETO MARINHO, A. W. G. et al. Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura. **Cad Saúde Coletiva**, v. 25, n. 3, p. 379-388, 2017.

BASER, H. et al. Serum total oxidant/anti-oxidant status, ischemia-modified albumin and oxidized-low density lipoprotein levels in patients with vitamin D deficiency. **Arch Endocrinol Metab**, v. 59, n. 4, p. 318-324, 2015.

BASTOS, M. G.; BREGMAN, R.; KIRSZTAJN, G. M. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. **Rev Ass Med Bras**, v. 56, n. 2, p. 248-53, 2010.

BASTOS, M. G.; KIRSZTAJN, G. M. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. **J Bras Nefrol**, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011.

BATISTA, T.; VIEIRA, I.; AZEVEDO, L. Avaliação nutricional de pacientes em programa de hemodiálise crônica. **J Bras Nefrol**, v. 26, p. 113-20, 2004.

BECKER, D. E. Nause, vomiting and hiccups: a review of mechanisms and treatment. **Anesth Prog**, v. 47, n. 4, p. 150-157, 2010.

BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. Oxidants, Antioxidants, and Aging. In: SCANDALIOS, J. **Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses**. Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York, p. 201-246, 1997.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERGER, P. et al. Ozone and Hydroxyl Radicals Induced Oxidation of Glycine. **Water Res**, v. 33, n. 2, p. 433-441, 1999.

BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIASIOLI, S. et al. Homocysteine as a cardiovascular risk factor. **Blood Purif**, v. 18, p. 177-182, 2000.

BITSCH, R. et al. Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. **Innov Food Sci Emer Technol**, v. 1, p. 245-249, 2001.

BITTENCOURT, C. C. et al. A cadeia produtiva da maçã em Santa Catarina: competitividade segundo produção e *packing house*. **Rev Adm Publica**, v. 45, n. 4, p. 1199-1222, 2011.

BOHM, V. et al. Vitamin C status of patients with chronic renal failure dialysis patients and patients after renal transplantation. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 67, n. 4, p. 262-266, 1997.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D. et al. Blood oxidative stress and lipoprotein oxidizability in hemodialysis patients: effect of the use of a vitamin E-coated dialysis membrane. **Nephrol Dial Transplant**, v. 15, p. 2020–2028, 2000.

BONETI, J. I. S.; et al. Evolução da cultura da macieira. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002.

BORGES, G. D. S. C. et al. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Res Intern**, v. 44, p. 708–15, 2011.

BOSSOLA, M. et al. Appetite and gastrointestinal symptoms in chronic hemodialysis Patients. **J Ren Nutr**, v. 21, n. 6, p. 448–454, 2011.

_____ et al. Dietary intake of macronutrients and fiber in Mediterranean patients on chronic hemodialysis. **J Nephrol**, v. 26, n. 5, p.912-918, 2013.

_____ et al. Dietary intake of trace elements, minerals, and vitamins of patients on chronic hemodialysis. **Int Urol Nephrol**, v. 46, p. 809–815, 2014.

BOVIO, G. et al. Inadequate Macronutrient and Micronutrient Intakes in Hemodialysis and Peritoneal Dialysis Patients: Data from a Seven-Day Weighed Dietary Record. **Nephron**; v. 133, p.253–260, 2016.

BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutr J**, v. 3, p. 1-15, 2004.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Sci Technol**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASCTECIMENTO. **Informativo Nº 54**. Secretaria de Política Agrícola. Ano 6. v. 54. Brasília, 2013a.

_____. **Resolução Nº 466, de 12 de dezembro de 2012**. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. SAÚDE, C. N. D. Brasília: Diário Oficial da União. 2013b.

BRIVIBA, K. et al. Effect of consumption of organically and conventionally produced apples on antioxidant activity and DNA damage in humans. **J Agricult Food Chem**, v.55, p. 7716-7721, 2007.

CABRAL, P. C. et al. Avaliação nutricional de pacientes em hemodiálise. **Rev Nutr**, v. 18, p. 29-40, 2005.

CAI, Z. et al. Association of base excision repair gene polymorphisms with ESRD risk in a Chinese population. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2012, p. 1-10, 2012.

CAIMI, G. et al. Nitric oxide metabolites, leukocyte activation markers and oxidative status in dialyzed subjects. **Blood Purif**, v. 27, n. 2, p. 194–198, 2009.

CAMMERER, M. A. **Efeitos de uma dieta rica em flavonoides sobre o estresse oxidativo, inflamação e perfil lipídico em pacientes submetidos à angioplastia coronária com implante de stent: ensaio clínico randomizado**. 2012. 100f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

CANNEY, M. et al. The relationship between kidney function and quality of life among community-dwelling adults varies by age and filtration marker. **Clin Kidney J**, v. 11, n. 2, p. 259-264, 2018.

CANZIANI, M. E. F.; DRAIBE, S. A.; NADALETTO, M. A. J. **Técnicas Dialíticas na Insuficiência Renal Crônica**. In: AZJEN, H.; SCHOR, N. Nefrologia. 2 ed. São Paulo: Manole, 2004.

CARBONE, K. et al. Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. **Food Chem**, v. 127, p. 493-500, 2011.

CARRASCO-POZO, C. et al. Protection by apple peel polyphenols against indometacin-induced oxidative stress, mitochondrial damage and cytotoxicity in Caco-2 cells. **J Pharm Pharmacol**, v. 62, p. 943-950, 2010.

CARVALHO, A. B. de; CUPPARI, L. Controle da hiperfosfatemia na DRC. **J Bras Nefrol**, v. 30, p. 4 – 8, 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, p. 252– 62, 2006.

_____ 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, p. 1053-1061, 2008.

CELIK, G. et al. The Relationship between the antioxidant system, oxidative stress and dialysis-related amyloidosis in hemodialysis patients. **Saudi J Kidney Dis Transpl**, v. 24, n. 6, p. 1157-1164, 2013.

CEPPIOĞLU, K. S.; YURDUN, T.; CANBAKAN, M. Assessment of matrix Gla protein, Klotho gene polymorphisms, and oxidative stress in chronic kidney disease. **Renal Failure**, v. 33, n. 9, p. 866-74, 2011.

CHAN, M. et al. A high prevalence of abnormal nutrition parameters found in predialysis end-stage kidney disease: Is it a result of uremia or poor eating habits? **J Ren Nutr**, v. 24, n. 5, p. 292-302, 2014.

CHAPPLE, S. J.; SIOW, R. C. M.; MANN, G. E. Crosstalk between Nrf2 and the proteasome: therapeutic potential of Nrf2 inducers in vascular disease and aging. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 44, p.1315–20, 2012.

CHAUVEAU, P. et al. Mediterranean diet as the diet of choice for patients with chronic kidney disease. **Nephrol Dial Transplant**, v. 33, n. 5, p. 725-35, 2018.

CHE, R. et al. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 306, n. 4, p. 367–78, 2014.

CHERCHIGLIA, M. L. et al. Perfil epidemiológico dos pacientes em terapia renal substitutiva no Brasil, 2000-2004. **Rev Saude Publica**, v. 44, p. 639-49, 2010.

CHRZCZANOWICZ, J.; et al. Simple method for determining human serum 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity – possible application in clinical studies on dietary antioxidants. **Clin Chem Lab Med**, v. 46, p. 342–9, 2008.

CHUANG, C.; MCINTOSH, M.K. Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity mediated inflammation and metabolic diseases. **Annu Rev Nutr**, v.31, p.155–76, 2011.

COACCIOLI, S. et al. Assessment of the oxidative stress markers in patients with chronic renal insufficiency undergoing dialysis treatment. **Clin Ther**, v. 161, p. 441– 4, 2010.

CODOÑER-FRANCH, P. et al. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. **Transl Res**, v. 158, n. 6, p. 369-84, 2011.

COLOMBO, G. et al. Plasma protein-bound di-tyrosines as biomarkers of oxidative stress in end stage renal disease patients on maintenance haemodialysis. **BBA Clin**, v. 7, p. 55–63, 2017.

COHEN J. A power primer. **Psychol Bull**, v. 112, p. 155– 9, 1993.

COOKE, M. S. et al. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. **FASEB J**, v. 17, p. 1195–214, 2003.

COOMBES, J. S.; FASSETT, R.G. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. **Kidney Int**, v. 81, n. 3, p. 233-46, 2012.

CORREDOR, Z. et al. Unfermented grape juice reduce genomic damage on patients undergoing hemodialysis. **Food Chem Toxicol**, v. 92, p. 1-7, 2016.

COSTA-HONG, V. et al. Estresse oxidativo e disfunção endotelial na doença renal crônica. **Arq Bras Cardiol**, v. 92, n. 5, p. 413-8, 2009.

CRAWFORD, A. et al. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase genotypes and activities and the progression of chronic kidney disease. **Nephrol Dial Transplant**, v. 26, n. 9, p. 2806–13, 2011.

_____ et al. Relationships between single nucleotide polymorphisms of antioxidante enzymes and disease. **Gene**, v. 501, p. 89–103, 2012.

CRISTOL, J. P. et al. Enhancement of reactive oxygen species production and cell surface markers expression due to haemodialysis. **Nephrol Dial Transplant**, v. 9, n. 4, p. 389–94, 1994.

CUMURCU, B. E. et al. Total antioxidant capacity and total oxidant status in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. **Psychiatry Clin Neurosci**, v. 63, p. 639-45, 2009.

CUPISTI, A. et al. Dietary approach to recurrent or chronic hyperkalaemia in patients with decreased kidney function. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. e261, 2018.

CUPPARI, L. et al. Doenças Renais. *In*: CUPPARI, L. **Guia de Nutrição: nutrição clínica no adulto (Guia de medicina ambulatorial e hospitalar)**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2005; p. 189-220.

CUPPARI, L.; AVESANI, C. M.; KAMIMURA, M. A. **Nutrição na Doença Renal Crônica**. Manole: São Paulo, 2013. 480 p.

- DAI, X. et al. Efficacy of different sanitizing agents and their combination on microbe population and quality of fresh-cut Chinese chives. **J Food Sci**, v. 77, n. 7, p. 348-53, 2012.
- D'ANGELO, S. et al. Pro-oxidant and pro-apoptotic activity of polyphenol extract from Annurca apple and its underlying mechanisms in human breast cancer cells. **Int J Oncol**, v. 51, n. 3, p. 939-48, 2017.
- DESCOMBES, E. et al. Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation. **Kidney Int**, v. 43, p. 1319-28, 1993.
- DE VECCHI, A. F. et al. Free and total malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, v. 24, p. 2524-9, 2009.
- DEL VECCHIO, L.; LONGHI, S.; LOCATELLI, F. Safety concerns about intravenous iron therapy in patients with chronic kidney disease. **Clin Kidney J**, v. 9, n. 2, 260–7, 2016.
- DORNAS, W. C. et al. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev Cienc Farm Básica Apl**, v. 28, n.3, p. 241-9, 2007
- DOUNOUSI, E. et al. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. **Am J Kidney Dis**, v. 48, n. 5, p. 752-60, 2006.
- DUNLAP, W. P. et al. Meta-analysis of experiments with matched groups or repeated measures designs. **Psychol Methods**, v. 1, n. 2, 170-7, 1996.
- DUPONT, M. S. et al. Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. **J Nutr**, v. 132, p. 172–5, 2002.
- DURANTON, F. et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. **J Am Soc Nephrol**, v. 23, p. 1258-70, 2012.
- EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, n. 6789, p. 903–4, 2000.

- ECCLES, M. et al. Research designs for studies evaluating the effectiveness of change and improvement strategies. **Qual Saf Health Care**, v. 12, p. 47–52, 2003.
- EISELT, J. et al. Oxidative stress: the effect of erythropoietin and the dialysis membrane. **Int J Artif Organs**, v. 23, p. 33–40, 2000.
- EMRE, H. et al. Comparison of the oxidant-antioxidant parameters and sialic acid levels in renal transplant patients and peritoneal dialysis patients. **Transplant Proc**, v.43, p. 809–12, 2011.
- ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperitin and naringenin. Dietary sources, bioactivities and epidemiology. **Nutr Res**, v. 10, n. 24, p. 851-74, 2004.
- ERMIDA, V.S. **Avaliação da Assistência e da Qualidade de Vida do Paciente de Hemodiálise na Região Metropolitana do Rio de Janeiro**. 2009. 257 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Programa de Pós Graduação em Saúde Pública da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2009.
- ERRAKONDA, P. R. et al. Effect of a single hemodialysis session on endothelial dysfunction. **J Nephrol**, v. 24, n. 1, p. 83-90, 2011.
- ERTEN, Y.; KAYATAS, M. Zinc deficiency: prevalence and causes in hemodialysis patients and effect on cellular immune response. **Transplant Proc**, v. 30, p. 850-1, 1998.
- ESCOSTEGUY, C. C. Estudos de Intervenção. In: MEDRONHO, R. A.; et al. **Epidemiologia**. 2 ed. São Paulo: Atheneu; 2009. p. 251-63.
- EVELSON, P. et al. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. **Arch Biochem Biophys**, v. 388, p. 261-6, 2001.
- FALODIA, J.; SINGLA, M. K. CKD epidemiology and risk factors. **Clinical Queries: Nephrology**, v. 1, p. 249-52, 2012.
- FATOUROS, I. G. et al. Acute exercise may exacerbate oxidative stress response in hemodialysis patients. **Nephron Clin Pract**, v. 109, p. 55–64, 2008.

FAUSTO, M. A. et al. Avaliação nutricional de pacientes com insuficiência renal crônica submetidos à hemodiálise. **Alimentos e Nutrição**, v. 7, p. 15-23, 1996.

FERRETTI, G.; TURCO, I.; BACCHETTI, T. Apple as a source of dietary phytonutrients: bioavailability and evidence of protective effects against human cardiovascular disease. **Food Nutr Sci**, v. 5, p. 1234-46, 2014.

FIANDER, H.; SCHNEIDER, H. Dietary ortho phenols that induce glutathione S-transferase and increase the resistance of cells to hydrogen peroxide are potential cancer chemopreventives that act by two mechanisms: the alleviation of oxidative stress and the detoxification of mutagenic xenobiotics. **Cancer Lett**, v.2, n. 156, p. 117-24, 2000.

FISBERG, R. M. et al. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 617-24, 2009.

FISBERG, R. M.; VILLAR, B. S. **Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares: manual elaborado para auxiliar o processamento de inquéritos alimentares**. São Paulo: Signus, 2002.

FLORENS, N. et al. Modified lipids and lipoproteins in chronic kidney disease: a new class of uremic toxins. **Toxins**, v. 8, n. 376, p. 1-27, 2016.

FOUQUE, D. et al. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein–energy wasting in acute and chronic kidney disease. **Kidney Int**, v. 73, p. 391-8, 2008.

FRANÇA, B. K. et al. Peroxidação lipídica e obesidade: métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **GE Port J Gastroenterol**, v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013.

FRANCINI, A.; SEBASTIANI, L. Phenolic compounds in apple (*Malus x domestica* Borkh): compounds characterization and stability during postharvest and after processing. **Antioxidants**, v. 2, p. 181-93, 2013.

FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Annu Rev Biochem**, v. 64, p. 97-112, 1995.

FUJIWARA, N. et al. Renovascular protective effects of erythropoietin in patients with chronic kidney disease. **Intern Med**, v. 50, p. 1929–34, 2011.

GALLI, F. et al. Biological effects of oxidative stress in hemodialysis: the possible roles of vitamin E. **Blood Purif**, v. 17, p. 79-94, 1999.

GAN, T. J. Risk factors for postoperative nausea and vomiting. **Anesth Analg**, v. 102, n. 6, p. 1884-98, 2006.

GERHAUSER, C. Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice and apple components. **Planta Med**, v. 74, p. 1608-24, 2008.

GIOMARO, G. et al. Polyphenols profile and antioxidant activity of skin and pulp of a rare apple from Marche region (Italy). **Chem Cent J**, v. 8, n. 45, p. 1-10, 2014.

GIROTTI, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. **J Lipid Res**, v. 39, n. 8, p. 1529-42, 1998.

GIUSTARINI, D. et al. Oxidative stress and human diseases: origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers. **Crit Rev Clin Lab Sci**, v. 46, p. 241–81, 2009.

_____ et al. Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. **Nat Protoc**, v. 8, n. 9, p. 1660-69, 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, New York: John Wiley & Sons, 2001.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A.; TYRAKOWSKA, B. Quality of commercial apple juices evaluated on the basis of the polyphenol content and the TEAC antioxidant activity. **J Food Sci**, v. 68, n. 5, p. 1844–9, 2003.

GODYCKI-CWIRKO, M. et al. Uric acid but not apple polyphenols is responsible for the rise of plasma antioxidant activity after apple juice consumption in healthy subjects. **J Am Coll Nutr**, v. 29, p. 397-406, 2010.

GOLDING, J. B. et al. Fate of apple peel phenolics during cool storage. **J Agric Food Chem**, v. 49, p. 2283-9, 2001.

GOLEMBIEWSKI, J. A.; O'BRIEN, D. A systematic approach to the management of postoperative nausea and vomiting. **J Perianesth Nurs**, v. 17, n. 6, p. 364-76, 2002.

GONZÁLEZ RICO, M. et al. Effect of hemodialysis therapy on oxidative stress in patients with chronic renal failure. **Nefrología**, v. 26, n. 2, p. 218-25, 2006.

GORAYA, N. et al. A comparison of treating metabolic acidosis in CKD stage 4 hypertensive kidney disease with fruits and vegetables or sodium bicarbonate. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 8, p. 371-81, 2013.

GOODYEAR-BRUCH, C.; PIERCE, J. D. Oxidative stress in critically ill patients. **Am J Crit Care**, v. 11, n. 6, p. 543-51, 2002.

GOTTLIEB, M. G. V. et al. Estresse oxidativo como fator de risco cardiometabólico emergente. **Sci Med**, v. 20, n. 3, p. 243-9, 2010.

GRANATA, S. et al. Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. **BMC Genomics**, v. 10, n. 388, p. 1-13, 2009.

_____ et al. NLRP3 inflammasome activation in dialyzed chronic kidney disease patients. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. 1-16, 2015a.

_____ et al. Mitochondria: a new therapeutic target in chronic kidney disease. **Nutr Metab**, v. 12, n. 49, p. 1-21, 2015b.

GROTTO, D. et al. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. **J Pharm Biomed Ana**, v. 4, p. 619-24, 2007.

GUENTHER, P.M. et al. The multi-pass approach for 24-hr recalls in the continuing survey of food intakes by individuals. **FASEB J**, v. 10, p. 198, 1996.

GÜNAL, S. Y. et al. The assessment of oxidative stress on patients with chronic renal failure at different stages and on dialysis patients receiving different hypertensive treatment. **Indian J Clin Biochem**, v. 28, n. 4, p. 390–5, 2013.

GUYOT, S. et al. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. **J Agric Food Chem**, v. 51, p. 6240–7, 2003.

GUTTERIDGE, J. M.C.; HALLIWELL, B. Lipid oxidation. **TIBS**, v. 15, p. 129-135, 1990.

Antioxidants: molecules, medicines and myths. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 393, p. 561–4, 2010.

HACIŞEVKI, A. Effect of hemodialysis on oxidative stress in patients with chronic renal failure. **J Fac Pharm**, v. 37, n. 2, p. 91-100, 2008.

HALL, C. A.; CUPPETT, S. L. Structure-activities of natural antioxidants. In: ARUOMA, O. I.; CUPPETT, S. L. **Antioxidant methodology in vivo and in vitro concepts**. American Oil Chemist's Society; p. 2-29, 1997.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiol**, v. 141, p. 312–22, 2006.

_____. Dietary polyphenols: good, bad or indifferent for your health? **Cardiovasc Res**, v. 73, p. 341–7, 2007.

_____. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochem Pharmacol**, v. 49, p. 1341–8, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 4 th ed. Oxford University Press: Oxford, 2007.

_____. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 1-85, 1990.

HARMA, M.; HARMA, M.; EREL O. Oxidative stress in women with preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 192, p. 656–7, 2005.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J Nutr Biochem**, v. 13, p. 572–84, 2002.

HEMMATI, M. et al. Blood antioxidant levels and alterations of serum calcium and pH in hemodialysis patients. **Tehran Univ Med J**, v. 66, n. 1, p. 12-7, 2008.

HENDERSON, L. W. Symptomatic hypotension during hemodialysis. **Kidney Int**, v. 7, p. 571-6, 1980.

HIMMELFARB, J.; IKIZLER, T. A. Hemodialysis. **N Engl J Med**, v. 363, n. 4, p. 1833-45, 2010.

HOLLMAN, P. C. H. et al. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. **FEBS Lett**, v. 418, p. 152-6, 1997.

HUANG, D. et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J Agric Food Chem**, v. 53, p.1841-6, 2005.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, A. DE. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quím Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-9, 2008.

HUBER, G. M.; RUPASINGHE, H. P. V. Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. **J Food Sci**, v. 74, n. 9, p. 693-700, 2009.

HUANG, S-Y. et al. Uremic toxins – novel arrhythmogenic factor in chronic kidney disease – related atrial fibrillation. **Acta Cardiol Sin**, v. 32, p. 259-64, 2016.

HUYUT, Z.; BEYDEMIR, F.; GÜLÇİN, E. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. **Biochem Res Int**, v. 2017, 10 pages, 2017.

HOROZ, M. et al. The influence of hemodialysis membrane permeability on serum paraoxonase-1 activity and oxidative status parameters. **Artif Organs**, v. 35, n. 10, p. 923-9, 2011.

HYSON, D. et al. Apple juice consumption reduces plasma low-density lipoprotein oxidation in healthy men and women. **J Med Food**, v. 3, p. 159-66, 2000.

_____ A comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. **Adv Nutr**, v. 2, p. 408–20, 2011.

IGLESIAS, I.; ECHEVERRÍA, G.; SORIA, Y. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight ‘Gala’ apple strains. **Sci Horti**, v. 119, p. 32-40, 2008.

INAMOTO, H.; KATA, M.; SUZUKI, K. Deficiency of vitamins and minerals in the dialysis diet: the state of 33 essential nutrients. **Nephrol Dial Transpl**, v. 18, p. 448, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo agropecuário 2015**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/default.shtm>>. Acesso em 05 maio 2017.

_____ **Estimativas da população residente no Brasil e unidades da Federação com data de referência em 1º de julho de 2017**.

Disponível em: <

<https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2017/default.shtm>>. Acesso em: 03 maio 2017.

JACKSON, P. et al. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. **Clin Chem**, v. 41, n. 8, p. 1135-8, 1995.

JANIKUES, A. G. de P. R. et al. Efeitos da suplementação de farinha de uva sobre marcadores inflamatórios e antioxidantes em pacientes em

hemodiálise: Estudo duplo-cego randomizado. **J Bras Nefrol**, v. 36, n. 4, p. 496-501, 2014.

JANKOWSKA, M.; RUTKOWSKI, B.; DEBSKA-ŚLIZIEŃ, A. Vitamins and microelement bioavailability in different stages of chronic kidney disease. **Nutrients**, v. 9, n. 282, p. 1-8, 2017.

_____ et al. Dietary intake of vitamins in different options of treatment in chronic kidney disease: is there a deficiency? **Transplant Proc**, v. 48, p. 1427-30, 2016.

JAEGER, J. Q.; MEHTA, R. L. Assessment of dry weight in hemodialysis: an overview. **JASN**, v. 10, p. 392-403, 1999.

JOHNSON-DAVIS, K. L. et al. Blood enzymes and oxidative stress in chronic kidney disease: a cross sectional study. **Ann Clin Lab Sci**, v. 41, n 4, p. 331-9, 2011.

KAHLE, K. et al. Polyphenol profiles of apple juices. **Mol Nutr Food Res**, v. 49, p. 797–806, 2005.

KAISEN, G. A. Biological basis of hypoalbuminemia in ESRD. **JASN**, v.9, p. 2368-76, 1998.

KALANTAR-ZADEH, K.; KOPPLE, J. D.: Nutritional management of patients underscoring maintenance hemodialysis. In KOPPLE, J. D.; MASSRY, S. G.: **Nutritional Management of Renal Disease**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 433-66.

KALOGERAKIS, G. et al. Oxidative stress and high-density lipoprotein function in Type I diabetes and end-stage renal disease. **Clin Sci**, v. 108, p. 497–506, 2005.

KAMIŃSKI, T. W. et al. Indoxyl sulfate – the uremic toxin linking hemostatic system disturbances with the prevalence of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. **BMC Nephrol**, v. 18, n. 35, p. 1-12, 2017.

KAO, M. P. C. et al. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. **J Hum Hypertens**, v. 24, p. 1–8, 2010.

KARAMAN, S. et al. Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. **J Sci Food Agric**, v. 93, p. 867–75, 2013.

KDIGO. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney Int Suppl**, v. 3, p. 1-150, 2013.

KELLY, J. T. et al. Healthy dietary patterns and risk of mortality and ESRD in CKD: a meta-analysis of cohort studies. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 12, n. 2, p. 272-9, 2017.

KHANIZADEH, S. et al. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **J Food Compos Anal**, v. 21, p. 396-401, 2008.

KHOUEIRY, G. et al. Dietary intake in hemodialysis patients does not reflect a heart healthy diet. **J Renal Nutr**, v. 21, n. 6, p. 438-47, 2011.

KHOSROSHAHI T. H. et al. Effect of high amylose resistant starch (HAM-RS2) supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in hemodialysis patients: a randomized clinical trial. **Hemodial Int**, v. 13, p. 1-9, 2018.

KILIC, E. et al. Oxidative stress status in childhood obesity: a potential risk predictor. **Med Sci Monitor Basic Res**, v. 22, p. 3673–9, 2016.

KIM, H.; LIM, H.; CHOUE, R. A better diet quality is attributable to adequate energy intake in hemodialysis patients. **Clin Nutr Res**, v. 4, p. 46-55, 2015.

KNAP, B. et al. Antioxidant enzymes show adaptation to oxidative stress in athletes and increased stress in hemodialysis patients. **Ther Apher Dial**, v.13, p. 300–5, 2009.

KNUTSON, M. D.; HANDELMAN, G. J.; VITERI, F. E. Methods for measuring ethane and pentane in expired air from rats and humans. **Free Radic Biol Med**, v. 28, p. 514-9, 2000.

KO, S-H. et al. Comparison of the antioxidant activities of nine different fruits in human plasma. **J Med Food**, v. 8, n. 1, p. 41–6, 2005.

KOEPPEN, B. M. The kidney and acid-base regulation. **Adv Physiol Educ**, v. 33, n. 4, p. 275-81, 2009.

KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicol Pathol**, v. 30, n. 6, p. 620-50, 2002.

KOREVAAR, J. C. et al. Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality. **JASN**, v. 15, p. 2916–22, 2004.

KOZŁOWSKA, A.; SZOSTAK-WĘGIEREK, D. Flavonoids: food sources and health benefits. **Rocz Panstw Zakł Hig**, v. 65, n. 2, p. 79-85, 2014.

KRISHNAMURTHY, V. M. R. et al. High dietary fiber intake is associated with decreased inflammation and all-cause mortality in patients with chronic kidney disease. **Kidney Int**, v. 81, p. 300–6, 2012.

KSCHONSEK, J. et al. Polyphenolic compounds analysis of old and new apple cultivars and contribution of polyphenolic profile to the in vitro antioxidant capacity. **Antioxidants**, v. 7, n. 20, p. 1-14, 2018.

KUCHTA, A. et al. Estimation of oxidative stress markers in chronic kidney disease. **Kidney Blood Press Res**, v. 34, p. 12–9, 2011.

KUO, H. T. et al. Increased glomerular and extracellular malondialdehyde levels in patients and rats with focal segmental glomerulosclerosis. **Eur J Clin Invest**, v. 35, p. 245–50, 2005.

LAGES, N. et al. Náuseas e vômitos no pós-operatório: uma revisão do “pequeno-grande” problema. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 55, n. 5, p. 575-5, 2005.

LARSON, R. A. **Naturally Occurring Antioxidants**. Lewis Publishers: New York, 1997, p. 7.

LATA, B. et al. Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. **J Agric Food Chem**, v. 53, p. 8970–8, 2005.

LATA, B.; TOMALA, K. Apple peel as a contributor to whole fruit quantity of potentially healthful bioactive compounds. Cultivar and year implication. **J Agric Food Chem**, v. 55, p. 10795–802, 2007.

LEE, K. W. et al. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidante capacity. **J Agric Food Chem**, v. 51, p. 6516-60, 2003.

LI, X.; KSHIRSAGAR, A. V.; BROOKHART, M. A. Safety of intravenous iron in hemodialysis patients. **Hemodial Int**, v. 21, Suppl 1:S93-S103, 2017.

LIAKOPOULOS, V. et al. Oxidative stress in hemodialysis patients: a review of the literature. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2017, p. 1-22, 2017.

LIN, Y. S. et al. GST M1 polymorphism associates with DNA oxidative damage and mortality among hemodialysis patients. **JASN**, v. 20, n. 2, p. 405–15, 2009.

LIU, R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **Am J Clin Nutr**, v. 78, p. 517-20, 2003.

_____ Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. **Adv Nutr**, n.4, p. 384–92, 2013.

LOCATELLI, F. et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, n. 7, p. 1272-80, 2003.

LOMBARDO, M. E.; CUSUMANO, A. Diagnóstico, prevención y tratamiento de la desnutrición em hemodiálisis crônica. **Rev Nefrol Dial Transpl**, v. 40, p. 15-26, 1996.

LONDON G. M. et al. Arterial media calcification in renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, p. 1731-40, 2003.

LONG, Y.; NIE, J. Homocysteine in renal injury. **Kidney Dis**, v. 2, p. 80–7, 2016.

LONGSTRETH, G. F.; et al. Functional bowel disorders. **Gastroenterol**, v. 130, p. 1480-91, 2006.

LONČARIĆ, A.; KOPJAR, M.; PILIŽOTA, V. Improving the quality of apple purée. **J Food Sci Technol**, v. 54, n. 10, p. 3201–7, 2017.

LOTITO, S.B.; FREI, B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. **Free Rad Biol Med**, v. 36, n. 2, p. 201-11, 2004a.

_____ The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids. **Free Rad Biol Med**, v. 37, p. 251–88, 2004b.

_____ Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? **Free Rad Biol Med**, v. 41, n. 12, p. 1727–46, 2006.

LOU, L. M. et al. Main dietary intake deficits in hemodialysis patients: approach to a healthy dietary model based on the Mediterranean diet. **Nefrología**, v. 27, n. 1, p. 38-45, 2007

LOWRIE, E.G. Acute-phase inflammatory process contributes to malnutrition, anemia, and possibly to other abnormalities in dialysis patients. **Am J Kidney Dis**, v.32, n. 4, p. 105-12, 1998.

LUGON, J. R. Doença renal crônica no Brasil: um problema de saúde pública. **J Bras Nefrol**, v. 31, s. 1, p. 2-5, 2009.

LUGON, J. R.; de MATOS, J. P. S.; WARRAK, E. A. Hemodiálise. In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010.

LUIS, D. et al. Dietary quality and adherence to dietary recommendations in patients undergoing hemodialysis. **J Renal Nutr**, v. 26, n. 3, p. 190-5, 2016.

MACHADO, A. D.; BAZANELLI, A. P.; SIMONY, R. F. Avaliação do consumo alimentar de pacientes com doença renal crônica em hemodiálise. **Reva Ciencia Saude**, v. 7, n. 2, p. 76-84, 2014.

MAFFEI, F. et al. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. **Br J Nutr**, v. 97, p. 921-7, 2007.

MAFRA, D. et al. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. **Rev Nutr**, v. 12, n. 3, p. 205-12, 1999.

MAHER, E. R. et al. Increased free-radical activity during haemodialysis? **Nephrol Dial Transplant**, v. 2, n. 3, p. 169-71, 1987.

MALAPONTE G. et al. Inflammatory status in patients with chronic renal failure: The role of PTX3 and pro-inflammatory cytokines. **Int J Mol Med**, v. 20, p. 471-81, 2007.

MALLIARAKI, N. et al. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients. **BMC Nephrology**, v. 4, n. 4, p. 1-8, 2003.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. 5, p. 727-47, 2004.

_____ et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 1, p. 230-42, 2005.

MANZOOR, M. et al. Variations of antioxidant characteristics and mineral contents in pulp and peel of different apple (*Malus domestica Borkh*) cultivars from Pakistan. **Molecules**, v. 17, p. 390-407, 2012.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R.A.; WATKINS, J. B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **J Biochem Mol Toxicol**, v. 17, n. 1, p. 24-38, 2003.

MARTINS, A. M. et al. Elderly patients on hemodialysis have a worse dietary quality and higher consumption of ultra-processed food than that of elderly without chronic kidney disease. **Nutrition**, v. 41, p. 73-9, 2017.

- MARTINS, C. Vitaminas e oligoelementos na insuficiência renal. *In*: RIELLA, M. C.; MARTINS, C. **Nutrição e o Rim**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 43-57.
- MARTINS, C.; SATO, M. M. N.; RIELLA, M. C. Nutrição e Hemodiálise. *In*: RIELLA, M C.; MARTINS, C. **Nutrição e o Rim**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 149p.
- MASSY, Z. A. et al. Homocyst(e)ine, oxidative stress, and endothelium function in uremic patients. **Kidney Int**, v. 59, n. 78, p. 243–5, 2001.
- MAYER, B. et al. High-throughput fluorescence screening of antioxidative capacity in human serum. **Anal Biochem**, v. 297, n. 2, p. 144-53, 2001.
- MCCORD, J. M.; EDEAS, M. A. SOD oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. **Biomed Pharmacother**, v. 59, p. 139–42, 2005.
- MCDONALD, C. I. et al. Oxidative stress during extracorporeal circulation. **Eur J Cardiothorac Surg**, v. 46, n. 6, p. 937-43, 2014.
- MEHMETOGLU, I. et al. Oxidative stress markers in hemodialysis and peritoneal dialysis patients, including coenzyme Q10 and ischemia-modified albumin. **Int J Artif Organs**, v. 35, n. 3, p. 226-32, 2012.
- MENEZES F. G. de et al. Panorama do tratamento hemodialítico financiado pelo Sistema Único de Saúde - uma perspectiva econômica. **J Bras Nefrol**, v. 37, n. 3, p. 367-78, 2015.
- MEKKI, K. et al. Effect of hemodialysis and peritoneal dialysis on redox status in chronic renal failure patients: a comparative study. **Lipids Health Dis**, v. 9, n. 93, p. 1-7, 2010.
- MINOTTI, G.; AUST, S. D. Redox cycling of iron and lipid peroxidation. **Lipids**, v. 27, p. 219-26, 1992.
- MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. **J Vasc Bras**, v. 10, n. 4, p. 275 – 8, 2011.

MITROGIANNI, Z. et al. Oxidative modification of albumin in predialysis, hemodialysis, and peritoneal dialysis patients. **Nephron Clin Pract**, v. 113, p. 234–40, 2009.

MIURA, D.; MIURA, Y.; YAGASAKI, K. Effect of apple polyphenol extract on hepatoma proliferation and invasion in culture and on tumor growth, metastasis and abnormal lipoprotein profiles in hepatoma-bearing rats. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 71, p. 2743-50, 2007.

MODARRESIA, A. et al. Study of the effects of N-acetylcysteine on oxidative stress status of patients on maintenance-hemodialysis undergoing cadaveric kidney transplantation. **Iran J Pharm Res**, v. 16, n. 4, p. 1631-38, 2017.

ONTAZERIFAR, F. et al. Hemodialysis alters lipid profiles, total antioxidant capacity, and vitamins A, E, and C concentrations in humans. **J Med Food**, v. 13, n.6, p. 1490–3, 2010.

_____ et al. Evaluation of lipid peroxidation and erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase in hemodialysis patients. **Saudi J Kidney Dis Transpl**, v. 23, n. 2, p. 274-9, 2012.

MORAIS, A. A. et al. Correlation of nutritional status and food intake in hemodialysis patients. **Clinics**, v. 60, n. 3, p. 185-92, 2005.

MORENA, M.; CRISTOL, J. P.; CANAUD, B. Why hemodialysis patients are in a pro oxidant state? What could be done to correct the pro/antioxidant imbalance. **Blood Purif**, v. 18, n. 3, p. 191-9, 2000.

_____ et al. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, v. 17, p. 422-7, 2002.

_____ et al. Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. **Hemodial Int**, v. 9, n. 1, p. 37–46, 2005.

MARION, M. et al. Ácido úrico como fator de risco para doenças cardiovasculares e síndrome metabólica. **Braz J Pharm**, v. 92, n. 1, p. 3-8, 2011.

MOSKAUG, J. Ø. et al. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. **Am J Clin Nutr**, v. 81, p. 277–83, 2005.

MOURA, L. de, et al. Monitoramento da doença renal crônica terminal pelo subsistema de Autorização de Procedimentos de Alta Complexidade (APAC), Brasil, 2000 a 2006. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, vol.18, n.2, p. 121-131, 2009.

NAGA, S. et al. Effect of peritoneal dialysis and hemodialysis on oxidation end products in endstage renal disease patients. **Bull Alexandria Fac**, v. 43, p. 103–4, 2007.

NAGANE, N. S.; GANU, J. V.; JAGTAP, P. E. Study of oxidative stress in pre- and post-hemodialysis in chronic renal failure patients. **Biomed Research**, v. 24, n. 4, p. 498-502, 2013.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. **Am J Kidney Dis**, v. 35, n. 6, p. S1-S3, 2000.

_____. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. **Am J Kidney Dis**, v. 39, p. S1-S266, 2002.

_____. Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations, 2006 updates hemodialysis adequacy, peritoneal dialysis adequacy, vascular access. **Am J Kidney Dis**, v. 48, p. 2-90, 2006.

_____. **If you need to limit potassium 2010**. Disponível em: <https://www.kidney.org/sites/default/files/02-10-0410_EBB_Potassium.pdf>. Acesso em 14 maio 2017.

_____. Clinical practice guideline for diabetes and CKD: 2012 update. **Am J Kidney Dis**, v. 60, n. 5, p. 850-86, 2012.

NERBASS, F. B.; CUPPARI, L. Hemodiálise. In: CUPPARI, L.; AVESANI, C. M.; KAMIMURA, M. A. **Nutrição ns Doença Renal Crônica**. Barueri: SP, Manole, 2013. p. 247-269.

NIEMCZYK, S.; NIEMCZYK, L.; ROMEJKO-CIEPIELEWSKA, K. Basic endocrinological disorders in chronic renal failure. **Pol J Endocrinol**, v. 63; n. 3, p. 250-7, 2012.

NIKI, E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. **Free Rad Biol Med**, v. 47, p. 469–84, 2009.

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

NOORI, N. et al. Dietary potassium intake and mortality in long-term hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis**, v. 56, n. 2, p. 338–47, 2010.

NOORI, S. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. **J Clin Cell Immunol**, v. 1, n. 8, p. 1-8, 2012.

NÚÑEZ, J. F. M. et al. Evaluation of oxidant-antioxidant balance in patients on maintenance haemodialysis: a comparative study of dialyzers membranes. **Nephron Clin Pract**, v. 114, p. c67–c73, 2010.

OGUNRO, P. S. et al. The effect of a membrane dialyzer during hemodialysis on the antioxidant status and lipid peroxidation of patients with end-stage renal disease. **Saudi J Kidney Dis Transpl**, v. 25, n. 6, p. 1186–93, 2014.

OSADA, K.; SUZUKI, T.; KAWAKAMI, Y. Dose-dependent hypocholesterolemic actions of dietary apple polyphenol in rats fed cholesterol. **Lipids**, v. 41, p. 133-9, 2006.

PALLESCHI, S. et al. Reliability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients: a comparative study. **Clin Chem Lab Med**, v. 45, p. 1211–18, 2007.

_____ et al. Vitamins (A, C and E) and oxidative status of hemodialysis patients treated with HFR and HFR-Supra. **BMC Nephrology**, v. 17, p. 120, 2016.

PALMER, S. C. et al. Nutrition and dietary intake and their association with mortality and hospitalisation in adults with chronic kidney disease

treated with haemodialysis: protocol for DIET-HD, a prospective multinational cohort study. **BMJ Open**, v. 5, p. e006897, 2015.

PALSAMY, P.; SUBRAMANIAN, S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2–Keap1 signaling. **Biochim Biophys**, v. 1812, p. 719–31, 2011.

PALOMO, I. et al. El consumo de manzanas contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer: antecedentes epidemiológicos y mecanismos de acción. **Rev Chil Nutr**, v. 37, n. 3, 2010.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2, n. 5, p. 270-8, 2009.

PANICKAR, K. S.; RICHARD, A. Effect of polyphenols on oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neuronal death and brain edema in cerebral ischemia. **Int J Mol Sci**, v.12, p. 8181-207, 2011.

PAROLIN, M. B.; REASON, I. J. M. Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. **Arq Gastroenterol**, v. 38, n. 2, p. 138-44, 2001.

PEARSON, D. A. et al. Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. **Life Sci**, v. 64, p. 1913-20, 1999.

PEDRAZA-CHAVERRI, J. et al. New pathogenic concepts and therapeutic approaches to oxidative stress in chronic kidney disease. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2016, p. 1-21, 2016.

PEDRUZZI, L. M. et al. Associação entre níveis de ferritina e peroxidação lipídica em pacientes em hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. 37, n. 2, p. 171-6, 2015.

PEREIRA, E. R. S. et al. Prevalence of chronic renal disease in adults attended by the family health strategy. **J Bras Neurol**, v. 38, n. 1, p. 22-30, 2016.

PERES, L. A. B. et al. Estudo epidemiológico da doença renal crônica terminal no oeste do Paraná: uma experiência de 878 casos atendidos em 25 anos. **J Bras Nefrol**, v. 32, n.1, p. 51-6, 2010.

PERRON, N. R.; BRUMAGHIM, J. L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. **Cell Biochem Biophys**, v. 53, p. 75-100, 2009.

PETKOVSEK, M. M.; et al. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). **Sci Hortic**, v. 114, p. 37-44, 2007.

PINHEIRO, A. B; et al. **Tabela para avaliação do consumo alimentar em medidas caseiras**. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2002.

PINTO, D. E. et al. Associações entre ingestão energética, proteica e de fósforo em pacientes portadores de doença renal crônica em tratamento hemodialítico. **J Bras Nefrol**, v. 31, n. 4, p. 269-76, 2009.

PIRES, C. V. et al. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Food Sci Technol**, v. 26, n. 1, p. 179-87, 2006.

PLAZA, M.; KARIUKI, J.; TURNER, C. Quantification of individual phenolic compound's contribution to antioxidant capacity in apple: a novel analytical tool based on liquid chromatography with diode array, electrochemical, and charged aerosol detection. **J Agric Food Chem**, v. 62, p. 409–18, 2014.

POSSAMAI, F. P. **Análise do estresse oxidativo em trabalhadores expostos à emissão de contaminantes atmosféricos de incinerador de resíduos sólidos de serviço de saúde, antes e após a suplementação antioxidante**. 2009. 125f. Tese (Doutorado em Farmácia). Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

PROCHÁZKOVÁ, I.; BOUŠOVÁ, N.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, v. 82, p. 513–23, 2011.

POULIANITI, K. P. et al. Systemic redox imbalance in chronic kidney disease: a systematic review. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2016, 2016. 19 pages.

PRYOR, J. L.; CRAIG, S. A.; SWENSEN, T. J. Effect of betaine supplementation on cycling sprint performance. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 9, n. 12, p. 1-7, 2012.

PUGALENDHI, V. et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients of end stage renal disease with and without pulmonary tuberculosis. **JIMSA**, v. 25, n. 4, p. 225-7, 2012.

RANA, S.; SHASHI, B. Apple phenolics as nutraceuticals: assessment, analysis and application. **J Food Sci Technol**, v. 53, n. 4, p. 1727–38, 2016.

RAIMANN, J. G. et al. Is vitamin C intake too low in dialysis patients? **Semin Dial**, v. 26, n. 1, p. 1–5, 2013.

RAIMUNDO, P. et al. Insuficiência renal crônica e hemodiálise: implicações nutricionais e na qualidade de vida. **RFM**, v. 7, n. 1, p. 5-13, 2002.

RAMOS, S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. **J Nutr Biochem**, v. 18, p. 427–42, 2007.

RAMOS, R.; MARTÍNEZ-CASTELAO, A. Lipoperoxidation and hemodialysis. **Metabolism**, v. 57, n. 10, p. 1369-74, 2008.

RASOOL M. et al. Comparative study of extrapolative factors linked with oxidative injury and anti-inflammatory status in chronic kidney disease patients experiencing cardiovascular distress. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1-13, 2017.

RAUDONE, L. et al. Phenolic profiles and contribution of individual compounds to antioxidant activity of apple powders. **J Food Sci**, v. 81, n. 5, p. C1055 - C61, 2016.

RAVN-HAREN, G. et al. Intake of whole apples or clear apple juice has contrasting effects on plasma lipids in healthy volunteers. **Eur J Nutr**, v. 52, p. 1875–89, 2013.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad Biol Med**, v.26, p. 1231-7, 1999.

REDDY, P. E. et al. Ferric reducing ability of plasma and lipid peroxidation in hemodialysis patients: intradialytic changes. **Int J Nephrol Urol**, v. 2, n.3, p. 414- 21, 2010.

RIBEIRO, M. M. C. et al. Impacto do hábito de jantar sobre o perfil dietético de pacientes em hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. 33, n.1, p. 69-77, 2011.

RIBEIRO, F. A. P. et al. The chemopreventive activity of apple against carcinogenesis: antioxidant activity and cell cycle control. **Eur J Cancer Prev**, v. 23, n. 5, p. 477-80, 2014.

RICKHAM, P. P. Human Experimentation. Code of Ethics of the World Medical Association. Declaration of Helsinki. **Br Med J**, v. 2, n. 5402, p. 177, 1964.

RIETVELD, A.; WISEMAN, S. Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. **J Nutr**, v. 10, n. 133, p. 3285-92, 2003.

RIVARA, M. B. et al. A pilot randomized crossover trial assessing the safety and short-term effects of pomegranate supplementation in hemodialysis patients. **J Ren Nutr**, v. 25, n. 1, p. 40–9, 2015.

RODRÍGUEZ-RIBERA, L. et al. Time in hemodialysis modulates the levels of genetic damage in hemodialysis patients. **Environ Mol Mutagen**, v. 55, n. 4, p. 363–8, 2014.

ROMEU, M. et al. Evaluation of oxidative stress biomarkers in patients with chronic renal failure: a case control study. **BMC Res Notes**, v. 3, n. 20, p. 3-20, 2010.

RUFINO, M. et al. Is it possible to control hyperphosphataemia with diet, without inducing protein malnutrition? **Nephrol Dial Transplant**, v. 13, p. 65-7, 1998.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chem**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

RUSKOVSKA, T.; JANSEN, E. H. J. M.; ANTAROROV, R. Evaluation of assays for measurement of serum (anti)oxidants in hemodialysis patients. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 1-8, 2014.

RUTKOWSKI, P. et al. Interrelationship between uremic toxicity and oxidative stress. **J Ren Nutr**, v. 16, p. 190–3, 2006.

_____ et al. Relationship between uremic toxins and oxidative stress in patients with chronic renal failure. **Scand J Urol Nephrol**, v. 41, p. 243–8, 2007.

SAHNI, N. et al. Intake of antioxidants and their status in chronic kidney disease patients. **J Ren Nutr**, v. 22, n. 4, p. 389-99, 2012.

SAMOUILIDOU, E.; GRAPSA, E. Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end-stage renal failure. **Blood Purif**, v. 21, p. 209–12, 2003.

ŞANLIER, N.; DEMIRCIOĞLU, Y. Correlation of dietary intakes and biochemical determinates of nutrition in hemodialysis patients. **Renal Failure**, v. 29, p. 213–8, 2007.

SANTANGELO, F. et al. Restoring glutathione as a therapeutic strategy in chronic kidney disease. **Nephrol Dial Transplant**, v. 19, p. 1951-5, 2004.

SANTOS, P. R. et al. Associação de indicadores nutricionais com qualidade de vida em pacientes portadores de doença renal crônica em hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. 28, p. 57-64, 2006.

SANTOS, A. C. B. dos et al. Associação entre qualidade de vida e estado nutricional em pacientes renais crônicos em hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. 35, n.4, p. 279-88, 2013.

SANTOS, E.O.L. **Mecanismo de ação de flavonoides no metabolismo oxidativo e na fagocitose de neutrófilos humanos desencadeados por receptores Fc gama e CR**. 2010. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010. 33p.

SAUTIN, Y. Y.; JOHNSON, R. J. Uric acid: the oxidant – antioxidant paradox. **Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids**, v. 27, n. 6, p. 608–19, 2008.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, C. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **J Nutr**, v. 130, p. 2073-85, 2000.

SCHIFFMAN, H. R. The orienting system. In: SCHIFFMAN, H. R. (Ed.). **Sensation and perception, an integrated approach**. 3 ed. New York: John Wiley & Sons. 1990. p. 31-45.

SCHMIDT, M. I. et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. **Lancet**, v. 6736, n.11, p. 60135-9, 2011.

SCHMITT, G. C. **O estresse oxidativo em hemodialisados e a influência do tratamento terapêutico**. 2006. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006. 119p.

SCHUPP, N.; HEIDLAND, A.; STOPPER, H. Genomic damage in end-stage renal disease - contribution of uremic toxins. **Toxins**, v. 2, p. 2340-58, 2010.

SÉFORA-SOUSA, M.; DE ANGELIS-PEREIRA, M.C. Mecanismos moleculares de ação anti-inflamatória e antioxidante de polifenóis de uvas e vinho tinto na aterosclerose. **Rev Bras Plantas Med**, v.15, n.4, p. 617-26, 2013.

SERRA, A. T. et al. Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 2 – antioxidant and antiproliferative activities. **J Funct Foods**, v. 2, p. 46–53, 2010.

SESSO, R. C. et al. Brazilian chronic dialysis survey 2016. **J Bras Nefrol**, v. 39, n. 3, p. 261-6, 2017.

SETORKI, M. et al. Effects of apple juice on risk factors of lipid profile, inflammation and coagulation, endothelial markers and atherosclerotic lesions in high cholesterolemic rabbits. **Lipids Health Dis**, v. 8, n. 39, p. 1-9, 2009.

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 Rad Biol Med**, v. 53, p. 297–304, 2012.

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

_____ et al. Does Pomegranate intake attenuate cardiovascular risk factors in hemodialysis patients? **Nutr J**, v. 13, n. 18, p. 1-8, 2014.

SHIVASHEKAR, M. et al. Effect of oxidative stress in pre and post hemodialysis in chronic renal failure patients. **Int J Biol Med Res**, v. 3, n.1, p. 1335-7, 2012.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks. In: SIES, H. **Oxidative Stress**, Ed. Academic press, USA, p. 1-7, 1985.

_____ Strategies of antioxidant defence. Review. **Eur J Biochem**, v. 215, n. 2, p. 213-9, 1993.

_____ Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. **Redox Biol**, v. 4, p. 180–183, 2015.

SINGH, D. et al. Antioxidants in the prevention of renal disease. **J Med Food**, v. 9, n. 4, p. 443–50, 2006.

SIROVER, W.D. et al. Plasma ascorbic acid concentrations in prevalent patients with end-stage renal disease on hemodialysis. **J Ren Nutr**, v. 25, p. 292–300, 2015.

SIVIERO, P.; MACHADO, C. J.; RODRIGUES, R. N. **Doença renal crônica: um agravo de proporções crescentes na população brasileira**. Belo Horizonte: UFMG/CEDEPLAR, 2013.

SLATTERY, K. M. et al. Effect of N-acetylcysteine on cycling performance after intensified training. **Med Sci Sports Exerc**, v. 46, n. 6, p. 1114-23, 2014.

SKERGET, M. et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. **Food Chem**, v. 89, p. 191-8, 2005.

SMELTZER, S. C.; BARE, B. G. **Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 2419 p.

SOLEYMANIAN, T. et al. Impact of kidney transplantation on biomarkers of oxidative stress and inflammation. **Iran J Kidney Dis**, v. 9, n. 5, p. 400-5, 2015.

SOYALAN, B. et al. Apple juice intervention modulates expression of ARE-dependent genes in rat colon and liver. **Eur J Nutr**, v. 50, p. 135-43, 2011.

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.

SRINIVASA, R. P. V. et al. Oxidative stress in hemodialysis: intradialytic changes. **Redox Rep**, v. 6, p. 303-9, 2001.

STARK, S. et al. Nutritional intake in adult hemodialysis patients. **Clin Nutr**, v. 26, n. 1, p. 45-56, 2011.

STEIBER, A. L.; KOPPLE, J. D. Vitamin status and needs for people with stages 3-5 chronic kidney disease. **J Ren Nutr**, v.21, n. 5, p. 355-68, 2011.

STEFFEN, L. M. et al. Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Am J Clin Nutr**, v. 78, p. 383-90, 2003.

STEPNIEWSKA, J. et al. Prooxidative-antioxidative balance of cells in different types of renal replacement therapy. **Blood Purif**, v. 37, p. 4-11, 2014.

STOCKER, R.; BOWRY, V. W.; FREI, B. Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does alpha-tocopherol. **Proc Nat Acad Sci**, v. 5, n. 88, p. 1646-50, 1991.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. Effect of Brazil nut supplementation on the blood levels of selenium and glutathione peroxidase in hemodialysis patients. **Nutrition**, v. 26, p. 1065–9, 2010.

_____ et al. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biol Trace Elem Res**, v. 158, n. 1, p. 105-12, 2014.

_____ et al. The uremic toxin indoxyl sulfate exacerbates reactive oxygen species production and inflammation in 3T3-L1 adipose cells. **Free Rad Res**, v. 50, n. 3, p. 337-44, 2016.

STRACKE, B. A. et al. No effect of the farming system (organic/conventional) on the bioavailability of apple (*Malus domestica* Bork) polyphenols in healthy men: a comparative study. **Eur J Clin Nutr**, v. 49, p. 301-10, 2010.

SU, M. et al. Mitochondrial dysfunction is an early event in aldosterone-induced podocyte injury. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 305, n. 4, p. 520–531, 2013.

SUNG, C-C. et al. Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease. **Oxid Med Cell Long**, v. 5, p. 1 – 15, 2013.

SUVAKOV, S. et al. Glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 null or low-activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage among haemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, v. 28, p. 202–12, 2013.

SZUCK, P. **Indicadores nutricionais e o risco de hospitalização em pacientes submetidos à hemodiálise**. 2014. 117f. Dissertação (Mestrado em Nutrição). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

- TABRIZIANI, H.; LIPKOWITZ, M. S.; VUONG, N. Chronic kidney disease, kidney transplantation and oxidative stress: a new look to successful kidney transplantation. **Clin Kidney J**, v. 11, n. 1, 130–5, 2018.
- TAKAYA, K. et al. Validation of the multiple sensor mechanism of the Keap1-Nrf2 system. **Free Rad Biol Med**, v. 53, p. 817–27, 2012.
- TAKI, K.; TSURUTA, Y.; NIWA, T. Indoxyl sulfate and atherosclerotic risk factors in hemodialysis patients. **Am J Nephrol**, v. 27, n. 1, p. 30-5, 2007.
- TAMAY-CACH, F. et al. A review of the impact of oxidative stress and some antioxidant therapies on renal damage. **Renal Failure**, v. 38, n. 2, p. 171-5, 2015.
- TANDOĞAN, B.; ULUSU, N. Kinetic mechanism and molecular properties of glutathione reductase. **FABAD J Pharm Sci**, v. 31, p. 230–7, 2006.
- TBAHRITI, H. F. et al. Effect of different stages of chronic kidney disease and renal replacement therapies on oxidant-antioxidant balance in uremic patients. **Biochem Res Int**, v. 2013, p. 1-6, 2013.
- _____ et al. The degree of chronic renal failure is associated with the rate of proinflammatory cytokines, hyperhomocysteinemia and with oxidative stress. **Ann Cardiol Angeiol**, v. 63, p. 135–9, 2014.
- TEPEL, M. et al. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. **Circ J**, v. 107, p. 992-5, 2003.
- THIELEN, C. et al. Polyphenols in apples: distribution of polyphenols in apple tissue and comparison of fruit and juice. **Dtsch Lebensmitt Rundsch**, v. 100, p. 389–98, 2004.
- TIRYAKI, B. S. et al. Evaluation of oxidative stress using exhaled breath 8-isoprostane levels on chronic kidney disease. **Nigerian J Clin Prac**, v. 17, n. 3, p. 356-60, 2014.

TORRES, M. C. L.; SOARES, N. F. F.; MAIA, J. F. Parâmetros cinéticos da glutatona S-transferase e sua ativação por extratos de vegetais. **Food Sci Technol Int**, v. 24, n. 2, p. 243-8, 2004.

TRABULUS, S. et al. DNA repair XRCC1 Arg399Gln polymorphism is associated with the risk of development of end-stage renal disease. **Mol Biol Rep**, v. 39, p. 6995–7001, 2012.

TSAO, R. et al. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidante activities of apple? **J Agric Food Chem**, v. 53, p. 4989-95, 2005.

_____ et al. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). **J Agric Food Chem**, v. 51, n. 21, p. 6347–53, 2003.

_____ Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, v. 2, p. 1231-46, 2010.

TUCKER, P. S. et al. Clinical and research markers of oxidative stress in chronic kidney disease. **Biomarkers**, v. 18, p. 103–15, 2013.

UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4 ed. Campinas, São Paulo: NEPA - UNICAMP, 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Fresh Apples, Grapes, and Pears: World Markets and Trade 2018**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/fruit.pdf>>. Acesso em 05 março 2018.

URSINI, F. et al. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. **Biochim Biophys Acta**, v. 839, n. 1, p. 62–70, 1985.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicol**, v. 189, n. 1-2, p. 41-54, 2003.

VALENTINI, J. et al. Human erythrocyte δ -aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress in hemodialysis patients. **Clin Biochem**, v. 40, n. 9-10, p. 591–4, 2007.

VALENTINI, J. et al. The influence of the hemodialysis treatment time under oxidative stress biomarkers in chronic renal failure patients. **Biomed Pharmacother**, v. 62, p. 378-82, 2008.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem Biol Interact**, v. 160, p. 1–40, 2006.

VAN CAMPENHOUT, A. et al. Iron-induced oxidative stress in haemodialysis patients: a pilot study on the impact of diabetes. **Biometals**, v. 21, p. 159-70, 2008.

VANHOLDER, R. et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. **Kidney Int**, v. 63, p. 1934–43, 2003.

_____ et al. What Is Uremia? Retention versus Oxidation. **Blood Purif**, v. 24, p. 33–8, 2006.

VARAN, H. I. et al. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: comparison of two dialysis membranes. **Int J Nephrol Renovasc Dis**, v. 3, p. 39-45, 2010.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores se dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quím Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-38, 2007.

VAZIRI, N.D. et al. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. **Kidney Int**, v. 63, p. 179–85, 2003.

_____ Safety issues in iron treatment in CKD. **Semin Nephrol**, v. 36, n. 2, p. 112–8, 2016.

VESKOUKIS, A. S.; TSATSAKIS, A. M.; KOURETAS, D. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. **Cell Stress Chaperones**, v. 17, n. 1, p. 11-21, 2012.

VIEIRA, F. G. K. **Atividade antioxidante in vitro e in vivo de diferentes cultivares de maçã (*Malus domestica* Borkh) do estado de**

Santa Catarina. 2010. 170f. Tese. (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

_____ et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. **Sci Horti**, v. 128, p. 261-6, 2011.

_____ et al. Improvement of serum antioxidant status in humans after the acute intake of apple juices. **Nutr Res**, v. 32, p. 229-32, 2012.

WAI, S. N. et al. Dietary patterns and clinical outcomes in chronic kidney disease: the CKD.QLD Nutrition Study. **J Ren Nutr**, v. 27, n. 3, p. 175-82, 2017.

WANG, L. et al. Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. **Am J Clin Nutr**, v. 89, p. 905–12, 2009.

WARD, R. A.; MCLEISH, K. R. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? **Artif Organs**, v. 27, n. 3, p. 230-6, 2003.

WARD, R. A.; OUSEPH, R.; MCLEISH, K. R. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. **Kidney Int**, v. 63, n. 1, p. 353-9, 2003.

WATERS, D. et al. Change in plasma lutein after egg consumption is positively associated with plasma cholesterol and lipoprotein size but negatively correlated with body size in postmenopausal women. **J Nutr** v. 137, n. 4, p. 959-63, 2007.

WEI, D. et al. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. **Aust Dent J**, v. 55, p. 70–8, 2010.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v. 77, p. 325-33, 1981.

WITKO-SARSAT, V. et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. **J Immunol**, v. 161, p. 2524–32, 1998.

WOJDYŁO, A.; OSZMIĄŃSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **J Agric Food Chem**, v. 56, p. 6520–30, 2008.

WOLFE, D. W. et al. **Projected change in climate thresholds in the northeastern U.S. Implications for crops, pests, livestock, and farmers.** Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change. 2008

WORLD APPLE AND PEAR ASSOCIATION (WAPA). **World apple production 2003-2013.** Disponível em: <http://www.wapa-association.org/asp/page_1.asp?doc_id=446>. Acesso em: 03 maio 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical status: the use and interpretation of anthropometry.** Geneva: World Health Organization; 1995. Disponível em <http://www.who.int/childgrowth/publications/physical_status/en/>. Acesso em: 22 out 2013.

_____. **A Glossary of terms for community health care and services for older persons.** Geneva: World Health Organization, 2004.

Disponível em:

<http://www.who.int/kobe_centre/ageing/ahp_vol5_glossary.pdf>.

Acesso em: 10 novembro 2014.

_____. **BMI Classification.** Geneva: World Health Organization; 2008.

Disponível em <

http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html>. Acesso em:

22 out 2013.

_____. **Health for the world's adolescents: a second chance in the second decade.** Geneva: World Health Organization, 2014. Disponível em: <www.who.int/adolescent/second-decade>. Acesso em: 10 novembro 2014.

WOLFE, K.; WU, Z.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **J Agric Food Chem**, v. 51, n. 3, p. 609-14, 2003.

WU, C. C. et al. Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single haemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. **Nephrol Dial Transplant**, v. 20, p. 1134–9, 2005.

WU, W. H. et al. Sesame ingestion affects sex hormones, antioxidant status, and blood lipids in postmenopausal women. **J Nutr**, v. 136, n. 5, p. 1270-5, 2006.

WU, J. et al. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. **Food Chem**, v. 103, p. 88-93, 2007.

YAMAMOTO, T. et al. Changes in circulating biomarkers during a single hemodialysis session. **Hemodial Int**, v. 17, p. 59-66, 2013.

YAVUZ, O. et al. The effect of diferents dialysis membranes on oxidative stress and selenium status. **Clin Chim Acta**, v. 346, p. 153-60, 2004.

YEUN, J.Y. Factors influencing serum albumin in dialysis patients. **Am J Kidney Dis**, v. 32, n. 4, p. 105-12, 1998.

YILDIZ, G. et al. Influence of single hemodialysis session on serum paraoxonase-1, arylesterase activity, total oxidant status and total antioxidant status. **Minerva Med**, v. 105, n.1, p. 79-87, 2014.

YILMAZ, N. et al. Serum indoleamine 2,3 dioxygenase and tryptophan and kynurenine ratio using the UPLC-MS/MS method, in patients undergoing peritoneal dialysis, hemodialysis, and kidney transplantation. **Renal Failure**, v. 38, n. 8, p. 1300-9, 2016.

YILMAZ, M.I. et al. The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. **Am J Kidney Dis**, v. 47, p. 42-50, 2006.

YUAN, Y. et al. Mitochondrial dysfunction accounts for aldosterone-induced epithelial-to-mesenchymal transition of renal proximal tubular epithelial cells. **Free Rad Biol Med**, v. 53, n. 1, p. 30–43, 2012.

YURI, J. A. et al. Antioxidant activity and total phenolics concentration in apple peel and flesh is determined by cultivar and agroclimatic

growing regions in Chile. **Int J Food Agric Environ**, v. 7, n. 3, p. 513-7, 2009.

XU, H. et al. Oxidative DAN damage and mortality in hemodialysis and peritoneal patients. **Perit Dial Int**, v. 35, n. 2, p. 206–15, 2015.

ZACHARA, B. A. et al. Selenium and glutathione peroxidases in blood of patients with different stages of chronic renal failure. **J Trace Elem Med Biol**, v. 17, p. 291-9, 2004.

ZAMORA-ROSA, R. et al. Comparison of 24-h volume and creatinine-corrected total urinary polyphenol as a biomarker of total dietary polyphenols in the Invecchiare InCHIANTI study. **Anal Chim Acta**, v. 17, n. 704, p. 110–5, 2011.

ZARGARI, M; SEDIGHI, O. Influence of hemodialysis on lipid peroxidation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity in chronic renal failure patients. **Nephrourol Mon**, v. 7, n. 4, p. e28526, 2015.

ZAWIASA, A. et al. Effect of oral fructose load on serum uric acid and lipids in kidney transplant recipients treated with cyclosporine or tacrolimus. **Transplant Proc**, v. 41, p. 188-91, 2009.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Curr Opin Food Sci**, v. 8, p. 33-42, 2016.

APÊNDICE A: Orientações dietéticas para os pacientes não diabéticos



Prezado Sr(a).....

O (a) senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa de doutorado intitulada “Efeito do consumo do suco e da maçã *in natura* nos marcadores de estresse oxidativo e nas concentrações séricas de potássio e fósforo: estudo de intervenção em pessoas submetidas à hemodiálise”, que fará avaliação dos marcadores do estresse oxidativo no sangue.

A importância desta pesquisa está relacionada a algumas substâncias químicas que estão presentes na maçã e podem proteger as pessoas em hemodiálise dos danos gerados no organismo pelo estresse oxidativo. O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e o seu sequestro pelos antioxidantes (substâncias produzidas pelo organismo ou ingeridas por meio da alimentação). Assim, com a diminuição do estresse oxidativo, espera-se uma redução da possibilidade de danos ao organismo e, conseqüentemente, uma maior proteção à saúde da pessoa em hemodiálise.

Solicitamos ao participante, **NÃO CONSUMIR NAS 48 HORAS** que **ANTECEDEM** a realização da pesquisa, os seguintes alimentos listados a seguir. Esta restrição alimentar será momentânea e irá ser realizada somente para a participação neste estudo.

Chocolate e produtos que o contenha
Chás (verde, preto, mate, branco, vermelho e produtos que os contenham)
Produtos à base de erva-mate
Café
Bebidas alcoólicas
Frutas oleaginosas (amêndoa, nozes, castanha do pará, castanha de caju, aveia, macadâmia, amendoim, pistache)
Sementes (girassol, abóbora, gergelim, linhaça, chia)
Qualquer tipo de frutas <i>in natura</i> , desidratadas, sucos ou produtos que as contenham
Vegetais frescos, sucos ou produtos que os contenham

É IMPORTANTE O SR(A). RESPEITAR ESTA SOLICITAÇÃO, pois isto irá evitar a interferência destes alimentos (ou preparações utilizando os mesmos) nos resultados deste estudo.

Solicitamos que não sejam feitas outras modificações, além das citadas em sua alimentação. Mantenha seu estilo de vida habitual e atual (por exemplo, se pratica exercícios físicos, pode manter este hábito, sem aumentar ou diminuir o tempo e a frequência).

Nestas 48h que antecedem o estudo o Sr(a). poderá se alimentar com os exemplos citados na seqüência neste folder.

Agradecemos a sua colaboração! Muito obrigada!

O(A) SR(A). IRÁ REALIZAR ESTA ORIENTAÇÃO A PARTIR DA DATA:



Sugestões de alimentos PERMITIDOS:

CAFÉ DA MANHÃ & LANCHE DA TARDE



Leite

<Ou>



iogurte desnatado

<Ou>



Queijo



Pão de trigo

<Ou>



Pão de fatia

<Ou>



Pão sírio

<Ou>



Pão de centeio

<Ou>



Pão de ló



Manteiga

Se for necessário adoçar o iogurte desnatado, usar açúcar refinado ou adoçante!



<Ou>



LANCHE DA MANHÃ



iogurte desnatado



Torrada

<Ou>



Biscoito de água

<Ou>



Pão de trigo

Pipoca

<Ou>



ALMOÇO & JANTAR



<Ou>



<Ou>



<Ou>

Arroz branco cozido

Batata cozida

Aipim cozido



<Ou>



<Ou>



Polenta cozida

Macarrão na manteiga

Panqueca carne/frango

sem molho de tomate

+



<Ou>



<Ou>



Ovo cozido

Frango

Carne bovina

<Ou>



Peixe

APÊNDICE B: Orientações dietéticas para os pacientes diabéticos



Prezado Sr(a).....

O (a) senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa de doutorado intitulada "Efeito do consumo do suco e da maçã *in natura* nos marcadores de estresse oxidativo e nas concentrações séricas de potássio e fósforo: estudo de intervenção em pessoas submetidas à hemodiálise", que fará avaliação dos marcadores do estresse oxidativo no sangue.

A importância desta pesquisa está relacionada a algumas substâncias químicas que estão presentes na maçã e podem proteger as pessoas em hemodiálise dos danos gerados no organismo pelo estresse oxidativo. O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e o seu sequestro pelos antioxidantes (substâncias produzidas pelo organismo ou ingeridas por meio da alimentação). Assim, com a diminuição do estresse oxidativo, espera-se uma redução da possibilidade de danos ao organismo e, conseqüentemente, uma maior proteção à saúde da pessoa em hemodiálise.

Solicitamos ao participante, **NÃO CONSUMIR NAS 48 HORAS** que **ANTECEDEM** a realização da pesquisa, os seguintes alimentos listados a seguir. Esta restrição alimentar será momentânea e irá ser realizada somente para a participação neste estudo.

Chocolate e produtos que o contenha
Chás (verde, preto, mate, branco, vermelho e produtos que os contenham)
Produtos à base de erva-mate
Café
Bebidas alcoólicas
Frutas oleaginosas (amêndoa, nozes, castanha do pará, castanha de caju, aveia, macadâmia, amendoim, pistache)
Sementes (girassol, abóbora, gergelim, linhaça, chia)
Qualquer tipo de frutas <i>in natura</i> , desidratadas, sucos ou produtos que as contenham
Vegetais frescos, sucos ou produtos que os contenham

É IMPORTANTE O SR(A). RESPEITAR ESTA SOLICITAÇÃO, pois isto irá evitar a interferência destes alimentos (ou preparações utilizando os mesmos) nos resultados deste estudo.

Solicitamos que não sejam feitas outras modificações, além das citadas em sua alimentação. Mantenha seu estilo de vida habitual e atual (por exemplo, se pratica exercícios físicos, pode manter este hábito, sem aumentar ou diminuir o tempo e a frequência).

Nestas 48h que antecedem o estudo o Sr(a). poderá se alimentar com os exemplos citados na seqüência neste folder.

Agradecemos a sua colaboração! Muito obrigada!

O(A) SR(A). IRÁ REALIZAR ESTA ORIENTAÇÃO A PARTIR DA DATA:



Sugestões de alimentos PERMITIDOS:

CAFÉ DA MANHÃ & LANCHE DA TARDE



Leite

<Ou>



iogurte desnatado

<Ou>



Queijo

+



Pão de trigo

<Ou>



Pão de fatia

<Ou>



Pão sírio

<Ou>



Pão de centeio

+



Manteiga

LANCHE DA MANHÃ

iogurte natural

+



Torrada

<Ou>



Biscoito de água

<Ou>



Pão de trigo

<Ou>



Pipoca

Se necessário poderá usar adoçante para adoçar o iogurte!

ALMOÇO & JANTAR



<Ou>



<Ou>



<Ou>

Arroz branco cozido

Batata cozida

Aipim cozido



<Ou>



Macarrão na manteiga

Polenta cozida

+



<Ou>



<Ou>



Carne bovina

Ovo cozido

Frango

<Ou>



Peixe

APÊNDICE C: Orientações para o consumo das maçãs

INSTRUÇÕES PARA CONSUMO DAS MAÇÃS – Andréia: (XX) XXXX-XXXX

1. Ao chegar em casa, **colocar os sacos com as maçãs na gaveta da geladeira. NÃO DEIXAR AS MAÇÃS EM TEMPERATURA AMBIENTE.**
2. Não é necessário lavar as maçãs antes de comê-las. Basta tirar o filme plástico que as envolve.
3. **COMER AS MAÇAS COM CASCA, SEMPRE APOSA DIALISE.** Não triturar, amassar ou liquidificar as maçãs.
4. Antes de comer a maçã, retirar o miolo com as sementes e o cabinho. Para isso, utilize o removedor de miolo que lhe foi entregue.

Removedor de miolo



COMO RETIRAR O MIOLO DA MAÇÃ?

1. Retire o filme plástico da maçã.
2. Apoie a fruta numa superfície firme.
3. Insira o removedor de miolo e vá girando o removedor até sentir que ele encostou no fundo da maçã.
4. Puxar o removedor.
5. Você irá observar que o miolo com as sementes e o cabinho da maçã ficará preso no removedor.
6. Jogar no lixo esse miolo e comer a maçã.



APÊNDICE D: Formulário para coleta de dados (Ensaio I)

Identificação

Data do preenchimento: N° identificação na pesquisa:

Nome:..... Sexo:..... Data de nascimento:

Telefone: E-mail:..... Endereço:.....

Vem para a clínica como: () carro próprio () transporte da prefeitura ()
outro

Grau de escolaridade: () Fundamental incompleto (1º grau incompleto),
() Fundamental completo (1º grau completo), () Médio incompleto
(2º grau incompleto), () Médio completo (2º grau completo), ()
Superior incompleto, () Superior completo, ()
Especialização/mestrado/doutorado

Estado civil: () Casado ou com companheiro, () Solteiro ou sem
companheiro, () Separado, () Viúvo

Comorbidades: _____ Fármacos utilizados: _____

Suplementos utilizados: _____ Quelante de fósforo: () Sim ()

Não Qual?

Usa ferro IV: () Sim () Não Qual?

Usa suplemento de Vitamina D: () Sim () Não

Causa da doença renal: _____ Data de início da
hemodiálise: _____

Tempo da sessão de HD: Tipo de membrana:

qtas vezes re-usa: Usa cateter: () Sim () Não

Avaliação Subjetiva

Qual a frequência semanal dos sintomas abaixo após a ingestão dos
sucos:

	300mL DATA:	150mL DATA:
Constipação		
Flatulência		
Náusea		
Enjoo		
Vômito		
Diarreia		

Avaliação Antropométrica

	Antes HD	Após HD
300mL DATA:		
Peso (kg)		
Altura (m)		
IMC (kg/m ²)		
Classificação		
150mL DATA:		
Peso (kg)		
Altura (m)		
IMC (kg/m ²)		
Classificação		

Exames bioquímicos:

Exames	Valor	Parâmetro laboratorial	<u>Data da coleta</u>
<u>300 mL suco</u> Fosfatase alcalina PTH Creatinina Uréia pré Uréia pós TFG Índice Kt/V Linfócitos Hematócrito Hemoglobina Albumina			
<u>150 mL suco</u> Fosfatase alcalina PTH Creatinina Uréia pré			

Exames	Valor	Parâmetro laboratorial	<u>Data da coleta</u>
Uréia pós TFG Índice Kt/V Linfócitos Hematócrito Hemoglobina Albumina			

APÊNDICE E: Formulário para coleta de dados (Ensaio II)

Identificação

Data do preenchimento: N° identificação na pesquisa:

Nome:..... Sexo:..... Data de nascimento:

Telefone: E-mail:..... Endereço:.....

Vem para a clínica como: () carro próprio () transporte da prefeitura ()
outro

Grau de escolaridade: () Fundamental incompleto (1º grau incompleto),
() Fundamental completo (1º grau completo), () Médio incompleto
(2º grau incompleto), () Médio completo (2º grau completo), ()
Superior incompleto, () Superior completo, ()
Especialização/mestrado/doutorado

Estado civil: () Casado ou com companheiro, () Solteiro ou sem
companheiro, () Separado, () Viúvo

Comorbidades: _____ Fármacos utilizados: _____

Suplementos utilizados: _____ Quelante de fósforo: () Sim ()
Não Qual?

Usa ferro IV: () Sim () Não Qual?

Usa suplemento de Vitamina D: () Sim () Não

Causa da doença renal: _____ Data de início da
hemodiálise: _____

Tempo da sessão de HD: Tipo de membrana:
qtas vezes re-usa: Usa cateter: () Sim () Não

Avaliação Subjetiva

Qual a frequência diária dos sintomas abaixo:

Dia	1	2	3	4	5	6	7
Constipação							
Flatulência							
Náusea							
Enjoo							
Vômito							
Diarreia							

Avaliação Antropométrica

BASAL DATA:	FINAL DATA:
Peso (kg)	Peso (kg)
Altura (m)	Altura (m)
IMC (kg/m ²)	IMC (kg/m ²)

Exames bioquímicos:

Exames	Valor	Parâmetro laboratorial	<u>Data da coleta</u>
Fosfatase alcalina PTH Creatinina Uréia pré Uréia pós TFG Índice Kt/V Linfócitos Hematócrito Hemoglobina Albumina			

APÊNDICE F: Registro alimentar

Registro Alimentar – Data:

Dia de diálise () dia de não diálise () dia de final de semana ()

Nome:

Alteração de apetite recente: () sim () não () ↑ () ↓ Por que?

.....

Intolerância alimentar..... Não gosta de algum alimento.....

Preferência

Quem prepara as refeições – durante a semana finais de semana

Onde costuma fazer as refeições – durante a semana finais de semana

Com que frequência consome os seguintes alimentos:

Frequência	Diário (especificar)	3x/se m	2x/se m	1x/se m	15/15 dias	1x/mê s
Refrigerante						
Balas (coco, etc)						
Chá, chimarrão						
Chocolate e seus derivados						
Bolacha recheada						
Frutas em geral						
Sucos de frutas						
Amendoim e seus derivados						
Castanha, nozes						
Peixes						
Azeite de oliva						
Pinhão						
Feijoada						
Bolos/tortas (especificar)						
Frituras						
Bebidas alcoólicas (especificar)						

APÊNDICE G: Resultados dos registros alimentares

Diferenças na ingestão dos nutrientes entre os dias com hemodiálise, sem hemodiálise e dia de final de semana do ensaio II.

Variável	Dia sem Hemodiálise	Dia com Hemodiálise	Dia de Final de Semana	p
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
Energia (kcal)	1691,7 ± 528,9	1950,9 ± 1017,5	1630,4 ± 860,1	0,205
Proteína (g)	76,9 ± 35,5	92,7 ± 43,7	65,3 ± 32,6	0,098
CHO (g)	215,3 ± 69,7	294,0 ± 216,3	247,5 ± 186,3	0,608*
Lípídeos (g)	58,1 ± 22,1	62,3 ± 36,1	54,9 ± 36,8	0,610
Fibra (g)	12,6 ± 5,6	16,3* ± 9,2	10,1 ^b ± 4,0	0,038
Sódio (mg)	2322,0 ± 909,3	2365,7* ± 2163,3	1509,3 ^b ± 972,3	0,009*
Vitamina A (mcg)	440,8 ± 405,9	424,6 ± 393,9	540,3 ± 648,1	0,763*
Vitamina D (mcg)	2,2 ± 1,2	2,2 ± 1,68	2,6 ± 3,9	0,867*
Ferro (mg)	8,3 ± 3,7	11,1 ± 7,6	9,1 ± 4,7	0,152
Potássio (mg)	1654,0 ± 517,4	2202,4 ± 1413,3	1469,0 ± 549,7	0,020
Magnésio (mg)	179,2* ± 52,3	275,3 ^b ± 150,3	171,2* ± 72,4	0,003
Trans (g)	4,1* ± 2,5	0,48 ^b ± 0,57	0,81* ± 0,86	<0,001
Saturada (g)	17,1 ± 7,8	18,5 ± 12,5	18,3 ± 13,2	0,819
Monoinsaturada (g)	18,9 ± 8,6	17,6 ± 11,9	16,1 ± 10,3	0,500
Cálcio (mg)	397,9 ± 112,8	490,5 ± 387,5	373,3 ± 174,7	0,303*
Selênio (mcg)	59,0* ± 38,5	111,2 ^b ± 77,2	72,9 ± 50,3	0,037
Vitamina C (mg)	32,9 ± 26,1	48,5 ± 58,0	18,4 ± 13,2	0,078
Vitamina E (mg)	6,0 ± 5,5	11,1 ± 11,8	7,9 ± 7,6	0,086*
Vitamina B12 (mcg)	3,2 ± 4,4	3,5 ± 3,3	3,5 ± 3,7	0,867**
Fósforo (mg)	786,3 ± 305,4	1177,5 ± 797,9	788,8 ± 277,2	0,033*
Zinco (mg)	7,7 ± 4,2	9,8 ± 6,2	8,7 ± 5,3	0,345
Açúcar total (g)	20,3 ± 18,0	26,9 ± 35,1	31,7 ± 52,1	0,557
Colesterol (mg)	254,8 ± 185,0	285,8 ± 151,9	268,5 ± 218,5	0,898
Poli-insaturadas (g)	11,5 ± 5,5	14,6 ± 9,6	9,7 ± 4,6	0,063

*Variáveis log-transformadas; **Teste de Kruskal-Wallis; valor de p obtidos utilizando ANOVA-RM e teste complementar de Bonferroni ($p < 0,05$).

APÊNDICE H - Nota de imprensa (*Press release*)

Os rins são órgãos fundamentais para a manutenção do equilíbrio corporal e dentre suas funções, destaca-se a regulação do balanço de minerais e água, a excreção de produtos tóxicos do metabolismo e a secreção de hormônios. A doença renal crônica consiste em perda progressiva e irreversível das funções dos rins. Nos estágios mais avançados da doença, a sobrevivência desses pacientes está condicionada à utilização de terapia renal substituta. Dentre estas, a hemodiálise é a mais comum e consiste num procedimento através do qual uma máquina limpa e filtra o sangue, ou seja, faz o trabalho que o rim não pode fazer. E mesmo com o procedimento de hemodiálise, é recomendado o controle e/ou diminuição dos alimentos ricos em potássio. Com isto, a ingestão de antioxidantes por meio da dieta pode ficar comprometida.

Apesar da hemodiálise melhorar a qualidade de vida dos pacientes, ocorre aumento no estresse oxidativo, que é como se denomina a situação de excesso de produção de radicais livres em comparação com o sistema protetor das células, os antioxidantes. Os mecanismos de aumento do estresse oxidativo nestes pacientes são multifatoriais e incluem: a doença renal *per se*, limitações dietéticas na ingestão de antioxidantes, perda de antioxidantes durante a diálise, o estado de uremia e a interação entre o sangue e a membrana de diálise.

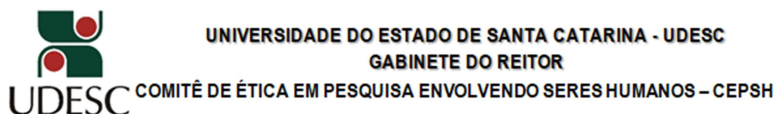
A maçã possui antioxidantes e teores não elevados de potássio, cujo efeito no estresse oxidativo em pacientes submetidos à hemodiálise, ainda não havia sido avaliado.

Assim, a nutricionista e doutoranda Andréia G. Giaretta, do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, sob a orientação da professora Dr^a. Elisabeth Wazlawik realizou um estudo para investigar se o consumo de maçã da variedade *Fuji* na forma de suco e *in natura* ajudaria a melhorar as defesas antioxidantes nesses pacientes, sem afetar as concentrações de potássio no sangue. O estudo foi realizado entre 2015 e 2016, com pacientes adultos que realizavam hemodiálise 3x/semana e que não tinham concentrações aumentadas de potássio no sangue. Na primeira parte do estudo (ensaio I), os participantes consumiram 300 e 150 mL de suco de maçã *Fuji* em dois dias diferentes, de forma única (consumo agudo). Na segunda etapa do estudo (ensaio II), os voluntários ingeriam diariamente 2 unidades de maçã *Fuji* (~360 g), por um período de 7 dias.

Os resultados mostraram que o consumo do suco e da maçã teve boa tolerância pelos pacientes, não ocasionando constipação, náusea, enjôo, vômito e diarreia. Além disto, a intervenção com a maçã ou o seu suco não excedeu os valores de referência para o mineral potássio para a população submetida à hemodiálise. Além disto, o consumo de maçã melhorou, especialmente, o estado antioxidante dos pacientes submetidos à hemodiálise. Desta forma, para pacientes submetidos à hemodiálise, sem hipercalemia (que não apresentam valores elevados de potássio no sangue), pode-se sugerir o consumo de 2 unidades de maçã *Fuji* ao dia. Desde que este consumo, faça parte de uma estratégia nutricional que permita a ingestão de 2 a 3 porções de frutas pobre em potássio.

**Maiores informações: Professora Dr^a. Elisabeth Wazlawik
(e.wazlawik@ufsc.br)**

ANEXO A: Termo de Consentimento



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (a) senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa de doutorado intitulada “**Determinação do estresse oxidativo após o consumo de maçã em pacientes submetidos à hemodiálise**”, que fará avaliação dos marcadores de estresse oxidativo no sangue e do estado nutricional, assim como entrevista, tendo como objetivo geral avaliar os marcadores de estresse oxidativo antes e após a intervenção com maçã da variedade *Fuji* em pessoas submetidas à hemodiálise e objetivos específicos: verificar o efeito da ingestão de suco de maçã e da maçã *in natura* em marcadores de estresse oxidativo; determinar a capacidade antioxidante total no soro por meio do FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Potential*); verificar o sistema antioxidante não-enzimático (vitamina C, ácido úrico, glutatona total, reduzida e oxidada) no sangue; determinar a atividade das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase) nos eritrócitos; determinar o nível de malondialdeído e proteínas carboniladas no sangue; avaliar o nível de hidroperóxidos lipídicos e proteína C reativa no soro; avaliar o dano ao DNA no sangue pelo teste Cometa; determinar os níveis de fósforo, glicose e potássio séricos; avaliar o consumo alimentar, por meio de registro de três dias; verificar os efeitos colaterais (constipação, flatulência, náusea, enjoo, vômito e diarreia) decorrentes do consumo da maçã; classificar o estado nutricional por meio da porcentagem de massa de gordura, circunferência muscular do braço, força do aperto da mão, ângulo de fase, análise vetorial da bioimpedância elétrica, albumina sérica e linfócitos totais; verificar o risco e estado nutricional através de métodos compostos (avaliação subjetiva global, do rastreamento de risco nutricional 2002 e do escore de desnutrição-inflamação). Serão previamente marcados a data e horário para a coleta de sangue e avaliação do estado nutricional, utilizando entrevista (questionário de caracterização, frequência alimentar e indicadores compostos do estado nutricional), equipamentos (balança, estadiômetro, fita métrica inelástica, dinamômetro,

bioimpedância elétrica e plicômetro) e coleta de sangue (seringa e agulha). A coleta de sangue e a avaliação do estado nutricional serão realizados na Clínica AparVida (São José/SC). Não é obrigatório participar de todas as atividades, responder a todas as perguntas, submeter-se a todas as medições e coleta de sangue.

Os riscos decorrentes da ingestão do suco e da maçã *in natura* podem ser médio e envolvem: flatulência (gases), constipação, diarreia, náusea, vômito ou outro tipo de intolerância ao consumo do suco ou da fruta. Se você for alérgico ou intolerante à maçã ou suco de maçã **NÃO** aceite participar do estudo. Além disto, pode ocorrer aumento nas concentrações de fósforo e potássio no sangue. A avaliação do estado nutricional poderá causar desconforto físico e emocional médio decorrente da exposição de partes do corpo para a avaliação, assim como as partes expostas poderão ser tocadas por outras pessoas para a medição. No que diz respeito à coleta de sangue, pode existir desconforto médio decorrente da entrada da agulha e retirada do sangue, bem como o aparecimento de hematomas ou hemorragias após o procedimento. Entretanto, para reduzir tal desconforto, as coletas de sangue serão realizadas por profissionais qualificados e com procedimentos adequados à coleta. Todos os materiais utilizados para coleta de sangue serão descartáveis. A sua identidade será preservada, pois cada indivíduo será identificado por um número. A participação no preenchimento do questionário poderá causar baixo desconforto físico e emocional decorrentes da exposição de informações pessoais dos participantes. Para minimizar tal desconforto, o pesquisador irá orientar o participante a não responder as perguntas nas quais ele não se sinta à vontade ou confortável.

Os benefícios e vantagens em participar deste estudo estão relacionados a algumas substâncias químicas que estão presentes na maçã e podem proteger as pessoas em hemodiálise dos danos gerados no organismo pelo estresse oxidativo. O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e o seu sequestro pelos antioxidantes (substâncias produzidas pelo organismo ou ingeridas por meio da alimentação). Assim, com a diminuição do estresse oxidativo, espera-se uma redução da possibilidade de danos ao organismo e, conseqüentemente, uma maior proteção à saúde da pessoa em hemodiálise. Ao participar desta pesquisa o (a) Sr.(a) não terá nenhum benefício direto (financeiro, por exemplo). Entretanto, espera-se a produção de conhecimentos que servirão como base para a elaboração de programas de orientação nutricional e

intervenções na área de saúde da população que realiza hemodiálise, sendo possível contribuir para uma melhora do seu estado nutricional.

As pessoas que estarão acompanhando os procedimentos serão as pesquisadoras: estudante de graduação em Nutrição Aline Miroski de Abreu, estudante de mestrado em Nutrição Angela Teodósio da Silva, estudante de doutorado em Nutrição Andreia Gonçalves Giarretta e a professora do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina Elisabeth Wazlawik. O(a) senhor(a) poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de constrangimento. Solicitamos a sua autorização para o acesso a dados contidos no seu prontuário. Solicitamos a sua autorização para o uso de seus dados para a produção de artigos técnicos e científicos. A sua privacidade será mantida através da não-identificação do seu nome. Este termo de consentimento livre e esclarecido é feito em duas vias, sendo que uma delas ficará em poder do pesquisador e outra com o sujeito participante da pesquisa. Agradecemos a sua participação.

NOME DO PESQUISADOR PARA CONTATO: Elisabeth Wazlawik
NÚMERO DO TELEFONE: XXX

ENDEREÇO: Departamento de Nutrição - Centro de Ciências da Saúde
-Rua: Delfino Conti - Campus Universitário – Trindade - 88040.900 -
Florianópolis SC

ASSINATURA DO PESQUISADOR

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos –
CEPSH/UDESC

Av. Madre Benvenuta, 2007– Itacorubi – Fone: (48)3321-8195 – e-mail:
cepshe.reitoria@udesc.br Florianópolis – SC; 88035-001

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e, que recebi de forma clara e objetiva todas as explicações pertinentes ao projeto e, que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu compreendo que neste estudo, as medições dos experimentos/procedimentos de tratamento serão feitas em mim, e que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

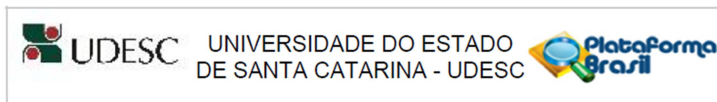
Nome por extenso

Assinatura _____ Local: _____

Data: ____ / ____ / ____

@udesc.br
Florianópolis – SC

ANEXO B: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETERMINAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO APÓS O CONSUMO DE MAÇÃ EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIALISE

Pesquisador: Elisabeth Wazlawik

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 37090614.6.0000.0118

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 953.095

Data da Relatoria: 10/02/2015

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado APROVA o Projeto de Pesquisa e informa que, qualquer alteração necessária ao planejamento e desenvolvimento do Protocolo Aprovado ou cronograma final, seja comunicada ao CEP SH via Plataforma Brasil na forma de EMENDA, para análise sendo que para a execução deverá ser aguardada aprovação final do CEP SH. A ocorrência de situações adversas durante a execução da pesquisa deverá ser comunicada imediatamente ao CEP SH via Plataforma Brasil, na forma de NOTIFICAÇÃO. Em não havendo alterações ao Protocolo Aprovado e/ou situações adversas durante a execução, deverá ser encaminhado RELATÓRIO FINAL ao CEP SH via Plataforma Brasil até 60 dias da data final definida no cronograma, para análise e aprovação.

FLORIANÓPOLIS, 12 de Fevereiro de 2015

Assinado por:
Luciana Dornbusch Lopes
(Coordenador)

Endereço: Av. Madre Benvenutta, 2007
Bairro: Itacorubi CEP: 88.035-001
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3321-8195 Fax: (48)3321-8195 E-mail: cepsh.reitoria@udesc.br

ANEXO C: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa HGCR

HOSPITAL GOVERNADOR
CELSO RAMOS/ SMS -
FLORIANÓPOLIS - SC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETERMINAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO APÓS O CONSUMO DE MAÇÃ EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIALISE

Pesquisador: Elisabeth Wazlawik

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 37090614.6.3001.5360

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.645.561

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 22 de Julho de 2016

Assinado por:
Carla Pauli
(Coordenador)

Endereço: Rua Imã Benwarda, 297 - 8º andar
Bairro: Centro CEP: 88.015-270
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3251-7036 Fax: (48)3224-0895 E-mail: cephgcr@saude.sc.gov.br