

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

PRISCILA OLIVEIRA BARBOSA

**A polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) melhora o estado
oxidativo de mulheres saudáveis**

OURO PRETO - MG

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**A polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) melhora o estado oxidativo de
mulheres saudáveis**

PRISCILA OLIVEIRA BARBOSA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Núcleo de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Estrutural e Fisiológica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Renata Nascimento de Freitas

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Carolina P Volp

OURO PRETO - MG

2015

B234p

Barbosa, Priscila Oliveira.

A polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) melhora biomarcadores do estado oxidativo em mulheres saudáveis [manuscrito] / Priscila Oliveira Barbosa. - 2015.

72f.: il.: color; graf.; tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Nascimento Freitas.

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Pinheiro Volp.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas.
Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Estresse oxidativo. 2. Antioxidantes dietéticos. 3. Açaí. I. Freitas, Renata Nascimento. II. Volp, Ana Carolina Pinheiro. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 66.094.3.098



Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

Ata da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação Intitulada:

"A polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) melhora o estado oxidativo de mulheres saudáveis"

Aos vinte dias do mês de março de 2015, às 14h, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação da aluna **Priscila Oliveira Barbosa**. A defesa da dissertação iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVAR a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

Membros da Banca Examinadora:

Prof.ª Dr.ª Renata Nascimento de Freitas
Presidente (UFOP)

Prof.ª Dr.ª Daniela Caldeira Costa
Examinador (UFOP)

Prof.ª Dr.ª Hércia Stampini Duarte Martino
Examinador (UFV)

DATA DA DEFESA: 20/03/2015



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

NUPEB - ICEB II - sala 49 | Universidade Federal de Ouro Preto
Campus Universitário Morro do Cruzeiro | CEP 35.400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Tel: 55 (31) 3558 1680 | E-mail: cbiol@nupeb.ufop.br | www.nupeb.ufop.br/cbiol

A minha **Mãe Rita**, por dividir comigo toda angústia e suportar a distância. Ao meu **Pai Mauro**, por cuidar tão bem dela e ser meu porto seguro. Aos meus irmãos **Mauro César** e **Felipe Augusto**, pelo companheirismo, amizade e apoio.

Agradecimentos

As agências de fomento pelo suporte financeiro, **CNPq, CAPES e FAPEMIG.**

A **UFOP** pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

A **Prof.^a Dr.^a Renata Nascimento de Freitas**, minha orientadora e amiga, agradeço por abrir as portas do seu laboratório e confiar em mim durante todos esses anos de trabalho que se iniciaram ainda na graduação. Obrigada pela paciência, incentivo e ensinamentos, sem sua orientação e apoio o caminho percorrido até aqui teria sido muito mais difícil. Saiba que tenho um imenso carinho e admiração pelo exemplo de profissional e ser humano que você é.

A minha coorientadora **Prof.^a Dr.^a Ana Carolina Pinheiro Volp**, por sua visão clínica, disponibilidade e contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

A **Dr.^a Melina Oliveira de Souza** pela assistência na padronização das análises e por estar sempre disposta a tirar minhas dúvidas. Foi um prazer trabalhar com você e dividir aprendizado e experiências. Muito obrigada Melina, este trabalho tem muito de você.

A **Daniela Pala** e **Carla Teixeira Silva** por terem se tornado mais que colegas de laboratório. No começo dividíamos bancada, hoje dividimos sonhos. Agradeço pelas inúmeras vezes que vocês me ajudaram na dosagem das amostras e na escrita de resumos, artigos, trabalhos e afins. Obrigada também pelas palavras de apoio nas horas de ansiedade e por comemorarem comigo cada vitória.

Aos companheiros do **Laboratório de Epidemiologia Molecular** e do grupo **Nutrição e Genômica Nutricional (NUTRIGEN)** pela ajuda e empenho na realização deste trabalho. Em especial as alunas de iniciação científica **Lilium A S Nunes** e **Thamiris N M Couto** pela disponibilidade e dedicação. As **Msc. Renata Adrielle Vieira Lima** e **Msc. Gilce Andrezza de Freitas Folly**, não foi fácil!

A **Flávia Guimarães Zola** e **Brígida D'Ávila Oliveira** pelo auxílio nas dosagens de capacidade antioxidante da polpa.

A **Glenda S Viggiano Campos**, **Paula M Gomes** e **Ana Paula J Menezes** pela discussão científica multidisciplinar, zelo, amizade e cumplicidade. Obrigada por tornarem os dias mais alegres e trazerem calma quando eu insisto em fazer tempestade.

“ Seu trabalho vai preencher uma parte grande da sua vida, e a única maneira de ficar realmente satisfeito é fazer o que você acredita ser um ótimo trabalho. E a única maneira de fazer um excelente trabalho é amar o que você faz. ”

Steve Jobs

Resumo

O aumento da morbimortalidade em decorrência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) cresceu de maneira alarmante no Brasil e no mundo. Este fato tem chamado atenção para o desenvolvimento de estratégias que possam prevenir e controlar o surgimento de novos casos. Entre as ações propostas para combater a epidemia de DCNT está a redução dos fatores de risco modificáveis como, tabagismo, consumo excessivo de álcool, alimentação não saudável e inatividade física. Em função disso, diversas medidas têm sido aplicadas à promoção da saúde, com por exemplo, o incentivo ao aumento na ingestão de frutas e verduras. Estes alimentos contêm uma série de componentes benéficos incluindo fibra, ácido fólico, vitaminas, minerais e um grande número de fitoquímicos não nutrientes, tais como os carotenoides e os polifenóis. Um fruto que vem ganhando destaque entre as pesquisas científicas por sua alta concentração de compostos fenólicos e possível efeito protetor, é o açaí. Estudos *in vitro* e em modelos experimentais envolvendo o açaí apresentam resultados promissores sobre o seu potencial papel como antioxidante, porém ainda são escassos os trabalhos que avaliam o efeito do seu consumo por humanos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do consumo de polpa de açaí sobre biomarcadores do estado redox em mulheres.

Foi realizado um estudo de intervenção nutricional com 30 mulheres aparentemente saudáveis. As voluntárias consumiram 200g/dia de polpa de açaí de origem comercial, durante 4 semanas. Foram realizadas análises de composição bromatológica da polpa oferecida, bem como quantificação do teor de polifenóis e a atividade antioxidante no início e ao final do período experimental. Antes e após a intervenção foi realizada antropometria, aferição da pressão arterial e coleta do sangue para as dosagens bioquímicas e determinação das concentrações séricas de dialdeído malônico (MDA), proteína carbonilada e grupos sulfidrilas.

Em relação à análise da polpa comercial utilizada, o teor de umidade encontrado foi 90% e cada 100g correspondia a um valor calórico de 51,5 kcal. A polpa era composta por 47% de lipídeos, 11% de proteínas, 11,6% de carboidratos, 27,2% de fibras e 3,2% de cinzas. O teor de polifenóis encontrados na polpa no início do estudo foi de 131 mg EAG/100g e de 155mg EAG/100g. Este resultado indica que as condições de armazenamento da polpa de açaí durante o período de intervenção não resultaram em perdas importantes no seu conteúdo de polifenóis. A quantificação do poder antioxidante da polpa pelo método do ABTS apresentou um resultado inicial de 8,6 μM de trolox/g.

No que diz respeito às variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas, após a introdução da polpa de açaí foi possível observar uma redução nos níveis de proteínas totais ($p=0,007$) e de globulina ($p=0,003$) e um aumento nos níveis de albumina ($p=0,008$) e da relação A/G ($p=0,007$). Já em relação aos biomarcadores do estado oxidativo, após o consumo de polpa de açaí houve uma redução nos níveis séricos de MDA ($p<0,001$) e de proteína carbonilada ($p=0,001$) e um aumento nos grupos sulfidrilas ($p<0,001$).

Estes resultados indicam que o consumo de 200g de polpa de açaí disponível comercialmente, durante quatro semanas, foi capaz de melhorar o estado oxidativo em mulheres saudáveis, reforçando o possível efeito funcional do açaí.

Abstract

The increased morbidity and mortality due to chronic noncommunicable diseases (NCDs) have alarmingly increased in Brazil and around the world. This fact has drawn attention to development of strategies to prevent and control new cases. The reduction of modifiable risk factors such as smoking, excessive alcohol consumption, unhealthy diet and physical inactivity are among proposed actions to combat NCD epidemic. Thus, several strategies have been applied to promote health, encouraging the increased intake of fruits and vegetables as an example. These foods keep a number of beneficial components including fiber, folic acid, vitamins, minerals and a large number of non-nutrient phytochemicals such as polyphenols and carotenoids. Açaí is a fruit that has been gaining attention among the scientific research for its high concentration of phenolic compounds and possible protective effect. Experimental and *in vitro* models involving açaí present promising results on its potential role as an antioxidant, however there are only a few studies that evaluate the effect of consumption by humans. Thus, the objective of this study was evaluate the effect of the consumption of açaí pulp on biomarkers of redox state in women healthy.

A nutritional intervention study was conducted among 30 apparently healthy women. During four weeks, the volunteers consumed 200 g / day of commercial origin açaí pulp. Chemical analysis of the offered pulp composition and the quantification of polyphenol content and antioxidant activity were performed at the beginning and at the end of the experiment. Before and after the intervention, an anthropometry and a measure of blood pressure was performed and then, blood was collected for biochemical analysis and determination of serum concentrations of malonic dialdehyde (MDA), protein carbonyl and sulfhydryl groups.

Speaking about the analysis of the used commercial pulp, the humidity content was 90% and each 100g corresponded to a caloric value of 51.5 kcal. The pulp was consisted of 47% lipids, 11% protein, 11.6% carbohydrates, 27.2% fiber and 3.2% ash. At the beginning of the study, the polyphenol content found in the pulp was 131 mg EAG/100g and at the end, 155mg EAG/100g. This outcome indicates that the storage condition of açaí pulp during the intervention period did not result in major losses in its polyphenol content. The quantification of the antioxidant capacity of pulp by the ABTS method presented an early trolox/g result of 8.6 μ M. Regarding to the anthropometric, biochemical and clinical variables after the introduction of açaí pulp, it was observed a

reduction in the levels of total protein ($p = 0.007$) and globulin ($p = 0.003$) as well as an increase in the levels of albumin ($p = 0.008$) and A/G ratio ($p = 0.007$). In relation to the oxidative state of the biomarkers, after the açai pulp consumption occurred a reduction in serum levels of MDA ($p = 0.001$) and protein carbonyl ($p = 0.001$), as well as an increase in sulfhydryl groups ($p < 0.001$).

These results indicate that the 200g consumption of açai pulp for commercial availability for four weeks was able to improve the oxidative state in healthy women, reinforcing the açai possible functional effect.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Mecanismo de ativação das enzimas antioxidantes via Nrf2/Keap1	7
Figura 2: Enzimas Antioxidantes e reações de eliminação das ERO	7
Figura 3: Mecanismos de formação do dialdeído malônico.....	10
Figura 4: Produção de proteína carbonilada pela oxidação direta de aminoácidos.....	11
Figura 5: Modificações oxidativas de grupos tióis.....	12
Figura 6: Estrutura geral dos flavonoides.....	13
Figura 7: Fotos do fruto da palmeira <i>Euterpe oleracea</i> Mart. Da direita para esquerda: açai, maceração do fruto, uma das formas de consumo.	14
Figura 8: Flavonoides presentes no açai.....	14
Figura 9: Diagrama cronológico do estudo.	19
Figura 10: Diagrama de Fluxo das voluntárias selecionadas para o estudo	21
Figura 11: Polpa de açai IceFruit®.....	22
Figura 12: Estrutura química do radical DPPH e a sua reação com um antioxidante indicado por AH.	24
Figura 13: Porcentagem de inibição do radical DPPH em diferentes concentrações da polpa de açai, no início e ao final do período experimental	30
Figura 14: Efeito do consumo de 200 g/dia de polpa de açai por quatro semanas sobre a concentração sérica de dialdeído malônico.	32
Figura 15: Efeito do consumo de 200 g/dia de polpa de açai por quatro semanas sobre a concentração sérica de proteína carbonilada.	33
Figura 16: Efeito do consumo de 200 g/dia de polpa de açai por quatro semanas sobre a concentração sérica de grupos SH.	33

Lista de Quadros e Tabelas

Quadro 1: Exemplo de radicais livres, reações de formação e relevância biológica.....	5
Quadro 2: Métodos de detecção de dano oxidativo causado por radicais livres	9
Tabela 1: Composição nutricional da polpa de açaí comercial utilizada no estudo.	29
Tabela 2: Valores de polifenóis totais presentes na polpa de açaí e atividade antioxidante pela captura do radical ABTS ^{•+}	29
Tabela 3: Variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas das voluntárias estudadas, antes e após o consumo de polpa de açaí.....	31

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Doenças crônicas não Transmissíveis	3
2.2. Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e DCNT	4
2.3. Estresse oxidativo e Sistema de Defesa Antioxidante.....	6
2.3.1. Sistema Enzimático	6
2.3.2. Sistema não Enzimático.....	8
2.4. Marcadores do Estado Oxidativo	8
2.4.1. Dialdeído Malônico	9
2.4.2. Proteína Carbonilada	11
2.4.3. Grupos Sulfidrilas.....	12
2.5. Antioxidantes Dietéticos.....	12
2.6. Açaí.....	13
3. OBJETIVOS	18
3.1. Objetivo Geral	18
3.2. Objetivos Específicos	18
4. METODOLOGIA.....	19
4.1. Desenho do Estudo	19
4.2. Voluntárias	19
4.2.1. Critérios de Inclusão.....	20
4.2.1. Critérios de Exclusão.....	20
4.3. Questões Éticas.....	21
4.4 Polpa de açaí.....	21
4.4.1. Composição bromatológica	22
4.4.2 Obtenção do Extrato da Polpa de Açaí.....	22
4.4.3. Determinação de Polifenóis Totais.....	23

4.4.4. Determinação da Atividade Antioxidante – ABTS	23
4.4.5. Determinação da Atividade Antioxidante – DPPH	24
4.5. Variáveis antropométricas e clínicas	24
4.5.1. Peso.....	24
4.5.2. Circunferência Abdominal	25
4.5.3. Gordura Corporal e Massa Livre de Gordura.....	25
4.5.4. Pressão arterial.....	25
4.6. Coleta de Sangue	25
4.7. Variáveis Bioquímicas.....	25
4.7.1. Glicose, colesterol total e frações	25
4.7.2. Proteínas Totais e frações	25
4.7.3. Insulina	26
4.7.4. HOMA-IR.....	26
4.8. Biomarcadores do Estado oxidativo	26
4.8.1. Proteína Carbonilada	26
4.8.2. Dialdeído Malônico	27
4.8.3. Grupos Sulfidrilas.....	27
4.9. Análise Estatística	28
5. RESULTADOS	29
5.1. Composição Química Centesimal	29
5.2. Polifenóis Totais e Atividade Antioxidante.....	29
5.3. Efeito do consumo de polpa de açaí sobre variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas.....	30
5.4 Gráficos Marcadores do Estado oxidativo.....	31
6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÃO.....	39
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
10. ANEXOS	48

1. INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) representam hoje o principal problema de saúde pública (OMS, 2014) de alcance global. Estas doenças apresentam etiologia multifatorial que incluem tanto determinantes sociais como genéticas, sexo e idade; e fatores de risco como tabagismo, consumo abusivo de álcool, alimentação não saudável e inatividade física. A fisiopatologia das DCNT envolve diferentes mecanismos, dos quais se destacam as alterações no metabolismo oxidativo (Gottlieb, Morassutti e Cruz, 2011).

Estima-se que as doenças do aparelho circulatório, diabetes *mellitus*, câncer e doença respiratória crônica, sejam responsáveis por 63% da morbimortalidade no mundo (Alwan *et al.*, 2010). No Brasil, essas doenças foram responsáveis por 74% das mortes em 2012 (WHO, 2014).

O aumento da incidência das DCNT no Brasil e no mundo tem chamado à atenção de líderes políticos e dos profissionais de saúde na formulação de intervenções para prevenir o surgimento dessas doenças. A maioria das ações foca na redução de fatores de risco modificáveis comuns a estas doenças (tabagismo, álcool, inatividade física, obesidade e alimentação inadequada) (Brasil, 2011).

Dentre as intervenções para prevenir o desenvolvimento de doenças crônicas, a alimentação tem ganhado destaque. Na última década os alimentos passaram a ser vistos não apenas como fontes de nutrientes e calorias, mas como primeira linha de defesa na prevenção de diversas doenças (Hasler, 2000). Sendo assim, alguns alimentos têm sido propostos com efeitos benéficos à saúde que vão além de satisfazer a fome, os chamados “alimentos funcionais”, que são fontes de compostos biologicamente ativos (fitoquímicos) (Crowe e Francis, 2013).

Os fitoquímicos podem ser classificados em carotenoides, compostos fenólicos, alcaloides, compostos nitrogenados e organosulfurados (Liu, 2004). Os compostos fenólicos são produtos secundários do metabolismo de plantas, que possuem um ou mais anéis aromáticos ligados a grupos hidroxila e proporcionam benefícios à saúde associados com efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e antimutagênicos (Quideau *et al.*, 2011).

Um alimento que tem recebido muita atenção devido à sua composição fitoquímica e seu provável papel funcional é o açaí. O açaí é fruto da palmeira *Euterpe oleracea* Mart., tipicamente brasileiro e nativo da região amazônica. Estudos revelaram que o açaí é rico em compostos bioativos, particularmente os polifenóis, da classe dos flavonoides tais

como, antocianinas e pró-antocianidinas (Del Pozo-Insfran, Brenes e Talcott, 2004; Schauss *et al.*, 2006).

As propriedades benéficas do açaí têm sido demonstradas tanto *in vitro* quanto em modelos animais (De Souza *et al.*, 2010; Guerra *et al.*, 2011; Bonomo *et al.*, 2014). Porém, embora a capacidade antioxidante do açaí tenha sido descrita em vários estudos, são escassos os trabalhos avaliando o efeito do consumo de açaí em humanos (Mertens-Talcott *et al.*, 2008; Udani *et al.*, 2011; Gale, Kaur e Baker, 2014). A investigação sobre os efeitos decorrentes do consumo de polpa de açaí por humanos saudáveis de vida livre, podem apresentar dados promissores em relação ao efeito protetor deste fruto sobre o desenvolvimento de diversas doenças.

Assim, diante da epidemia mundial das DCNT e da formulação de ações para prevenir e/ou controlar os números casos associados à alimentação, os estudos dirigidos ao entendimento dos mecanismos pelos quais os alimentos e seus constituintes exercem seus possíveis efeitos funcionais são necessários antes que recomendações específicas possam ser feitas. Neste contexto é que se apresenta a importância dos estudos sobre os efeitos do açaí sobre o metabolismo oxidativo. Dessa forma, o presente estudo se propõe a investigar os efeitos do consumo de polpa de açaí por mulheres saudáveis, sobre marcadores do estado oxidativo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Doenças crônicas não transmissíveis

As DCNT representam um enorme desafio à saúde pública em virtude da redução da qualidade de vida e do elevado número de mortes precoces (Schmidt *et al.*, 2011). A globalização e a rápida urbanização são apontados como os principais contribuintes para o aumento das DCNT, principalmente nos países de baixa e média renda (Checkley *et al.*, 2014).

Aproximadamente 38 milhões de mortes por ano no mundo é devido as DCNT, sendo que 80% dos óbitos ocorrem em países em desenvolvimento. O aumento da morbimortalidade em decorrência dessas doenças tem refletido no desenvolvimento econômico de diversos países e no alcance dos *Objetivos de Desenvolvimento do Milênio* (WHO, 2011).

No Brasil a situação acompanha a tendência mundial e preocupa principalmente os profissionais da saúde. Em 2012, 74% dos óbitos foram em decorrência das DCNT, sendo que as doenças cardiovasculares totalizaram 31% das mortes, os cânceres 17%, as doenças crônicas respiratórias 6% e o diabetes 6%. Estimativas indicam que a probabilidade de óbito no país na faixa etária de 30 a 70 anos, devido a essas quatro principais doenças, é de 19% (WHO, 2014).

A preocupação com o impacto destas doenças foi motivo de discussão na “Reunião de Alto Nível” realizada em 2011, na cidade de Nova Iorque (EUA), pelas Organizações das Nações Unidas (ONU) (WHO, 2011). Na mesma linha, o Ministério da Saúde em parceria com instituições de ensino e pesquisa, criaram o “Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil, 2011-2022”, que define metas, estratégias e investimentos para preparar o país para enfrentar e deter as DCNT nos próximos dez anos (Brasil, 2011). O plano brasileiro, assim como as pautas de debate propostas pela ONU, focam suas ações nos quatro principais grupos de DCNT (doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, doenças respiratórias crônicas e câncer) e os fatores de risco em comum modificáveis (tabagismo, consumo excessivo de álcool, inatividade física e alimentação não saudável). As metas traçadas pelo Brasil em relação à redução dos fatores de risco já começaram a mostrar resultados nos dois anos de plano (2011-2013). Houve uma diminuição de 11,3% no tabagismo (meta de 30%).

O grande desafio na redução dos fatores de risco modificáveis citados acima, é que eles são comportamentais e pessoais, sendo necessário desenvolver ações eficazes para

que haja modificação no estilo de vida populacional. Intervenções como aumento da tributação do tabaco e do álcool, criação de espaços públicos antifumo e ambientes para prática de atividade física, devem estar entre as políticas para prevenção e controle das DCNT (Hunter e Reddy, 2013). A dieta é o fator mais preocupante, porque além das preferências individuais ela também é influenciada pela indústria de alimentos, que produz cada vez mais alimentos processados e prontos para o consumo, porém com baixa qualidade nutricional.

As DCNT são o maior problema de saúde pública do século 21. Reduzir o número de mortes prematuras e os custos econômicos com a limitação do trabalho em virtude dessas doenças devem ser os principais objetivos da política de saúde. Todos os países podem se beneficiar através da troca de experiências e de conhecimentos técnicos para a prevenção e controle das DCNT (Hunter e Reddy, 2013).

2.2. Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e DCNT

Entre os radicais livres mais descritos na literatura estão os derivados do oxigênio, comumente chamado de “espécies reativas de oxigênio” (ERO), que são produzidos a partir de diferentes processos no nosso organismo, tais como: cadeia respiratória da mitocôndria, via da xantina oxidases, o sistema do citocromo P450, a NADPH oxidase, mieloperoxidase e óxido nítrico sintase (Ye *et al.*, 2014). Os radicais livres são produtos do metabolismo celular normal. Um radical livre pode ser definido como um átomo ou molécula que contém um ou mais elétrons desemparelhados (Phaniendra, Jestadi e Periyasamy, 2015). As ERO estão mais bem descritas no quadro 1.

Quadro 1: Exemplo de espécies reativas, reações de formação e relevância biológica

Espécies Reativas	Reação	Características/Função
Superóxido $O_2^{\cdot-}$	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$	Formado principalmente a partir da reação do O_2 com um elétron que escapou da mitocôndria. A via da xantina oxidase, lipoxigenase, ciclooxigenase e NADPH oxigenase também produzem radical superóxido.
Peróxido de Hidrogênio H_2O_2	$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$	É produzido a partir da detoxificação do $O_2^{\cdot-}$ pela SOD. Possui baixa toxicidade e meia vida curta, características que tornam o H_2O_2 uma boa molécula de sinalização intracelular. Está envolvida em processos de ativação de fatores de transcrição.
Ácido Hipocloroso HOCl	$H^+ + Cl^- + H_2O_2 \rightarrow HOCl + H_2O$	Espécie não radicalar formada através da reação catalisada pela mieloperoxidase. Pode interromper a replicação de DNA bacteriano destruindo a ancoragem do DNA na membrana.
Radical Hidroxila HO•	$HOCl + O_2^{\cdot-} \rightarrow HO\cdot + O_2 + Cl^-$ $HOCl + Fe^{2+} \rightarrow HO\cdot + Fe^{3+} + Cl^-$ $HOCl + Cu^+ \rightarrow HO\cdot + Cu^{2+} + Cl^-$ $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO\cdot + Fe^{3+} + OH^-$ $H_2O_2 + Cu^+ \rightarrow HO\cdot + Cu^{2+} + OH^-$ $H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \rightarrow HO\cdot + O_2 + Cl^-$	É a espécie derivada de oxigênio com maior toxicidade biológica. As modificações oxidativas produzidas por estas espécies causam danos irreversíveis. Pode ser formada a partir da reação do H_2O_2 , nas reações de Fenton.
Óxido Nítrico NO	$L\text{-arginina} + O_2 \rightarrow L\text{-citrulina} + NO + NADP^+ + e^-$	Sintetizado enzimaticamente pela iNOS. Apresenta meia-vida longa em relação ao $O_2^{\cdot-}$ e HO•. Em concentrações fisiológicas normais, o NO é um mensageiro intracelular para a guanilato ciclase e proteínas quinases.
Peroxinitrito ONOO ⁻	$NO + O_2^{\cdot-} \rightarrow ONOO^-$	Em células com elevada produção de NO, (ex. leucócitos estimulados), a reação pode ser tão rápida quanto a reação de dismutação de $O_2^{\cdot-}$ pela SOD. ONOO ⁻ pode sofrer hemólise e formar HO•.
Dióxido de Nitrogênio NO ₂	$ONOO^- + H^+ \rightarrow HO\cdot + NO_2$ $2NO + O_2 \rightarrow 2NO_2$	O aumento da formação de ONOO ⁻ pode levar formação de HO• e NO ₂ . A oxidação direta de NO por O ₂ também pode levar a produção de NO ₂ .

Adaptado (Ye *et al.*, 2014).

Sabe-se hoje que as ERO desempenham um trabalho duplo com efeitos benéficos e tóxicos (Phaniendra, Jestadi e Periyasamy, 2015). Em níveis moderados ou baixos estas espécies apresentam funções fisiológicas como, por exemplo, na defesa contra microrganismos patogênicos, como segundo mensageiro em diferentes vias de

sinalização, na proliferação e diferenciação celular, entre outros (Sarsour *et al.*, 2009). A manutenção das concentrações de ERO é crucial para garantir os seus efeitos fisiológicos. Em altas concentrações as ERO são conhecidas por danificar macromoléculas celulares, podendo prejudicar a integridade de lipídeos, proteínas e DNA (Phaniendra, Jestadi e Periyasamy, 2015). O excesso de ERO promove uma alteração do estado oxidativo, quadro conhecido como “estresse oxidativo”. Esta condição tem sido relacionada à patogênese de várias doenças humanas tais como a diabetes *mellitus*, doenças neurodegenerativas, artrite reumatoide, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias, bem como o processo de envelhecimento (Sarsour *et al.*, 2009).

O conceito de que o estresse oxidativo é fator comum na patogênese das DCNT tem sido associado à presença de inflamação. É bem reconhecido que o excesso das ERO promove uma hiperativação das vias de sinalização que geram os mediadores da inflamação, tais como moléculas de adesão e as interleucinas (Schieber e Chandel, 2014).

2.3. Estresse oxidativo e Sistema de Defesa Antioxidante

O termo “estresse oxidativo” foi introduzido na biologia há 30 anos e o seu conceito baseava-se na “perturbação do equilíbrio pró-oxidante e antioxidante, em favor do primeiro” (Sies, 1985). A definição atual inclui o papel das ERO na sinalização celular e descreve o estresse oxidativo como “um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, conduzindo à ruptura da sinalização redox e dos mecanismos de controle” (Sies, 2007).

O controle celular para evitar que as ERO causem efeitos deletérios e alterem a homeostasia do meio, compreende dois sistemas de defesa antioxidante, enzimático e não enzimático (Alissa e Ferns, 2012). O primeiro é composto por enzimas que catalisam reações de neutralização dos radicais livres e o último, por antioxidantes que estabilizam estes radicais.

2.3.1. Sistema Enzimático

O aumento da produção de ERO promove a indução de enzimas antioxidantes através da via do Nrf2/Keap1 (Figura 1). Estas espécies oxidam resíduos de cisteína, que regulam a atividade de Keap1, ao passo que ativam quinases que fosforilam o Nrf2. O Nrf2 é então capaz de se translocar para o núcleo e se ligar a região de elemento de resposta antioxidante (ARE). Essa região promotora inclui um painel de enzimas como a glutathione redutase (GR), glutathione-peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) (Lee, Huang e Shyur, 2013).

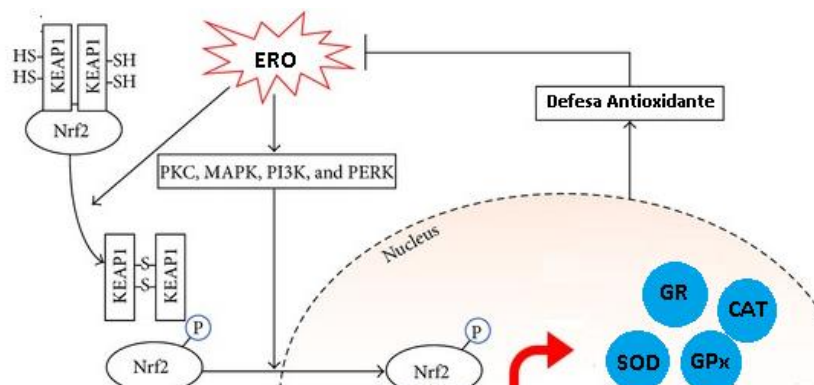


Figura 1: Mecanismo de ativação das enzimas antioxidantes via Nrf2/Keap1. Adaptado (Lee, Huang e Shyur, 2013)

As enzimas antioxidantes apresentam papel fundamental na defesa contra as ERO, pois elas representam a primeira linha de defesa do organismo. A SOD pode ser encontrada no citoplasma com o cobre e o zinco presentes no seu sítio ativo (CuZnSOD) e na matriz mitocondrial com a presença do manganês (MnSOD) (Peng *et al.*, 2014). Os dois tipos de SOD catalisam uma dismutação que decompõe o ânion superóxido em H₂O₂, que será convertido em água e oxigênio pela ação da CAT ou da GPx (Figura 2).

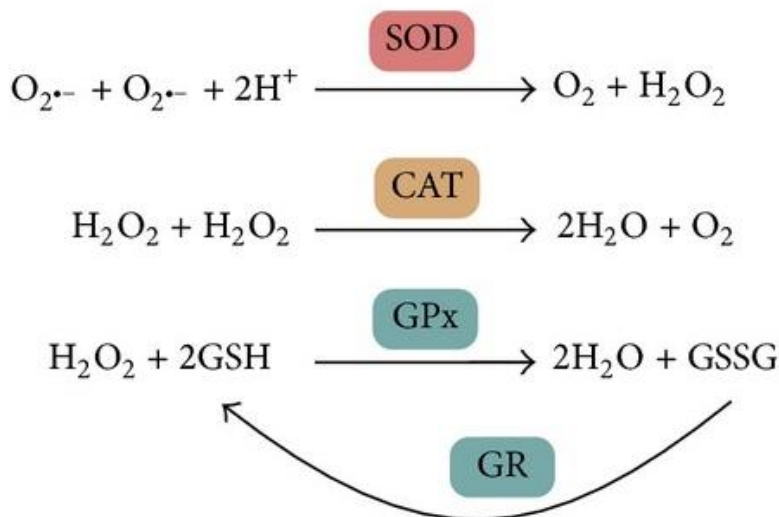


Figura 2: Enzimas Antioxidantes e reações de eliminação das ERO. SOD: Superóxido Dismutase; CAT: Catalase; GPx: Glutathione Peroxidase; GR: Glutathione Redutase. Adaptado (Peng *et al.*, 2014)

A CAT contém ferro no seu sítio ativo e é uma das enzimas mais eficientes do sistema enzimático (Chelikani, Fita e Loewen, 2004). GPx apresenta o selênio como parte

do centro ativo, e catalisa a conversão de H_2O_2 a partir da oxidação da glutathione, que é constantemente reaproveitada pela GR. A neutralização do peróxido de hidrogênio é de suma importância, pois ele pode ser convertido no radical hidroxila, um dos radicais mais reativos e prejudiciais as células.

2.3.2. Sistema não enzimático

O sistema não enzimático funciona como segunda linha de defesa contra os radicais livres. Entre os principais componentes deste sistema estão os compostos dietéticos, tanto os hidrossolúveis quanto os lipossolúveis (Alissa e Ferns, 2012). Os antioxidantes exógenos são capazes de estabilizar radicais livres e interromper a cascata de reações oxidativas geradas pelas espécies reativas (Podsędek, 2007). O ácido ascórbico, α -tocoferol e o β -caroteno estão entre os antioxidantes mais renomados nesta categoria (Balsano e Alisi, 2009). Contudo, estudos indicam que há outras moléculas que atuam como antioxidantes não enzimáticos, tais como os flavonoides e os carotenoides (Quideau *et al.*, 2011). Estes compostos estão naturalmente presentes nos alimentos, principalmente nas frutas e verduras.

Diversos estudos apontam para a relação entre o consumo de frutas e verduras e uma redução no risco de desenvolver DCNT (Rissanen *et al.*, 2003; Agudo *et al.*, 2007; Nicklett *et al.*, 2012; Budovsky, Yarmolinsky e Ben-Shabat, 2015). A maioria dos benefícios desses alimentos tem sido atribuída à presença de vitaminas, mineiras, fibras, mas, sobretudo de polifenóis (Krausz, Gunn e Friedman, 2014)

2.4. Marcadores do Estado Oxidativo

Existem diferentes formas de avaliar os efeitos do estresse oxidativo no organismo. O excesso de ERO promove modificações na estrutura de lipídeos, carboidratos, proteínas e DNA (Barbosa *et al.*, 2010). O dano oxidativo a essas moléculas formam biomarcadores que podem ser identificados e quantificados (Ho *et al.*, 2013). No quadro 2 se encontram os métodos de detecção do dano oxidativo causado pelos radicais livres. É possível avaliar o dano através de análise direta, pela quantificação de ERO ou por avaliação indireta utilizando os produtos da oxidação dos radicais livres.

Quadro 2: Métodos de detecção de dano oxidativo causado por radicais livres

Detecção do dano oxidativo			Biomarcadores/Metodologia
Radicais Livres	Avaliação Direta	ERO	Ressonância de spin eletrônico
			Fluorescência (2',7' diclorofluoresceína)
	Avaliação Indireta	Lipídeos	Dialdeído Malônico (MDA)
			Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)
			4-hidroxinonenal (4-HNE)
			Isoprostanos (8-iso-PGF2)
			LDL oxidada
		Proteínas	Carbonilação
			3-Nitrotirosina
			Tióis totais
DNA	8-hidroxi-guanina (8-OHdG)		
	Quebra do DNA – ensaio cometa		

Adaptado (Shah *et al.*, 2014)

2.4.1. Dialdeído Malônico

O dialdeído malônico (MDA) é produzido a partir da oxidação de ácidos graxos, principalmente os poliinsaturados (Del Rio, Stewart e Pellegrini, 2005). O mecanismo da peroxidação lipídica e formação de MDA pode ser mais compreendido através do esquema apresentado na Figura 3.

2.4.2. Proteína Carbonilada

As ERO também podem atacar proteínas, adicionando grupos carbonila (C=O) às cadeias laterais de aminoácidos, processo conhecido como carbonilação de proteínas (Berlett e Stadtman, 1997). Entre os aminoácidos alvo das ERO destacam-se a arginina, lisina, prolina, treonina, cisteína e metionina, podendo os dois últimos ser reparados por enzimas redutases específicas (Berlett e Stadtman, 1997). Em contrapartida, as outras modificações por adição de grupo carbonila são irreversíveis, sendo o conteúdo de proteína carbonilada largamente utilizado como biomarcador do dano oxidativo proteico (Dasgupta *et al.*, 2013). A figura 4 mostra a modificação causada por ERO e a formação dos seus produtos.

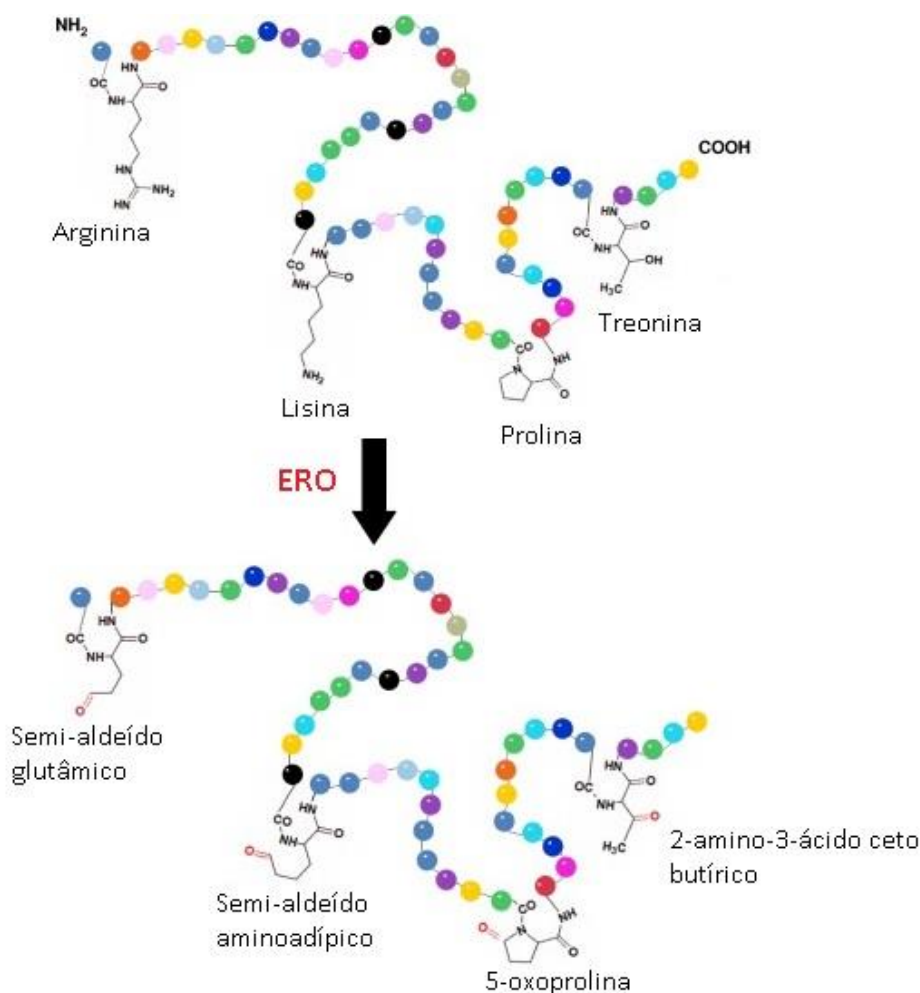


Figura 4: Produção de proteína carbonilada pela oxidação direta de aminoácidos. Adaptado de (Matallana-Surget *et al.*, 2013)

As proteínas carboniladas formadas após o ataque de ERO aos aminoácidos podem sofrer desnaturação e perda da atividade enzimática provocando citólise e morte

celular (Dalle-Donne *et al.*, 2006). A modificação oxidativa com introdução de grupos carbonilas em proteínas tem sido associada à patogênese de várias doenças (Dalle-Donne *et al.*, 2003; Curtis *et al.*, 2012).

2.4.3. Grupos Sulfidrilas

Os grupos sulfidrilas (SH) envolvem todos os grupos tióis encontrados no organismo, principalmente proteínas como a albumina e compostos de baixo peso molecular como a cisteína (Marinho *et al.*, 2014). Este último tiol reage lentamente com os radicais livres, enquanto a albumina apresenta alto potencial de oxidação (Musumeci *et al.*, 2013; Marinho *et al.*, 2014).

A modificação causada aos grupos SH pelos radicais livres está exemplificada na figura 5.

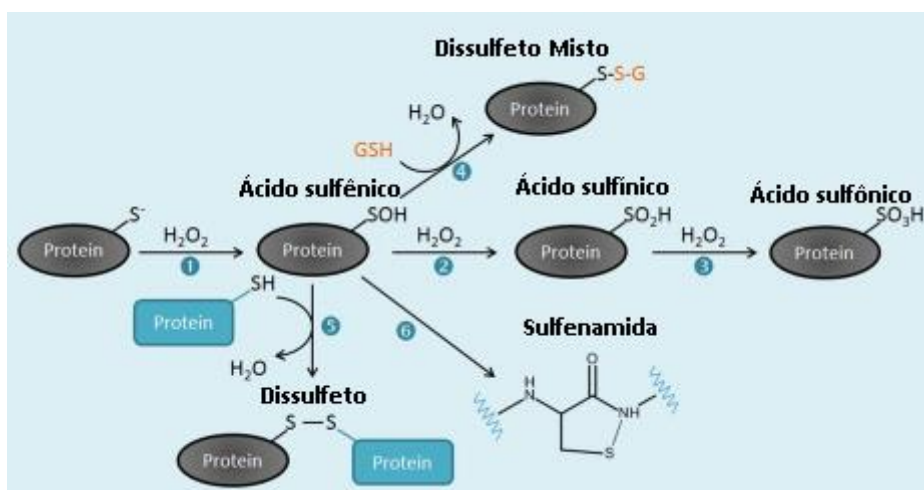


Figura 5: Modificações oxidativas de grupos tióis. Adaptado (Marinho *et al.*, 2014)

O aumento na produção de radicais livres promove a formação de pontes dissulfetos a partir da oxidação dos grupos SH, entretanto essa reação é reversível (Knorre, Kudryashova e Godovikova, 2009). Um aumento nas concentrações de radicais SH tem sido associado a uma menor oxidação (Jones *et al.*, 2002).

2.5. Antioxidantes Dietéticos

A fim de combater e neutralizar os efeitos deletérios de ERO, diferentes estratégias têm sido propostas para aumentar as defesas do organismo. Está cada vez mais evidenciado os benefícios dos antioxidantes da dieta na manutenção da homeostasia do estado redox (Harasym e Oledzki, 2014). Alguns estudos epidemiológicos associam os efeitos protetores dos componentes dietéticos à presença de polifenóis, em especial em frutas tropicais (Almeida *et al.*, 2011).

Os polifenóis, ou compostos fenólicos, são uma classe de fitoquímicos que possuem um ou mais anéis aromáticos ligados a grupos hidroxila, e podem ser classificados em: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas e taninos. Os flavonoides compõem o maior grupo de polifenóis, sendo que mais de 4000 tipos de flavonoides diferentes já foram identificados (Liu, 2004). A figura 6 mostra a estrutura geral dos flavonoides.

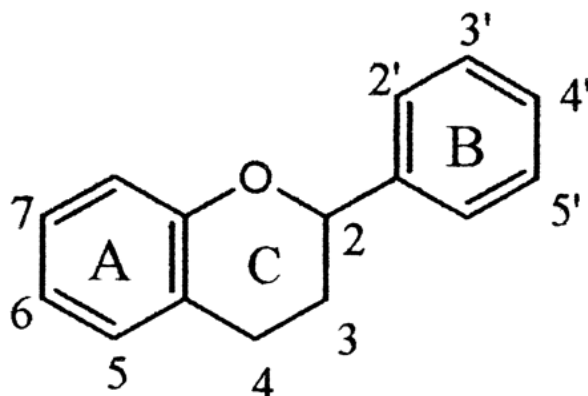


Figura 6: Estrutura geral dos flavonoides. Retirado (Liu, 2004)

Basicamente, os flavonoides consistem em dois anéis aromáticos (A e B) ligados a um anel heterocíclico (C). Este anel é responsável pela variedade de flavonoides encontrados na natureza, dos quais se destacam os flavonóis, as flavonas, as catequinas, as antocianidinas e as isoflavonas (Liu, 2004).

Os mecanismos de ação dos polifenóis no organismo são emergentes. Parte do efeito protetor destes compostos é devido ao sequestro de radicais livres, inibindo diversas vias de oxidação de macromoléculas. Os polifenóis também estão relacionados à regulação da expressão de genes, e mais recentemente tem sido associado à modulação do epigenoma de mamíferos (Masella *et al.*, 2005; Duthie, 2011).

2.6. Açaí

A palmeira *Euterpe oleracea* Mart. é uma árvore nativa do norte da América do Sul conhecida popularmente como açaizeiro. A maior ocorrência é registrada no estado do Pará e a partir dessa palmeira, uma variedade de produtos pode ser fabricado, mas é a polpa do seu fruto, o açaí, que vem sendo cada vez mais comercializado (Da Silva Santos, De Almeida Teixeira e Barbosa, 2014). O açaí é uma fruta arredondada de cor roxo-escuro que produz um sumo viscoso ao ser macerado. Este sumo é utilizado na fabricação de farinha de açaí e na formulação de bebidas (Figura 7) (Del Pozo-Insfran, Brenes e Talcott, 2004).



Figura 7: Fotos do fruto da palmeira *Euterpe oleracea* Mart. Da direita para esquerda: açaí, maceração do fruto, uma das formas de consumo.

A composição fitoquímica do açaí identificou a presença de cinco flavonoides principais: cianidina-3-sambiosídeo, peonidina-3-glicosídeo, peonidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo (Figura 8). Além destes fitoquímicos, também foram encontrados outros compostos em menores concentrações, como: ácido ferúlico, epicatequina, ácido p-hidroxibenzoico, ácido gálico, ácido protocatecuico, catequina, ácido elágico, ácido vanílico e ácido p-cumárico.

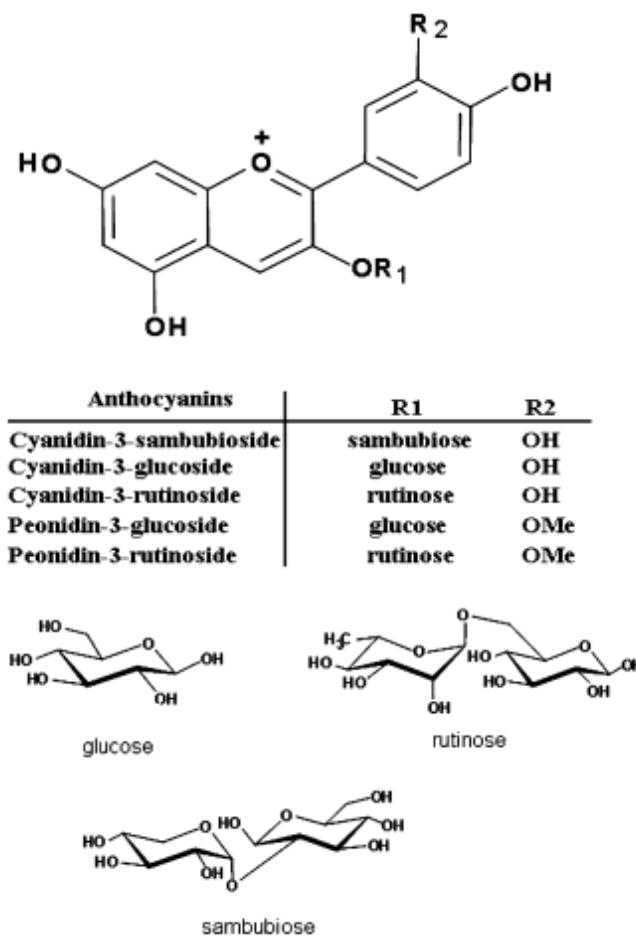


Figura 8: Flavonoides presentes no açaí. Adaptado (Schauss *et al.*, 2006)

A composição nutricional do açaí também merece destaque, uma vez que o seu fruto apresenta altos teores de fibras (44,2%) e de lipídeos (32,5%), dos quais mais de 70% são ácidos graxos insaturados (Schauss *et al.*, 2006), que também apresentam efeitos benéficos no organismo.

As altas concentrações de polifenóis e a qualidade nutricional do açaí tem despertado o interesse de pesquisadores para o seu potencial antioxidante (Hassimotto, Genovese e Lajolo, 2005; Chin *et al.*, 2008; Spada *et al.*, 2008). Um corpo crescente de pesquisas *in vitro* e *in vivo* evidenciam os efeitos do açaí em relação à neutralização de radicais livres, mas também apontam para o potencial efeito anti-inflamatório, anti-carcinogênico e antiproliferativo (Pacheco-Palencia *et al.*, 2008; De Souza *et al.*, 2010; Guerra *et al.*, 2011; Feio *et al.*, 2012; Bonomo *et al.*, 2014). Embora as pesquisas com açaí tenham alcançado progresso considerável, são necessários mais estudos que envolvam o papel deste fruto na saúde humana, uma vez que o número de trabalhos nesta área ainda é escasso.

O primeiro estudo envolvendo os efeitos antioxidantes em humanos avaliou o efeito de uma mistura de suco que contém o açaí como ingrediente predominante. Doze voluntários (6 mulheres e 6 homens) foram selecionados para participarem em dois momentos diferentes, com intervalo de uma semana entre os dois encontros. Em cada dia, foi realizado coleta de sangue da linha de base e após 1 e 2 horas de consumo de 120 mL do suco com açaí ou placebo. Os resultados indicaram um aumento da capacidade antioxidante do soro tanto para 1 quanto para 2 horas após o consumo de suco com açaí. Também foi possível observar efeito na diminuição da peroxidação lipídica após 2 horas de consumo, quando comparado com a mesma pessoa. Estes achados sugerem que a ingestão do suco, composto na sua maior composição por açaí, foi capaz de aumentar a capacidade antioxidante e proteger as células de dano oxidativo (Jensen *et al.*, 2008).

No mesmo ano, um estudo utilizando três bebidas diferentes: 100% polpa de açaí, 100% polpa de açaí clarificada e 100% suco de maçã, avaliou o efeito da ingestão de 7 mL de suco / kg de peso, no perfil antioxidante de 11 voluntários saudáveis. Amostras de sangue e de urina foram coletadas periodicamente até 12 e 24 horas respectivamente após o consumo. Os resultados mostraram que houve aumento da capacidade antioxidante do plasma de até 3 vezes para a polpa de açaí e até 2,3 vezes para o suco de açaí clarificado. Esses dados evidenciam a biodisponibilidade das antocianinas do açaí em voluntários humanos, confirmados pelo aumento significativo da capacidade antioxidante do plasma (Mertens-Talcott *et al.*, 2008).

Aliado às propriedades antioxidante, o açaí também tem sido reconhecido por apresentar possíveis efeitos anti-inflamatórios. Um estudo piloto em humanos buscou avaliar o efeito de uma bebida à base de açaí sobre a dor crônica. Quatorze participantes foram monitorados no início do estudo e após 2, 4, 8 e 12 semanas, para identificar o curso de tempo das alterações nos sintomas de dor e redução da ROM após o consumo da bebida. Os voluntários foram orientados a consumir 120 mL da bebida por dia. Os dados de dor coletados por meio do questionário apresentam melhoras estatisticamente significativas somente após 12 semanas de consumo, mas relatos de melhora foram observados a partir de 4 semanas. Também foram quantificados a medida de proteção celular antioxidante em eritrócitos (CAP-e), para avaliar a atividade antioxidante sérica. O consumo de suco à base de açaí foi capaz de aumentar os níveis de CAP-e a partir de 2 semanas, com melhora contínua da dor ao longo do estudo e elevada significância após as 12 semanas de consumo. Os dados deste estudo reafirmam o potencial antioxidante do açaí e apresentam efeitos positivos em relação ao estado inflamatório. O mecanismo proposto para o poder anti-inflamatório dos polifenóis é a inibição da via das ciclooxigenase-2 (COX-2) (Jensen *et al.*, 2011).

Outro estudo piloto foi desenhado para avaliar os efeitos da polpa de açaí em voluntários com excesso de peso, em risco de desenvolver a síndrome metabólica. Dez participantes (5 homens e 5 mulheres) foram instruídos a consumir 200g de polpa de açaí por dia, durante 30 dias. Amostras de sangue foram coletadas antes e após o consumo da polpa de açaí. Entre os parâmetros metabólicos analisados, houve redução significativa nos níveis plasmáticos de glicose, insulina e colesterol total, após os 30 dias de ingestão de polpa de açaí. Os níveis de óxido nítrico (NO) e proteína C-reativa (PCR), foram quantificados para avaliar o estado oxidativo, porém não foi observado alterações significativas. Dados deste estudo sugerem que adição de 200g de polpa de açaí na dieta é capaz de melhorar parâmetros metabólicos importantes no desenvolvimento de doenças crônicas (Udani *et al.*, 2011).

Uma pesquisa recente avaliou o efeito de cápsulas de açaí sobre parâmetros hemodinâmicos e eletrocardiográficos em indivíduos saudáveis. Vinte participantes, entre homens e mulheres, foram selecionados. De todos os parâmetros analisados a pressão arterial sistólica foi significativamente menor após 6 horas de consumo de cápsula de açaí quando comparado com o placebo (Gale, Kaur e Baker, 2014).

Todos estes estudos relatam efeitos benéficos do açaí. A participação deste alimento no aumento da capacidade antioxidante sugere uma menor oxidação a lipídeos,

proteínas, carboidratos e DNA, no entanto, estudos que incluam a avaliação de diferentes marcadores de estresse oxidativo são necessários para confirmar este efeito.

O aumento na prevalência das DCNT no mundo inteiro tem aumentado o interesse por alimentos que contenham compostos bioativos. Grande importância tem sido dada aos antioxidantes dietéticos, principalmente aos flavonoides, como forma de aumentar as defesas do organismo contra danos oxidativo e prevenir os mecanismos patogênicos dessas doenças.

É inegável a necessidade de trabalhos que avaliem o açaí como parte da dieta, para que futuramente as propriedades funcionais deste alimento possam ser utilizadas no combate ao desenvolvimento de uma série de patologias, incluindo as DCNT.

Dessa maneira, considerando o potencial antioxidante do açaí e a falta de estudos que avaliem o efeito do açaí sobre biomarcadores do estado oxidativo em humanos, nos propusemos a realizar o presente estudo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito do consumo de polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre biomarcadores do estado oxidativo em mulheres saudáveis.

3.2. Objetivos Específicos

- Realizar análise da composição química centesimal da polpa de açaí utilizada no presente trabalho;
- Determinar o conteúdo de fenólicos totais presentes na polpa de açaí;
- Avaliar a atividade antioxidante da polpa de açaí;
- Avaliar o efeito do consumo de polpa de açaí sobre variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas nas voluntárias saudáveis;
- Avaliar o efeito do consumo de polpa de açaí sobre as concentrações séricas de proteína carbonilada, dialdeído malônico e grupos sulfidrila das voluntárias saudáveis.

4. METODOLOGIA

4.1. Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo de intervenção nutricional, realizado no ambulatório de Nutrição Clínica da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), no período de março a dezembro de 2013.

O presente estudo foi dividido em três etapas: a etapa I, que envolvia a seleção e recrutamento das voluntárias; a etapa II, que compreendia a intervenção nutricional; e a etapa III, marcada pelo fim da intervenção nutricional. As etapas do estudo podem ser melhor compreendidas no esquema cronológico abaixo (Figura 9).

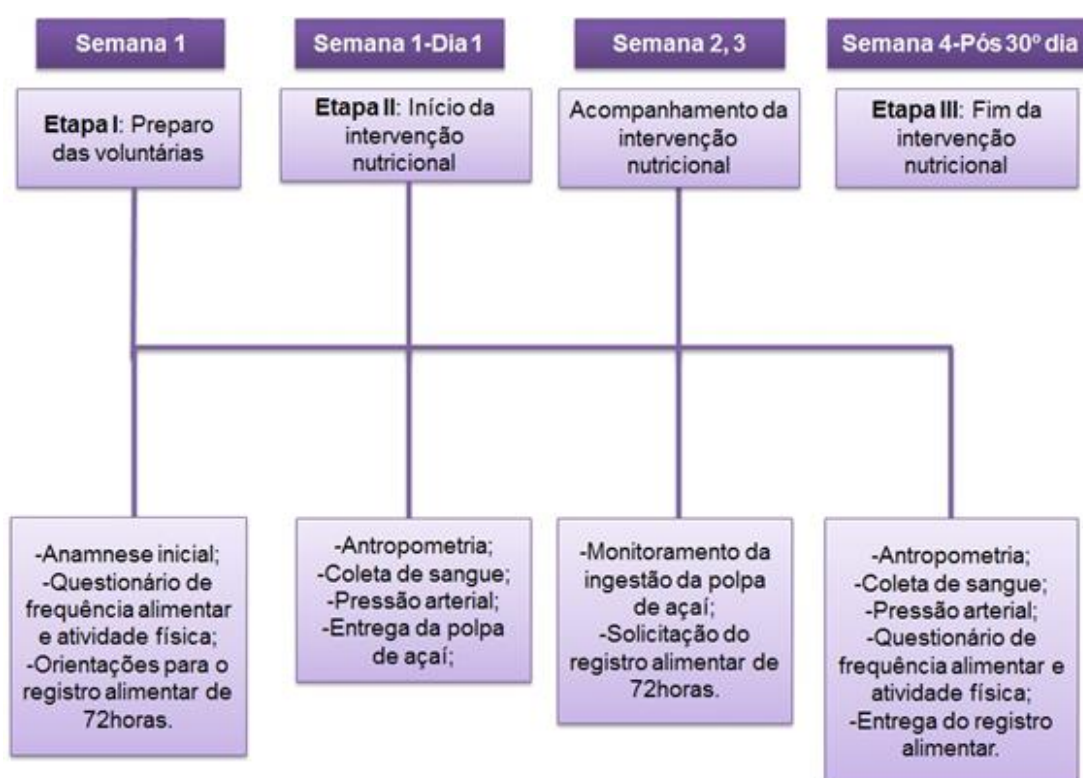


Figura 9: Diagrama cronológico do estudo.

4.2. Voluntárias

O recrutamento das participantes ocorreu através de anúncios em rádio, na *webpage* da UFOP e *folders* divulgados junto a profissionais de saúde para toda a comunidade de Ouro Preto. As mulheres que demonstraram interesse na pesquisa foram selecionadas de acordo com os dados obtidos com questionário inicial (**Anexo I**). A seleção foi feita por profissionais devidamente treinados (graduandos e pós-graduandos).

No decorrer do recrutamento as participantes receberam por escrito uma descrição da pesquisa e também informações sobre os riscos e benefícios do estudo (**Anexo II**). As

participantes foram orientadas que poderiam abandonar o estudo a qualquer momento caso não quisessem mais continuar, ou se os pesquisadores encontrassem alguma condição que impedisse a sua participação.

4.2.1. Critérios de Inclusão

Para participar do estudo era necessário atender aos requisitos abaixo:

- Sexo feminino;
- Idade entre 18 e 35 anos;
- Índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 35 kg/m².

4.2.1. Critérios de Exclusão

Após o recrutamento foram excluídas as voluntárias que se enquadravam em algum dos critérios abaixo:

- Não saber ler e escrever ou apresentar dificuldades cognitivas que dificultem o preenchimento dos questionários;
- Mudanças de peso de mais de 10% do peso corporal nos dois meses anteriores ao estudo;
- Pressão arterial ≥ 140 mmHg e/ou diastólica ≥ 90 mmHg;
- Glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL ou pós-prandial de ≥ 200 mg/dL;
- História de dislipidemia ou colesterol total ≥ 240 mg/dL ou triacilgliceróis ≥ 200 mg/dL;
- Doenças tireoidianas tratadas com fármacos (hipotireoidismo tratado e bem controlado foi permitido);
- Alergias alimentares, desordens alimentares, ou intolerância ao açúcar;
- Dietas especiais (dieta vegetariana, dieta Atkins, etc.) aos dois meses antes do estudo;
- Uso de suplementos nutricionais (complexo vitamínicos, minerais), etc. seis meses antes do estudo;
- Intercorrência clínica que impeça a conclusão do estudo.
- Atletas de elite;
- Pessoas que sofreram intervenção cirúrgica para tratamento da obesidade;
- Pessoas que tenham participado de algum estudo clínico nos três meses anteriores;
- Portadoras de doenças crônicas (cardiovascular, renal, hepática, intestinal);
- Portadoras de doenças infecciosas ou inflamatórias;
- Doença aguda que tenha requerido tratamento nos últimos 2 meses;
- Relato de diagnóstico de câncer nos dez anos anteriores;
- Uso crônico de medicação, exceto contraceptivos, esteroides inalados ou *sprays* nasais;
- Gestação e amamentação;

- Portadoras de necessidades especiais.

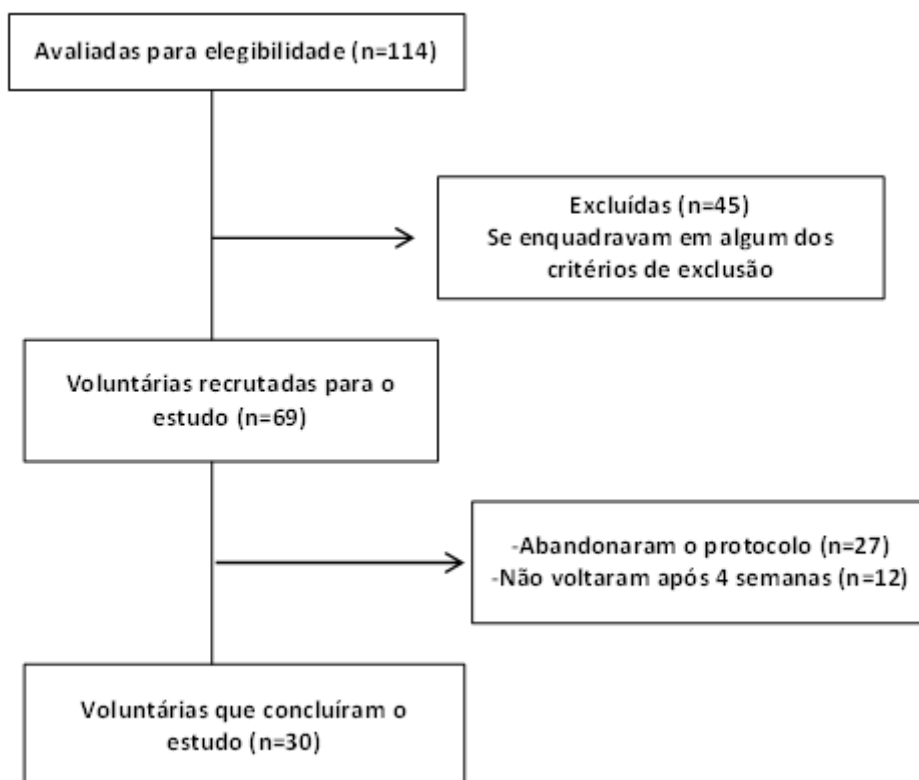


Figura 10: Diagrama de Fluxo das voluntárias selecionadas para o estudo

4.3. Questões Éticas

O protocolo para este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto (CAAE: 0062.0.238.000-10, **Anexo III**). As voluntárias selecionadas para participarem do estudo assinaram, em duplicata, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo IV**)

4.4 Polpa de açaí

A polpa de açaí utilizada no estudo foi adquirida em supermercado local. A quantidade necessária foi obtida do mesmo fornecedor e em um único lote (IceFruit® Lote 04/13), para garantir a homogeneidade da composição das polpas. As polpas se apresentavam em uma embalagem com 400g (4 pacotes de 100g cada).



Figura 11: Polpa de açaí IceFruit® - Fonte: Divulgação no site

As voluntárias foram orientadas a adicionar 200g de polpa/dia (dois pacotes de 100g) na dieta habitual, com preparações à sua escolha, ex.: puro, com frutas, com leite, etc. A fim de obter informações sobre o consumo da polpa, o fornecimento das porções para as voluntárias foi feito através de encontros semanais.

4.4.1. Composição bromatológica

As análises bromatológicas da polpa de açaí oferecida às voluntárias foram desenvolvidas no Laboratório de Bromatologia da Escola de Nutrição-UFOP. Os teores de umidade, cinzas, lipídios totais, proteínas, carboidratos e fibra alimentar foram quantificados utilizando metodologias propostas pelo Método Físico-químico para Análise de Alimentos – IV, do Instituto Instituto Adolf Lutz (2005).

A metodologia para a determinação do teor de umidade se baseia na perda de massa por secagem em estufa a 70°C. Para a quantificação do teor de proteína utilizou-se o método de Kjeldahl Clássico. A determinação dos valores de cinzas foi realizada através de incineração em forno mufla, onde o calor produzido promove a destruição total da matéria orgânica. Os lipídios totais foram quantificados pelo método de extração de Soxhlet. O teor de fibra alimentar foi determinado através do método enzimático-gravimétrico. A quantificação do teor de carboidratos foi realizada pelo método da diferença da soma dos teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos totais e fibras. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.4.2 Obtenção do Extrato da Polpa de Açaí

A polpa de açaí foi submetida à maceração com etanol, metanol e acetona (v/v), na proporção de 1:3 (p/v). O macerado obtido foi filtrado em bomba a vácuo com filtro Whatman nº1 e em seguida submetido à evaporação rotatória a 40°C durante 4 horas.

4.4.3. Determinação de Polifenóis Totais

A quantificação de polifenóis totais da polpa de açaí usada no estudo foi determinada antes e após o estudo para avaliar a estabilidade dos compostos fitoquímicos durante o período de armazenamento da polpa. Para esta metodologia, foi utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (Shahidi e Nackz, 1995). O reagente de Folin-Ciocalteu é uma mistura dos ácidos fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) e fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$), e a metodologia se baseia na redução desses ácidos em solução alcalina. Essa redução produz uma coloração azulada, que é medida através de espectrofotometria.

Basicamente, uma alíquota de 100 μ L de diferentes concentrações do extrato da polpa (10, 25, 50 g/L) foram diluídas em 1mL do reagente de Folin-Ciocalteu (0,25N Sigma®) e deixando em repouso no escuro durante 2 minutos. Após esse tempo foi adicionado 1mL de carbonato de cálcio (1N). A mistura foi homogeneizada e colocada novamente em repouso, durante 2 horas. Após esse tempo, a leitura foi realizada por espectrofotometria com leitura a 760nm. A curva padrão para quantificação dos polifenóis totais foi determinada utilizando diferentes concentrações de ácido gálico (5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 mg/L). O teor de polifenóis totais encontrado foi expresso em mg equivalente de ácido Gálico (EAG) em 100g de amostra.

4.4.4. Determinação da Atividade Antioxidante – ABTS

A capacidade antioxidante da polpa de açaí foi determinada pela metodologia de captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) – ABTS (Rufino *et al.*, 2007). Essa reação de captura do ABTS promove uma modificação na cor da reação, passando de verde escuro a verde claro. Através dessa metodologia é possível medir a atividade antioxidante de compostos hidrofílicos e lipofílicos.

Para ensaio da atividade antioxidante adicionou-se 5 mL da solução aquosa de ABTS (7mM) e 88 μ L de persulfato de potássio (140mM) em tubos de ensaio. A mistura permaneceu em repouso entre 12-16h antes da análise, no escuro, para geração do cátion radical cromóforo ABTS^{•+}. Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura em etanol até obter uma absorbância de 0,70 nm \pm 0,05 nm a 734 nm. Para determinação da atividade antioxidante da polpa de açaí, adicionou-se 30 μ L de diferentes diluições (10, 25, 50, 100, 150 e 200 g/L) em 3 mL da solução ABTS^{•+}, e após 6 minutos foi realizada a leitura das absorbâncias. O etanol foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro. A padronização dos resultados foi realizada utilizando o antioxidante trolox como padrão de referência, e

os resultados foram expressos em capacidade antioxidante micro equivalente ao Trolox ($\mu\text{M TEAC/g}$ de extrato).

4.4.5. Determinação da Atividade Antioxidante – DPPH

A metodologia pelo método do radical DPPH quantifica a capacidade de uma substância antioxidante em sequestrar o radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) (Pyrzynska e Pekal, 2013). Quando este radical é misturado com um antioxidante, sua cor muda de púrpura para amarelo do correspondente hidrazina

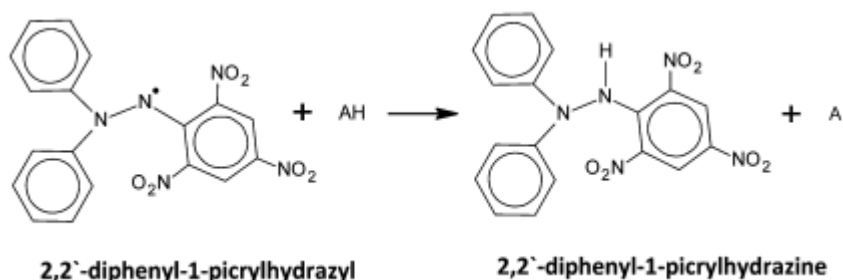


Figura 12: Estrutura química do radical DPPH e a sua reação com um antioxidante indicado por AH. Retirado de (Pyrzynska e Pekal, 2013)

O ensaio para quantificar a capacidade antioxidante pelo método DPPH foi realizado conforme protocolo já descrito (Brand-Wiliams, Cuvelier e Berset, 1995). As análises envolvendo o radical DPPH foram realizadas no início e ao final do projeto, para avaliar a estabilidade dos compostos antioxidantes presentes na polpa.

Inicialmente, 100 μL de diferentes concentrações da polpa (100, 150, 200, 300 e 350 g/l de trolox) foram adicionados em tubos de ensaio e misturados com 3,9 ml de solução de DPPH, dissolvidos em metanol (100 mM). A mistura foi homogeneizada e incubada em temperatura ambiente por 30 minutos. Após esse tempo foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (FEMTO® NIR 900) a 517nm. O metanol (100mM) foi utilizado como branco.

A concentração de DPPH foi calculada com base na curva de calibração de DPPH a qual foi expressa em % inibição.

4.5. Variáveis antropométricas e clínicas

Todas as variáveis foram mensuradas antes e após a intervenção por profissionais devidamente qualificados (graduandos e pós-graduandos).

4.5.1. Peso

A aferição do peso foi realizada com balança digital Welmy®, com capacidade máxima de 200 kg e precisão de 0,05 kg.

4.5.2. Circunferência Abdominal

A medida da circunferência abdominal (CA) foi realizada em triplicata na ausência de roupas na região de interesse com a ajuda de uma fita métrica.

4.5.3. Gordura Corporal e Massa Livre de Gordura

A porcentagem de gordura corporal (%GC) e a porcentagem de massa livre de gordura (%MLG) foram mensuradas através de bioimpedância elétrica horizontal (BIODYNAMICS, modelo 310, TBW).

4.5.4. Pressão arterial

A aferição da pressão arterial foi realizada alternadamente três vezes, utilizando o aparelho oscilométrico (OMRON 795CP), com o indivíduo sentado e com o braço não dominante estendido na altura do coração.

4.6. Coleta de Sangue

A coleta de sangue foi realizada com 12 horas de jejum antes e após a intervenção com açai. As amostras foram coletadas por farmacêutico qualificado, através de punção venosa na região antecubital, com sistema a vácuo (Vacutainer®). Foi coletado um tubo para obtenção de soro para as dosagens bioquímicas e para os marcadores do estado oxidativo.

4.7. Variáveis Bioquímicas

As dosagens bioquímicas foram realizadas no Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) da UFOP.

4.7.1. Glicose, colesterol total e frações

As concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total, triacilglicéris e HDL-c foram quantificadas através de ensaio enzimático colorimétrico com *kit* comercial (Bioclin, Quibasa). Para a determinação dos valores de LDL-c, utilizou-se a equação de Friedewald *et al.* (1972):

$$\text{LDL-c} = \text{CT} - \text{HDL-c} - (\text{triacilglicéris} \div 5)$$

4.7.2. Proteínas Totais e frações

Proteínas totais foram determinadas pelo método colorimétrico-Biureto e albumina através de reação colorimétrica com verde de bromocreso (espectofotômetro Metrolab®, modelo 2800), ambos com *kit* específico disponível comercialmente (Bioclin,

Quibasa). Os níveis de globulina foram quantificados pela diferença entre o valor de proteínas totais e albumina.

4.7.3. Insulina

A dosagem de insulina foi realizada através da metodologia de quimioluminescência, utilizando *kit* comercial (Acess® Immunoassay System) com sensibilidade de 0,3 µIU/mL.

4.7.4. HOMA-IR

O índice HOMA-IR (modelo de avaliação da homeostase da sensibilidade à insulina) proposto por Matthews (1985) foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\text{HOMA-IR} = [\text{insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicose } (\text{mmol/L})] \div 22.5$$

4.8. Biomarcadores do Estado oxidativo

4.8.1. Proteína Carbonilada

A oxidação de proteína por EROS leva à formação de derivados carbonílicos. Estes podem ser mensurados por métodos sensíveis, particularmente aqueles que utilizam o 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNP). O DNP reage com grupos carbonílicos gerando a hidrazona correspondente, a qual pode ser analisada espectrofotometricamente.

Para determinar a concentração sérica dos níveis de proteína carbonílica foi realizado um ensaio conforme descrito (Levine *et al.*, 1994). Resumidamente, 100 µL de soro foram transferidos para um eppendorf e adicionados 600 µL de DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina, Sigma®). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por um período de 60 minutos e a cada 10 minutos eram homogeneizados no vórtex. Após esse tempo, foram adicionados 600 µL de ácido tricloroacético (TCA 20%) e novamente homogeneizado no vórtex. Logo após, a mistura foi centrifugada a 10.000 g durante 10 minutos a uma temperatura de 4°C. Depois de centrifugado, o sobrenadante era descartado e eram adicionados 800 µL de etanol-acetato de etila a cada precipitado, estes eram misturados no vórtex até dissolução completa do pellet e novamente centrifugados a 10.000 g a 4°C, durante 10 minutos. Este último passo foi repetido mais duas vezes. Ao final das repetições, o sobrenadante foi novamente descartado e adicionou-se 900 µL de guanidina. A mistura foi novamente homogeneizada no vórtex e centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. Depois de centrifugados os eppendorfs foram colocados em banho-maria durante 60 minutos a 37° C. Após esse tempo, finalmente o sobrenadante foi

retirado, transferido para uma cubeta de quartzo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Epoch, Biotek®) a 360 nm. A guanidina foi utilizada para zerar o aparelho.

A concentração de proteína carbonilada foi expressa em nmoles/mg de proteína.

4.8.2. Dialdeído Malônico

A avaliação da peroxidação lipídica é realizada através da detecção dos derivados dos produtos de oxidação, substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico, destacando-se o MDA (Correia *et al.*, 2006).

A concentração sérica dos níveis de peroxidação lipídica foi realizada conforme procedimento descrito previamente (Esterbauer e Cheeseman, 1990). Basicamente, foram adicionados em um falcon 50 µL de hidroxitolueno butilado (BHT 10 mM), 500 µL de ácido tricloroacético (TCA 20%), 500 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA 1%), 250 µL de soro (ou água para o branco ou série de padrões). A mistura foi homogeneizada e incubada a 100°C durante 60 minutos. Após esse tempo, a mistura foi resfriada em água com gelo e adicionou-se 1,5 mL de butanol. A mistura foi novamente homogeneizada centrifugada a 1000g durante 5 min. O sobrenadante foi transferido para uma cubeta de quartzo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Epoch, Biotek®) a 532 nm, acertando o zero com o branco da reação.

Como padrão de MDA foi utilizado o 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TTP) (Sigma®) previamente diluído em água deionizada nas concentrações de 125 µM, 62,5 µM, 31,2 µM, 15,6 µM, 7,8 µM, 3,9 µM e 1,9µM. Os resultados foram expressos em [µM de MDA].

4.8.3. Grupos Sulfidrilas

Os grupos sulfidrilas apresentam um grupamento –SH que podem ser oxidados durante o estresse oxidativo. Para determinar a concentração sérica dos grupos sulfidrilas totais, antes e após a intervenção com o açaí, utilizou-se o reagente de Ellman (5,5'-ditiobis-ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB, Sigma®), com protocolos proposto (Sedlak e Lindsay, 1968). O DTNB reage com a sulfidrilas livre para formar uma ligação S-S e liberar o TNB, um composto de cor amarela detectado por espectrometria a 412nm.

Foi construída uma curva padrão de glutathione, com diluições seriadas com as seguintes concentrações: 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 µmol/L.

Para determinação dos grupos sulfidrila totais nas amostras, basicamente adicionou-se em um eppendorf 800 μL de metanol, 150 μL de Tris-HCl (pH 8,2), 50 μL de DTNB e 40 μL de amostra (ou série de padrões para construção da curva). A mistura foi homogeneizada no vórtex e logo depois centrifugada a 13000 rpm durante 15 minutos em temperatura ambiente. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (Epoch, Biotek®), em 412 nm. Para zerar o aparelho foi utilizado um branco sem amostra e DTNB.

4.9. Análise Estatística

Os dados estatísticos inicialmente foram testados quanto à sua normalidade através do teste de *Shapiro-Wilk* a 5% de significância para verificar. Os dados paramétricos foram apresentados com valores de média \pm DP, e os dados não paramétricos com mediana e valor mínimo e valor máximo.

Para comparação dos resultados obtidos ao início e ao final do experimento, o teste *t* pareado foi utilizado para as variáveis com distribuição normal e o teste de *Wilcoxon* para as variáveis que não seguiam a normalidade. Os valores discrepantes (*outliers*) foram excluídos para a formulação dos gráficos.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS versão 18.0. Foi considerado o nível de significância estatística de 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS

5.1. Composição Química Centesimal

Realizamos análise da composição centesimal da polpa de açaí com o objetivo de caracterizar o produto que era oferecido às voluntárias.

A polpa de açaí utilizada no estudo apresentou um teor de umidade de 90%. Os valores dos principais constituintes da polpa estão apresentados na tabela abaixo:

Tabela 1: Composição nutricional da polpa de açaí comercial utilizada no estudo.

100g de peso seco de polpa de açaí	
Lipídios (g)	47,0
Proteína (g)	11,0
Carboidrato (g)	11,6
Fibra (g)	27,2
Cinzas (g)	3,2
Valor energético total (kcal)¹	513,4

¹ Fatores de conversão: carboidrato 4 kcal/g, proteína 4 kcal/g e lipídeo 9 kcal/g.

5.2. Polifenóis Totais e Atividade Antioxidante

Para conhecer o conteúdo de polifenóis e avaliar a capacidade antioxidante da polpa de açaí, realizamos diferentes metodologias. Também avaliamos a estabilidade dos compostos presentes na polpa oferecida, realizando análises ao início e ao final do projeto.

Os valores de teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante pela captura do radical ABTS^{•+} se encontram na tabela abaixo:

Tabela 2: Valores de polifenóis totais presentes na polpa de açaí e atividade antioxidante pela captura do radical ABTS^{•+}

Compostos/Radical	Início ¹	Final ²	<i>p</i>
Polifenóis (mg EAG/100g de polpa de açaí) ³	127±149	155±188	0,345
ABTS ^{•+} (µM de trolox/g polpa de açaí)	8,62	-	

¹ Análises realizadas em maio. ² Análises realizadas em dezembro. ³ os valores estão expressos como média ± DP.

O radical ABTS^{•+} é um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante através da captura do radical. Inicialmente se apresenta na cor verde azulada e na medida que reage com o antioxidante, sua cor fica mais clara.

Outro ensaio para quantificar o poder antioxidante da polpa de açaí, foi através do radical DPPH. A eficácia da amostra em reduzir a absorvância do DPPH é indicativa da sua capacidade antioxidante. O gráfico abaixo apresenta os valores de porcentagem de inibição do radical DPPH, ao início e ao fim do período experimental, em diferentes concentrações.

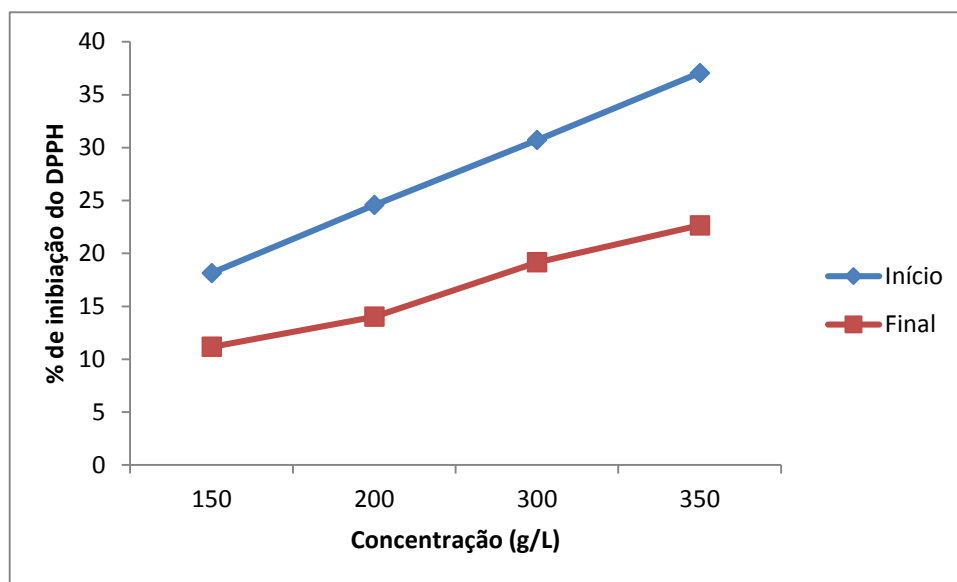


Figura 13: Porcentagem de inibição do radical DPPH em diferentes concentrações da polpa de açaí, no início e ao final do período experimental

Inicialmente os valores de % de inibição do DPPH foram de 18,1 (150g/L), 24,6 (200g/L), 30,7 (300g/L) e 37 (350g/L). Ao final do experimento houve redução no percentual de inibição 11,2 (150g/L), 14 (200g/L), 19,2 (300g/L) e 23 (350g/L), porém esses valores não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p=0,068$).

5.3. Efeito do consumo de polpa de açaí sobre variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas

O presente estudo avaliou 30 voluntárias com idade entre 20 e 30 anos ($24,2 \pm 2,6$). A avaliação do efeito do consumo de polpa de açaí sobre parâmetros metabólicos foi realizada através da aferição de medidas antropométricas, clínicas e bioquímicas no início e no final da intervenção.

Os dados apresentados na tabela 3 mostram uma redução nos valores de proteínas totais ($p=0,007$) e globulina ($p=0,003$) após o período de intervenção. Já os valores séricos de albumina ($p=0,008$) e a relação A/G ($p=0,003$) tiveram aumento significativo. Nenhuma outra variável apresentou diferença estatística após o período de intervenção.

Tabela 3: Variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas das voluntárias estudadas, antes e após o consumo de polpa de açaí

Variáveis	Início (n=30)	Final (n=30)	P
<i>Antropométricas</i>			
Peso (kg)	58,45 (50,6-99,5)	58,45 (50,9-99,5)	0,061
Circunferência Abdominal (cm)	80,5 (68,5-112,57)	80,1 (69,5-110,67)	0,191
Gordura Corporal (%)	30,57 ± 4,95	31,06 ± 4,77	0,096
Massa Livre de Gordura (%)	69,43 ± 4,96	68,94 ± 4,77	0,102
<i>Clínicas</i>			
PAS (mmHg)	103,11 ± 10,65	101,35 ± 11,03	0,420
PAD (mmHg)	71,39 ± 8,61	70,71 ± 7,53	0,682
<i>Bioquímicas</i>			
Proteínas Totais	7,18 ± 0,62	6,82 ± 0,81	0,007
Albumina	3,79 ± 0,26	3,94 ± 0,31	0,008
Globulina	3,5 (2,2-4,5)	2,9 (2-4,1)	0,003
Relação A/G	1,06 (0,81-1,95)	1,33 (0,87-2,09)	0,003
Glicose (mg/dL)	78 (64-102)	78 (71-95)	0,619
Insulina (µU/mL)	5,48 (3,03-12,33)	6,51 (2,44-13,72)	0,347
Colesterol Total (mg/dL)	185,43 ± 33,96	189,6 ± 40,55	0,416
Triacilgliceróis (mg/dL)	76,53 ± 31,33	79,53 ± 36,5	0,519
HDL-c (mg/dL)	97,75 (65,3-188,6)	104,1 (52-199,3)	0,307
LDL-c (mg/dL)	63 (40-95)	65 (45-95)	0,766
HOMA-IR	1,09 (0,57-2,44)	1,18 (0,45-2,54)	0,456

Dados paramétricos expressos como média ± DP. Dados não paramétricos expressos como mediana e valor mínimo – valor máximo. Valor de p <0,005 foi considerado estatisticamente significativo.

HDL-c, lipoproteína de alta densidade; HOMA-IR, índice de homeostase de resistência à insulina; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; PAS=Pressão arterial sistólica; PAD=Pressão arterial diastólica; Relação A/G=Relação albumina/globulina.

5.4 Gráficos Marcadores do Estado oxidativo

A capacidade dos compostos fenólicos presentes no açaí em proteger macromoléculas como lipídeos e proteínas foi avaliada através da quantificação de biomarcadores dano oxidativo antes e após a intervenção.

Em relação aos marcadores do estado oxidativo, observamos que houve redução na concentração sérica de MDA e de proteína carbonilada ao final do período de intervenção (Gráfico 2 e 3). Por outro lado, as concentrações séricas de grupamentos SH apresentaram um aumento ao final do período de intervenção (Gráfico 4).

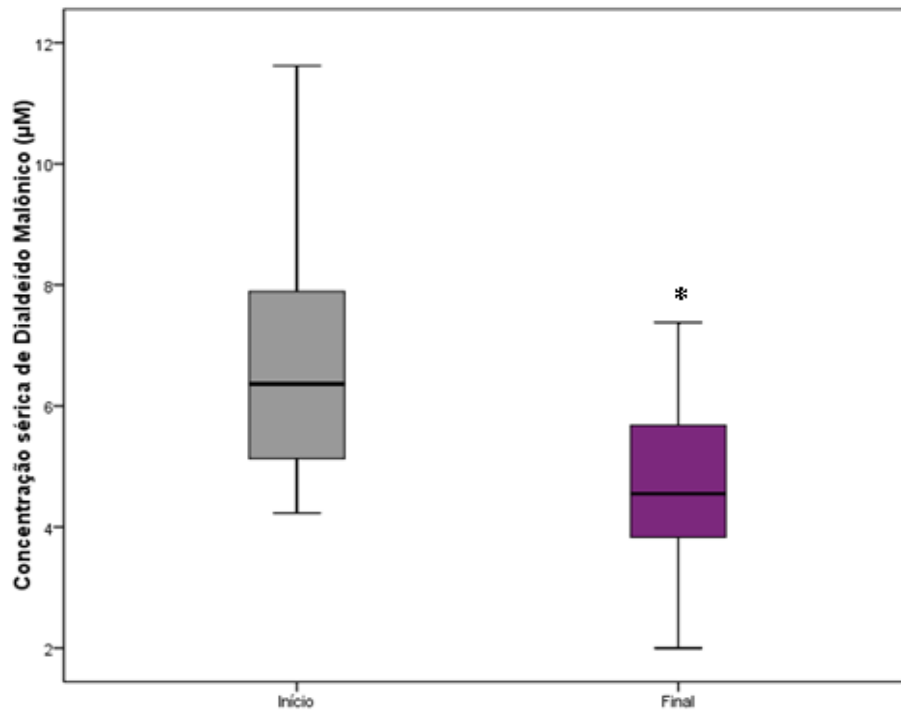


Figura 14: Efeito do consumo de 200 g/dia de polpa de açaí por quatro semanas sobre a concentração sérica de dialdeído malônico.

Valores expressos como mediana e valor mínimo - valor máximo. * $p < 0,005$.

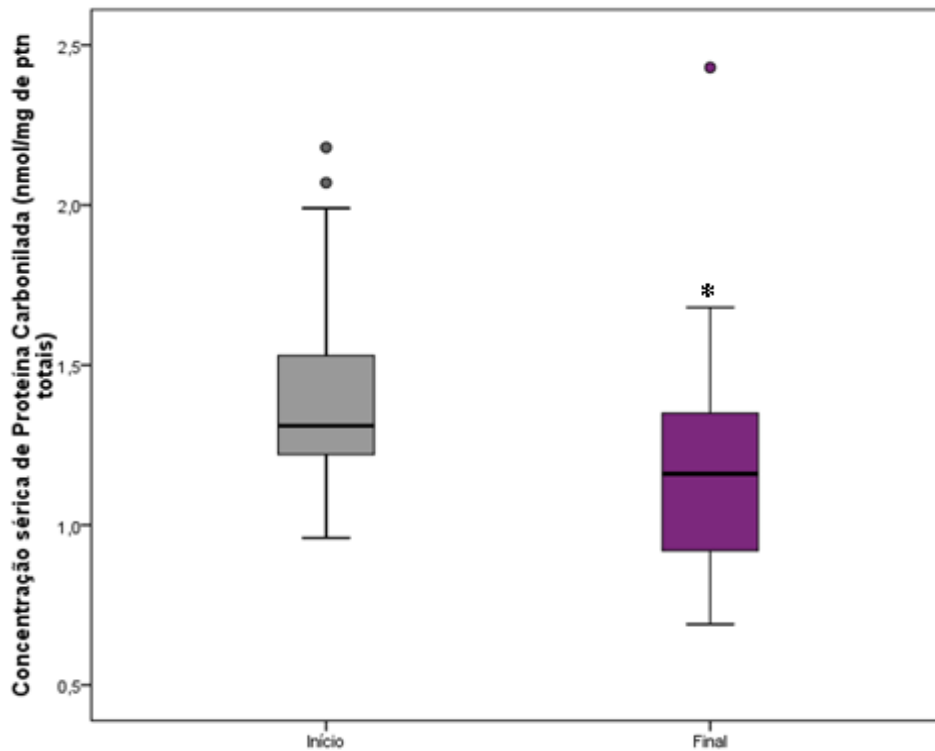


Figura 15: Efeito do consumo de 200 g/dia de polpa de açaí por quatro semanas sobre a concentração sérica de proteína carbonilada.

Valores expressos como mediana e valor mínimo-valor máximo. *p<0,005

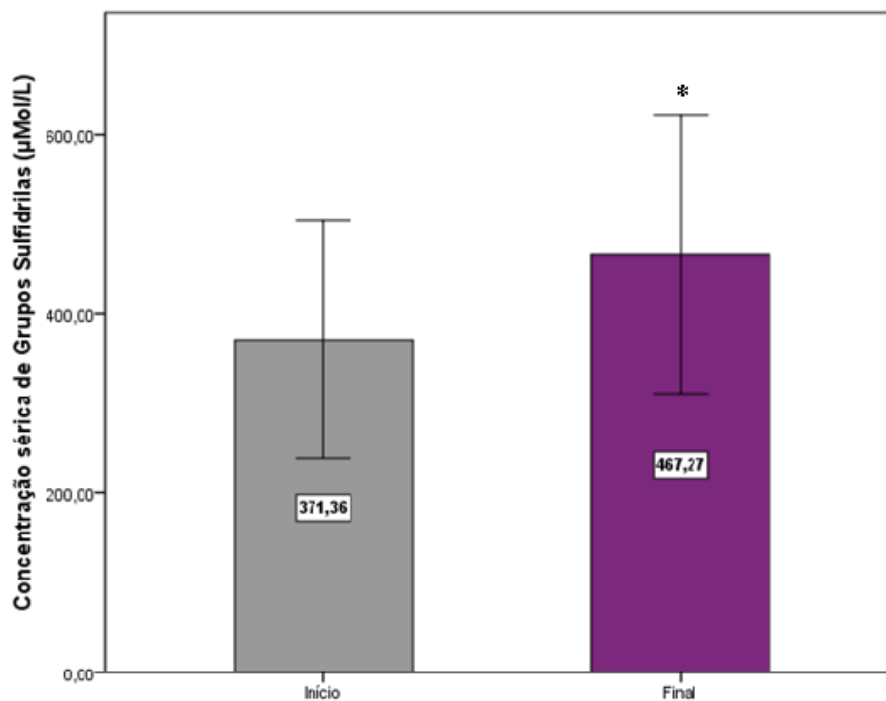


Figura 16: Gráfico 4: Efeito do consumo de 200 g/dia de polpa de açaí por quatro semanas sobre a concentração sérica de grupos SH.

Valores expressos como média e desvio padrão. *p<0,005.

6. DISCUSSÃO

Modificações oxidativas causadas por radicais livres a macromoléculas estão relacionadas com mecanismos de sinalização. Porém, em altas concentrações esses radicais podem promover alterações irreversíveis em proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA, que estão relacionadas à patogênese de várias doenças. Compostos presentes na dieta, como os polifenóis, têm sido propostos com potencial de neutralizar as ERO e impedir o dano oxidativo. O açaí é um dos alimentos que tem ganhado destaque devido ao seu possível efeito antioxidante. A alta concentração de compostos fenólicos atrai o interesse dos pesquisadores, além do mais, o açaí apresenta em sua composição altos teores de lipídeos insaturados e fibras, que também são conhecidos por apresentar efeitos benéficos à saúde. Propomo-nos neste trabalho avaliar o efeito do consumo de polpa de açaí como parte da dieta, sobre biomarcadores do estado oxidativo.

Para determinar o efeito da polpa de açaí comercial, decidimos inicialmente por caracterizar a polpa utilizada neste estudo através da composição bromatológica e da concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante através da captura do radical ABTS^{•+} e da porcentagem de inibição do radical DPPH. As análises de polifenóis totais e DPPH foram realizadas no início e ao final do estudo, para avaliar se as condições de armazenamento e conservação da polpa de açaí oferecida para as voluntárias sofreria alterações em relação ao conteúdo de polifenóis e a capacidade antioxidante durante os dez meses em que transcorreu a intervenção (março a dezembro).

A composição nutricional da polpa apresentou valores de 47% de lipídeos, 11% de proteínas, 11,6% de carboidratos, 27,2% de fibra e 3,2% de cinzas, confirmando os altos valores de lipídeos e fibras encontrados no açaí. Nossos resultados diferem do trabalho de Schauss *et al.*, (2006) que encontraram 32,5% de lipídios, 52,2% de carboidratos (dos quais 44,2% de fibras e 1,3 % de açúcares) e 8,1% de proteínas, em polpa de açaí liofilizada. É importante ressaltar que as épocas de colheita do fruto podem influenciar na composição centesimal, bem como o estágio de maturação das frutas e a adição de água no processo de extração da polpa (Neida e Elba, 2007).

O teor de fenólicos totais determinados na polpa de açaí apresentaram valores de 127mg EAG/100 g e 155mg EAG/100g no início e ao final do estudo, respectivamente. Esses valores não foram estatisticamente diferentes ($p=0,345$), o que nos permite afirmar que o teor de polifenóis presentes na polpa de açaí oferecida em março era o mesmo da polpa que foi ofertada em dezembro. Os teores encontrados no nosso estudo se

assemelham aos de Kuskosvi *et al.* (2006), que encontraram um valor de 136,8mg EAG/100 g de polpa de açaí.

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos, porém, outros compostos também podem estar presentes e contribuir para o potencial. A atividade antioxidante de um fruto não deve ser atribuída somente ao seu conteúdo de compostos fenólicos, mas também a ações de diferentes compostos antioxidantes, incluindo vitaminas e carotenoides e nos efeitos sinérgicos e antagonistas ainda não conhecidos (Almeida *et al.*, 2011).

Em relação à atividade antioxidante pelo método do radical ABTS^{•+}, a polpa utilizada no presente estudo apresentou valor de 8,62 µM de trolox/g, inferior ao encontrado na polpa de acerola (1,605 mM de trolox/g), de goiaba (0,198 mM de trolox/g), cajá (0,140 mM de trolox/g) e caju (0,212 mM de trolox/g) (Vieira *et al.*, 2011). A principal vantagem do teste ABTS consiste na sua relativa simplicidade, porém divergências nos resultados podem ser atribuídas a fatores limitantes como a diferença no tempo de incubação do radical ABTS^{•+} com a amostra ou na estratégia de obtenção do cromóforo (Borges *et al.*, 2011).

A porcentagem de inibição do radical DPPH foi avaliada ao início e ao final do período experimental. Nos dois momentos a inibição foi dose-dependente mesmo em baixas concentrações de polpa (100g/L), e os valores não apresentaram diferença significativa (p=0,068), reforçando que a atividade da polpa de açaí era a mesma no início e ao final do período experimental. No estudo realizado por Kuskoski *et al.* (2006), a polpa de açaí apresentou menor valor de % de inibição do radical DPPH que as polpas de acerola, manga, morango e uva. Na literatura os valores encontrados para a inibição do radical DPPH, tanto na fruta in natura quanto na polpa, podem variar muito em razão da baixa taxa de degradação e da reativa seletividade com a maioria dos compostos, sendo que apenas reagentes redutores fortes são descritos com capacidade de reagir com este radical (Borges *et al.*, 2011).

O efeito do consumo de açaí sobre a composição corporal das voluntárias foi avaliado através de indicadores antropométricos. Os valores de peso, CA, % de gordura corporal e % de massa livre de gordura, não sofreram alteração após a introdução de açaí na dieta habitual por quatro semanas. Em relação às variáveis clínicas, a pressão arterial sistólica e diastólica também não sofreram modificações após as quatro semanas de consumo de açaí, se mantendo dentro da normalidade tanto no início quanto no fim da intervenção.

As análises bioquímicas realizadas antes e após o período de intervenção, mostraram uma redução nos níveis de proteínas totais, influenciado pela diminuição da globulina. Foi observado também aumento na concentração de albumina com consequente aumento na relação A/G. Globulinas aumentadas têm sido associadas com o câncer, doenças reumatóides, diabetes *mellitus*, entre outras patologias, enquanto baixos níveis de relação A/G tem sido utilizado principalmente como um indicador clínico para o múltiplos cânceres e outras doenças imunoproliferativas (Suh *et al.*, 2014). O aumento nos níveis de globulinas em conjunto com a redução da relação A/G tem sido associados com um possível efeito anti-inflamatório proposto por alguns autores (Jensen *et al.*, 2011). Esse possível efeito na resposta inflamatório, pode estar envolvendo vias precoces de desenvolvimento de patologias. Vale ressaltar aqui, que as voluntárias que participaram do estudo eram mulheres saudáveis, sem alterações clínicas importantes encontradas nos processos fisiopatológicas das DCNT.

A albumina pode funcionar como antioxidante extracelular ao sequestrar moléculas pró-oxidante e metais (Rasmussen *et al.*, 2010; Suh *et al.*, 2014; Yao *et al.*, 2014). Nossos resultados sugerem um aumento na capacidade antioxidante do organismo após o consumo de açaí, representada pelo aumento na concentração de albumina.

Variáveis de perfil lipídico e glicêmico não sofreram alteração após a ingestão de açaí pelas voluntárias. Nossos resultados diferem do encontrado por Udani *et al.* (2011), que observou redução dos níveis de glicose e insulina, bem como nos níveis de colesterol total após quatro semanas de consumo de polpa de açaí por indivíduos com sobrepeso saudáveis. Este foi o único estudo na área que observou o efeito do consumo de polpa de açaí sobre parâmetros metabólicos. É válido ressaltar que as voluntárias do nosso estudo foram orientadas a adicionar a polpa de açaí na alimentação sem modificar a dieta habitual. Os voluntários selecionados para o estudo de Udani *et al.* (2011) receberam uma lista de alimentos que continham nitrato e deveriam ser evitados durante o estudo, tais como bacon e cachorros-quentes.

Em relação aos biomarcadores do estado oxidativo, os resultados apresentados neste estudo mostram uma redução das concentrações de MDA, de proteína carbonilada e aumento dos grupos SH. O MDA é um produto da peroxidação lipídica, que pode reagir com proteínas provocando modificações irreversíveis e com moléculas de DNA tornando-o altamente mutagênico (Del Rio, Stewart e Pellegrini, 2005). No presente estudo foram observadas reduções nos níveis séricos de MDA após o consumo de polpa pelas voluntárias, sugerindo que o açaí previne a oxidação lipídica. Jensen *et al.* (2008)

observaram redução nos níveis séricos de TBARS após 2 horas de consumo de 120mL de suco de açaí, reafirmando o efeito antioxidante do açaí sobre a peroxidação lipídica.

Além de MDA, a proteína carbonilada também é utilizada como um biomarcador de dano oxidativo, uma vez que o excesso de radicais livres também tem como alvo proteínas que são encontradas abundantemente no corpo (Dalle-Donne *et al.*, 2006). Assim, a redução da concentração sérica de proteína carbonilada observada no presente estudo reforça o efeito antioxidante do açaí ao impedir o dano oxidativo por ERO.

Os grupos SH representam todos os grupos tióis encontrados em proteínas e podem sofrer oxidação por radicais livres. Foram observados maiores valores de grupos SH após o consumo de polpa de açaí. O aumento da albumina pode estar relacionado com o aumento nos níveis de grupos tióis, uma vez que ela é a principal fonte desses grupos presentes no organismo (Marinho *et al.*, 2014). A relação entre os grupos SH totais e proteína carbonilada reforça o efeito antioxidante do açaí na prevenção de danos oxidativos.

Diversos estudos utilizando alimentos fontes de polifenóis evidenciam o potencial destes compostos em melhorar o estado oxidativo ao neutralizar os radicais livres, impedindo o ataque a macromoléculas importantes do organismo. Um estudo com mulheres saudáveis avaliou o consumo de suco de chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.), uma fruta rica em polifenóis, sobre a peroxidação lipídica e a atividade de enzimas antioxidantes (SOD e GPx). Após três meses de consumo do suco, houve uma redução nos níveis de TBARS e um aumento na atividade da SOD e GPx, indicando efeitos benéficos do chokeberry na proteção contra danos oxidativos e na capacidade de estimular a atividade de enzimas antioxidantes (Kardum *et al.*, 2014).

A OMS tem recomendado o consumo frequente de frutas e verduras como parte de um estilo de vida saudável. Estes alimentos contêm quantidades significativas de vários fitoquímicos, que têm sido postuladas para proporcionar efeitos benéficos à saúde (Kaulmann *et al.*, 2014). Vários estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo a longo prazo de frutas e verduras está significativamente correlacionada com uma diminuição do risco de desenvolver doenças crônicas relacionadas a inflamação e estresse oxidativo, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus* e câncer (Kaulmann *et al.*, 2014).

O objetivo do estudo foi investigar o efeito do consumo de polpa de açaí por mulheres saudáveis, como parte integrante da dieta. As voluntárias que participaram deste estudo foram orientadas a manter os hábitos de vida e apenas adicionar o açaí na dieta

habitual. Não era intenção do estudo interferir com outros aspectos do estilo de vida das participantes. Por isso, uma limitação do estudo é que não foi possível controlar estes fatores que podem potencialmente afetar o estado oxidativo, como a ingestão alimentar, atividade física e exposição a poluentes. No entanto, é particularmente válido e informativo a realização de um estudo que interferia o mínimo possível no contexto habitual das voluntárias, uma vez que o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do fruto na forma que é comumente utilizado pela população, e não como um remédio.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados deste estudo sugerem um importante efeito antioxidante *in vivo* em humanos, já que o consumo de 200g de polpa de açaí/dia durante quatro semanas foi capaz de promover uma redução de marcadores da oxidação de lipídeos e proteínas e aumentar os níveis séricos de grupos SH.

Além disso, os dados aqui apresentados indicam que a polpa de açaí de origem comercial utilizada no estudo apresenta alta capacidade antioxidante *in vitro*, demonstrada através dos ensaios utilizando o radical ABTS e DPPH.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este foi o primeiro trabalho a avaliar o efeito do consumo de açaí em diferentes biomarcadores do estado oxidativo, em mulheres. Estes resultados abrem caminho para uma melhor compreensão e uma aplicação dietética mais adequada deste importante fruto. Futuros estudos são necessários para elucidar os mecanismos pelos quais o açaí parece atuar e possivelmente determinar as recomendações de consumo deste alimento.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUDO, A. et al. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: findings from the Spanish cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain). **Am J Clin Nutr**, v. 85, n. 6, p. 1634-42, Jun 2007. ISSN 0002-9165.

ALISSA, E. M.; FERNS, G. A. Functional foods and nutraceuticals in the primary prevention of cardiovascular diseases. **J Nutr Metab**, v. 2012, p. 1-16, 2012. ISSN 2090-0732.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

ALWAN, A. et al. Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. **The Lancet**, v. 376, n. 9755, p. 1-8, 2010.

BALSANO, C.; ALISI, A. Antioxidant effects of natural bioactive compounds. **Curr Pharm Des**, v. 15, n. 26, p. 3063-73, 2009. ISSN 1873-4286.

BARBOSA, K. B. F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Rev Nutr**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. **J Biol Chem**, v. 272, n. 33, p. 20313-6, Aug 1997. ISSN 0021-9258.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022 – Brasília, 2011.

BONOMO, L. E. F. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e89933, 2014. ISSN 1932-6203.

BORGES, L. L. et al. An approach to analytical methods for determination of antioxidant activity in natural products. **Enc Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1-29, 2011.

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

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. **Annu Rev Biochem**, v. 52, p. 223-61, 1983. ISSN 0066-4154.

BUDOVSKY, A.; YARMOLINSKY, L.; BEN-SHABAT, S. Effect of medicinal plants on wound healing. **Wound Repair Regen**, Feb 2015. ISSN 1524-475X.

CHECKLEY, W. et al. Management of NCD in Low- and Middle-Income Countries. **Glob Heart**, v. 9, n. 4, p. 431-443, Dec 2014. ISSN 2211-8179.

CHELIKANI, P.; FITA, I.; LOEWEN, P. C. Diversity of structures and properties among catalases. **Cell Mol Life Sci**, v. 61, n. 2, p. 192-208, Jan 2004. ISSN 1420-682X.

CHIN, Y. W. et al. Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (Açaí) with antioxidant and cytoprotective activities. **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 17, p. 7759-64, Sep 2008. ISSN 1520-5118.

CORREIA, M. J. et al. Influence of transient shade periods on the effects of drought on photosynthesis, carbohydrate accumulation and lipid peroxidation in sunflower leaves. **Environ Exp Bot**, v. 58, n. 1-3, p. 75-84, 2006.

CROWE, K. M.; FRANCIS, C. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Functional Foods. **J Acad Nutr Diet**, v. 113, n. 8, p.1096-103, 2013.

CURTIS, J. M. et al. Protein carbonylation and metabolic control systems. **Trends Endocrinol Metab**, v. 23, n. 8, p. 399-406, Aug 2012. ISSN 1879-3061.

DA SILVA SANTOS, V.; DE ALMEIDA TEIXEIRA, G. H.; BARBOSA, F. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.): a tropical fruit with high levels of essential minerals-especially manganese-and its contribution as a source of natural mineral supplementation. **J Toxicol Environ Health A**, v. 77, n. 1-3, p. 80-9, 2014. ISSN 1528-7394.

DALLE-DONE, I. et al. Protein carbonylation in human diseases. **Trends Mol Med**, v. 9, n. 4, p. 169-76, Apr 2003. ISSN 1471-4914.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. **J Cell Mol Med**, v. 10, n. 2, p. 389-406, 2006 Apr-Jun 2006. ISSN 1582-1838.

DASGUPTA, A. et al. Increased carbonylation, protein aggregation and apoptosis in the spinal cord of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. **ASN Neuro**, v. 5, n. 1, p. 99-112, 2013. ISSN 1759-0914.

DE SOUZA, M. O. et al. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 804-10, 2010 Jul-Aug 2010. ISSN 1873-1244.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **J Agric Food Chem**, v. 52, n. 6, p. 1539-45, Mar 2004. ISSN 0021-8561.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 15, n. 4, p. 316-28, Aug 2005. ISSN 0939-4753.

DUTHIE, S. J. Epigenetic modifications and human pathologies: cancer and CVD. **Proc Nutr Soc**, v. 70, n. 1, p. 47-56, Feb 2011. ISSN 1475-2719.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 407-21, 1990. ISSN 0076-6879.

FEIO, C. A. et al. Euterpe oleracea (açai) modifies sterol metabolism and attenuates experimentally-induced atherosclerosis. **J Atheroscler Thromb**, v. 19, n. 3, p. 237-45, 2012. ISSN 1880-3873.

GALE, A. M.; KAUR, R.; BAKER, W. L. Hemodynamic and electrocardiographic effects of açai berry in healthy volunteers: a randomized controlled trial. **Int J Cardiol**, v. 174, n. 2, p. 421-3, Jun 2014. ISSN 1874-1754.

GOTTLIEB, M. G. V.; MORASSUTTI, A. L.; CRUZ, I. B. M. D. Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. **Scientia Medica**, v. 21, n. 2, p. 69-80, 2011.

GUERRA, J. F. et al. Dietary açai modulates ROS production by neutrophils and gene expression of liver antioxidant enzymes in rats. **J Clin Biochem Nutr**, v. 49, n. 3, p. 188-94, Nov 2011. ISSN 1880-5086.

HARASYM, J.; OLEDZKI, R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. **Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 511-7, May 2014. ISSN 1873-1244.

HASLER, C. M. The changing face of functional foods. **J Am Coll Nutr**, v. 19, n. 5 Suppl, p. 499S-506S, Oct 2000. ISSN 0731-5724.

HASSIMOTTO, N. M.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **J Agric Food Chem**, v. 53, n. 8, p. 2928-35, Apr 2005. ISSN 0021-8561.

HO, E. et al. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 483-491, 2013.

HUNTER, D. J.; REDDY, K. S. Noncommunicable diseases. **N Engl J Med**, v. 369, n. 14, p. 1336-43, Oct 2013. ISSN 1533-4406.

JENSEN, G. S. et al. In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 18, p. 8326-33, Sep 2008. ISSN 1520-5118.

JENSEN, G. S. et al. Pain reduction and improvement in range of motion after daily consumption of an açai (Euterpe oleracea Mart.) pulp-fortified polyphenolic-rich fruit and berry juice blend. **J Med Food**, v. 14, n. 7-8, p. 702-11, 2011 Jul-Aug 2011. ISSN 1557-7600.

JONES, D. P. et al. Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. **Free Radic Biol Med**, v. 33, n. 9, p. 1290-300, Nov 2002. ISSN 0891-5849.

KARDUM, N. et al. Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on antioxidant/pro-oxidant status in healthy subjects. **J Med Food**, v. 17, n. 8, p. 869-74, Aug 2014. ISSN 1557-7600.

KAULMANN, A. et al. Carotenoids, polyphenols and micronutrient profiles of Brassica oleraceae and plum varieties and their contribution to measures of total antioxidant capacity. **Food Chem**, v. 155, p. 240-50, Jul 2014. ISSN 0308-8146.

KNORRE, D. G.; KUDRYASHOVA, N. V.; GODOVIKOVA, T. S. Chemical and functional aspects of posttranslational modification of proteins. **Acta Naturae**, v. 1, n. 3, p. 29-51, Oct 2009. ISSN 2075-8251.

KRAUSZ, A.; GUNN, H.; FRIEDMAN, A. The basic science of natural ingredients. **J Drugs Dermatol**, v. 13, n. 8, p. 937-43; quiz 944-5, Aug 2014. ISSN 1545-9616.

LEE, S. H.; BLAIR, I. A. Oxidative DNA damage and cardiovascular disease. **Trends Cardiovasc Med**, v. 11, n. 3-4, p. 148-55, 2001 Apr-May 2001. ISSN 1050-1738.

LEE, W. L.; HUANG, J. Y.; SHYUR, L. F. Phytoagents for cancer management: regulation of nucleic acid oxidation, ROS, and related mechanisms. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2013, p. 1-22, 2013. ISSN 1942-0994.

LEVINE, R. L. et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol**, v. 233, p. 346-57, 1994. ISSN 0076-6879.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Lipid peroxidation: mechanisms and evaluation in biological samples. **Rev Bras Ciênc Farm**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J Nutr**, v. 134, n. 12 Suppl, p. 3479S-3485S, Dec 2004. ISSN 0022-3166.

MARINHO, H. S. et al. Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors. **Redox Biol**, v. 2, p. 535-62, 2014. ISSN 2213-2317.

MASELLA, R. et al. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. **J Nutr Biochem**, v. 16, n. 10, p. 577-86, Oct 2005. ISSN 0955-2863.

MATALLANA-SURGET, S. et al. Shotgun redox proteomics: identification and quantitation of carbonylated proteins in the UVB-resistant marine bacterium, *Photobacterium angustum* S14. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p.1-15, 2013. ISSN 1932-6203.

MERTENS-TALCOTT, S. U. et al. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea*

Mart.) in human healthy volunteers. **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 17, p. 7796-802, Sep 2008. ISSN 1520-5118.

MUSUMECI, M. et al. Role of SH levels and markers of immune response in the stroke. **Dis Markers**, v. 35, n. 3, p. 141-7, 2013. ISSN 1875-8630.

NAM, T. G. Lipid peroxidation and its toxicological implications. **Toxicol Res**, v. 27, n. 1, p. 1-6, Mar 2011. ISSN 1976-8257.

NEGRE-SALVAYRE, A. et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. **Free Radic Res**, v. 44, n. 10, p. 1125-71, Oct 2010. ISSN 1029-2470.

NEIDA, S.; ELBA, S. Caracterización del acai o manaca (*Euterpe oleracea* Mart.): un fruto del Amazonas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 57, n. 1, p. 94-99, 2007.

NICKLETT, E. J. et al. Fruit and vegetable intake, physical activity, and mortality in older community-dwelling women. **J Am Geriatr Soc**, v. 60, n. 5, p. 862-8, May 2012. ISSN 1532-5415.

PACHECO-PALENCIA, L. A. et al. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil in vitro. **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 10, p. 3593-600, May 2008. ISSN 0021-8561.

PENG, C. et al. Biology of ageing and role of dietary antioxidants. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 831841, 2014. ISSN 2314-6141.

PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Indian J Clin Biochem**, v. 30, n. 1, p. 11-26, Jan 2015. ISSN 0970-1915.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 1-11, 2007.

PYRZYNSKA, K.; PEKAL, A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. **Analytical Methods**, v. 5, n. -, p. 4288-95, 2013.

QUIDEAU, S. et al. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 50, n. 3, p. 586-621, Jan 2011. ISSN 1521-3773.

RASMUSSEN, H. H. et al. Reversible oxidative modification: implications for cardiovascular physiology and pathophysiology. **Trends Cardiovasc Med**, v. 20, n. 3, p. 85-90, Apr 2010. ISSN 1873-2615.

RISSANEN, T. H. et al. Low intake of fruits, berries and vegetables is associated with excess mortality in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. **J Nutr**, v. 133, n. 1, p. 199-204, Jan 2003. ISSN 0022-3166.

SARSOUR, E. H. et al. Redox control of the cell cycle in health and disease. **Antioxid Redox Signal**, v. 11, n. 12, p. 2985-3011, Dec 2009. ISSN 1557-7716.

SCHAUSS, A. G. et al. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* mart. (acai). **J Agric Food Chem**, v. 54, n. 22, p. 8598-603, Nov 2006. ISSN 0021-8561.

SCHIEBER, M.; CHANDEL, N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Curr Biol**, v. 24, n. 10, p. R453-62, May 2014. ISSN 1879-0445.

SCHMIDT, M. I. et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **Revista Saúde Pública**, v. 337, n. 9781, p. 13, 2011.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem**, v. 25, n. 1, p. 192-205, Oct 1968. ISSN 0003-2697.

SHAH, D. et al. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus. **J Biomed Sci**, v. 21, p. 23, 2014. ISSN 1423-0127.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks, Academic Press London, 1985.

SIES, H.; JONES, D. Oxidative stress, 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2007.

SLATTER, D. A.; BOLTON, C. H.; BAILEY, A. J. The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 43, n. 5, p. 550-7, May 2000. ISSN 0012-186X.

SPADA, P. D. et al. Antioxidant, mutagenic, and antimutagenic activity of frozen fruits. **J Med Food**, v. 11, n. 1, p. 144-51, Mar 2008. ISSN 1096-620X.

SUH, B. et al. Low albumin-to-globulin ratio associated with cancer incidence and mortality in generally healthy adults. **Ann Oncol**, v. 25, n. 11, p. 2260-6, Nov 2014. ISSN 1569-8041.

UDANI, J. K. et al. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. **Nutr J**, v. 10, p. 45, 2011. ISSN 1475-2891.

VIEIRA, L. M. et al. Total Phenolics and antioxidant capacity "in vitro" of tropical fruit pulps. **Rev Bras Frutic**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. United Nations high-level meeting on noncommunicable disease prevention and control. New York, USA, 2011. Disponível em: http://www.who.int/nmh/events/un_ncd_summit2011/en/

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Noncommunicable diseases country profile. Geneva, Switzerland, 2014. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/128038/1/9789241507509_eng.pdf?ua=1

YAO, Y. et al. Elevated pretreatment serum globulin albumin ratio predicts poor prognosis for advanced non-small cell lung cancer patients. **J Thorac Dis**, v. 6, n. 9, p. 1261-70, Sep 2014. ISSN 2072-1439.

YE, Z. W. et al. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. **Biochim Biophys Acta**, Nov 2014. ISSN 0006-3002.

10. ANEXOS

Anexo I – Questionário de Dados

QUESTIONÁRIO DE DADOS PESSOAIS

Grupo: () 1-IMC: 18,5 a 25 kg/m² () 2-IMC: 27 a 35 kg/m² Nº: _____

Preenchido por: _____ Data: ____/____/____

I. Informações gerais

1. Nome: _____

2. Endereço: _____

3. Telefones: Casa _____ Trabalho _____

Celular: _____

5. E-mail: _____

6. Data de nascimento: _____

7. Idade: _____

II. Informações médicas

8. Você já teve ou têm algum dos seguintes?

Estado atual				
(marque uma alternativa)				
	Sim/Não	Data do diagnóstico	Controle (sim/não)	Curado
a. Ataque cardíaco				
b. Derrame				
c. Diabetes				
d. Hipoglicemia				
e. Pressão alta				
f. Câncer				

g. Anorexia			
h. Bulimia			
i. Doenças psiquiátricas			
j. Anemia falciforme			
k. Osteoporose/Baixa densidade óssea			
l. Hipotireoidismo			
m. Hipertireoidismo			
n. Doença Celíaca			
o. Cirurgia obesidade			
p. Outra doença grave			
q. Possui marca-passo			

(Especifique)

9. Você está grávida ou amamentando? () Não () Sim

10. Você faz uso de alguma medicação? () Não () Sim. Se sim, liste abaixo

Medicamento (e.x. Lanoxin)	Dosagem e frequência 1 mg / 2 x ao dia	Por quanto tempo 4 anos	Razão para o uso Taxa cardíaca acelerada

11. Você fuma? () Não () Sim. Se sim: Quantos cigarros/dia?

Há quanto tempo? _____

11.1. Já fumou? () Não () Sim. Se sim, quando parou?

12. Você pratica atividades físicas regulares?

() Não () Sim.

Quais: _____

Tipo de atividade	Frequência por semana	Duração da atividade	Histórico(0-6 M;6-12M; 1-5 A e >5 A)

III. Informações Dietéticas

13. Você faz alguma restrição ou tem alguma rejeição alimentar?

() Não () Sim. Qual a razão da restrição/rejeição?

Restrição	Rejeição	Alimento	Motivo

14. Você tem alguma intolerância alimentar? (como intolerância à lactose do leite)

() Não () Sim, se sim cite os alimentos e sintomas

Alimento	Sintomas

15. Você utiliza alguma forma de suplemento alimentar? (ex: vitaminas, minerais, proteínas etc)

() Não () Sim. Se sim, liste abaixo:

Marca do produto	Tipo de suplemento	Dosagem	Frequência de uso

16. Você gosta de açaí? () Não () Sim.

17. Você costuma comer açaí? () Não () Sim.

Como?

18. Você perdeu ou ganhou peso nos últimos 6 meses?

() Não

() Sim. () Perdeu____Kg

() Ganhou____Kg

Há quanto tempo mantém o peso atual?

19. Você está atualmente seguindo alguma dieta? () Não () Sim.

Qual tipo:

IV. Dados antropométricos, de composição corporal, bioquímicos e clínicos

TRIAGEM

Data: __/__/__

Peso (Kg)	
Altura (cm)	
IMC (Kg/m²)	
Glicose (mg/dL)	
Colesterol total (mg/dL)	
Triacilgliceróis (mg/dL)	
Restrição alimentar (TFEQ)	
Desinibição (TFEQ)	
Percepção da fome (TFEQ)	

ETAPA II

Data: __/__/__

Peso (Kg)		GC (Kg) (BIA)	
Altura (cm)		MLG (Kg) (BIA)	
IMC (Kg/m²)		GC (%) (BIA)	
Circ. braço (cm)		GER (kcal) (BIA)	
Circ. cintura (cm)		Resistência (ohms)	
Circ. abdominal (cm)		Reactância (ohms)	
Circ. quadril (cm)		Glicose (mg/dL)	
PCT (mm)		Colesterol total (mg/dL)	
PCB (mm)		Triacilgliceróis (mg/dL)	
PCSE (mm)		PAS (mmHg)	
PCSI (mm)		PAD (mmHg)	

ETAPA III

Data: ___/___/___

Peso (Kg)		GC (Kg) (BIA)	
Altura (cm)		MLG (Kg) (BIA)	
IMC (Kg/m²)		GC (%) (BIA)	
Circ. braço (cm)		GER (kcal) (BIA)	
Circ. cintura (cm)		Resistência (ohms)	
Circ. abdominal (cm)		Reactância (ohms)	
Circ. quadril (cm)		Glicose (mg/dL)	
PCT (mm)		Colesterol total (mg/dL)	
PCB (mm)		Triacilgliceróis (mg/dL)	
PCSE (mm)		PAS (mmHg)	
PCSI (mm)		PAD (mmHg)	

Data da última menstruação: ___/___/___

Data da próxima menstruação: ___/___/___

Anexo II



1- DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA



Título do Estudo: Efeito do consumo da polpa de açaí sobre parâmetros metabólicos, inflamatórios, estado oxidativo e composição corporal em mulheres jovens eutróficas e com excesso de peso

Local de Execução: Departamento de Nutrição Clínica e Social (DENCs) – Escola de Nutrição - Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP.

Pesquisadores responsáveis:

Prof^ª Ana Carolina Pinheiro Volp - DENCs - UFOP (Coordenadora)

Prof^ª Renata Nascimento de Freitas DENCs – UFOP

Contatos:

Telefones de contato: (31) 8693 4551 (24 horas) / (31) 3559 1838

(horário comercial / email: projetoacaiufop@yahoo.com.br

Comitê de Ética em Pesquisa da UFOP: (31) 3559 1368 / email:

cep@propp.ufop.br

Duração do Estudo: 2 anos

Avaliação do Risco: Risco Mínimo

Anexo III



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone: (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370
Email: propp@ufop.br



OFÍCIO CEP N°. 182/2010, de 20 de dezembro de 2010.

Ilma Sra.

**Profa. Ana Caroline Pinheiro Volp
DENCs/ENUT/UFOP**

Senhora Pesquisadora,

É com prazer que comunicamos a **Aprovação**, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto, de seu projeto intitulado "*Efeito do consumo da polpa de açaí sobre parâmetros metabólicos, inflamatórios, estado oxidativo e composição corporal em mulheres jovens eutróficas e com excesso de peso.*" (CAAE: 0062.0.238.000-10).

Atenciosamente,

**Profa. Dra. Olívia Maria de Paula Alves Bezerra
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa/UFOP**

Anexo IV

-DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

NOME: _____
IDENTIDADE Nº: _____ ÓRGÃO EXPEDIDOR: _____
IDADE: _____
ENDEREÇO: _____
BAIRRO: _____ CIDADE: _____ TELEFONE: (____) _____

5- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

- Eu entendo que minha participação é voluntária e posso recusar-me a participar ou posso interromper minha participação em qualquer hora, sem penalização.
- Minha participação neste estudo não implica em contrato de trabalho.
- Fui comunicada da inocuidade de todos os procedimentos realizados neste estudo, assim, qualquer enfermidade que surja durante o estudo, deverá ser tratada por conta própria, ou seja, o estudo que participo não assume nenhum compromisso no tratamento da mesma. Nestes casos, deverei comunicar à equipe do projeto todas as informações referentes à enfermidade e o seu tratamento e não poderei mais participar do estudo
- Eu não receberei qualquer compensação financeira para participar do estudo. Quando for observada qualquer alteração clínica e, ou bioquímica, serei encaminhado para avaliação médica a ser agendada no Centro de Saúde da UFOP
- Se existir alguma intercorrência decorrente da pesquisa, poderei me comunicar com os pesquisadores por meio do telefone: (31) 8693 4551, em qualquer horário do dia ou da noite.
- Fui esclarecido em relação a todos os procedimentos que serão realizados neste estudo. Minhas dúvidas foram respondidas. Eu entendo que perguntas adicionais relacionadas ao estudo devem ser dirigidas aos investigadores listados acima. Eu entendo que, se tenho dúvidas sobre direitos dos voluntários, posso contatar o Comitê de Ética da UFOP. Eu concordo com os termos acima e acuso o recebimento de uma cópia deste consentimento.

Ouro Preto, _____ de _____ de 20____.

Voluntário – Nome Completo: _____

Testemunha – Nome Completo: _____

Testemunha – CPF/RG: _____

Pesquisador – Nome Completo: _____