

Mayara Lopes Martins

**O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO
DO LEITE E/OU DA VITAMINA C EM BIOMARCADORES DO
ESTRESSE OXIDATIVO E INDICADORES DO ESTADO
NUTRICIONAL EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL
CRÔNICA EM HEMODIÁLISE:
ESTUDO PILOTO, RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do título de
mestre em Nutrição.
Orientador: Prof^ª. Dr^ª Elisabeth
Wazlawik.
Coorientador: Prof. Dr. Edson Luiz
da Silva.

Florianópolis
2019

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

Martins, Mayara Lopes

O efeito da suplementação de proteínas do soro do leite e/ou da vitamina c em biomarcadores do estresse oxidativo e indicadores do estado nutricional em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise : estudo piloto, randomizado e duplo cego / Mayara Lopes Martins ; orientadora, Elisabeth Wazlawik, coorientador, Edson Luiz da Silva, 2019.

169 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

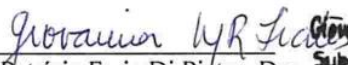
1. Nutrição. 2. Hemodiálise. 3. Estresse oxidativo. 4. Proteínas do soro do leite. 5. Vitamina C. I. Wazlawik, Elisabeth. II. Silva, Edson Luiz da. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. IV. Título.

MAYARA LOPES MARTINS

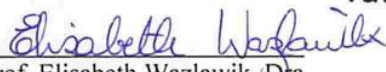
**O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNAS DO
SORO DO LEITE E/OU DA VITAMINA C EM
BIOMARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO E
INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL EM
PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA EM
HEMODIÁLISE:
ESTUDO PILOTO, RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO**

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

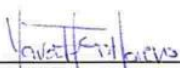
Florianópolis, julho de 2019.

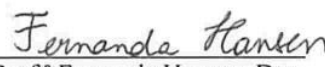

Prof.^a Patrícia Faria Di Pietro, Dra.
Coordenadora do Curso

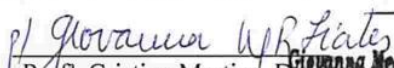
Giovanna Medeiros Rataichesk Piat
Subcoordenador do Programa de
Pós-Graduação em Nutrição
Portaria nº 1317/2018/GR


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

Banca Examinadora:


Prof.^a Yara Maria Franco Moreno, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina


Prof.^a Fernanda Hansen, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina


Prof.^a Cristina Martins, Dra.
Faculdade Inspirar
(videoconferência)

Giovanna Medeiros Rataichesk Piat
Subcoordenador do Programa de
Pós-Graduação em Nutrição
Portaria nº 1317/2018/GR

Dedico este trabalho à minha família,
especialmente à minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos participantes deste estudo, pela colaboração, motivação e principalmente, por serem autores vivos deste projeto, vocês são o propósito deste estudo.

À direção e funcionários das Unidades de Tratamento Dialítico do Hospital Universitário e do Hospital Governador Celso Ramos, por concordarem e acreditarem na realização da pesquisa.

Aos meus pais e irmãs por todo apoio e amor durante a construção desse projeto, em especial, ao meu exemplo de mulher, determinação e força: minha mãe, por acreditar e me incentivar diariamente a ir em busca dos meus sonhos.

À minha orientadora prof Elisabeth, por acreditar no projeto e em mim, especialmente pela dedicação, amizade, paciência e parceria, e por todos ensinamentos durante este período de mestrado. Obrigada, prof, sou muito grata por esse tempo juntas.

Às minhas parceiras de pesquisa Angela, Roberta, Hanna, Caroline e Taís, por todo trabalho e cuidado durante o desenvolvimento do projeto. Vocês fizeram toda a diferença, meninas, muito obrigada!

Ao prof. Edson, pelo apoio acadêmico e suporte no laboratório, além de toda atenção e partilha de conhecimento.

Ao grupo de pesquisa da Divisão de Medicina Renal e Baxter Novum da Karolinska *Institutet*, por me receber e acreditar no projeto, vocês fizeram toda a diferença em sua conclusão. Agradeço especialmente, a querida prof Carla, por todo apoio e incentivo.

Às minhas amadas amigas por todo incentivo, compreensão e apoio durante esse período.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina pelo apoio para que o estudo se concretizasse e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas” (Claude Lévi-Strauss).

RESUMO

Introdução: Pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) apresentam um aumento prejudicial do estresse oxidativo (EO). A deficiência no consumo de nutrientes e suas perdas durante a HD afetam diretamente o aumento do EO, particularmente, pela insuficiência no consumo de antioxidantes. Como intervenção nutricional, as proteínas do soro do leite (PSL) apresentam função protetora ao EO, devido ao seu aminoácido cisteína ser o precursor na síntese endógena da glutatona, tiol não proteico mais abundante e de maior ação antioxidante em humanos. Dentre suas ações, a glutatona influencia diretamente a reciclagem da molécula de vitamina C, aumentando sua ação protetora no EO. Até o momento, a suplementação de PSL e/ou vitamina C em biomarcadores do EO ainda não foi descrita em pacientes com DRC em HD. **Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação de PSL e da vitamina C em biomarcadores do EO em pacientes com DRC em HD. **Métodos:** A amostra foi formada por pacientes de duas clínicas de diálise (clínica A e B) em Florianópolis, Brasil. Os participantes eram de ambos os sexos, com idade ≥ 19 anos e realizavam HD ≥ 2 meses, 2 ou 3 vezes por semana. Os pacientes foram randomizados e estratificados pela frequência de HD em três grupos na razão de 1:1:1. A suplementação foi oferecida em sachês idênticos contendo: módulo de PSL em pó (20,00 g) com ou sem vitamina C em pó (0,25 g) ou placebo (20,00 g de farinha de arroz branca) com vitamina C em pó (0,25 g) diluídos em 50 mL de água filtrada. Todos os grupos receberam a suplementação 3 vezes por semana, após a sessão de HD por 8 semanas. Os pacientes e o pesquisador (responsável pela análise estatística) foram cegados. Os pacientes foram caracterizados no momento basal pelos indicadores nutricionais: avaliação subjetiva global de 7 pontos, índice geriátrico de risco nutricional, índice de massa corporal (IMC), *protein energy wasting* (PEW) e pela força do aperto da mão. Como desfecho, analisaram-se o EO (nos momentos: basal e final) com os biomarcadores: glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG) no sangue total, seguido da razão GSH:GSSG; Glutatona peroxidase-1 (GPx-1) no hemolisado; E malondialdeído (MDA) e vitamina C no plasma. Os resultados foram expressos como a medida de efeito *score mean difference* (SMD). **Resultados:** A clínica B não conseguiu uma estratificação adequada pela frequência da HD devido as perdas durante o seguimento do estudo (40,9%, n= 9), portanto, esta clínica foi excluída das análises finais. A Clínica A completou o estudo com 6 pacientes por grupo, um total de 18,2% (n = 4) de perdas na amostra. Dentre os indicadores nutricionais no momento basal, houve

diferença entre os grupos no diagnóstico de desnutrição do IMC e PEW ($p < 0,05$), devido aos únicos pacientes ($n=3$) diagnosticados pertencerem ao grupo PSL. Após 8 semanas de suplementação, todos os grupos aumentaram as concentrações de GSSG, porém, apenas àquele suplementado com PSL + vitamina C mostrou aumento estatístico ($p < 0,01$). Houve inclinação ao aumento da GSH em todos os grupos, mas a razão da GSH:GSSG nos grupos suplementados com vitamina C ficou menor (grupo PSL + vitamina C: - 16,4 SMD; grupo vitamina C: - 11,8 SMD), enquanto o grupo PSL apresentou uma relação GSH:GSSG maior após a suplementação (+ 3,8 SMD) (não estatisticamente significativos). Todos os grupos apresentaram inclinação ao aumento da atividade da GPx-1, mas o grupo PSL teve aumento mais expressivo (+ 16,8 SMD) quando comparado aos demais (grupo vitamina C: + 12,7 SMD e grupo PSL + vitamina C: + 12,0 SMD). A vitamina C teve aumento estatístico nos grupos suplementados com esta vitamina ($p < 0,05$). Houve inclinação para a diminuição de MDA em todos os grupos, mas àqueles suplementados com PSL tiveram valores mais expressivas (grupo PSL: - 15,3 SMD e grupo PSL + vitamina C: - 15,8 SMD) em comparação ao grupo vitamina C (- 4,4 SMD). **Conclusões:** Os resultados não demonstraram um melhor controle do EO no grupo suplementado com PSL + vitamina C, e sugerem um efeito pró-oxidante da vitamina C devido ao aumento significativo da concentração de GSSG neste grupo. Este foi o primeiro estudo a mostrar o efeito de tal suplementação em biomarcadores do EO nesta população. Mais estudos controlados, multicêntricos, maiores e de longo prazo são necessários.

Palavras-chave: Hemodiálise. Proteínas do soro do leite. Ácido ascórbico. Vitamina C. Estresse oxidativo. Glutathiona.

ABSTRACT

Introduction: Chronic kidney disease patients (CKD) on hemodialysis (HD) show a damaging increase in oxidative stress (OS). Deficiency in nutrients intake and their losses during HD filtration can impact directly OS, particularly, for antioxidants deficiency. As nutritional intervention, whey protein has antioxidant property by its amino acid cysteine, which enhances the biosynthesis of glutathione, the most abundant antioxidant thiol (non-protein) in humans. Among its actions, glutathione influences vitamin C recycling and increases its protective effect on OS. Thus far, the effect of whey protein and/or vitamin C supplementation on OS biomarkers in CKD patients on HD has not been described. **Objective:** To assess the effect of whey protein and/or vitamin C supplementation on OS biomarkers in CKD patients on HD. **Methods:** Patients from two dialysis clinics (A and B) in Florianópolis (Brazil) enrolled in this pilot, randomised, double-blind trial. Individuals were ≥ 19 years-old, on HD ≥ 2 months and a HD frequency of 2 or 3 times/week. Patients were randomised into three groups (1:1:1) and stratified by HD frequency. Groups received sachets containing protein powder module (20.00 g) with or without vitamin C powder (0.25 g) or placebo (20.00 g of white rice flour) with vitamin C powder (0.25 g), diluted in 50 mL of filter water. Participants and investigator (responsible for statistical analyses) were blinded. Patients were characterized at baseline by nutritional indicators: 7-point subjective global assessment, geriatric nutritional risk index, body mass index (BMI), protein energy wasting (PEW), and the handgrip strength. The groups were supplemented after HD session, 3 times per week for 8 weeks. The outcome was OS, assessed by reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), GSH:GSSG ratio, malondialdehyde (MDA), vitamin C and glutathione peroxidase-1 (GPx-1) activity at baseline and final moment. **Results:** Clinic B did not achieve a properly stratification by HD frequency due to losses during follow-up period (40,9%, n=9), thus this clinic was excluded for final analyses. Clinic A completed the study with 6 patients per group, a total of 18.2% (n= 4) of losses during follow-up. Among the nutritional indicators, there were differences between groups on malnutrition status by BMI and PEW at baseline ($p < 0.05$), since all patients (n = 3) diagnosed belonged to the whey protein group. Groups were inclined to increase GSH concentration, however GSH:GSSG ratio in vitamin C-treated groups were lower (whey protein + vitamin C group: - 16,4 SMD; Vitamin C group: - 11,8 SMD) than whey protein group (+ 3,8 SMD) (non-statistically significant). All groups were inclined to increase GPx-1 activity, yet whey protein group

increased + 16.8 SMD, while groups supplemented with vitamin C showed about + 12.0 SMD. Plasmatic vitamin C had statistical increased in vitamin C-treated groups ($p < 0.05$). All groups decreased non-statistically MDA levels, but groups supplemented with whey protein had a better decrease than vitamin C group (whey protein group: -15.3 SMD; whey protein + vitamin C group: - 15.8 SMD; vitamin C group: - 4.4 SMD). **Conclusions:** These results did not demonstrate a better OS control in whey protein + vitamin C group, as well, suggest a pro-oxidant effect of vitamin C due to the statistically significant GSSG increase. This was the first study to show the effect of such supplementation on OS biomarkers in HD patients. Larger, long-term, multicenter controlled trials are necessary.

Keywords: Hemodialysis. Whey protein. Ascorbic acid. Vitamin C. Oxidative stress. Glutathione.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fatores que influenciam no pool de biomarcadores do estresse oxidativo no paciente renal crônico em hemodiálise.....	26
Figura 2 Síntese da glutatona dependente de ATP com os aminoácidos cisteína, glutamato e glicina.....	39
Figura 3 Esquema ilustrativo referente à síntese da glutatona a partir da oferta de cisteína presente nas proteínas do soro do leite.....	40
Figura 4 Ação antioxidante da glutatona reduzida sob a espécie reativa de oxigênio: peróxido de hidrogênio com a enzima glutatona peroxidase resultando em sua oxidação e formação de água para posteriormente, ser reduzida pela ação da enzima glutatona redutase.....	42
Figura 5 Mecanismo antioxidante de interação entre glutatona reduzida, vitamina C e vitamina E.....	43
Figura 6 Formas predominantes de vitamina C em pH 7 (próximo ao plasmático).....	44
Figura 7 Reações de oxidação do ácido ascórbico.....	44
Figura 8 (1) O ascorbato é regenerado por meio da GSH (glutatona reduzida) pela doação de H ⁺ a ácido deidroascórbico e a GSH transforma-se em GSSG (glutatona oxidada). (2) O ascorbato doa H ⁺ para o radical alfatocoferoxil que se regenera o alfa-tocoferyl e continua sua ação antioxidante direta prevenindo a peroxidação lipídica.....	45
Figura 9 Esquema do cegamento.....	55
Figura 10 Fluxograma das etapas da pesquisa.....	58
Figura 11 Avaliação do consumo alimentar habitual para controle da intervenção.....	67

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Estadiamento da doença renal crônica segundo a National Kidney Foundation.....	22
Quadro 2 Biomarcadores utilizados na avaliação do estresse oxidativo na doença renal crônica.....	24
Quadro 3 Tipos de antioxidantes utilizados na avaliação do estresse oxidativo na doença renal crônica.....	25
Quadro 4 Composição das três formas, comumente comercializadas, de proteínas do soro do leite.....	36
Quadro 5 Estudos de intervenção com suplementação de proteínas do soro do leite em pacientes com doença renal crônica em tratamento dialítico.....	38
Quadro 6 Estudos de intervenção com suplementação oral de vitamina C e análise do estresse oxidativo em pacientes adultos em hemodiálise.....	47
Quadro 7 Estudos que analisaram a vitamina C plasmática no estresse oxidativo em pacientes em HD, por meio de high performance liquid chromatography.....	49
Quadro 8 Métodos de avaliação da concentração de malondialdeído em pacientes em hemodiálise.....	50
Quadro 9 Critérios de inclusão e não inclusão do estudo.....	53
Quadro 10 Composição de aminoácidos das proteínas do soro do leite em 20 g do módulo Fresubin Protein Powder.....	56
Quadro 11 Composição nutricional das proteínas do soro leite (Fresubin® Protein Powder) e da farinha de arroz branca (RisoVita®).....	57
Quadro 12 Classificação da Sociedade Internacional de Nutrição e Metabolismo Renal referente aos valores do índice de massa corporal para doença renal crônica.....	59
Quadro 13 Equação de estimativa de altura pela aferição da altura do joelho.....	60
Quadro 14 Pontuação para diagnóstico nutricional pela avaliação subjetiva global de 7 pontos.....	61
Quadro 15 Critério para diagnóstico de protein energy wasting na doença renal crônica.....	62
Quadro 16 Variáveis, suas características e indicadores para o modelo de análise.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ASG – Avaliação subjetiva global
ASG-7p – Avaliação subjetiva global de 7 pontos
BCAA - *Branched-chain amino acids* – Aminoácidos de cadeia ramificada
DCV – Doenças cardiovasculares
DRC - Doença renal crônica
EO – Estresse oxidativo
ERNS - Espécies reativas de nitrogênio
EROS - Espécies reativas de oxigênio
FAM - Força do aperto da mão
GSH – Glutathiona reduzida
GSSG – Glutathiona oxidada
GPx-1 – Glutathiona peroxidase celular
GPx-3 – Glutathiona peroxidase extracelular
GR - Glutathiona redutase
HD – Hemodiálise
HPLC - *High performance liquid chromatography* – Cromatografia líquida de alta eficiência
IGRN - Índice geriátrico de risco nutricional
IMC – Índice de massa corporal
IRN - Índice de risco nutricional
ISRNM - *International Society of Renal Nutrition and Metabolism* – Sociedade Internacional de Nutrição e Metabolismo Renal
MDA – Malondialdeído
MIS - *Malnutrition inflammation score* - Escore de desnutrição-inflamação
PEW – *Protein energy wasting* – Desnutrição energético-proteica
PSL – Proteínas do soro do leite
R24h – Recordatório de 24 horas
TBARS - *Thiobarbituric acid reactive substances* - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TFG - Taxa de filtração glomerular
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	25
1.1	ESTRUTURA DO DOCUMENTO	30
2	OBJETIVOS.....	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	31
3.1	DOENÇA RENAL CRÔNICA E HEMODIÁLISE	31
3.2	ESTRESSE OXIDATIVO NA HEMODIÁLISE	33
3.3	ESTADO NUTRICIONAL E HEMODIÁLISE	37
3.3.1	Índice de massa corporal.....	37
3.3.2	Avaliação subjetiva global de 7 pontos.....	38
3.3.3	<i>Protein energy wasting</i>.....	39
3.3.4	Índice geriátrico de risco nutricional	40
3.3.5	Força do aperto da mão.....	41
3.4	DIETOTERAPIA NA HEMODIÁLISE E ESTRESSE OXIDATIVO	42
3.5	SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA HEMODIÁLISE	44
3.5.1	Proteínas do soro do leite.....	45
3.5.1.1	Propriedade antioxidante.....	49
3.5.1.1.1	<i>Ação antioxidante da glutathione</i>	50
3.6	SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA C NA HEMODIÁLISE.....	53
3.6.1	Avaliação da vitamina C.....	58
3.6.2	Avaliação do malondialdeído e outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.....	59
3.7	SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE COM ANTIOXIDANTE NA HEMODIÁLISE.....	61
4	HIPÓTESE	62
5	POPULAÇÃO E METODOLOGIA	62
5.1	PROTOCOLO DA PESQUISA	62

5.2	DELINEAMENTO E LOCAL DE ESTUDO	63
5.3	POPULAÇÃO DE ESTUDO	63
5.3.1	Amostragem	64
5.3.2	Randomização	64
5.3.3	Cegamento	65
5.4	INTERVENÇÃO	66
5.4.1	Proteínas do soro do leite	66
5.4.2	Vitamina C	68
5.5	ETAPAS DA PESQUISA	68
5.6	INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS 69	
5.6.1	Caracterização da população do estudo.....	69
5.6.1.1	Indicadores nutricionais	69
5.6.1.1.1	<i>Índice de massa corporal.....</i>	<i>69</i>
5.6.1.1.2	<i>Avaliação subjetiva global de 7 pontos</i>	<i>70</i>
5.6.1.1.3	<i>Índice geriátrico de risco nutricional</i>	<i>71</i>
5.6.1.1.4	<i>Protein energy wasting</i>	<i>72</i>
5.6.1.1.5	<i>Força do aperto da mão</i>	<i>73</i>
5.6.2	Coleta e preparo de materiais biológicos	74
5.6.2.1	Controle bioquímico	75
5.6.3	Avaliação do estresse oxidativo.....	75
5.6.3.1	Glutaciona reduzida e oxidada	75
5.6.3.2	Glutaciona peroxidase-1	75
5.6.3.3	Malondialdeído e outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.....	76
5.6.3.4	Vitamina C.....	76
5.6.4	Consumo alimentar para controle da intervenção.....	76
5.7	MODELO DE ANÁLISE	78
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	80

5.8.1	Processamento e análise dos dados.....	81
5.9	PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA	81
6	RESULTADOS.....	82
6.1	MANUSCRITO	82
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	124
	REFERÊNCIAS	126
	APÊNDICES.....	154
	ANEXOS	163

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A doença renal crônica (DRC) é considerada um problema de saúde pública e caracteriza-se pela perda progressiva das funções regulatórias, excretórias e endócrinas dos rins, essenciais ao organismo; estando associada às altas taxas de morbimortalidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA et al, 2011; NKF-KDOQI, 2002).

Mundialmente a DRC encontra-se em 11 a 13% da população (HILL et al, 2016). Em âmbito nacional não há estimativa precisa acerca da prevalência, pois estudos que tiveram representatividade da população apresentaram falhas na determinação da doença, e aqueles com confirmação de diagnóstico apresentavam amostras limitadas (MARINHO et al, 2017). Contudo, estudo brasileiro de coorte com 14.636 indivíduos mostrou a presença da DRC em 8,9% da população, sendo o diagnóstico estabelecido conforme os critérios da Sociedade Internacional de Nefrologia (BARRETO et al, 2016).

Nos estágios finais da doença inicia-se a terapia renal substitutiva, objetivando compensar parte do funcionamento renal e melhorar o prognóstico desta população (BELINO et al, 2017; BRASIL, 2014; VECCHIO; LOCATELLI; CARINI, 2011). Os tratamentos dialíticos representados pela hemodiálise (HD) e diálise peritoneal são os mais comuns. Em 2017, as estimativas nacionais das taxas de prevalência de pacientes em tratamento dialítico por milhão da população no Brasil foram 610 (variação: 473 na região Norte e 710 no Centro-Oeste), apresentando aumento na incidência anual de 51% de 2002 a 2007, 32,6% de 2007 a 2012 e 29,7% de 2012 a 2017 (SESSO et al, 2018). Segundo o último Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica, a HD é o tratamento mais utilizado com 93,1% dos pacientes, sendo a maioria do sexo masculino (58%) (SESSO et al, 2018).

A HD baseia-se no processo de depuração sanguínea por um equipamento denominado hemodialisador que possui uma membrana semipermeável responsável pelo contato do sangue com o dialisato (solução do hemodialisador). A partir deste contato, ocorre o controle da volemia e a eliminação de solutos de retenção urêmica, também denominados de toxinas urêmicas, que em condições fisiológicas normais são excretados pelos rins. De acordo com o grupo responsável pela definição e caracterização destes solutos de retenção urêmica, o Grupo de Trabalho Europeu em Toxinas Urêmicas, existem 152 substâncias catalogadas, dentre as quais se encontram o ácido úrico, o fosfato inorgânico e as guaninas (BARRETO et al, 2014).

Deste modo, o mecanismo de HD consiste na retirada do sangue para o meio extracorpóreo, por meio de um acesso arteriovenoso para o hemodialisador, onde ocorre a filtração. Após o processo, o sangue retorna ao paciente. O objetivo principal da HD é restaurar o equilíbrio hídrico entre os meios intra e extracelular do paciente e retirar os metabólitos sanguíneos em excesso (toxinas urêmicas), reestabelecendo o equilíbrio hidroeletrólítico (HIMMELFARB; IKIZLER, 2010; NKF-KDOQI, 2006).

Deve ser destacado que, apesar de a HD ser essencial aos pacientes com DRC e possibilitar o aumento da sobrevida (BELINO et al, 2017; VECCHIO; LOCATELLI; CARINI, 2011), esta população apresenta um grave declínio no estado nutricional, o qual associa-se ao catabolismo proteico desencadeado pela DRC e potencializado pelo próprio tratamento dialítico (HA; QIAN, 2017).

Em estudo prospectivo de 10 anos observou-se que metade dos indivíduos incidentes no tratamento de HD apresentou sinais de desnutrição principalmente como depleção muscular e uma sobrevida de 4,5 anos (DE ARAÚJO et al, 2006). Outro estudo mostrou associação entre desnutrição e a progressão da doença, indicando que entre 732 pacientes com DRC sem tratamento dialítico: 2%, 16% e 31% apresentavam desnutrição em estágios iniciais, intermediários e finais da doença, respectivamente. Além disso, no mesmo estudo foi referido que 44% dos 299 pacientes em HD estavam desnutridos (DAI et al, 2017). Assim, a manutenção do estado nutricional durante o tratamento dialítico torna-se desafiador.

Os indivíduos em estágios finais da doença e aqueles em HD são caracterizados por condições clínicas e nutricionais determinantes para o aumento de morbimortalidade e a redução da qualidade de vida (EPIFÂNIO et al, 2018a; NKF-KDOQI, 2005). Diante disso, deve-se atentar às condições relacionadas ao avanço da doença, a fim de retardar seu agravamento. Neste contexto aliado ao declínio do estado nutricional, há o aumento do estresse oxidativo (EO) (EPIFÂNIO et al, 2018a; LIAKOPOULOS, 2017; NKF-KDOQI, 2005).

Originalmente, o EO definiu-se como o desequilíbrio entre mecanismos antioxidantes e agentes oxidados no organismo. Contudo, compreendia-se que este desequilíbrio era essencial para a manutenção da vida, tratando-se de um processo natural e necessário para a sobrevivência humana, como na sinalização da defesa celular, durante o processo inflamatório e na reparação tecidual (BABIOR, 1992). No entanto, o EO está fundamentado na literatura por estudos analisando o mecanismo de sinalização de oxirredução, seja com a administração de antioxidantes

e/ou análises dos biomarcadores específicos, assim, o conceito contemporâneo do EO baseia-se na disfunção da sinalização e controle de reações de oxirredução (JONES, 2006).

Observa-se um aumento no EO em diferentes doenças crônicas (ICHIISHI et al, 2016), com destaque à DRC associada à HD (LIAKOPOULOS, 2017).

Estudos observacionais demonstraram que o aumento do EO está presente desde os estágios iniciais da DRC e que gradualmente progride com a doença (EPIFÂNIO et al, 2018; LIAKOPOULOS et al, 2017; LOCATELLI et al, 2003). Além disto, a National Kidney Foundation evidencia a relação entre o EO, desnutrição e inflamação, considerando-os como fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), relacionadas com a alta mortalidade desta população (HILL et al, 2016; DE ARAÚJO et al, 2006; NKF-KDOQI, 2005).

Um dos fatores determinantes na HD para o aumento do EO e deficiências nutricionais é o processo da passagem de componentes do sangue ao dialisato, sendo eliminadas, além de toxinas urêmicas, nutrientes hidrossolúveis como a vitamina C (LIAKOPOULOS, 2017; COVENEY et al, 2011; RAIMANN et al, 2013) e aminoácidos (BORRELLI, et al, 2011).

A vitamina C é considerada a vitamina hidrossolúvel de maior abundância e atividade antioxidante em seres humanos saudáveis e apresenta caráter essencial no organismo, pois, como não é sintetizada endogenamente, é obtida pela dieta (PALLESCHI et al, 2016; ZHANG, 2012). Observou-se que a concentração plasmática de vitamina C pode diminuir em até 50% após uma sessão de HD (FEHRMAN-EKHOLM et al, 2009; MORENA et al, 2002; BOHM et al, 1997), sendo que demais estudos quantificaram esta eliminação entre 80 a 333 mg por sessão (FOUQUE et al, 2007b; MORENA et al, 2002; BÖHM et al, 1997). A revisão da literatura acerca da suplementação de vitamina C em pacientes realizando diálise enfatizou a deficiência desta vitamina especialmente em pacientes em HD, destacando a importância da suplementação devido ao seu potencial antioxidante, bem como, a propriedade de interferir em processos inflamatórios. Entretanto, alertou-se para o cuidado com doses aumentadas desta vitamina (> 500 mg/dL), a fim de evitar o efeito colateral do acúmulo plasmático de oxalato (oxalose), um dos produtos do metabolismo da vitamina C, envolvido com o processo de litíase renal (KNIGHT et al, 2016; ZHANG, 2014).

Contudo, compreende-se que a perda da vitamina C no mecanismo atual de HD é esperada por ser um micronutriente hidrossolúvel, de baixo

peso molecular e por não apresentar ligação com moléculas maiores, deste modo, sua eliminação pelo hemodialisador é inevitável (RAIMANN et al, 2013).

Em relação às perdas de aminoácidos durante a HD, verificou-se uma variação entre 6 a 8 g por sessão (BORRELLI, et al, 2011). Esta eliminação estimula a depleção muscular devido ao aumento do catabolismo proteico ser necessário para a restauração do pool de aminoácidos plasmáticos perdido no dialisato (RAJ et al, 2008; RAJ et al, 2004). Além disso, o catabolismo muscular possibilita a síntese de proteínas de fase aguda, especialmente, àquelas responsáveis pelo estado inflamatório (DEGER et al, 2017).

Os aminoácidos são considerados substratos fisiologicamente ativos na promoção do anabolismo proteico, aumentando a síntese principalmente no tecido muscular (WOLFE, 2000). Desta maneira, a eliminação de aminoácidos durante a HD contribui para o declínio do estado nutricional (RAJ et al, 2008; RAJ et al, 2004). Destaca-se que, Vaz e colaboradores (2014) observaram inadequação no consumo proteico em 39% de 118 pacientes em HD. Corroborando, outro estudo que objetivou avaliar o consumo habitual de pacientes em HD, observou o consumo máximo de 75% do valor recomendado de proteína, com média diária de 0,9 g/kg (STARK et al, 2011).

Deste modo, pacientes em HD devem consumir quantidades de vitamina C e proteínas superiores ao recomendado para indivíduos saudáveis, a fim de minimizar a deficiência destes nutrientes agravada pelo tratamento. Em relação à vitamina C, sugere-se a suplementação de 75 a 90 mg/dia, evitando quantidades acima de 500 mg/dia devido ao risco para oxalose (FOUQUE et al, 2007b). Quanto às proteínas, a *National Kidney Foundation* recomenda o consumo proteico diário de 1,2 g/kg (NKF-KDOQI, 2000).

Em contrapartida, o tratamento dietoterápico específico para a HD apresenta severas restrições alimentares, principalmente pelo controle no consumo dos minerais potássio (K) e fósforo (P), os quais estão presentes nas principais fontes alimentares de antioxidantes, como da vitamina C (frutas, vegetais e legumes) e de proteínas (carnes, leguminosas, leite e derivados) (VAZ et al, 2014; STARK et al, 2011). Deste modo, restrições dietoterápicas podem agravar simultaneamente o EO e o estado nutricional particularmente na HD (LIAKOPOULOS, 2017; LOCATELLI et al, 2013; VECCHIO; LOCATELLI; CARINI, 2011). Neste contexto, a alimentação é considerada um fator modificável, devido ao potencial de amenizar o déficit nutricional de pacientes em HD por meio de condutas nutricionais específicas (LIAKOPOULOS, 2017).

Considerando o baixo consumo proteico e de vitamina C (VAZ et al 2014; STARK et al, 2011), aliado às perdas de aminoácidos (BORRELLI, et al, 2011) e ao declínio nas concentrações plasmáticas de vitamina C decorrentes do tratamento (BORRELLI, et al, 2011; ZHANG et al, 2011; MORENA et al, 2002; WANG et al, 1999; BOHM et al, 1997; JACKSON et al, 1995), recomenda-se a suplementação de proteína e vitamina C aos pacientes em HD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO ENTERAL E PARENTERAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011; FOUQUE et al, 2007b).

Em revisão sistemática, cujo objetivo foi verificar os potenciais efeitos da suplementação nutricional oral em pacientes realizando diálise, concluiu-se que o uso de suplementos proteicos/aminoácidos ou hipercalóricos melhoraram o estado nutricional, sem influenciar significativamente as concentrações séricas de P e K dos pacientes. Também, destacou-se que dentre 15 (n=589) estudos analisados, 10 utilizavam suplementos proteicos/aminoácidos (LIU et al, 2018).

A suplementação proteica apresenta-se como uma estratégia eficiente no tratamento dietoterápico por ter fácil administração, possuir alta adesão e atenuar a depleção muscular durante a sessão de HD (SOHRABI et al, 2016; TOMAYKO et al, 2015; KALANTAR-ZADEH et al, 2011; SUNDELL et al, 2009; PUPIM et al, 2006; VEENEMAN et al, 2003; PUPIM et al, 2002). A suplementação com proteínas do soro do leite (PSL) ou whey protein demonstrou propriedade anabólica, particularmente, por apresentar alto teor de BCAA (*branched-chain amino acids*, aminoácidos de cadeia ramificada) (BUMRUNGPET et al 2018; LANDAS et al, 2010; SILVA et al, 2010), com efeito na melhora do estado nutricional (SAHATHEVAN et al, 2018, SOHRABI et al, 2016; TOMAYKO et al, 2014) e no estado funcional pelo desempenho físico (TOMAYKO et al, 2014). Além disto, as PSL demonstram ter propriedades antioxidantes devido ao aminoácido cisteína ser precursor da síntese endógena da glutathiona (WINTER et al, 2017; CHENG et al, 2017; FALKOWSKI et al, 2018; IGNOWSKI et al, 2018; MCPHERSON; HARDY, 2011; MORENO et al, 2005; KENT; HARPER; BOMSER, 2003), o tiol não proteico mais abundante e de maior ação antioxidante em mamíferos (LU, 2013; MEISTER; ANDERSON, 1983; RICHMAN; MEISTER, 1975).

Compreende-se que quando a cisteína *per se* é suplementada, preferencialmente, ela será direcionada ao cólon, estômago, pâncreas e baço, sugerindo que a cisteína contida em peptídeos e proteínas (como nas PSL) apresentam maior efetividade no aumento de sua concentração

em funções específicas de seu metabolismo, como na biossíntese da glutatona (MCPHERSON; HARDY, 2011).

Dentre suas funções, a glutatona em sua forma reduzida (GSH), contribui diretamente para a ação antioxidante da vitamina C, pois devido à doação de um átomo de hidrogênio (H) pela GSH, ocorre a regeneração da molécula de vitamina C (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009; RIMBACH et al, 2002; MAY; QU; MORROW, 2001; PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001). Entretanto, estudos com pacientes em HD suplementados somente com vitamina C e avaliando o EO apresentaram resultados contraditórios, não havendo um consenso na efetividade do efeito dose-dependente desta vitamina (KHALIL et al, 2016; COOMBES; FASSETT, 2012; ABDOLLAHZAD et al, 2009; WASHIO et al, 2008; RAMOS; MARTÍNEZ-CASTELAO, 2008; VRIESE et al, 2008; FUMERON et al, 2005; CANDAN et al, 2002).

Até a presente data, somente um estudo administrou PSL associadas a um antioxidante, a vitamina E, em pacientes com DRC em HD e mostrou resultados positivos e significativos na melhora do estado nutricional, inflamatório e do EO (SOHRABI et al, 2016). Contudo, em âmbito de EO compreende-se que a relação entre a glutatona e vitamina E é intermediada pela vitamina C, mediante a influência direta da GSH na renovação da molécula de vitamina C, o que torna possível a doação de um átomo de H pela vitamina C para a regeneração da molécula de vitamina E e assim, possibilitar sua redução e ação antioxidante (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009; RIMBACH et al, 2002; MAY; QU; MORROW, 2001; PACKER, WEBER, RIMBACH, 2001). Até o momento, o efeito da suplementação de PSL associada ou não à vitamina C em biomarcadores do EO ainda não foi descrito.

Assim, considerando o declínio do estado nutricional e o aumento do EO, associados às restrições dietoterápicas, ao padrão insuficiente de consumo, à diminuição do apetite e às perdas de aminoácidos e vitamina C durante o processo de HD, questionou-se: qual é o efeito da suplementação de PSL e/ou da vitamina C em biomarcadores do EO de pacientes com DRC em HD?

1.1 ESTRUTURA DO DOCUMENTO

O presente trabalho estrutura-se basicamente em seis capítulos:

- (1) Introdução e justificativa;
- (2) Objetivos;
- (3) Referencial teórico;
- (4) Metodologia;
- (5) Resultados: manuscrito;

(6) Considerações finais;

Este projeto de dissertação está inserido no grupo de pesquisa de avaliação do estado nutricional, localizado no Laboratório de Nutrição Clínica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da suplementação de proteínas do soro do leite e vitamina C em biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (1) Avaliar o efeito da suplementação de proteínas do soro do leite e/ou da vitamina C em biomarcadores do estresse oxidativo relacionados à ação da glutatona (glutatona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) no sangue total, e razão GSH:GSSG; atividade da glutatona peroxidase-1 no hemolisado; malondialdeído e vitamina C no plasma);
- (2) Caracterizar os pacientes por múltiplos indicadores nutricionais (avaliação subjetiva global de 7 pontos, índice geriátrico de risco nutricional, índice de massa corporal, *protein energy wasting* e pela força do aperto da mão).

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA E HEMODIÁLISE

Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia (2011) cujas diretrizes baseiam-se em recomendações da *National Kidney Foundation*, dos Estados Unidos (NKF-KDOQI, 2002), a DRC é diagnosticada mediante: (1) indicador anatômico ou estrutural como marcador de dano renal; (2) indicador funcional baseado na taxa de filtração glomerular (TFG) e (3) indicador temporal.

Assim, um indivíduo é caracterizado como portador de DRC quando apresentar, por um período maior ou igual a 3 meses, $TFG < 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ ou $TFG > 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ com acréscimo de um indicador renal, evidenciado por anormalidades histopatológicas ou de marcadores de lesão renal, incluindo alterações sanguíneas ou urinárias, ou ainda por exames de imagem (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2011; NKF-KDOQI, 2002).

Os fatores de risco para o desenvolvimento da DRC são as doenças sistêmicas como o diabetes mellitus e hipertensão arterial sistêmica, doenças renais primárias (glomerulonefrites crônicas, pielonefrites/nefropatias tubulointersticiais crônicas causadas por infecções, etc), doenças obstrutivas crônicas (calculose, fibrose retroperitoneal, etc) e malformações congênitas e doenças autoimunes (DRAIBE; AJZEN, 2011; NKF-KDOQI, 2002).

No Brasil as morbidades mais relacionadas ao diagnóstico primário da DRC são: hipertensão arterial sistêmica (34%), seguido de diabetes mellitus (31%), glomerulonefrite crônica (10%), outros diagnósticos (10%), causa indefinida (10%) e rins policísticos (4%) (SESSO, 2018), sendo que hipertensão e diabetes mellitus corroboram o panorama global (NKF-KDOQI, 2012).

A DRC tem caráter progressivo independentemente da presença do fator causal, devido a capacidade funcional adaptativa dos rins. Deste modo, as funções renais mantêm-se estáveis e mascaram os sintomas, resultando no diagnóstico e estadiamento tardio da doença (quadro 1) (AMMIRATI, 2013).

Quadro 1. Estadiamento da doença renal crônica segundo a *National Kidney Foundation*.

Estágios da DRC	TFG (mL/min/1,73m²)	Classificação	Albuminúria
1	≥ 90	Lesão renal, com TFG normal ou aumentada	Presente
2	60 - 89	Lesão renal com diminuição leve da TFG	Presente
3A	45 - 59	Lesão renal com diminuição moderada da TFG	Presente/ausente
3B	30 - 44	Lesão renal com diminuição moderada da TFG	Presente/ausente
4	15-29	Lesão renal com diminuição grave da TFG	Presente/ausente
5	< 15	Insuficiência renal terminal ou fase dialítica	Presente/ausente

DRC: Doença renal crônica; TFG: taxa de filtração glomerular
 Fonte: adaptada de NKF-KDOQI, 2002; KDIGO, 2012.

Com a evolução da DRC ocorre a perda da seletividade nos capilares glomerulares dos rins, responsáveis pela filtração sanguínea. Este desequilíbrio desencadeia a passagem indevida de macromoléculas, principalmente de proteínas, contribuindo para o desenvolvimento de distúrbios hidroeletrolíticos, metabólicos e hormonais dos pacientes. Como consequência, há um impacto direto no estado nutricional, principalmente, naqueles em estágios mais avançados caracterizados pelo catabolismo proteico do tecido muscular (CUPPARI et al, 2011).

Nos estágios 4 e 5 da doença (estágios finais) ocorre o comprometimento vital das funções renais para manutenção do organismo, nesse momento inicia-se a terapia renal substitutiva, que pode ser o transplante renal, a diálise peritoneal e a HD, sendo a HD o tratamento mais comum (SESSO et al, 2018).

A HD convencional ocorre 3 vezes na semana, tem duração média de 4 horas e possui um protocolo individualizado para cada paciente com base em suas necessidades fisiológicas (MARTINS; SATO; RIELLA, 2013). Em revisão sistemática, Slinin et al (2015) identificaram que a HD com maior frequência e duração, quando comparada à HD convencional, não está associada a uma melhor condição clínica do paciente, e sim, ao maior risco de complicações durante procedimentos da HD. Neste contexto, a *National Kidney Foundation* sugere a diminuição da frequência de diálise por semana naqueles pacientes que ainda apresentam função renal residual, desde que, esta seja monitorada frequentemente para evitar uma inadequação da diálise (NKF-KDOQI, 2015).

Durante o tratamento, a composição do dialisato, o tempo de diálise, os tipos de membrana e a taxa de fluxo de sangue do hemodialisador podem variar. O procedimento consiste basicamente em dois mecanismos: a osmose e a difusão, que ocorrem no dialisato, com o contato do sangue por uma membrana semipermeável. A osmose é responsável pela passagem do líquido pela diferença de concentrações das soluções e a difusão refere-se ao movimento de partículas de uma solução de uma área de maior para uma área de menor concentração. Consequentemente, há a remoção do excesso de líquido, das impurezas do sangue, como metabólitos e de minerais em excesso, propiciando a restauração do equilíbrio hidroeletrolítico dos pacientes (MARTINS; SATO; RIELLA, 2013).

3.2 ESTRESSE OXIDATIVO NA HEMODIÁLISE

A molécula de oxigênio (O₂) é vital aos seres humanos, entretanto, concomitantemente possui potencial danoso via reações de oxirredução,

formadoras das espécies reativas de oxigênio (EROs). O mesmo processo ocorre com o nitrogênio e a formação de espécies reativas de nitrogênio (ERNs) (BABIOR, 1992). Como consequência da disfunção na sinalização ou controle das reações de oxirredução, denominado de EO, há o dano tecidual (SIES, 1997).

A avaliação do EO pode ser realizada pela quantificação de seus produtos oxidados decorrentes dos danos gerados no organismo. Para esta análise utilizam-se biomarcadores provenientes da oxidação de proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos (quadro 2) (LIAKOPOULOS, 2017). As próprias moléculas de EROs e ERNs não são quantificadas devido à meia-vida rápida, o que torna seus produtos da oxidação mais fáceis de serem avaliados (SPITLE et al, 2001).

Quadro 2. Biomarcadores utilizados na avaliação do estresse oxidativo na doença renal crônica.

Fonte	Produto de oxidação
Lipídios	Malondialdeído (MDA), lipoproteína de baixa densidade oxidada, alcanos exalados, produtos finais da peroxidação lipídica avançada
Derivados do ácido araquidônico	F ₂ -isoprostanos, isolevuglandinas
Carboidratos	Aldeídos reativos, carboidratos reduzidos (ascorbato, ribose, etc)
Proteínas	Oxidação de tiol, formação de carbonil, produtos finais da oxidação avançada de proteínas, 3-nitrotirosina, produtos finais da glicação avançada
Aminoácidos	Cisteína/cistina, homocisteína/homocistina, 3-clorotirosina, 3-nitrotirosina
Ácidos nucleicos	8-hidroxi-2-deoxiguanosina

Fonte: adaptada de HIMMELFARB et al, 2002

Outro modo para analisar o EO é pela concentração ou atividade de substâncias protetoras dos danos teciduais, denominados antioxidantes. As funções protetoras baseiam-se na prevenção da formação das EROs e ERNs, por meio do bloqueio da cadeia de reação ou pelo reparo tecidual (REDDY et al, 2012).

Os antioxidantes podem ser enzimáticos ou não enzimáticos (quadro 3). Os enzimáticos estão presentes principalmente no meio intracelular, e são responsáveis por catalisar as reações de neutralização dos radicais livres e os não enzimáticos são representados por compostos

de baixo peso molecular como a vitamina C e a GSH (BIRBEN et al, 2012).

Quadro 3. Tipos de antioxidantes utilizados na avaliação do estresse oxidativo na doença renal crônica.

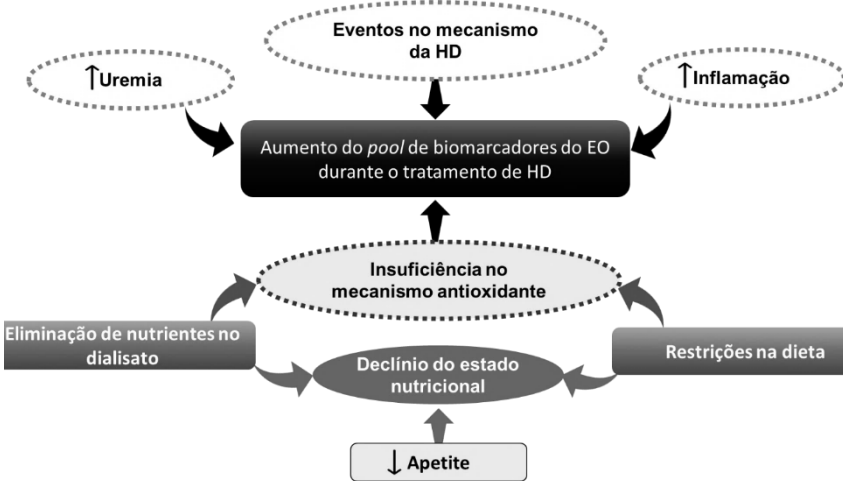
Tipo	Antioxidante
Enzimáticos	Superóxido dismutase (SOD) Catalase (CAT) Glutathione peroxidase (GPx) Tioredoxina (TRx) Peroxiredoxina (PRx) Glutathione transferase (GST)
Não enzimáticos	Vitamina A Vitamina C Vitamina E Betacaroteno Glutathione (GSH)

Fonte: adaptado de BIRBEN et al, 2012.

Os pacientes com DRC são caracterizados pelo aumento dos produtos de oxidação e declínio do sistema antioxidante instalado no início da doença e agravado com seu progresso (PUTRI; THAHA, 2014). Além disto, as EROs podem contribuir para a formação da lesão glomerular renal e na sinalização da morte celular, potencializando o processo inflamatório, a progressão do dano renal e do EO (HAUGEN; NATH, 1999).

Uma revisão sistemática demonstrou que as alterações nos biomarcadores do EO estão mais acentuadas nos pacientes em HD quando estes são comparados aqueles diagnosticados com DRC sem o tratamento dialítico (LIAKOPOULOS, 2017). Na figura 1 podem ser observados os fatores que interferem no agravo do EO, particularmente, de pacientes em HD.

Figura 1. Fatores que influenciam no *pool* de biomarcadores do estresse oxidativo no paciente renal crônico em hemodiálise.



EO: estresse oxidativo; HD: hemodiálise.

Fonte: do autor e adaptada de EPIFÂNIO et al, 2018a; LIAKOPOULOS, 2017; SPITTLE et al, 2001

O estado urêmico é característico de pacientes com DRC e está associado ao declínio da função renal. Define-se como o acúmulo de solutos de retenção urêmica que gradativamente aumentam sua concentração com a progressão da doença. Assim, quando o paciente inicia o tratamento de HD seu estado urêmico encontra-se aumentado, ocasionando efeitos negativos em diversas funções biológicas (BARRETO et al, 2014) como no aumento do EO e da inflamação (VARAN et al, 2010).

A relação entre inflamação e EO na HD está evidenciada na literatura. Uma revisão sistemática indicou que a disfunção endotelial, presente no mecanismo inflamatório e de EO, promove complicações envolvendo DCV e morte de pacientes em HD (LIAKOPOULOS, 2017). Assim, foi proposto que o EO pode atuar como precursor da inflamação, assim como, a inflamação crônica pode influenciar negativamente o EO com o aumento de produtos oxidados (LIAKOPOULOS, 2017; NKF-KDOQI, 2005).

Além disso, eventos relacionados à HD como a biocompatibilidade da membrana semipermeável, o tipo de dialisato, a duração do tratamento, o uso de medicamentos e a dosagem de heparina variam conforme características de cada paciente e podem contribuir para

o agravamento do EO (LIAKOPOULOS,2017; MARTINS; SATO; RIELLA, 2013).

Por fim, sintomas como a saciedade precoce, aversão aos alimentos, alterações no paladar e olfato são comuns entre pacientes em HD e estão associados diretamente à diminuição do apetite (BOSSOLA et al, 2011), assim como, o próprio estado inflamatório crônico presente nos pacientes (KALANTAR-ZADEH et al, 2003). Somado a este panorama desfavorável, aliam-se as restrições dietoterápicas que propiciam um consumo insuficiente de alimentos fontes de antioxidantes e contribuem para deficiências nutricionais, as quais são agravadas com a eliminação constante de nutrientes hidrossolúveis na HD.

Deste modo, pacientes em HD apresentam aumento do EO (LIAKOPOULOS,2017), declínio do estado nutricional e a piora da qualidade de vida (VAZ et al, 2014; STARK et al, 2011; RAIMUNDO et al, 2006).

3.3 ESTADO NUTRICIONAL E HEMODIÁLISE

Para pacientes em diálise, recomendam-se análises de múltiplos indicadores nutricionais, pois nenhum método isolado é suficiente para avaliá-los nutricionalmente (NKF/KDOQI, 2000).

3.3.1 Índice de massa corporal

O índice de massa corporal (IMC) é um índice antropométrico que analisa de modo geral o estado nutricional, pois não considera especificamente a distribuição da composição corporal, mas sim a relação peso e altura do paciente. Apesar disso, é um índice comumente utilizado na prática clínica devido a sua fácil e rápida aplicabilidade (NUTTALL, 2015).

Ao contrário da população geral, maiores valores de IMC em pacientes com DRC foram referidos como proteção (FOUQUE et al 2007a). Em uma metanálise em que foram analisados 4 estudos com um total de 81.423 pacientes em HD, foi demonstrado que maiores valores de IMC ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$) estavam associados às baixas taxas de todas as causas de mortalidade (WANG; ZHOU; YUAN, 2012). Além disso, estudo prospectivo de 5 anos com 121.762 pacientes evidenciou este paradoxo da obesidade, verificando que um elevado IMC ($> 45 \text{ kg/m}^2$) foi protetor para todas as causas de mortalidade, especificamente na população em HD (KALANTAR-ZADEH et al, 2010).

Corroborando o paradoxo da obesidade, estudo prospectivo e multicêntrico com 6.797 pacientes em HD, constatou em 3 anos uma forte associação entre a perda e o ganho de peso com elevadas taxas de

mortalidade e sobrevida, respectivamente. E após a estratificação por IMC, pacientes ≥ 30 kg/m² mostraram taxas atenuadas de mortalidade associadas à perda de peso, indicando que valores elevados de IMC foram benéficos nesta população em HD (CABEZAS-RODRIGUEZ et al 2013).

A Sociedade Internacional de Nutrição e Metabolismo Renal, do inglês *International Society of Renal Nutrition and Metabolism* (ISRNM) estabeleceu um ponto de corte específico do IMC para pacientes com DRC, indicando que àqueles com IMC < 23 kg/m² podem ser considerados desnutridos (FOUQUE et al, 2007a).

Diante disto, o IMC caracteriza-se como um indicador de avaliação do estado nutricional geral e pouco específico, porém, mostra-se eficaz na avaliação de pacientes com DRC em HD.

3.3.2 Avaliação subjetiva global de 7 pontos

O método de avaliação subjetiva global (ASG) é um questionário desenvolvido com objetivo de diagnosticar o estado nutricional em pacientes hospitalizados (DETSKY et al 1987), além de ser considerado o melhor instrumento para detectar precocemente a desnutrição, quando comparado a outros questionários com o mesmo propósito (DA FINK; DE MELLO; DE MELLO, 2015).

Dentre os métodos subjetivos aplicados em pacientes em HD, a ASG e o índice de desnutrição e inflamação (do inglês *malnutrition inflammation score* - MIS) eram os mais utilizados na prática clínica segundo revisão sistemática de 2004 (STEIBER et al, 2004). A avaliação subjetiva global de 7 pontos (ASG-7p) é uma adaptação da ASG validada e reprodutível à população com DRC em HD (STEIBER et al, 2007) e mostra-se mais sensível às mudanças nutricionais do que a versão original do instrumento (LIM; LIN; DANIELS, 2015).

Um estudo longitudinal de 12 meses com 104 pacientes em HD demonstrou que mudanças nos fatores antropométricos, como composição corporal e nos fatores bioquímicos estão associadas às alterações no diagnóstico da ASG-7p e do MIS. Contudo, a ASG-7p mostrou-se uma ferramenta mais eficaz em comparação ao MIS quando associada à predição no risco de hospitalização e duração de internação (SANTIN et al, 2018).

Estudo recente realizado com 170 indivíduos demonstrou que o diagnóstico de desnutrição com a ASG-7p na HD foi associado significativamente ao declínio da força muscular e ao estado de sarcopenia (GIGLIO et al, 2018), caracterizando estes indivíduos com perda progressiva e generalizada de massa e força muscular

(CEDERHOLM et al, 2017). Além disto, estudo com 133 pacientes mostrou a ASG-7p como método sensível para a detecção da desnutrição energético proteica (do inglês *protein energy wasting* - PEW) em pacientes em HD (SUM et al, 2017). Ainda, em estudo multicêntrico prospectivo com 914 pacientes foi verificado que as mudanças no diagnóstico nutricional no primeiro ano de diálise pela ASG-7p estavam associadas com todas as causas de morte, indicando ser um instrumento sensível para o diagnóstico nutricional desde o início do tratamento (KWON et al, 2016).

Assim, a ASG-7p foi considerada um instrumento efetivo na determinação de mudanças no estado nutricional, principalmente tratando-se da depleção muscular em pacientes em HD (SUM et al, 2017).

3.3.3 Protein energy wasting

O *protein energy wasting* (PEW) é um diagnóstico proposto pela ISRNM e refere-se às modificações do estado nutricional e catabólico, que estão associadas à morbimortalidade dos pacientes com DRC e que podem não apresentar relação exclusiva com a redução do consumo alimentar, tratando-se de um diagnóstico complexo (CARRERO et al, 2013; FOUQUE et al, 2007a).

O PEW possibilita um diagnóstico nutricional mais fidedigno do paciente com DRC, pois baseia-se nas características específicas da doença (FOUQUE et al, 2007a). O caráter multifatorial do PEW envolve composição corporal, dados bioquímicos, consumo alimentar e massa muscular, com ênfase na perda de apetite, redução no consumo alimentar e depleção muscular como fatores determinantes do diagnóstico (SABATINO et al, 2017; FOUQUE et al, 2007a).

Um estudo observacional em Marrocos com 126 pacientes em HD diagnosticou o PEW em 36,5% (ESSADIK et al, 2017). Na Espanha, pesquisadores observaram em 122 pacientes um aumento na prevalência do PEW ao longo do tratamento de HD com valores de: 37,0%, 40,5% e 41,1% no início, no 12º e no 24º mês de estudo, respectivamente (GRACIA-IGUACEL et al, 2013). Na Coreia, Dai e colaboradores (2017) diagnosticaram a presença de PEW em 44% de 299 pacientes em HD. Em 2018, uma metanálise identificou em 90 estudos de 34 países com pacientes em HD e diálise peritoneal (n=16.434), uma grande variação de 28 - 54% (intervalo interquartil 25 - 75) na prevalência do PEW (CARRERO et al, 2018).

3.3.4 Índice geriátrico de risco nutricional

O índice de risco nutricional (IRN), que antecedeu o índice geriátrico de risco nutricional (IGRN), é calculado com base no valor de

albumina e peso usual do paciente, e tem por objetivo predizer o aumento do risco nutricional com o declínio da sua pontuação. Originalmente, o IRN foi criado para pacientes cirúrgicos (Veterans Affairs Total Parenteral Nutrition Cooperative, 1991).

Um estudo com 56 pacientes realizando diálise peritoneal identificou que a taxa de peritonite (inflamação do peritônio) é alta nesta população, principalmente, quando associada ao diagnóstico de desnutrição. Neste contexto, foi observado que o risco nutricional calculado pelo IRN apresentou associação significativa com a presença de peritonite ($p=0,02$), e assim, concluiu-se que o IRN pode contribuir para predizer a ocorrência desta inflamação em pacientes realizando a diálise peritoneal (PRASAD et al, 2007).

Contudo, a versão modificada do IRN para a população idosa denominado de IGRN (BOUILLANNE et al, 2015) vem destacando-se em estudos com pacientes em HD (MATSUKUMA et al, 2018; FUKUMA et al, 2017; OLIVEIRA et al, 2015; EDALAT-NEJAD et al, 2015).

Foi considerado que, a substituição do peso usual pelo peso ideal no IGRN, evita o viés de memória encontrado principalmente em idosos (BOUILLANNE et al, 2005) e em pessoas com declínio cognitivo significativo, o que pode ocorrer em pacientes em HD (DREW et al, 2017).

Em estudo prospectivo de 13 anos com 6.230 pacientes em HD, o IGRN foi associado com a concentração sanguínea de P e todas as causas de mortalidade, concluindo-se que este índice deve ser utilizado quando o impacto da concentração de P na mortalidade for considerado (FUKUMA et al, 2017). Em uma coorte de 4 anos ($n=564$) o IGRN foi fator independente de todas as causas de mortalidade em pacientes em HD (MATSUKUMA et al, 2018).

O único estudo brasileiro que utilizou o IGRN na HD detectou em 136 pacientes a associação significativa do índice com a falta de apetite, deste modo, a redução do consumo alimentar estaria associada ao risco nutricional calculado pelo IGRN (OLIVEIRA et al, 2015). Além disto, foi observada associação entre o IGRN e outras ferramentas de diagnóstico e rastreamento nutricional como a ASG-7p e o MIS em pacientes realizando a diálise peritoneal (SZETO et al, 2010).

3.3.4 Índice geriátrico de risco nutricional

O índice de risco nutricional (IRN), que antecedeu o índice geriátrico de risco nutricional (IGRN), é calculado com base no valor de albumina e peso usual do paciente, e tem por objetivo predizer o aumento

do risco nutricional com o declínio da sua pontuação. Originalmente, o IRN foi criado para pacientes cirúrgicos (*Veterans Affairs Total Parenteral Nutrition Cooperative*, 1991).

Um estudo com 56 pacientes realizando diálise peritoneal identificou que a taxa de peritonite (inflamação do peritônio) é alta nesta população, principalmente, quando associada ao diagnóstico de desnutrição. Neste contexto, foi observado que o risco nutricional calculado pelo IRN apresentou associação significativa com a presença de peritonite ($p=0,02$), e assim, concluiu-se que o IRN pode contribuir para prever a ocorrência desta inflamação em pacientes realizado a diálise peritoneal (PRASAD et al, 2007).

Contudo, a versão modificada do IRN para a população idosa denominado de IGRN (BOUILLANNE et al, 2015) vem destacando-se em estudos com pacientes em HD (MATSUKUMA et al, 2018; FUKUMA et al, 2017; OLIVEIRA et al, 2015; EDALAT-NEJAD et al, 2015).

Foi considerado que, a substituição do peso usual pelo peso ideal no IGRN, evita o viés de memória encontrado principalmente em idosos (BOUILLANNE et al, 2005) e em pessoas com declínio cognitivo significativo, o que pode ocorrer em pacientes em HD (DREW et al, 2017).

Em estudo prospectivo de 13 anos com 6.230 pacientes em HD, o IGRN foi associado com a concentração sanguínea de P e todas as causas de mortalidade, concluindo-se que este índice deve ser utilizado quando o impacto da concentração de P na mortalidade for considerado (FUKUMA et al, 2017). Em uma coorte de 4 anos ($n=564$) o IGRN foi fator independente de todas as causas de mortalidade em pacientes em HD (MATSUKUMA et al, 2018).

O único estudo brasileiro que utilizou o IGRN na HD detectou em 136 pacientes a associação significativa do índice com a falta de apetite, deste modo, a redução do consumo alimentar estaria associada ao risco nutricional calculado pelo IGRN (OLIVEIRA et al, 2015). Além disto, foi observada associação entre o IGRN e outras ferramentas de diagnóstico e rastreamento nutricional como a ASG-7p e o MIS em pacientes realizando a diálise peritoneal (SZETO et al, 2010).

3.3.5 Força do aperto da mão

A força do aperto da mão (FAM) é um indicador efetivo para verificar a perda de função muscular na sarcopenia, desnutrição e fragilidade do paciente (DODDS et al, 2016; NORMAN et al, 2011).

Em estudos avaliando a FAM antes e após uma sessão de HD, verificou-se um declínio significativo da força após a sessão em ambos os sexos, indicando que a FAM é um método relevante para avaliar a força muscular desta população durante o tratamento (DELANAYE et al, 2017; PINTO et al, 2015). Em outro estudo realizado com 111 pacientes houve um declínio médio de força absoluta de - 4 kg após uma sessão de HD (DELANAYE et al, 2017).

Em uma revisão sistemática acerca da utilização da FAM avaliando o estado funcional de pacientes em tratamento dialítico, sugere-se que esta ferramenta é efetiva na avaliação contínua e complementar de força muscular, considerando o estado nutricional de pacientes em diálise (LEAL et al, 2011).

3.4 DIETOTERAPIA NA HEMODIÁLISE E ESTRESSE OXIDATIVO

Piccoli e colaboradores (2017) apontam três focos de abordagens referentes às condutas nutricionais: (1) o controle de K; (2) o controle de P e (3) a desnutrição; sendo que, a desnutrição tem merecido destaque nos últimos anos devido às elevadas taxas de mortalidade observadas em pacientes desnutridos em HD (PICCOLI et al, 2017; DE ARAÚJO et al, 2006).

Os objetivos da terapia nutricional de pacientes em HD são: recuperar e/ou manter o estado nutricional, minimizar o catabolismo proteico, manter o equilíbrio acidobásico, hidroeletrólítico, de minerais e de vitaminas e, conseqüentemente, melhorar o prognóstico do paciente (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO ENTERAL E PARENTEAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011).

A National Kidney Foundation recomenda aos pacientes em HD o consumo de energia similar ao de indivíduos saudáveis (35 kcal/kg/dia), porém com o aumento do aporte proteico para 1,2 g/kg/dia. Desta maneira, uma dieta hiperproteica tem por objetivo amenizar o catabolismo muscular presente nestes pacientes (NKF-KDOQI, 2000). Em contrapartida, o consumo hídrico deve ser controlado, assim como, a ingestão dos minerais: potássio (K), fósforo (P) e sódio (Na) (FOUQUE et al, 2007b).

Em relação ao K, deve-se prevenir o aumento da sua concentração sanguínea denominada hipercalemia, principalmente em pacientes anúricos, pois a impossibilidade da excreção deste mineral está associada às alterações cardiovasculares como a arritmia cardíaca (PALMER; CLEGG, 2017) e à elevada taxa de mortalidade na HD (FERREY et al, 2018; NOORI et al, 2010). O consumo de K está relacionado à eliminação

urinária e, conseqüentemente à sua concentração sanguínea (NKF-KDOQI, 2006). Dessa forma, recomenda-se o controle da ingestão de alimentos fontes deste mineral (hortaliças, frutas, leguminosas e oleaginosas) (NOORI et al, 2010). Por sua vez, o controle no consumo de alimentos fontes de K ocasiona uma diminuição na ingestão alimentar de antioxidantes (WHITNEY; ROLFES, 2008) e abranda os efeitos dos mecanismos protetores do EO (LIAKOPOULOS,2017).

Do mesmo modo, atenta-se para o controle alimentar do P devido à hiperfosfatemia (excesso de P sanguíneo) estar associada ao desenvolvimento do hiperparatireoidismo secundário, doenças ósseas e calcificação vascular levando a elevadas taxas de mortalidade (FUKAGAWA et al, 2014). Contudo, a limitação na ingestão diária de P (800 a 1000 mg) (FOUQUE et al, 2007b) inviabilizaria à recomendação aumentada no consumo proteico (1,2 g/kg/dia), pois alimentos ricos em P também são importantes fontes proteicas na dieta (carnes de frango, porco, boi, pescada branca, ovo, leite e derivados lácteos, soja e feijão) (DE CARVALHO; CUPPARI, 2011).

A fim de viabilizar o aporte proteico na dieta e não prejudicar a concentração sanguínea de P recomenda-se o uso de quelantes de P que se ligam ao mineral impedindo a sua absorção intestinal (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO ENTERAL E PARENTEAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011). Entretanto, o uso dos quelantes deve ser controlado, pois em sua maioria, são à base de cálcio (Ca), outro mineral controlado na dieta devido aos depósitos de fosfato de Ca nas artérias estarem associados à mortalidade nesta população (CARVALHO; CUPPARI, 2011; TENTORI et al, 2008).

Assim, compreende-se que pacientes em HD apresentam importantes restrições alimentares que aliadas à diminuição do apetite, dificultam um padrão alimentar equilibrado e propiciam um consumo insuficiente de frutas, hortaliças, vegetais e de alimentos proteicos como leite e produtos lácteos, ovos, leguminosas e carnes. Contudo, o consumo de antioxidantes e proteínas são necessários para um adequado estado nutricional (VAZ et al, 2014; STARK et al, 2011) e uma melhor qualidade de vida na HD (RAIMUNDO et al, 2006). Além disso, os mecanismos antioxidantes não-enzimáticos obtidos pela alimentação (quadro 3) têm potencial de amenizar o efeito tóxico deletério do EO e assim, atenuar o avanço da DRC como o de outras doenças (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008; WILLCOX; ASH; CATIGNANI, 2004).

Desta maneira, objetivando suprir a insuficiência alimentar durante a HD, é recomendada a suplementação nutricional (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO ENTERAL E PARENTEAL;

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011; FOUQUE et al, 2007b). Um estudo longitudinal com 2.700 pacientes em HD mostrou que a suplementação nutricional e o uso de suplementos proteicos estão associados à diminuição de todas as causas de mortalidade. Além disso, concluiu-se que a implementação de suplementos proteicos por via oral propiciou potencial benefício, principalmente para pacientes em estado catabólico severo (WEINER et al, 2014).

Considerando o estado de depleção muscular associado à HD e a insuficiência no consumo de proteínas, a suplementação proteica é recomendada e apresenta efeito na melhora do estado nutricional (SOHRABI et al, 2016; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO ENTERAL E PARENTEAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011; SUNDELL et al, 2009; FOUQUE et al, 2007b) e funcional do paciente em HD (TOMAYKO et al, 2015), além de influenciar na diminuição do EO (SOHRABI et al, 2016; SIEFKER; DISILVESTRO, 2006).

Do mesmo modo, em relação ao EO, recomenda-se suplementação de vitamina C em pacientes em HD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011; FOUQUE et al, 2007b) devido à diminuição da concentração plasmática de vitamina C, em consequência das perdas no dialisato durante o tratamento e pelo baixo consumo de alimentos fontes de vitamina C (ZHANG et al, 2011).

3.5 SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA HEMODIÁLISE

O tipo de suplemento proteico pode ser determinante na eficácia do produto em diferentes propósitos de pesquisas (TOMAYKO et al, 2015). As proteínas diferenciam-se mediante a qualidade dos aminoácidos constituintes, digestibilidade e biodisponibilidade (FAO/WHO *Expert Consultation* 1991).

Segundo revisão sistemática, a suplementação de proteínas/aminoácidos está presente na maioria dos ensaios clínicos randomizados com suplementação nutricional oral em pacientes em diálise (66,6%, n=10). Dentre os estudos avaliados, 3 (20%) utilizaram proteínas do soro do leite (PSL), 3 (20%) proteína de soja, 2 (13,3%) aminoácidos, 1 (6,6%) albumina e 1 (6,6%) colágeno (LIU et al, 2018).

Estudos com suplementos proteicos em pacientes com DRC em HD são escassos e diferem quanto ao tipo de aminoácidos e desfecho estudado. Em questão ao prognóstico nutricional, estudo com 26 pacientes em HD mostrou que a suplementação de um módulo hipercalórico e hiperproteico diminuiu o risco de hospitalização

relacionado ao índice de prognóstico nutricional (STEIBER et al, 2003). Já em estudo utilizando colágeno hidrolisado, não foram encontrados resultados consistentes quanto ao seu benefício, mas observou-se uma tendência em melhorar o estado nutricional de pacientes em HD (MORETTI; JOHNSON; KEELING-HATHAWAY, 2009).

Quanto ao anabolismo muscular e função física, pesquisadores observaram que tanto a proteína de soja quanto as PSL mostraram benefícios durante a HD (TOMAYKO et al, 2015). Entretanto, entende-se que a maioria das proteínas de origem vegetal possui baixo teor de leucina, deste modo, seus efeitos anabólicos podem ser limitados quando comparados a um suplemento de origem animal, como as PSL (VAN VLIET; BURD; VAN LOON, 2015).

As PSL apresentam em média 21,2% de BCAA representados pela leucina, isoleucina e valina, além de 42,7% de outros aminoácidos essenciais (ETZEL, 2004). Com isto, as PSL destacam-se por apresentarem elevada concentração de proteínas de alto valor biológico (CHOLEWA et al, 2017; VAN VLIET; BURD; VAN LOON, 2015; DODD; TEE, 2012) e de ter fácil digestão e rápida liberação de aminoácidos na corrente sanguínea (DEVRIES; PHILLIPS, 2015), mostrando benefícios no estado nutricional em diferentes indivíduos e doenças (BUMRUNGPET et al 2018; SOHRABI et al 2016; LANDAS et al, 2010; SILVA et al, 2010).

Atribuiu-se às PSL ação antioxidante pela presença do aminoácido cisteína (SOHRABI et al, 2016; HASSAN; ABDEL-AZIEM; ABDEL-WAHHAB, 2012; PETYAEV et al 2012) e ação anabólica por sua constituição de aminoácidos essenciais e de cadeia ramificada, em especial a leucina (GAUDEL et al, 2013), que podem contribuir para a melhora do estado nutricional (SOHRABI, et al 2016) e funcional referente ao desempenho físico do paciente em HD (TOMAYKO et al, 2015).

3.5.1 Proteínas do soro do leite

As PSL são extraídas da porção aquosa do leite durante a fabricação do queijo, sendo que 9 L de proteínas são provenientes de 10 L de leite (MANSO; LÓPEZ-FANDIÑO, 2004).

As PSL possuem benefícios funcionais em sua constituição com sua atividade antioxidante, solubilidade, viscosidade, emulsificação, formação de espuma e aeração e propriedades de adesão dentre outros fatores (BURRINGTON, 2007). Estas características são importantes para a alta adesão do produto tornando-o mais palatável para diferentes públicos, desde recém-nascidos até indivíduos com necessidades

nutricionais diferenciadas (LUHOVYY; AKHAVAN; ANDERSON, 2007), como pacientes em HD.

Diante das técnicas de processamento na separação das proteínas do leite, existem três formas comercializadas do produto que se diferenciam principalmente pelo teor proteico, são elas: *whey powder*, *whey* concentrado e *whey* isolado (quadro 4). Especialmente o *whey* isolado pode ter sua concentração de gordura e lactose reduzidas e, assim, seu percentual proteico aumentado, sendo que este produto geralmente é direcionado aos indivíduos com intolerância à lactose (GEISER, 2003).

Quadro 4. Composição das três formas, comumente comercializadas, de proteínas do soro do leite.

Componente	<i>Whey powder</i>	<i>Whey concentrado</i>	<i>Whey isolado</i>
Proteína (%)	11-14,5	25-89	> 90
Lactose (%)	63-75	10-55	0,5
Gordura do leite (%)	1-1,5	2-10	0,5

Fonte: adaptada de GEISER, 2003

Dentre os tipos de PSL, Jeloka e colaboradores (2013) observaram efeitos colaterais como náusea, inchaço e vômito em pacientes em HD utilizando a forma concentrada, o que comprometeu os resultados esperados na pesquisa. Em contrapartida, outros estudos utilizando o mesmo tipo de PSL em pacientes em HD, apresentaram poucos efeitos adversos (HASSAN, 2017; SOHRABI et al 2016). Contudo, pesquisas que utilizaram o *whey* isolado constataram unanimidade na elevada adesão e relatos mínimos de efeitos colaterais (SAHATHEVAN et al, 2018; TOMAYKO et al, 2014), possivelmente pela sua maior proporção de proteínas totais, e menor teor de lactose e gordura.

As PSL são constituídas de peptídeos, sendo que a beta-lactoglobulina representa a maior porção de peptídeos com 45 a 57%, o equivalente a 3,2 g/L. Caracteriza-se por ser um peptídeo resistente aos ácidos e enzimas proteolíticas responsáveis pela digestão estomacal, propiciando a sua absorção no intestino delgado. Assim, atribui-se às PSL características de rápida e fácil absorção (DE WIT, 1998; BOIRIE et al, 1997).

Além disto, a beta-lactoglobulina é o peptídeo que apresenta o maior teor de BCAA (SOUZA et al, 2012) com 25,1% da sua constituição (DE WIT, 1998). Os BCAA são os principais estimulantes do anabolismo proteico, pois servem de substrato para a síntese proteica e apresentam

efeito inibitório na proteólise, com destaque à ação do aminoácido leucina (HOLEČEK, 2018).

O potencial antioxidante das PSL está contemplado no segundo peptídeo em maior quantidade, denominado de alfa-lactalbumina. Este peptídeo é o responsável pela concentração do aminoácido cisteína (SOUZA et al, 2012), que participa na síntese endógena do tripeptídeo glutationa, o tiol não proteico mais abundante e de maior ação antioxidante em mamíferos (LU, 2013; MEISTER; ANDERSON, 1983; RICHMAN; MEISTER, 1975). Estudos *in vitro* evidenciam a relação de PSL com a forma reduzida da glutationa (GSH), preservando ou aumentando significativamente sua concentração (WINTER et al, 2017; CHENG et al, 2017; KENT; HARPER; BOMSER, 2003). Além disso, em experimentos com ratos e camundongos foi observado o mesmo efeito das PSL como estimulante da síntese endógena da glutationa (FALKOWSKI et al, 2018; IGNOWSKI et al, 2018).

Em ensaios clínicos, os resultados corroboram os achados *in vitro* e experimentais. Em crianças portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV), observou-se que as PSL, além de estimular a síntese de glutationa, possivelmente estariam associadas à menor ocorrência de outras infecções (MORENO et al, 2005). Com a suplementação em pacientes com câncer, também houve aumento nas concentrações de GSH e melhora do estado nutricional e imunológico durante o tratamento quimioterápico (BUMRUNGPET et al, 2018). Além disso, na fibrose cística também foi verificado o aumento de GSH e a diminuição do efeito deletério do EO em pacientes suplementados (GREY et al, 2009).

Por sua vez, em pacientes com DRC em HD não há estudos que analisaram a suplementação de PSL e biomarcadores do EO relacionados diretamente à glutationa. Contudo, compreende-se que a cisteína obtida pela suplementação de PSL estimule a síntese endógena da glutationa, aumentando a concentração de GSH em pacientes com doenças crônicas, em geral (MCPHERSON; HARDY, 2011). Até o momento, o único estudo analisando a suplementação de PSL no EO em pacientes em HD avaliou a diminuição do malondialdeído (MDA), um produto de peroxidação lipídica (SOHRABI et al, 2016), cujo efeito possivelmente estaria atribuído à ação da indireta da GSH.

Poucos estudos analisaram o efeito da suplementação de PSL em indivíduos em HD (HASSAN, 2017; AFAGHI et al, 2016; SOHRABI et al, 2016; JELOKA et al 2013). A administração destas proteínas tanto em pacientes realizando a HD quanto em diálise peritoneal pode ser observada no quadro 5.

Quadro 5. Estudos de intervenção com suplementação de proteínas do soro do leite em pacientes com doença renal crônica em tratamento dialítico.

Autor, ano	n	Tipo de PSL	Dose (g)	Duração (mês)	Indicador/resultado	
SAHATHEVA N et al, 2018 ^a	37	I	15	6 (2x/dia)	IMC, PNA, DC	↑ Estado nutricional
HASSAN, 2017 ^b	19	C	25% de 1,2g/kg	3 (diária)	Alb, PNA, LTI	↑ Estado nutricional
SOHRABI et al, 2016 ^b	92	C	15	2 (3x/semana após HD)	MDA, ASG, MIS, IL-6	↓ EO ↑ Estado nutricional ↓ Inflamação
AFAGHI et al, 2016 ^b	22	I	Individual	Diária	Kt/V	↑ Adequação da diálise
TOMAYKO et al, 2014 ^b	11	I	27	6 (3x/semana durante HD)	Testes de desempenho físico, PCR	↑ Estado funcional ↓ Inflamação
JELOKA et al, 2013 ^{a,b}	20	C	0,74g/kg (recomendação)	6 (diária)	Alb, BIA	Baixa adesão pelos efeitos adversos (resultados comprometidos)

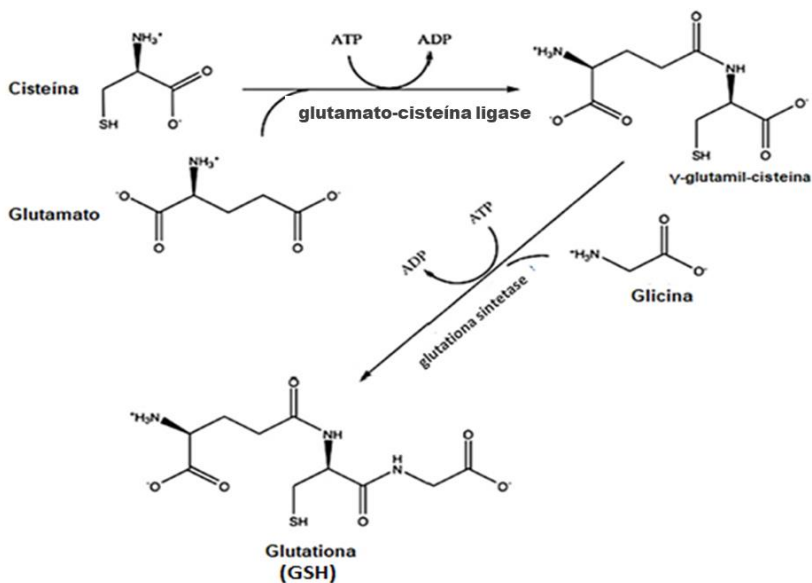
^a: pacientes em diálise peritoneal; ^b: pacientes em hemodiálise; PSL: proteínas do soro do leite; C: concentrado; I: isolado; EO: estresse oxidativo; ↑ melhora; ↓ diminuição; Alb: albumina; MDA: malondialdeído; IL-6: interleucina-6; ASG: avaliação subjetiva global; MIS: *malnutrition inflammation score*; LTI: *lean tissue mass index*; PNA: taxa de aparecimento do nitrogênio; IMC: índice de massa corporal; DC: dobras cutâneas; PCR: Proteína C-reativa; BIA: impedância bioelétrica.

Diferentes formas e dosagens de PSL, assim como, a variabilidade no tempo e o momento da administração são características dos estudos realizados no tratamento dialítico (quadro 5). Contudo, observa-se o potencial benefício destas proteínas em diferentes aspectos, particularmente no paciente em HD, incluindo a diminuição do EO (SOHRABI et al, 2016), melhora do estado nutricional (HASSAN, 2017; SOHRABI et al, 2016), funcional e diminuição da inflamação (TOMAYKO et al, 2014, SOHRABI et al, 2016).

3.5.1.1 Propriedade antioxidante

A cisteína compõe o tripeptídeo glutamyl-L-cisteinil-glicina, conhecido como glutationa. A forma reduzida da glutationa (GSH) é a responsável pela ação antioxidante, sendo sintetizada a partir de reações de adição sequencial da cisteína no glutamato, seguido da junção com a glicina (figura 2) (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009).

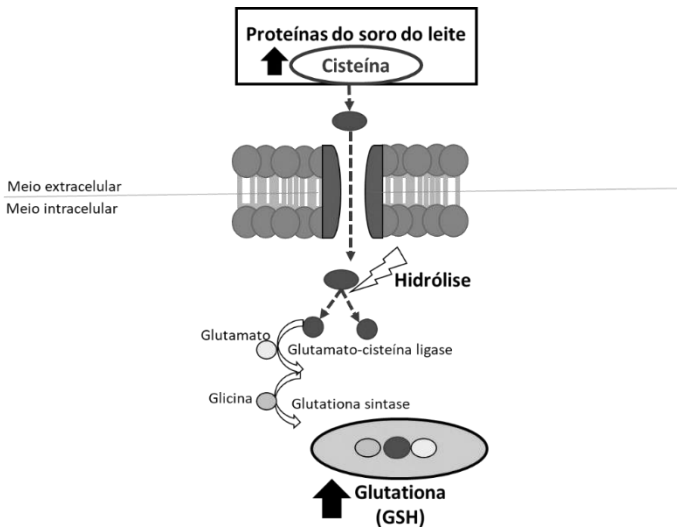
Figura 2. Síntese da glutationa dependente de ATP com os aminoácidos cisteína, glutamato e glicina.



Fonte: adaptada de FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009

As PSL constituem-se também de outros aminoácidos como a glicina e glutamato (anexo 1), porém apenas a cisteína desempenha ação limitadora essencial na síntese da GSH, pelo controle da atividade da enzima glutamato-cisteína ligase (LU, 2013; MEISTER; ANDERSON, 1983; RICHMAN; MEISTER, 1975). Além de ser portadora de grupo sulfidril (-SH), responsável pelas reações de redução e conjugação, as quais são consideradas desencadeadoras da função antioxidante da GSH (MEISTER, 1992) (figura 3).

Figura 3. Esquema ilustrativo referente à síntese da glutatona a partir da oferta de cisteína presente nas proteínas do soro do leite.



Fonte: adaptada de WINTER et al, 2017

3.5.1.1.1 Ação antioxidante da glutatona

A GSH está presente no meio intracelular em quantidades de 1 a 10 mM, sendo que na maioria das células, em circunstâncias fisiológicas normais, sua concentração está entre 1 e 2 mM (MEISTER, 1988). Este tripeptídeo apresenta relevância também no meio extracelular, principalmente tratando-se do processo respiratório (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009).

As concentrações de GSH no sangue de pacientes com DRC em HD variaram consideravelmente entre os estudos, apresentando-se elevados, diminuídos ou iguais aos da população controle (ZACHARA et al, 2006). Estudo com 73 pacientes em HD apresentou concentração de $4,17 \pm 0,7 \mu\text{mol/g Hb}$ de GSH no sangue total (OGUNRO et al, 2014), sendo o dobro deste valor, concentração de $8,72 \mu\text{mol/g Hb}$, encontrado por Khazim et al (2013) em 33 pacientes analisados. Deste modo, considera-se que padrões bioquímicos de populações em HD podem apresentar diferenças expressivas.

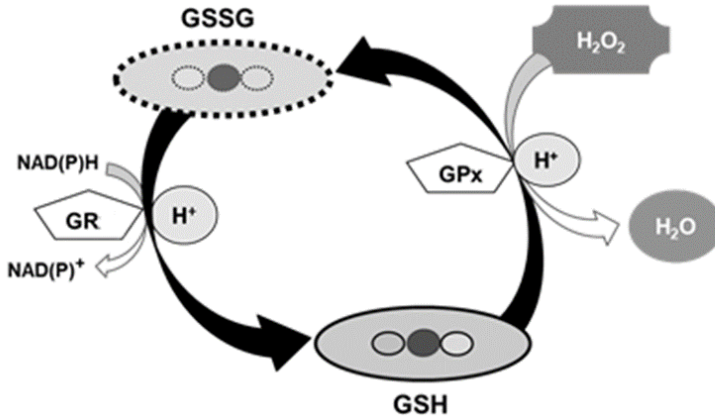
É necessária a utilização da família enzimática da glutatona peroxidase (GPx) para a ação antioxidante da GSH, e estas enzimas

caracterizam-se como dependentes de selênio (Se), necessitando da presença deste mineral para o seu funcionamento (BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999). Existem duas formas predominantes de GPx identificadas no sangue, a GPx celular ou GPx-1 encontrada nas hemácias e a GPx extracelular ou GPx-3 presente no plasma (ARTHUR; BECKETT, 1994) sendo que esta última é predominantemente sintetizada nos túbulos proximais renais (AVISSAR et al, 1994). O efeito do Se proveniente da dieta na GPx-1 tem duração de 100 a 120 dias, período que corresponde a meia vida das hemácias e sugere-se que o Se presente particularmente na GPx-1, é incorporado à enzima durante a eritropoiese (ZACHARA et al, 2006). Assim, considerou-se que alterações recentes de Se na dieta não influenciariam a atividade desta enzima.

Em revisão sistemática referente a pacientes com DRC, a atividade da GPx-3 caracterizou-se como diminuída quando comparada aos grupos controles (ZACHARA et al, 2006), sendo que à medida que a doença progredia este valor diminuía, possivelmente, porque parte desta enzima é sintetizada nos rins (AVISSAR et al, 1994). Entretanto, nas hemácias de pacientes com DRC, a GPx-1 pode apresentar-se com menor ou maior atividade, quando comparada à população geral, não havendo consenso (ZACHARA et al, 2006). Estudo com 50 pacientes em HD mostrou atividade média da GPx-1 de 3,77 U/mg Hb (EL-FAR et al, 2005), sendo valor similar de $3,54 \pm 1,56$ U/mg Hb encontrado por Draï et al (2001) em 10 pacientes.

A GPx possui função catalisadora na redução da espécie reativa H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) realizada pela GSH, resultando na formação de H₂O (água) e GSSG (glutaciona oxidada). O aumento na concentração de GSSG no meio intracelular tem potencial citotóxico, deste modo o citosol apresenta elevada concentração da enzima glutaciona redutase (GR), cuja função é a redução da GSSG em GSH por meio da oxidação do NAD(P)H em NAD(P)⁺ + H⁺ para a prevenção do acúmulo da GSSG e para a manutenção da ação antioxidante da GSH (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009; PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001) (figura 4).

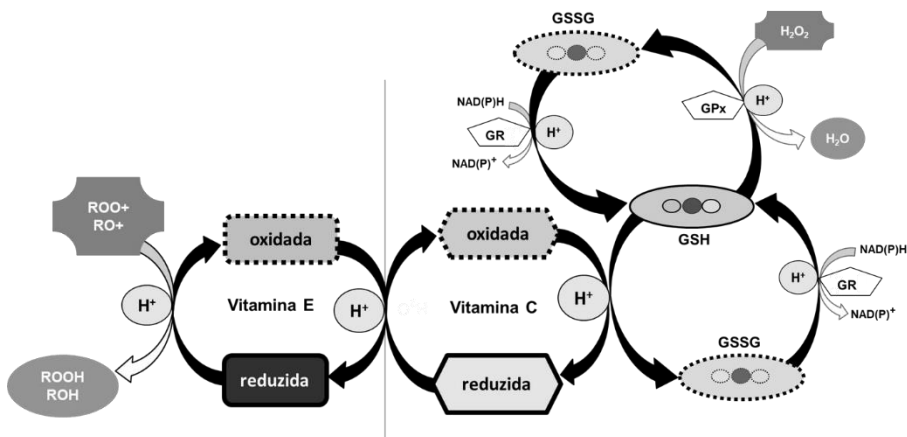
Figura 4. Ação antioxidante da glutatona reduzida sob a espécie reativa de oxigênio: peróxido de hidrogênio com a enzima glutatona peroxidase resultando em sua oxidação e formação de água para posteriormente, ser reduzida pela ação da enzima glutatona redutase.



GSSG: Glutatona oxidada; GSH: glutatona reduzida; H₂O₂: peróxido de hidrogênio; H₂O: molécula de água; GR: glutatona redutase; GPx: glutatona peroxidase.
 Fonte: do autor e adaptada de FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009; PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001

Ainda que, a GSH seja caracterizada como uma molécula de baixo peso molecular sintetizada endogenamente com maior ação antioxidante, há compostos de origem dietética, além da cisteína, que podem auxiliar no seu mecanismo de ação antioxidante como as vitaminas C e E (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009). A vitamina C age na regeneração da molécula alfa-tocoferol (vitamina E) que atua na prevenção da peroxidação lipídica; entretanto, a molécula de vitamina C precisa ser reduzida novamente após atuar na regeneração da vitamina E, e esse processo de renovação pode ser realizado pela GSH (figura 5) (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009; RIMBACH et al, 2002; MAY; QU; MORROW, 2001; PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001). Assim, a GSH possivelmente está envolvida na manutenção das concentrações de vitamina C e E (SHANG et al, 2003).

Figura 5. Mecanismo antioxidante de interação entre glutatona reduzida, vitamina C e vitamina E.



GSSG: Glutatona oxidada; GSH: glutatona reduzida; H₂O₂: peróxido de hidrogênio; H₂O: molécula de água; GR: glutatona redutase; GPx: glutatona peroxidase.

Fonte: do autor e adaptada de PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001.

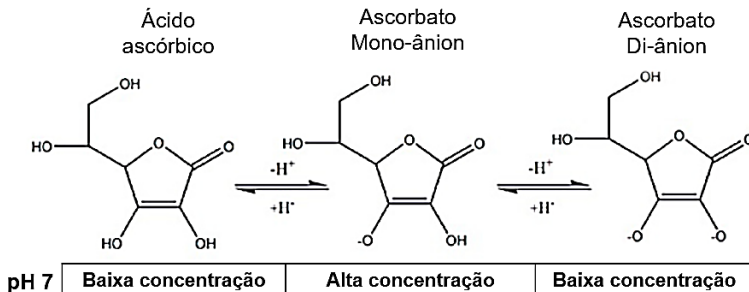
3.6 SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA C NA HEMODIÁLISE

A nomenclatura “vitamina C” é referente a um grupo de análogos do ácido ascórbico (AA) que podem ser moléculas sintéticas ou naturais. O AA é um cristal branco, sólido e hidrossolúvel, que realiza funções vitais ao organismo como a biossíntese do colágeno, por ser um cofator de enzimas essenciais no processo (MANELA-AZULAY et al, 2003). Além disto, destaca-se sua participação no controle do EO pelo envolvimento em reações de oxirredução (FIGUEROA-MÉNDEZ; RIVAS-ARANCIBIA, 2015).

A nomenclatura “ácido L-ascórbico” (L-AA) é o termo mais usual para tratar-se de vitamina C e também por ser o nome bioquímico aceito pela *International Union of Pure e Applied Chemistry–International Union of the Biochemistry and Molecular Biology* (FIGUEROA-MÉNDEZ; RIVAS-ARANCIBIA, 2015).

O L-AA é uma molécula com carga neutra que pode ser protonada ou transformam-se em ascorbato, devido a possibilidade de perdas de íons de H propiciada pelo pH do meio (FIGUEROA-MÉNDEZ; RIVAS-ARANCIBIA, 2015). As formas de L-AA em pH plasmático (pH 7) podem ser observadas na figura 6.

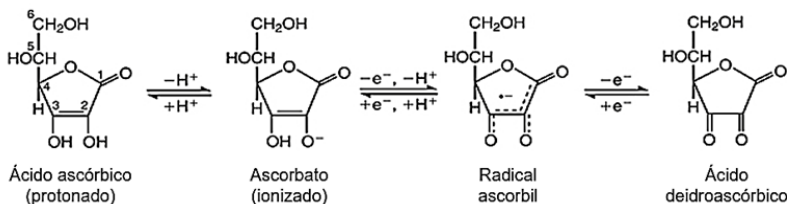
Figura 6. Formas predominantes de vitamina C em pH 7 (próximo ao plasmático).



Fonte: adaptado de FIGUEROA-MÉNDEZ; RIVAS-ARANCIBIA, 2015

O ascórbato é a principal forma de vitamina C encontrada no corpo humano, além de ser considerada aquela com maior ação antioxidante, devido a sua habilidade de agente redutor (RUMSEY; LEVINE, 1998) e por apresentar radical livre intermediário (radical ascórbil) relativamente estável com uma meia vida de 10-5 segundos (PADAYATTY et al, 2003; BUETTNER, 1993). Além disso, seu produto de oxidação, o ácido deidroascórbico, pode ser facilmente reduzido novamente a ascórbato em meio intracelular, caracterizando-o como de fácil regeneração e reutilização (LINSTER; SCHAFTINGEN, 2007). As formas reduzidas e oxidadas estão apresentadas na figura 7.

Figura 7. Reações de oxidação do ácido ascórbico.



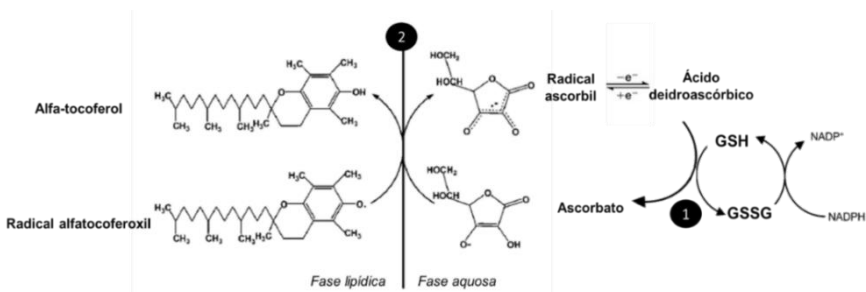
Fonte: adaptada de RUMSEY; LEVINE, 1998

A rápida reutilização do ascórbato tem por consequência minimizar sua perda no metabolismo. Os mecanismos intracelulares responsáveis por este processo são desencadeados pela GSH ou pela reabsorção ativa nos rins (MICHELS; FREI, 2012). Destaca-se o mecanismo da GSH, por ser o mais importante antioxidante de menor

peso molecular produzido endogenamente pelos humanos (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009) e ter relação direta com as concentrações de ascorbato e ácido deidroascórbico, evidenciando sua função como agente redutor na regeneração do ascorbato (MAY; QU; MORROW, 2001).

A atividade antioxidante do ascorbato baseia-se na doação de elétrons, envolvendo 4 diferentes ações: (1) age na neutralização de radicais livres oriundos do oxigênio, nitrogênio ou enxofre; (2) reage com componentes facilmente reativos, mas não caracterizados como radicais livres; (3) atua na regeneração de moléculas, como da vitamina E e (4) reage com metais de transição de ferro e cobre, evitando a formação de espécies reativas (PADAYATTY et al, 2003; DEICHER; HÖRL, 2003). Destaca-se sua ação antioxidante na regeneração do alfa-tocoferol (vitamina E) (figura 8), que age principalmente na membrana celular possibilitando a ação indireta do ascorbato na inibição de produtos da peroxidação lipídica (LOCATELLI et al, 2003; YOUNG; WOODSIDE, 2001; PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001).

Figura 8. (1) O ascorbato é regenerado por meio da GSH (glutaciona reduzida) pela doação de H⁺ a ácido deidroascórbico e a GSH transforma-se em GSSG (glutaciona oxidada). (2) O ascorbato doa H⁺ para o radical alfatocoferoxil que se regenera o alfa-tocoferol e continua sua ação antioxidante direta prevenindo a peroxidação lipídica.



GSH: glutaciona reduzida; GSSG: glutaciona oxidada.

Fonte: adaptado de CARR; ZHU; FREI, 2000

Os pacientes com DRC em tratamento dialítico apresentam deficiência no mecanismo de ação da vitamina C, possivelmente devido ao declínio da concentração plasmática desta vitamina (ZHANG et al, 2012; ZHANG et al, 2011; CANAUD et al, 1999). Este declínio é influenciado pelas restrições dietoterápicas de alimentos fontes de K que

simultaneamente também são fontes de vitamina C (VAZ et al, 2014; RAIMANN et al, 2013). Vaz e colaboradores (2014) observaram que entre 118 pacientes em HD, 39,8% (n=47) estavam com insuficiência no consumo de vitamina C quando comparados aos valores de referência da *European Best Practice Guidelines on Nutrition* (EBPG) que recomenda a suplementação de 75 a 90 mg/dia de vitamina C (FOUQUE et al, 2007b). Outro fator que diminui o mecanismo antioxidante da vitamina C (figura 8) pode ser atribuído à insuficiência no consumo de vitamina E nesta população (STARK et al, 2011; GALLI et al, 2004).

As concentrações plasmáticas de vitamina C nos pacientes em HD estão frequentemente < 10 $\mu\text{mol/L}$ (WANG et al, 1999; JACKSON et al, 1995). Destaca-se que a deficiência severa da vitamina C, denominada escorbuto, é diagnosticada com concentrações < 11 $\mu\text{mol/L}$ (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000). Estudo transversal com 284 pacientes em HD observou concentrações < 22,8 $\mu\text{mol/L}$ em 64,4% dos indivíduos (ZHANG et al, 2011), deste modo, conclui-se que a maioria da população estava no limite inferior da adequação plasmática de vitamina C (valores normais: entre 22 e 85 $\mu\text{mol/L}$) (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000). Ainda, estudo com 91 pacientes indicou que concentrações plasmáticas baixas de vitamina C foram significativamente associadas à presença de comorbidades e mortalidade na HD (DASHTI-KHAVIDAKI et al, 2011).

Para indivíduos (≥ 19 anos de idade) considerados saudáveis, a recomendação de consumo diário de vitamina C é de 75 mg (para mulheres) e 90 mg (para homens), fumantes devem receber 35 mg/dia a mais do recomendado (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006). Para os pacientes em HD, visto a inadequação desta vitamina, existe a recomendação para a sua suplementação (RAIMANN et al 2013; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011; COVENEY et al, 2011; FOUQUE et al, 2007b).

Entretanto, há controvérsias quanto à dose diária necessária de vitamina C durante o tratamento hemodialítico, não havendo consenso na recomendação para estes pacientes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA, 2011; BRENNER, B.M., RECTOR, F.C, 2008; FOUQUE et al, 2007b). Contudo, sugere-se uma suplementação de 75 a 90 mg/dia (FOUQUE et al, 2007b) a fim de precaver a oxalose (KNIGHT et al, 2016; ZHANG, 2014).

Quantidades significativamente elevadas de oxalato foram encontradas no plasma em pacientes realizando HD quando intervenções com 500 a 1000 mg de vitamina C foram administradas, em 3 ou mais

vezes por semana (SIROVER; SIDDIQUI; BENZ, 2009; TOON et al, 1990; TOMSON et al, 1989; PRU; EATON; KJELLSTRAND, 1985). Assim, alerta-se para serem evitadas doses acima de 500 mg/dia, especificamente nestes pacientes (FOUQUE et al, 2007b).

Além disto, a biodisponibilidade da vitamina C no corpo varia de forma dose-dependente. Sugere-se que intervenções de até 200 mg/dia têm 70 a 90% de absorção, porém doses acima deste valor apresentariam um declínio gradativo na absorção, sendo observado em valores acima 1250 mg/dia uma absorção de ~33% (KNIGHT et al, 2016; LEVINE et al, 1996; KALLNER; HARTMANN; HORNIG, 1977).

Os estudos de intervenção objetivando controlar o EO com a suplementação oral de vitamina C em pacientes em HD demonstraram resultados contraditórios, quanto ao efeito dose-dependente (quadro 6).

Quadro 6. Estudos de intervenção com suplementação oral de vitamina C e análise do estresse oxidativo em pacientes adultos em hemodiálise.

Autor, ano	n	Dose	Tempo (mês)	Momento da intervenção	Biomarcador/Resultado	
KHALIL et al, 2016	10	0,50 g	1	2x/dia	↑ <u>MDA</u> Vitamina C	↓ EO
ABDOLL AHZAD et al, 2009	21	0,25 g	3	3x/semana	↑ <u>MDA</u> Vitamina C	↓ EO
WASHIO et al, 2008	16	^a 1º mês: 0,20 g ^a ^b 2º mês: 0,40 g ^b ^c 3º mês: 1 g ^c	3	3x/semana (antes da sessão de HD)	↑ <u>SOD</u> Vitamina C ^{a,b,c}	⊗ EO
RAMOS; MARTÍN EZCASTE LAO, 2008	17	0,25 g	12	Diariamente	⊗ <u>MDA</u>	⊗ EO
VRIESE et al, 2008	109	^a 3 Meses: 0,12 g ^a ^b 3 meses: 0,50 g ^b ^c 3 meses: wash-out	9	3x/semana (após a sessão de HD)	↑ <u>MDA</u> ^{a,b} Vitamina C ^{a,b}	↑ ↓ EO

(Continuação) **Quadro 6.** Estudos de intervenção com suplementação oral de vitamina C e análise do estresse oxidativo em pacientes adultos em hemodiálise.

Autor, ano	n	Dose	Tempo (mês)	Momento da intervenção	Biomarcador/Resultado	
FUMERO N et al, 2005	19	0,25 g	2	3x/semana (após a sessão de HD)	↑GSSG:GSH ↑Vitamina C	↑EO ↓
CANDAN et al, 2002	15	0,25 g	2	Diariamente	↓MDA ↑Vitamina C	↓EO

Vit.: vitamina; EO: estresse oxidativo; MDA: malondialdeído; GSSG:GSH: razão entre glutathiona oxidada e reduzida; SOD: enzima superóxido dismutase; HD: hemodiálise; MDA: malondialdeído avaliado junto com outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); ⊗sem modificação; ↑aumento; ↓diminuição; a,b: diferença estatística entre os grupos a e b; a,b,c diferença estatística entre os grupos a, b e c.

A análise de diferentes biomarcadores e metodologias, aliada à influência do estado inflamatório e nutricional de cada indivíduo no EO podem ser fatores determinantes para a variação dos resultados encontrados na suplementação isolada de vitamina C (LIAKOPOULOS,2017).

3.6.1 Avaliação da vitamina C

A avaliação da concentração de vitamina C no plasma reflete valores referentes ao consumo recente (CHAZOT; KOPPLE, 2013). Numa revisão sistemática em que foram analisados 26 estudos (n= 26.631) com o propósito de investigar a relação entre o consumo dietético de vitamina C (avaliado por diferentes métodos) com a sua concentração plasmática, concluiu-se que a determinação no plasma desta vitamina é um método seguro e positivamente associado à ingestão dos indivíduos (DEHGHAN et al, 2007).

A análise plasmática é uma das medidas mais comuns para avaliar a vitamina C, mas este método não fornece um panorama fiel das reservas de vitamina C nos tecidos (VANNUCCHI; ROCHA, 2012). E, como já referido, pacientes em HD apresentam declínio nas concentrações plasmáticas de vitamina C (ZHANG et al, 2011; WANG et al, 1999; JACKSON et al, 1995) aliado ao seu baixo consumo alimentar (VAZ et al 2014; RAIMANN, J et al 2013) e a sua constante eliminação durante o tratamento (MORENA et al, 2002; BOHM et al, 1997), propondo-se que, a análise plasmática possa ser um método eficiente para o monitoramento dessa vitamina.

Dentre os métodos de avaliação laboratorial, aquele que apresenta as maiores vantagens no âmbito de especificidade, sensibilidade e reprodutibilidade é o *high performance liquid chromatography* (HPLC) (WASHKO et al, 1992; JACOB, 1990); posto que, nas últimas duas décadas vem sendo considerado o método preferencial para análise de vitamina C (KNIGHT et al, 2016), como observado na população em HD (quadro 7).

Quadro 7. Estudos que analisaram a vitamina C plasmática no estresse oxidativo em pacientes em HD, por meio de *high performance liquid chromatography*.

Autores, ano	n	Objetivo	Conclusão
PALLESCHI et al, 2016	41	Comparar a atividade antioxidante de vitaminas plasmáticas com o EO em diferentes membranas de HD	As diferentes membranas são equivalentes quanto a atividade de vitaminas e o EO
ZHANG et al, 2012	382	Verificar o efeito na concentração plasmática de vitamina C de pacientes realizando a HD e diálise peritoneal	A deficiência de vitamina C está mais presente em pacientes submetidos à HD
ZHANG et al, 2011	284	Analisar a associação da concentração de vitamina C plasmática com marcadores inflamatórios	A baixa concentração de vitamina C foi associada ao agravamento do estado inflamatório.
MORENA et al, 2002	19	Analisar as perdas de vitamina C plasmática durante o processo de HD	A hemofiltração com membranas de elevada permeabilidade foi associada significativamente com perdas de vitamina C
WANG et al, 1999	19	Verificar a concentração plasmática de vitamina C, sua depuração e cinética	Alta prevalência de deficiência da vitamina C, bem como perdas durante a HD

EO: Estresse oxidativo; HD: hemodiálise.

3.6.2 Avaliação do malondialdeído e outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

O malondialdeído (MDA) é produto secundário da peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados apresentando efeitos mutagênicos e citotóxicos, com envolvimento de seu aumento na progressão de doenças (RUSU et al, 2016; CHEN et al, 2011), como a DRC (SUNG et al, 2013). Existem dois tipos de MDA: o fMDA (do inglês *free MDA*) que se associa

aos danos recentes no organismo e o bMDA (do inglês *bound* MDA) que é indicador de lesões mais antigas, sendo excretado pelos rins (VECCHI et al, 2009; DRAPER; CSALLANY; HADLEY, 2000; DRAPER et al; 1988). Um estudo longitudinal de 9 anos com pacientes em HD identificou o bMDA como biomarcador de forte predição de sobrevivência, além de estar associado à mortalidade por DCV (RUSU et al, 2016).

O método de avaliação da concentração de MDA era frequentemente determinado por espectrofotometria como reativo ao ácido 2-tiobarbitúrico para medir sua absorvância (CHEN et al, 2011). Entretanto, este método foi criticado pela falta de especificidade na reação, pois o ácido não reage apenas com o MDA, mas também com outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico conhecidos como TBARS, trazendo uma análise imprecisa deste biomarcador (DEL RIO et al, 2005).

O avanço da ciência analítica e o maior destaque de estudos associando o EO com doenças desencadearam, gradativamente, inovações no desenvolvimento de métodos mais fidedignos e válidos do MDA; todavia, a aplicabilidade destes novos testes ainda é limitada, possivelmente porque são de alto custo, de longa duração e requerem treinamento especializado para sua análise (DEL RIO et al, 2005).

Assim, a maioria dos estudos que analisa o MDA utiliza o método insuficientemente sensível e impreciso, como em estudos com pacientes em HD, observados no quadro 8.

Quadro 8. Métodos de avaliação da concentração de malondialdeído em pacientes em hemodiálise.

Autores, ano	n	Objetivo	Análise	Conclusão
EPIFÂNI O et al, 2018b	85	Associar a variação do NO com indicadores de adiposidade, estresse metabólico, inflamatório e oxidativo	TBARS	Sem correlação significativa entre NO e MDA sérico
SOHRABI et al, 2016	92	Avaliar a eficácia de uma nova bebida de soro de leite fermentado em marcadores nutricionais, oxidativos e inflamatórios	TBARS	Diminuição significativa em todos os grupos de intervenção do MDA sérico
KHALIL et al, 2016	10	Verificar a atividade antioxidante da vitamina C em atenuação ao EO durante a progressão da DRC	TBARS	A suplementação oral de vitamina C pode atenuar o de MDA sérico

(Continuação) **Quadro 8.** Métodos de avaliação da concentração de malondialdeído em pacientes em hemodiálise.

Autores, ano	n	Objetivo	Análise	Conclusão
ROEHRS et al, 2011	29	Avaliar se antioxidantes exógenos e/ou endógenos podem afetar a peroxidação lipídica, colesterol ou lipoproteínas do colesterol, envolvidos na aterosclerose em pacientes em HD.	TBARS	O MDA plasmático e a GSH nos eritrócitos estavam significativamente aumentados nos pacientes em HD em comparação com indivíduos saudáveis
ABDOLL AHZAD et al, 2009	21	Avaliar os efeitos da vitamina C sobre os perfis lipídicos e marcadores de peroxidação lipídica	TBARS	A suplementação diminuiu o MDA sérico e melhorou o perfil lipídico de pacientes em hemodiálise
RAMOS; MARTÍN EZCASTE LAO, 2008	17	Avaliar o efeito da HD e da suplementação de vitamina C nos perfis de oxidação lipídica e lipoproteica	TBARS	As TBARS plasmáticas e os lipoperóxidos aumentaram em pacientes após um ano de hemodiálise
CANDAN et al, 2002	15	Verificar o efeito da suplementação de vitamina C e zinco na fragilidade osmótica e peroxidação lipídica	TBARS	A suplementação de vitamina C e a de zinco diminuíram a fragilidade osmótica e MDA nos eritrócitos

TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; NO: óxido nítrico; HD: hemodiálise, EO: estresse oxidativo; MDA: malondialdeído; GSH: glutatona reduzida; DRG: doença renal crônica

3.7 SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE COM ANTIOXIDANTE NA HEMODIÁLISE

Estudos com suplementação de PSL utilizaram distintos métodos de avaliação para diferentes desfechos (quadro 5). De acordo com a literatura, as PSL atuam como precursoras no anabolismo proteico, particularmente em pacientes em HD (SAHATHEVAN et al, 2018; HASSAN, 2017; SOHRABI et al, 2016; TOMAYKO et al, 2014). Em contrapartida, tratando-se do EO não há evidências acerca da relação de

PSL nas concentrações de GSH, GSSG, vitamina C e atividade da GPx-1 nestes pacientes, entretanto há evidência de que a suplementação de PSL atue na peroxidação lipídica pela diminuição na concentração de MDA (SOHRABI et al, 2016).

Considerando estudos acerca do EO com a suplementação de vitamina C na HD (quadro 6), observa-se uma maior presença da análise de MDA e da própria vitamina C (KHALIL et al, 2016; ABDOLLAHZAD et al, 2009; WASHIO et al, 2008; RAMOS; MARTÍNEZ-CASTELAO, 2008; VRIESE et al, 2008; FUMERON et al, 2005; CANDAN et al, 2002), havendo apenas um estudo mostrando a relação com a glutathione, pela razão GSSG:GSH (FUMERON et al, 2005).

Neste contexto, somente Sohrabi et al (2016) avaliaram o efeito da suplementação de PSL (15 g) associada a um antioxidante, a vitamina E (600 IU) por 8 semanas. Neste estudo, foram avaliados o EO, estado nutricional e inflamatório de 92 pacientes com DRC em HD. Os pacientes foram divididos em grupos: (1) whey concentrado associado com vitamina E, (2) whey concentrado, (3) vitamina E e (4) grupo controle (sem intervenção). Como resultado os três grupos suplementados apresentaram melhora significativa no EO, estado nutricional e estado inflamatório. No desfecho EO, o biomarcador avaliado foi apenas o MDA (TBARS), cujos valores diminuíram significativamente nos três grupos com intervenção e aumentaram no grupo controle. Ainda, a ASG e o MIS tiveram decréscimo em suas pontuações, resultando numa melhora significativa do estado nutricional nos três grupos suplementados (SOHRABI et al, 2016).

Deste modo, propõe-se avaliar o efeito da suplementação de PSL e/ou da vitamina C biomarcadores do EO.

4 HIPÓTESE

A intervenção com 20 g de PSL associadas à 0,25 g de vitamina C propiciará efeito sinérgico, mostrando aumento da razão GSH:GSSG, com aumento na concentração da GSH sanguínea. Consequentemente, haverá aumento da atividade da GPx-1 e da concentração de vitamina C, com declínio do MDA plasmático.

5 POPULAÇÃO E METODOLOGIA

5.1 PROTOCOLO DA PESQUISA

O estudo consistiu na suplementação de 20,0 g de módulo de PSL associadas ou não à 0,25 g de vitamina C, 3 vezes por semana por 8

semanas. Os grupos foram previamente estratificados de acordo com a frequência de HD semanal (2 e 3 vezes na semana). Deste modo, os pacientes foram randomizados na razão 1:1:1.

Para cada dia de suplementação, foram entregues sachês contendo: PSL (17,6 g) associado ou não à 0,25 g de vitamina C, ou placebo (20,0 g de farinha de arroz branca) com 0,25 g de vitamina C. Os grupos foram suplementados com: (1) somente PSL; (2) placebo e vitamina C ou (3) PSL + vitamina C. Os grupos receberam a suplementação imediatamente após a sessão de HD, com exceção daqueles que realizavam HD 2 vezes por semana, aos quais foram entregues sachês referentes ao 3º dia de suplementação para serem administrados em casa.

No momento de recrutamento os participantes foram orientados pelas pesquisadoras a alcançarem a recomendação do consumo proteico proposto pela *National Kidney Foundation* de 1,2 g/kg/dia, por meio da alimentação. Deste modo, no início e ao decorrer das 8 semanas, os participantes foram incentivados a manterem o consumo alimentar recomendado anteriormente. Foram avaliados biomarcadores do EO no momento basal e ao final da suplementação, além disto, durante as 8 semanas foi realizada a monitorização das concentrações sanguíneas de K e P para observar possíveis alterações durante a suplementação.

5.2 DELINEAMENTO E LOCAL DE ESTUDO

Este estudo caracterizou-se como um ensaio clínico, piloto, randomizado e duplo cego. A coleta de dados foi realizada em duas clínicas de diálise localizados no Hospital Universitário da UFSC e no Hospital Governador Celso Ramos em Florianópolis.

5.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

A população estudada foi composta por pacientes diagnosticados com DRC e em HD por no mínimo dois meses, considerando o início do recrutamento do estudo. Os pacientes participantes do estudo obedeceram aos critérios de inclusão e não inclusão (quadro 9).

Quadro 9. Critérios de inclusão e não inclusão do estudo.

Critérios de inclusão	
✓	Idade igual ou superior a 19 anos;
✓	Diagnóstico de doença renal crônica;
✓	Realizar hemodiálise 3 ou 2 vezes por semana num período maior ou igual a 2 meses;

(Continuação) Quadro 9. Critérios de inclusão e não inclusão do estudo.

Critérios de não inclusão	
✓	Ter utilizado (2 meses antes do estudo) antioxidantes (vitamina C ou E); aminoácidos, suplementos de proteína, cetoácidos, imunossuppressores ou n-acetilcisteína
✓	Ter alergia à proteína do leite;
✓	Ser portador do vírus HIV;
✓	Apresentar diagnóstico de câncer, insuficiência cardíaca avançada, doença pulmonar crônica ou doença hepática;
✓	Estar internado, estar grávida ou amamentando;
✓	Impossibilidade física e/ou psicológica de mensuração dos parâmetros;
✓	Não ter capacidade de entendimento ou comunicação.

No momento do recrutamento, pacientes elegíveis foram esclarecidos quanto ao protocolo do estudo e, após concordância com ele, o termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado (Apêndice 1).

5.3.1 Amostragem

A amostra estudada foi obtida por conveniência durante o período de recrutamento, conforme critérios de elegibilidade.

5.3.2 Randomização

A randomização ocorreu de forma proporcional considerando a frequência de HD por semana na amostra total, deste modo foram criados dois estratos na população: (1) três vezes na semana e (2) duas vezes na semana. Este critério foi escolhido, pois identificaram-se padrões bioquímicos distintos entre estas duas populações (HWANG et al, 2016). As informações acerca da frequência de HD foram coletadas durante o período de recrutamento.

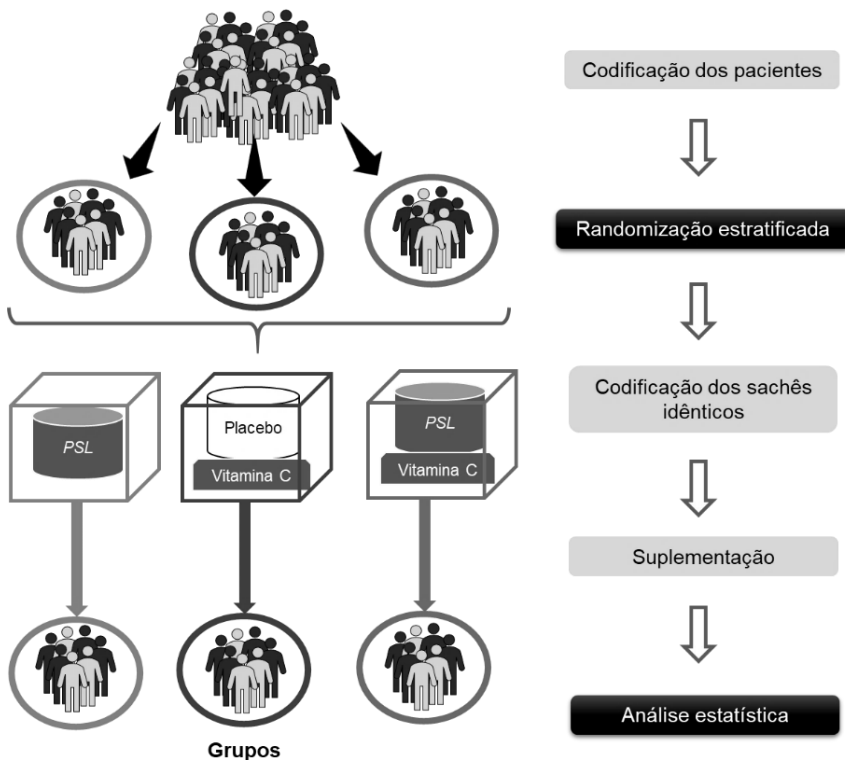
Posteriormente, foram gerados números sequenciais para cada participante no programa Microsoft Office Excel®.

Após a obtenção da prevalência dos dois estratos na população estudada, foram criados três grupos com equivalência em distribuição de pacientes. A seleção dos indivíduos de cada estrato nos três grupos foi realizada de forma randômica, por uma ferramenta desenvolvida no Microsoft Office Excel®, que utiliza a linguagem de programação VB (Visual Basic) e sorteia os indivíduos randomicamente dentro dos valores mínimo e máximo de cada estrato.

5.3.3 Cegamento

Duas etapas configuraram este estudo como duplo-cego: (1) o cegamento dos participantes pela utilização de sachês idênticos e pela similaridade dos suplementos quanto à cor e textura e (2) o cegamento do pesquisador responsável pela análise estatística por desconhecer a distribuição dos códigos randomicamente em cada grupo (figura 9).

Figura 9. Esquema do cegamento.



PSL: Proteínas do soro do leite

Fonte: do autor

A administração dos suplementos foi priorizada para ser realizada nas clínicas de diálise, utilizando-se copos de coloração escura e preenchidos com 50 mL de água filtrada para a diluição da suplementação; sendo todos os suplementos hidrossolúveis e equivalentes em coloração. Os sachês eram laminados e flexíveis, sendo o interior de

coloração escura e o exterior metalizado, deste modo a influência da luz foi mínima, para manter a estabilidade da vitamina C (CHANG; ISMAIL; DAUD, 2016).

5.4 INTERVENÇÃO

5.4.1 Proteínas do soro do leite

A suplementação proteica foi oferecida por meio do módulo Fresubin Protein Powder cuja composição de aminoácidos encontra-se no quadro 10, cada dose de intervenção foi de 20 g do módulo (4 colheres de medida do produto), devidamente pesada em balança analítica.

Quadro 10. Composição de aminoácidos das proteínas do soro do leite em 20 g do módulo *Fresubin Protein Powder*.

Aminoácidos indispensáveis (essenciais)	Quantidade (g)
Lisina	1,80
Treonina	1,40
Metionina	0,40
Fenilalanina	0,56
Triptofano	0,36
Valina	1,16
Leucina	2,00
Isoleucina	1,32
Condicionalmente indispensáveis	
Tirosina	0,56
Cisteína	0,48
Taurina	0,00
Histidina	0,36
Arginina	0,36
Glutamina	1,08
Dispensáveis (não-essenciais)	
Glicina	0,32
Alanina	0,96
Prolina	1,28

(Continuação) **Quadro 10.** Composição de aminoácidos das proteínas do soro do leite em 20 g do módulo *Fresubin Protein Powder*.

Dispensáveis (não-essenciais)	Quantidade (g)
Serina	1,00
Ácido Glutâmico	2,32
Ácido Aspártico e Aspargina	2,08

Fonte: adaptado de acordo com a ficha técnica: *Fresubin® Protein Powder* (Anexo 1)

Visto a escassez de estudos com PSL nesta população, a dose de 20,0 g do módulo foi estabelecida baseada em estudo prévio com delineamento similar à presente pesquisa, que propiciou resultados positivos no EO e estado nutricional (SOHRABI et al, 2016).

Como placebo das PSL, foram administrados 20,0 g de farinha de arroz branca. A farinha de arroz foi da marca RisoVita® que, conforme especificação do fabricante, não apresenta em sua composição os minerais: Na, P, K e as vitaminas: C e E, além de ter equivalência energética quando comparado ao módulo proteico (quadro 11).

Quadro 11. Composição nutricional das proteínas do soro leite (*Fresubin® Protein Powder*) e da farinha de arroz branca (*RisoVita®*).

Composição nutricional	Proteínas do soro do leite- <i>Fresubin® Protein Powder</i> (20g)	Farinha de arroz branca –<i>RisoVita®</i> (20g)
Energia (kcal)	72,00	73,20
Proteína (g)	17,60	1,36
Lipídeos (g)	0,20	0,14
Carboidrato (g)	0,20	16,40
Fibra alimentar (g)	0,00	0,08
Ca (mg)	12,00	0,00
P (mg)	48,00	0,00
Na (mg)	110,00	0,00
K (mg)	240,00	0,00
Vitamina C (mg)	0,00	0,00
Vitamina E (mg)	0,00	0,00

Fonte: adaptado de ficha técnica: *Fresubin® Protein Powder* e *RISOVITA*, 2018

Possíveis efeitos colaterais foram avaliados durante todo o estudo, por meio de um questionário (Apêndice 2).

5.4.2 Vitamina C

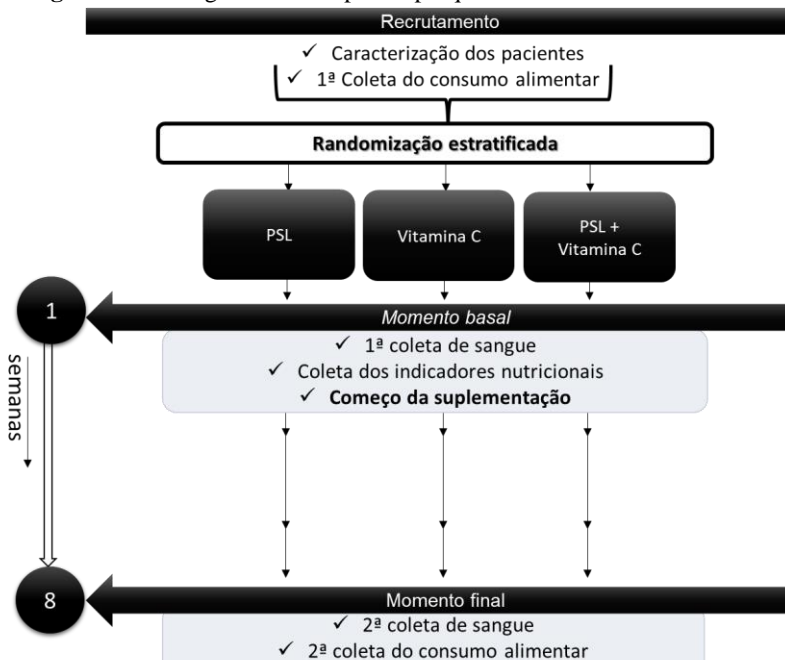
A vitamina C utilizada foi da empresa Biodora® que declarou comprovação de pureza de 95% por meio do laudo do farmacêutico responsável (Anexo 2)

A dose de 0,25 g foi escolhida baseada em estudos prévios mostrando resultados contraditórios (quadro 6), porém sem prejudicar a população por ser considerada uma dose segura (< 500 mg/dia) a fim de precaver a oxalose (FOUQUE et al, 2007b). Neste contexto, como não há evidências sobre a suplementação de PSL associada à vitamina C, considerou-se esta dose segura e de potencial benefício.

5.5 ETAPAS DA PESQUISA

A presente pesquisa está dividida em três etapas: recrutamento, momento basal e momento final da suplementação (figura 10).

Figura 10. Fluxograma das etapas da pesquisa



Fonte: do autor

5.6 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

5.6.1 Caracterização da população do estudo

Os pacientes foram caracterizados no momento do recrutamento por um questionário que aborda dados de identificação e clínicos (diagnóstico primário da DRC, tempo de HD, qualidade da diálise (Kt/V), tabagismo e comorbidades associadas etc.) (Apêndice 3). Os questionários de caracterização foram preenchidos com dados coletados dos prontuários e por conversa com a equipe de saúde e os próprios pacientes.

5.6.1.1 Indicadores nutricionais

No momento basal houve a caracterização dos pacientes por múltiplos indicadores nutricionais.

5.6.1.1.1 Índice de massa corporal

O cálculo do índice de massa corporal (IMC) considera o valor do peso em kg e a altura ao quadrado em metros (m), para utilizar a fórmula de Quételet, que pioneiramente foi utilizada em estudo realizado por Keys et al (1972).

$$\text{Fórmula de Quételet: IMC} = \text{peso (kg)} / (\text{altura})^2$$

Após o cálculo do IMC, foi realizado o diagnóstico nutricional conforme classificação da ISRNM (quadro 12).

Quadro 12. Classificação da Sociedade Internacional de Nutrição e Metabolismo Renal referente aos valores do índice de massa corporal para doença renal crônica.

Classificação do estado nutricional	IMC (kg/m ²)
Desnutrição	<23
Sem desnutrição	≥23

Fonte: FOUQUE et al, 2007^a

Para o cálculo do IMC, foi obtido o peso pós-HD aferido na própria balança pertencente às clínicas estudadas. Para a aferição da medida, o participante permaneceu em posição ereta na plataforma e com roupas leves (WHO, 1995).

A altura foi avaliada com o estadiômetro portátil Alturaexata®. O paciente ficou na posição ereta, descalço, com os pés unidos e o peso distribuído igualmente sobre a superfície da plataforma, os braços pendentes ao lado do corpo e com a superfície posterior do corpo (cabeça, costas, nádegas e calcanhares) encostada à escala de medida do instrumento. Para a aferição correta, a cabeça estava posicionada de maneira em que a visão do indivíduo ficou perpendicular ao corpo. No momento da aferição foi orientado ao participante inspirar e manter-se na posição, até que a régua móvel foi levada ao ponto mais alto da cabeça, fazendo força contrária à cabeça e não ao mastoide (WHO, 1995).

Caso o paciente no dia da aferição estivesse impossibilitado de permanecer em pé, a altura foi estimada considerando a altura do joelho (AJ) (quadro 13). Para a aferição da AJ, o paciente permaneceu sentado, com a perna direita posicionada no ângulo de 90° entre o joelho e o tornozelo (CHUMLEA et al, 1988). Uma fita métrica inelástica com graduação de 0,1 cm foi utilizada.

Quadro 13. Equação de estimativa de altura pela aferição da altura do joelho.

Idade/ etnia	Equações
Mulheres	
Negras	
19 a 60 anos	$A = 68,10 + (1,86 \times AJ) - (0,06 \times \text{idade})$
Mais de 60 anos	$A = 58,72 + (1,96 \times AJ)$
Branças	
19 a 60 anos	$A = 70,25 + (1,87 \times AJ) - (0,06 \times \text{idade})$
Mais de 60 anos	$A = 75,00 + (1,91 \times AJ) - (0,17 \times \text{idade})$
Homens	
Negros	
19 a 60 anos	$A = 73,42 + (1,79 \times AJ)$
Mais de 60 anos	$A = 95,79 + (1,37 \times AJ)$
Branços	
19 a 60 anos	$A = 71,85 + (1,88 \times AJ)$
Mais de 60 anos	$A = 59,01 + (2,08 \times AJ)$

A: Altura; AJ: Altura do joelho.

Fonte: adaptada de CHUMLEA, 1985 e 1994.

5.6.1.1.2 Avaliação subjetiva global de 7 pontos

A ASG utilizada foi a versão modificada para 7 pontos, proposta para indivíduos submetidos à diálise (CANUSA, 1996) e validada especificamente para a população em HD (STEIBER et al., 2007). O modelo utilizado do documento da ASG-7p foi proveniente da adaptação transcultural para o português realizada por Fetter et al. (2014) (Anexo 3).

A ASG-7p apresenta-se em categorias para avaliação: peso/mudança de peso, ingestão alimentar, sintomas gastrointestinais, capacidade funcional e doenças e comorbidades relacionadas com necessidades nutricionais. Para cada categoria, foi dada uma pontuação variando de 1 a 7 pontos (CANUSA, 1996). Além disto, o instrumento consta com a categoria de exame físico que serviu como complemento na reflexão para o diagnóstico final.

Cada categoria destinada à pontuação foi avaliada de forma subjetiva, levando em consideração a experiência clínica do aplicador (previamente treinado), e a sua percepção do estado nutricional do paciente. Para a definição do diagnóstico foi dada maior ênfase à mudança de peso, à ingestão alimentar e aos sintomas gastrointestinais.

Ao fim da aplicação do instrumento, foram analisadas as pontuações de cada seção concomitantemente com o exame físico, para posterior diagnóstico, conforme mostra o quadro 14.

Quadro 14. Pontuação para diagnóstico nutricional pela avaliação subjetiva global de 7 pontos.

Pontuação geral (na maioria das categorias)	Diagnóstico
6 ou 7	Risco muito leve para desnutrição a bem nutrido
3, 4 ou 5	Desnutrição leve a moderada, sem sinais evidentes de desnutrição severa ou de estado nutricional normal
1 ou 2	Desnutrição grave

Fonte: adaptada de FETTER et al, 2014

5.6.1.1.3 Índice geriátrico de risco nutricional

O índice geriátrico de risco nutricional (IGRN) foi calculado para os participantes utilizando a equação de Bouillanne e colaboradores (2005), para tal, necessitaram-se dos valores de albumina sérica, peso atual e peso ideal do participante.

$$\text{IGRN} = (1,489 \times \text{albumina (g/L)}) + (41,7 \times (\text{peso atual/peso ideal}))$$

BOUILLANNE et al, 2005

O valor de albumina sérica foi obtido do prontuário de cada paciente, de acordo com metodologia aplicada em cada laboratório que presta atendimento às clínicas de diálise.

Para o peso atual do participante, foi considerado o peso após HD. O peso ideal foi estimado pela fórmula de Lorentz.

Fórmula de Lorentz

Sexo masculino = $(\text{Altura} - 100) - [(\text{altura} - 150)/4]$

Sexo feminino = $(\text{Altura} - 100) - [(\text{altura} - 150)/2,5]$

A pontuação obtida foi classificada conforme estudo anterior realizado com a população idosa em HD no Brasil (OLIVEIRA et al, 2015), cuja pontuação estabelecida para desnutrição moderada foi de 82 a 92, e para desnutrição grave, < 82 pontos. Os indivíduos com pontuação entre 92 a 98 foram considerados com risco baixo de desnutrição e aqueles > 98, sem desnutrição.

5.6.1.1.4 Protein energy wasting

Para o diagnóstico do PEW foram considerados os critérios estabelecidos por Fouque et al (2007a). Os critérios baseiam-se em quatro categorias avaliativas que consideram dados bioquímicos, massa corporal, massa muscular e consumo alimentar (quadro 15).

Quadro 15. Critério para diagnóstico de *protein energy wasting* na doença renal crônica.

Categorias avaliativas para o diagnóstico do PEW	Crítérios de avaliação
Consumo alimentar	Consumo não intencional por pelo menos 2 meses de < 0,8 g/kg/dia de proteína OU < 0,25 kcal/dia de energia.
Massa muscular	Diminuição na massa muscular de 5% em 3 meses OU 10% em 6 meses; OU diminuição da área muscular do braço > 10% referente ao percentil 50 da população referência; OU <i>clearance</i> de creatinina.
Dados bioquímicos	Albumina sérica < 3,8 g/100mL OU pré-albumina sérica < 30 mg/100 mL OU colesterol sérico < 100 mg/100 mL
Massa corporal	IMC < 23 kg/m ² OU % total de gordura corporal < 10% OU perda não intencional de peso de 5% em 3 meses OU 10% em 6 meses.

PEW: *Protein energy wasting*

Fonte: adaptada de FOUQUE et al, 2007^a

O participante é diagnosticado com PEW quando se enquadra, no mínimo, em três categorias avaliativas, sendo obrigatoriamente incluído um indicador dos dados bioquímicos (FOUQUE et al, 2007a). Para o presente estudo o consumo alimentar não foi utilizado como critério de diagnóstico, devido à falta de dados alimentares referentes aos 2 meses anteriores à pesquisa.

Massa muscular

Para a categoria de massa muscular estimou-se a área muscular do braço (AMB) de cada participante utilizando a fórmula abaixo (BLACKBURN; THORNTON, 1979) para posterior comparação com o percentil 50 da população referente em idade e sexo (FRISANCHO, 1974).

AMB (cm²)

Sexo masculino: $[\text{circunferência braquial (cm)} - \pi \times \text{prega cutânea tricipital (mm)} / 10]^2 - 10 / 4 \pi$

Sexo feminino: $[\text{circunferência braquial (cm)} - \pi \times \text{prega cutânea tricipital (mm)} / 10]^2 - 6,5 / 4 \pi$

A circunferência do braço foi aferida com uma fita inelástica em aço plano Cescorf® (Cescorf Equipamentos para Esporte Ltda – Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil), com tolerância de 0,1 mm em 1 m, estando o cotovelo flexionado a 90°. A marcação do ponto médio foi feita na parte lateral do braço sobre o músculo tríceps (WHO, 1995).

A prega cutânea tricipital foi aferida com um adipômetro científico Lange®, com resolução de 1 mm, mola de pressão constante a 10 g/mm² a qualquer abertura, conforme as instruções de Lohman et al (1988).

Dados bioquímicos

Para o diagnóstico do PEW, foi obtido o valor de albumina de cada paciente, conforme laboratório específico que presta atendimento a cada clínica de diálise.

Massa corporal

Para a avaliação do PEW referente à massa corporal, foi calculado o IMC conforme descrito no item 5.6.4.1.

5.6.1.1.5 Força do aperto da mão

A força do aperto da mão (FAM) foi mensurada na mão do braço que não possuía a fístula arteriovenosa e foi obtida por meio de um

dinamômetro manual da marca Saehan® modelo SH 5001 (*Saehan 4 Corporation - Yangdeok-Dong, Masan, Korea*) com escala de até 90 kg ou 180 libras.

Para a aferição o paciente foi orientado conforme descrito por Schlüssel e colaboradores (2008), na posição sentada, com joelhos e quadris flexionados no ângulo de 90°, o ombro aduzido junto ao tronco, o cotovelo flexionado a 90° com o antebraço em posição neutra (entre pronação e supinação) e o punho entre 0° e 30° de extensão e 0° a 15° de desvio ulnar.

Primeiramente, houve a apresentação do instrumento para o participante, para que em seguida houvesse o incentivo verbal, realizado pelo pesquisador, a fim de estimular a medida de maior força palmar no dinamômetro. Foram realizadas três avaliações, e a de maior valor da FAM (kg) foi utilizada para análise.

Os pontos de corte foram baseados em estudo anterior do grupo de pesquisa, cujos valores da FAM associados à desnutrição em homens e mulheres foram valores < 28,5 kg e < 18 kg, respectivamente (GARCIA et al, 2013).

5.6.2 Coleta e preparo de materiais biológicos

O acesso da fístula ou cateter foi utilizado para a coleta o sangue. O sistema de coleta foi a vácuo (*Vacuntainer®*, *BD Biosciences*, e dois tubos (4 mL cada) com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e um com heparina (4 mL) foram utilizados. A coleta foi realizada por enfermeiros/técnicos de enfermagem habilitados.

Posteriormente, as amostras de sangue foram transportadas em isopor com gelo (até 1h após a coleta) e armazenadas em microtubos em triplicata no freezer a -80 ° C. O armazenamento não excedeu 2 semanas e, especialmente para a vitamina C, as análises foram realizadas 1 dia após a coleta de sangue.

O sangue total foi utilizado para a análise de GSH e GSSG, o plasma para o MDA e a vitamina C e, por fim, o hemolisado para análise GPx-1. Para GSH e GSSG, o sangue total foi dividido em alíquotas em microtúbulos contendo 100 µl de N-etilmaleimida (NEM) 310 mM por mL / sangue. O plasma foi obtido por centrifugação (1000 g durante 10 min, a 4°C). Para o hemolisado, foram utilizados 100 µL de hemácias e 1 mL de solução hemolisada (4 nM MgSO₄ e 1 nM de ácido acético). O mesmo protocolo foi seguido para a análise do material biológico de ambas as clínicas de diálise, no momento basal e final da suplementação.

A alíquotagem e análise do sangue foram realizadas no Laboratório de Pesquisa de Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose da Universidade Federal de Santa Catarina.

5.6.2.1 Controle bioquímico

Os valores de K, P e albumina foram obtidos do prontuário do paciente, durante todo período de intervenção, e referem-se à análise do laboratório específico que presta atendimento para cada clínica de diálise.

5.6.3 Avaliação do estresse oxidativo

5.6.3.1 Glutathiona reduzida e oxidada

A GSH e a GSSG foram analisadas no sangue total conforme descrito por Giustarini et al (2013). O sangue foi coletado em tubos com EDTA e posteriormente armazenado em eppendorffs de 1 mL com 100 µL de N-Ethylmaleimide 310 para conservação.

A GSH foi analisada por HPLC UV-Visível DAD SPD-M20A (Shimadzu, Kyoto, Japan), com software LC Solutions. Após análise, o cálculo da concentração de GSH foi baseado em sua curva padrão e na equação da reta: $Y=a+bx$, sendo o resultado expresso em µmol/g Hb

Para o cálculo da concentração de GSSG foi utilizado o método cinético no espectrofotômetro UV-1800 - Shimadzu® (Kyoto, Japan), seguido da fórmula: $GSSG = S \times [GSSG]/St \times 49,5 \times 2$, sendo o resultado expresso em nmol/g Hb.

5.6.3.2 Glutathiona peroxidase-1

A atividade da GPx-1 foi determinada pelo método de Wendel (1981) que utiliza o peróxido de tert-butila como substrato da reação, realizando a oxidação da GSH pela GPx-1 e gerando GSSG, a qual é convertida em GSH pela GR, consumindo nessa reação uma molécula de NADPH.

A cinética da reação foi acompanhada em 340 nm em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments®*, Winooski, Vermont, USA), utilizando o software GEN 5®. Para o cálculo da atividade foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar do NADPH em 340 nm, $6,22 \times 10^3$ L.mol⁻¹.cm⁻¹. Uma unidade de GPx-1 equivaleu à quantidade de enzima que hidrolisa 1 µmol de substrato por minuto, por mg de proteína. Os resultados foram expressos em U/mg Hb.

5.6.3.3 Malondialdeído e outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

A avaliação da peroxidação lipídica foi analisada pela concentração de fMDA plasmática conforme procedimento descrito previamente por Domijan et al (2014). As análises foram realizadas em HPLC com injetor manual e detector UV-Visível DAD SPD-M20A (*Shimadzu, Kyoto, Japan*), com software *LC Solutions*. Para fazer os cálculos da concentração de fMDA no plasma foi utilizada a curva padrão de MDA e a equação da reta $Y=a+bx$. Com a equação da reta obteve-se a concentração expressa em $\mu\text{mol/L}$.

5.6.3.4 Vitamina C

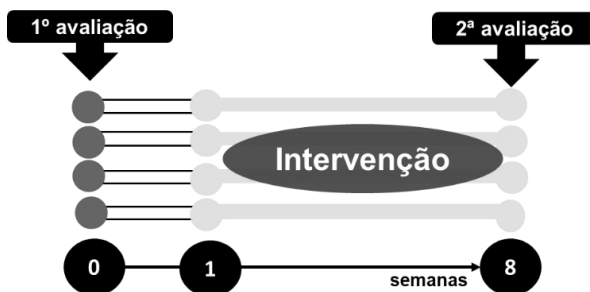
A análise foi realizada conforme Emadi-Konjin (2005), em HPLC com injetor manual e detector UV-Visível DAD SPD-M20A (*Shimadzu, Kyoto, Japan*), com software *LC Solutions*. O HPLC é um método isocrático, e a análise do comprimento de onda 245 nm foi feita com fluxo de 1 mL/min. Para fazer os cálculos da concentração de AA no plasma foi utilizada a curva padrão de AA e a equação da reta $Y=a+bx$. Com a equação da reta obteve-se a concentração expressa em $\mu\text{mol/L}$.

5.6.4 Consumo alimentar para controle da intervenção

Segundo a *National Kidney Foundation*, a avaliação do consumo alimentar de pacientes em HD deve contemplar a variabilidade entre os dias (com HD, sem HD e de final de semana) (NKF-KDOQI, 2000). Inicialmente, houve a tentativa de coleta em três dias alimentares, conforme recomendação acima, entretanto diante da dificuldade de contato telefônico, esta tentativa foi ineficaz. Assim, em ordem de padronizar a coleta do consumo alimentar e garantir maior assertividade, optou-se pela padronização de dois dias alimentares.

Aplicaram-se dois recordatórios de 24h (R24h) para cada momento de avaliação (figura 11), deste modo, obtiveram-se dados para o controle de energia (kcal) e proteína (g) no recrutamento e na última semana de suplementação.

Figura 11. Avaliação do consumo alimentar habitual para controle da intervenção.



Fonte: do autor

Naqueles realizando HD três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) obtiveram-se: um R24h referente ao final de semana e do dia sem HD. Já naqueles realizando HD duas vezes na semana (terça e quinta-feira), obtiveram-se um R24h do dia sem HD e um R24h do final de semana ou do dia com HD, por ligação telefônica. Quando o contato telefônico foi ineficaz com o paciente, tentava-se realizar um registro alimentar ou, em último caso, fazia-se outro R24h referente ao dia sem HD.

O R24h é utilizado na prática clínica, pois é de rápida aplicação, pode ser utilizado em qualquer faixa etária e em iletrados, além de ser de baixo custo. Entretanto, como todo método de avaliação de consumo alimentar, apresenta desvantagens em sua utilização com a necessidade da memória do entrevistado e da capacidade do entrevistador ter uma boa comunicação e evitar a indução de respostas (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009).

No momento da aplicação do R24h, foi aplicado o método de múltiplas passagens, proposto pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América. Este método contempla 5 passos: (1) a listagem rápida dos alimentos e bebidas, (2) revisão da listagem para prevenir itens esquecidos, (3) nomeação das refeições e horários, (4) ciclo de detalhamento (quantidade ingerida) e (4) revisão geral do recordatório (CONWAY et al, 2003). Além disto, o tamanho de medidas caseiras foi exemplificado com auxílio de fotografias do livro de Zabotto (1996), o qual possibilitou uma melhor fidedignidade dos dados coletados (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009).

Por fim, os dados dos R24h de cada paciente foram tabulados e analisados no software online de nutrição DietBox® (<https://dietbox.me/pt-BR/>), cuja avaliação da composição nutricional de cada alimento é baseada na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos dentre outras tabelas brasileiras e internacionais.

Entretanto, ao final das análises, os pacientes obtiveram consumo energético menor que a taxa metabólica basal calculada e, quando os valores de proteínas consumidas foram ajustados por energia, a distribuição dos valores de proteínas distorceu expressivamente, não representando a realidade da população estudada (*Iowa State University*, 2001). Houve, então, uma possível subestimação no consumo alimentar, indicando dados com baixa fidedignidade. Assim, optou-se por não os utilizar como controle alimentar durante o estudo.

5.7 MODELO DE ANÁLISE

As variáveis, seus indicadores e suas classificações teóricas estão descritas no quadro 16. Os itens idade, sexo, tabagismo, causa da DRC, tempo de HD, frequência de HD e indicadores nutricionais foram utilizados como caracterização da amostra. A adequação de diálise, albumina, fósforo e potássio séricos foram usados como controle bioquímico antes e após suplementação. As variáveis “uso da suplementação” foram tratadas como exposições. E biomarcadores do EO como desfechos.

Quadro 16. Variáveis, suas características e indicadores para o modelo de análise.

Tipo	Variável	Indicadores	Classificação
Caracterização	Idade	Anos	Independente, quantitativa contínua
	Sexo	Feminino; Masculino.	Independente, qualitativa nominal dicotômica
	Tabagista	Atualmente; Ex-fumante; Nunca.	Independente, qualitativa nominal politômica
	Causa da DRC	HAS; DM; HAS e DM; Outras; Desconhecidas.	Independente, qualitativa nominal politômica
	Tempo de HD	Meses	Independente, quantitativa contínua

(Continuação) **Quadro 16.** Variáveis, suas características e indicadores para o modelo de análise.

Tipo	Variável	Indicadores	Classificação
Caracterização	Frequência de HD	3 vezes/semana; 2 vezes/semana;	Independente, qualitativa nominal dicotômica
	IMC	$\leq 23 \text{ kg/m}^2$ - desnutrição.	Independente, qualitativa dicotômica
		kg/m^2	Independente, quantitativa contínua
	ASG-7p	1 ou 2 - Desnutrição grave; 3, 4 ou 5 - Desnutrição leve a moderada; 6 ou 7 - Risco muito leve de desnutrição à bem nutrido.	Independente, qualitativa politômica
		Pontos	Independente, quantitativa discreta
	PEW	Sim; Não.	Independente, qualitativa dicotômica
	IGRN	> 98 - Sem desnutrição 92 a 98 - Baixo risco de desnutrição < 92 - Desnutrição moderada a severa.	Independente, qualitativa politômica
		Pontos	Independente, quantitativa discreta
	FAM	kg	Independente, quantitativa contínua
		Homem < 28,5 kg - Desnutrido Mulher < 18 kg - Desnutrida	Independente, qualitativa dicotômica

(Continuação) **Quadro 16.** Variáveis, suas características e indicadores para o modelo de análise.

Tipo	Variável	Indicadores	Classificação
Controle bioquímico	Adequação da diálise	Kt/V	Dependente, quantitativa contínua
	Fósforo sanguíneo	mg/dL	Dependente, quantitativa contínua
	Potássio sanguíneo	mEq/L	Dependente, quantitativa contínua
	Albumina	g/dL	Dependente, quantitativa contínua
Estresse Oxidativo	GSH	μmol/g Hb	Dependente, quantitativa contínua
	GSSG	nmol/g Hb	Dependente, quantitativa contínua
	GSH:GSSG	-	Dependente, quantitativa contínua
	GPx-1	nmol/g Hb	Dependente, quantitativa contínua
	MDA	μmol/L	Dependente, quantitativa contínua
	Vitamina C	μmol/L	Dependente, quantitativa contínua

HD: hemodiálise; DRC: doenças renal crônica; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: Diabetes Mellitus; GSH: glutathiona reduzida; GPx: glutathiona peroxidase; MDA: malondialdeído; IMC: índice de massa corporal; ASG-7p: avaliação subjetiva global de 7 pontos; PEW: *protein energy-wasting*; IRN: índice de risco nutricional; IGRN: índice geriátrico de risco nutricional; FAM: força do aperto da mão.

Fonte: do autor.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a finalização deste projeto de dissertação, a mestranda visitou o centro de pesquisa da Divisão de Medicina Renal e Baxter Novum, localizado no Karolinska *Institutet* e Hospital Universitário Karolinska em Estocolmo, Suécia.

Durante sua estada de 29/04/2019 a 07/06/2019, a mestranda realizou: análise estatística e interpretação dos dados, iniciando a escrita do manuscrito. Neste período, em especial, os pesquisadores: Bengt

Lindholm, Abdul Rashid Qureshi e Carla Maria Avesani auxiliaram no desenvolvimento das atividades citadas.

5.8.1 Processamento e análise dos dados

Inicialmente, os dados coletados foram digitados no programa Excel®, para posterior transferência ao software estatístico Stata 15.1 ® (*Stata Corporation, College Station, Estados Unidos*).

Para as análises estatísticas, o teste não paramétrico ANOVA foi utilizado para detectar diferenças entre os três grupos no momento basal e intragrupo no momento final, seguido pelo pós-teste não paramétrico de comparação múltipla de Dunn, cujo objetivo foi verificar diferenças em uma amostra pequena. Os valores foram expressos como *score mean difference* (SMD), indicando a diferença entre subgrupos do momento basal (t0) e final (t1) de cada um dos três grupos suplementados, assim, ele expressa uma medida de efeito pela média do escore de classificação das observações do subgrupo t0 menos a do subgrupo t1, de cada grupo (DUNN, 1961).

O teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliar mudança no controle bioquímico e indicadores nutricionais intragrupo para variáveis quantitativas e o teste de qui-quadrado de McNemar para as variáveis qualitativas. intragrupo. Para a comparação entre as clínicas de diálise (A e B), foi utilizado o teste de Mann-Whitney nas variáveis quantitativas.

A análise das diferenças intra e intergrupos em variáveis qualitativas foi realizada pelo teste qui-quadrado de Pearson. As variáveis quantitativas foram expressas como mediana e intervalos interquartis (IQ25; IQ75) e as quantitativas como valor absoluto e percentual.

Os resultados foram exibidos como gráficos boxplot, e nestes, o grupo vitamina C foi destacado diferente dos demais grupos, pois durante o processo de randomização cega, sua codificação foi o grupo 1 (o primeiro grupo), deste modo, o pós-teste começou as análises intergrupos pelo grupo vitamina C no momento inicial.

O valor de $p < 0,050$ foi adotado como estatisticamente significativo.

5.9 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CAAE: 76599817.6.0000.0121; número do parecer: 2.537.090) e pelo Comitê de Ética Médica dos dois hospitais; E está inscrito no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos sob o número RBR-65b8f4.

6 RESULTADOS

O presente projeto de dissertação será submetido à revista científica *Clinical Nutrition*.

6.1 MANUSCRITO

Título: Suplementação com PSL e vitamina C aumentam a glutatona oxidada em pacientes em hemodiálise crônica.

Resumo

Introdução & objetivos: Pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) apresentam um aumento prejudicial do estresse oxidativo (EO). A deficiência no consumo de nutrientes e suas perdas durante a HD afetam diretamente o aumento do EO, particularmente, pela insuficiência no consumo de antioxidantes. As proteínas do soro do leite (PSL) apresentam função protetora ao EO, devido ao seu aminoácido cisteína ser o precursor na síntese endógena da glutatona, o antioxidante tiol não proteico mais abundante em humanos. Dentre as suas ações, a glutatona influencia diretamente a reciclagem da molécula de vitamina C, aumentando a sua ação protetora no EO. Até o momento, a suplementação de PSL e/ou vitamina C em biomarcadores do EO não foi descrita em pacientes com DRC em HD. O objetivo do presente estudo é avaliar o efeito da suplementação de PSL e/ou da vitamina C em biomarcadores do EO em pacientes com DRC em HD. **Métodos:** A amostra foi formada por pacientes de duas clínicas de diálise (A e B) em Florianópolis, Brasil. Os participantes eram de ambos os sexos, com idade ≥ 19 anos e realizavam HD ≥ 2 meses, 3 ou 2 vezes por semana. Os pacientes foram randomizados e estratificados pela frequência de HD (3 ou 2 vezes por semana) em três grupos na razão de 1:1:1. A suplementação foi oferecida em sachês idênticos contendo: módulo de PSL (20,00 g) com ou sem vitamina C (0,25 g) ou placebo (20,00 g de farinha de arroz branca) com vitamina C (0,25 g) diluídos em 50 mL de água filtrada. Todos os grupos receberam suplementação 3 vezes por semana, após a sessão de HD por 8 semanas. Os pacientes e pesquisador (responsável pela análise estatística) foram cegados. Como desfecho, analisaram-se o EO (nos momentos: basal e final) com os biomarcadores: glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG) no sangue total, seguido da razão GSH:GSSG; glutatona peroxidase-1 (GPx-1) no hemolisado; e malondialdeído (MDA) e vitamina C no plasma. Os resultados foram expressos como medida de efeito *score mean difference* (SMD). **Resultados:** A clínica B não conseguiu uma estratificação adequada pela frequência da HD, devido às perdas durante o seguimento

do estudo, portanto, foi excluída das análises finais. A Clínica A completou o estudo com 6 pacientes por grupo, havendo um total de 18,2% (n = 4) de perdas na amostra. Após 8 semanas de suplementação, todos os grupos aumentaram as concentrações de GSSG, porém, apenas aquele suplementado com PSL + vitamina C mostrou aumento estatístico ($p < 0,01$). Houve inclinação ao aumento da GSH em todos os grupos, mas a razão da GSH:GSSG nos grupos suplementados com vitamina C ficou menor (grupo PSL + vitamina C: - 16,4 SMD; grupo vitamina C: - 11,8 SMD), enquanto o grupo PSL apresentou uma relação GSH:GSSG maior após a suplementação (+ 3,8 SMD) (resultados sem significância estatística). Todos os grupos apresentaram inclinação ao aumento da atividade da GPx-1, mas o grupo PSL teve aumento mais expressivo (+ 16,8 SMD) quando comparado aos demais (grupo vitamina C: + 12,7 SMD e grupo PSL + vitamina C: + 12,0 SMD). A vitamina C teve aumento estatístico nos grupos suplementados com esta vitamina ($p < 0,05$). Houve inclinação para a diminuição de MDA em todos os grupos, mas aqueles suplementados com PSL tiveram valores mais expressivos (grupo PSL: - 15,3 SMD e grupo PSL + vitamina C: - 15,8 SMD) em comparação ao grupo vitamina C (- 4,4 SMD). **Conclusões:** Os resultados não demonstraram um melhor controle do EO no grupo suplementado com PSL + vitamina C, e sugerem um efeito pró-oxidante da vitamina C devido ao aumento significativo da concentração de GSSG, neste grupo. O presente estudo foi o primeiro a mostrar o efeito de tal suplementação em biomarcadores do EO nesta população. Mais estudos controlados, multicêntricos, maiores e de longo prazo são necessários.

Palavras-chave: hemodiálise, suplementação proteica, proteínas do soro do leite, ácido ascórbico, vitamina C, estresse oxidativo.

1. Introdução

Os pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) são caracterizados por um aumento prejudicial do estresse oxidativo (EO), o qual está relacionado ao agravamento progressivo da função renal e maiores taxas de morbimortalidade (EPIFÂNIO et al, 2018; LIAKOPOULOS et al, 2017)

Além de restabelecer o equilíbrio hidroeletrólítico, a filtração por HD remove antioxidantes e nutrientes menores solúveis em água, como a vitamina C (LIAKOPOULOS, 2017) e os aminoácidos (BORRELLI et al, 2011). Aliado a isto, a dietoterapia para pacientes em HD possui diversas restrições alimentares visando controlar, particularmente, a

ingestão de potássio e fósforo. E, fontes alimentares desses minerais também são ricas em antioxidantes (LIAKOPOULOS,2017) e nutrientes como vitamina C (frutas, vegetais e legumes) e proteína (carnes, leguminosas, ovos, leite e produtos lácteos) (VAZ et al, 2014). Do mesmo modo, a inflamação, a uremia, o próprio mecanismo de HD (LIAKOPOULOS,2017) e a perda de apetite (BOSSOLA et al, 2011) são fatores que contribuem progressivamente para o agravamento do EO. Assim, as intervenções nutricionais podem ser estratégias eficientes para controlar o EO (LIAKOPOULOS, 2017). Neste contexto, o antioxidante tiol não proteico mais abundante e de maior ação antioxidante presente em todos os tecidos de mamíferos é a glutatona (LU et al, 2013).

A síntese endógena de glutatona ocorre no citosol e é regulada pela disponibilidade do aminoácido precursor, a cisteína (LU et al, 2013; MEISTER; ANDERSON, 1983; RICHMAN; MEISTER, 1975). Deste modo, a suplementação de proteínas do soro do leite apresenta um papel importante como intervenção nutricional no controle do EO, particularmente, devido à presença de cisteína. (FALKOWSKI et al, 2018; IGNOWSKI et al, 2018; BUMRUNGPET et al, 2018; WINTER et al, 2017; CHENG et al, 2017; MORENO et al, 2005; GREY et al, 2003).

Além disso, outros compostos dietéticos podem contribuir indiretamente para a ação antioxidante da glutatona, realizada pela sua forma reduzida (GSH), como a vitamina C (FORMAN; ZHANG RINNA, 2009). A vitamina C é considerada a vitamina hidrossolúvel mais abundante com ação antioxidante e atua na reciclagem da molécula de vitamina E, prevenindo a peroxidação lipídica. No entanto, para manter sua ação antioxidante, a vitamina C precisa ser renovada e esse processo é realizado pela oxidação da GSH (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009) Assim, a GSH possivelmente está envolvida na manutenção das concentrações da vitamina C e E (SHANG et al, 2003).

Até o momento, o efeito da suplementação de proteínas do soro do leite e da vitamina C em biomarcadores de EO não foi descrito em pacientes em HD. Assim, o principal objetivo deste estudo piloto é avaliar o efeito das proteínas do soro do leite com / sem vitamina C em biomarcadores do EO em pacientes com DRC em HD.

2. Materiais e métodos

2.1 Delineamento de estudo

Este ensaio clínico foi um estudo piloto, randomizado e duplo-cego, com duração de 8 semanas em 2 clínicas de diálise (A e B) localizadas em

hospitais em Florianópolis, Brasil. A coleta de dados ocorreu de dezembro de 2018 a abril de 2019.

2.2 Pacientes

Os pacientes tornaram-se elegíveis com base nos critérios de inclusão: (1) idade ≥ 19 anos, (2) diagnóstico de DRC, (3) estar em HD por um período ≥ 2 meses e (4) frequência de HD de 2 (terça-feira e quinta-feira) ou 3 vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira). Além dos critérios de não inclusão: (1) alergia à proteína do leite; (2) suplementação, antes do estudo (≤ 2 meses), de antioxidantes (vitamina C ou E), aminoácidos/proteínas, n-acetilcisteína, cetoácidos ou tratamento com imunossupressores, (3) infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), (4) diagnóstico de câncer, insuficiência cardíaca avançada, doença pulmonar crônica ou doença hepática, (5) hospitalização, gravidez ou amamentação, (6) impossibilidade física ou psicológica para participar e (7) não ser capaz de compreender ou comunicar-se.

As características clínicas e demográficas foram coletadas e registradas em um formulário no momento do recrutamento (1 mês antes da suplementação). Todos os dados de caracterização foram obtidos a partir de prontuários, diálogos com os profissionais da clínica e com os próprios pacientes.

2.3 Intervenção nutricional

A suplementação foi administrada nas clínicas de diálise 3 vezes por semana (logo após a sessão de HD). Os pacientes que realizavam HD 2 vezes por semana foram orientados a consumir o conteúdo referente ao terceiro sachê semanal de suplementação em casa (final de semana).

Nas clínicas, os pesquisadores (MLM, ATS, RPM e CM) diluíram os suplementos em um copo escuro contendo 50,0 mL de água filtrada. Todos os suplementos eram solúveis em água, equivalentes em coloração e foram embalados em sachês idênticos. Os sachês eram metalizados no exterior e opacos no interior, minimizando a influência da luz para manter a estabilidade da vitamina C (CHANG; ISMAIL; DAUD, 2016).

Os grupos receberam um sachê contendo 20 g de módulo de PSL (grupo PSL), ou 20 g de placebo (farinha de arroz branca) com 0,25 g de vitamina C (grupo vitamina C), ou 20 g de módulo de PSL com 0,25 g de vitamina C (grupo PSL + vitamina C).

2.3.1 Proteínas do soro do leite (PSL)

O módulo proteico utilizado foi de proteínas isoladas do soro do leite, e cada dose para intervenção teve 20,0 g do módulo, equivalente a 19,8 g aminoácidos (tabela suplementar 1). Esta dose foi baseada em um estudo anterior, no qual observaram-se resultados favoráveis à diminuição do EO (SOHRABI et al, 2016). Como placebo, foram administrados 20,0 g de farinha de arroz branca. O placebo não continha Na, P, K, vitaminas C e E, e seu valor energético por dose foi equivalente ao das PSL suplementadas (tabela suplementar 2).

2.3.2 Vitamina C

A vitamina C usada neste estudo apresentou 95% de pureza, segundo laudo do farmacêutico responsável. A dose de 0,25 g foi escolhida com base em estudos anteriores com resultados contraditórios, porém sem prejuízo aos pacientes em HD (ABDOLLAHZAD et al, 2009; WHASHIO et al, 2008; RAMOS; MARTÍNEZ-CASTELAO, 2008; FUMERON et al, 2005). Além disso, para prevenir a oxalose, esta dose foi considerada segura (< 0,50 g / dia) (FOUQUE et al, 2007a).

2.3.3 Aderência

Para garantir a aderência, priorizou-se diluir e administrar os suplementos logo após a sessão de HD, na clínica de diálise. Os pacientes em HD 2 vezes por semana receberam orientação semanalmente para preparar e ingerir o conteúdo do terceiro sachê de suplementação em casa.

2.4 Controle bioquímico

Os indicadores bioquímicos (Kt/V, albumina, fósforo e potássio sérico) foram retirados dos prontuários dos pacientes.

2.5 Indicadores nutricionais

A população foi caracterizada no momento basal por múltiplos indicadores nutricionais.

Índice de massa corporal (IMC)

O IMC foi calculado pela equação: $IMC = \text{peso (kg)} / [\text{altura (m)}]^2$. O peso foi obtido após a sessão de HD do segundo dia de HD semanal, e foi aferido em balanças calibradas das clínicas de diálise. A estatura foi avaliada pelo estadiômetro Alturaexata®. As medidas foram aferidas de acordo com recomendações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995). Para os pacientes impossibilitados de se levantar, a estatura foi estimada pela altura do joelho (CHUMLEA et al, 1988), aferida por fita

inelástica (Cescorf Equipamentos para Esporte Ltda - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil). Por fim, considerou-se o IMC < 23 kg/m² para o diagnóstico de desnutrição (FOUQUE et al, 2007b).

Avaliação subjectiva global de 7 pontos (ASG-7p)

Este estudo considerou a ASG-7p proposta para indivíduos em diálise (CANUSA, 1996), validada especificamente para pacientes em HD (STEIBER et al, 2007) com adaptação para o português por Fetter et al (2014).

A ASG-7p contém informações sobre: peso/alteração de peso, consumo alimentar (proteína e energia), sintomas gastrointestinais, capacidade funcional e doenças e comorbidades relacionadas ao estado nutricional. Para cada categoria, uma pontuação variando de 1 a 7 pontos foi obtida. Além disso, o instrumento inclui exame físico que serve como complemento na reflexão para o diagnóstico final. Cada categoria foi avaliada subjetivamente, considerando a experiência dos pesquisadores previamente treinados.

Após a aplicação da 7p-SGA, as pontuações de cada item foram analisadas concomitantemente com o exame físico, para o diagnóstico final.

O diagnóstico obedece a pontuação: 1 a 2, desnutrição severa; 3 a 5, desnutrição leve a moderada; 6 a 7, risco muito leve de desnutrição a bem nutrido (CANUSA, 1996).

Índice geriátrico de risco nutricional (IGRN)

O IGRN foi calculado pela equação: $IGRN = (1,489 \times \text{albumina (g / L)} + (41,7 \times (\text{peso atual} / \text{peso ideal}))$ (BOUILLANNE et al, 2005). Como diagnóstico, o IGRN < 92 foi considerado desnutrição moderada a grave; IGRN de 92 a 98, baixo risco nutricional e IGRN > 98, sem risco nutricional (OLIVEIRA et al, 2015).

Força do aperto da mão (FAM)

A FAM foi aferida após a sessão de HD usando um dinamômetro Saehan® (SH 5001, Saehan 4 Corporation - Yangdeok-Dong, Masan, Coreia do Sul). As avaliações foram feitas no braço oposto ao do acesso vascular. Os pacientes estavam sentados, com os braços em adução e os cotovelos flexionados em um ângulo de 90 graus. E, foram aconselhados a realizar a força máxima apertando o dinamômetro, após incentivo verbal. O valor máximo atingido após três medições foi considerado na análise (SCHLÜSSEL et al, 2008). Os pontos de corte da FAM foram escolhidos com base em um estudo prévio com pacientes em HD que

demonstrou a associação com a desnutrição < 28,5 kg para homens e < 18,0 kg para mulheres (GARCIA et al, 2013).

Protein energy wasting (PEW)

Para o diagnóstico de PEW, os pacientes devem corresponder a, no mínimo, três dos quatro critérios: exame bioquímico, massa corporal, massa muscular e consumo alimentar (FOUQUE et al, 2007b). No presente estudo, o critério de consumo alimentar não foi considerado devido à falta dessa informação, referente aos 2 meses anteriores à suplementação.

Para o critério bioquímico, foram considerados os valores de albumina < 3,8 g/dL, e para o de massa corporal, IMC < 23 kg/m². Por fim, a área muscular do braço (AMB) foi considerada para o critério de massa muscular (BLACKBURN; THORNTON, 1979), quando diminuída em > 10%, comparando ao percentil 50 da população referência (FRISANCHO, 1974). A AMB foi calculada pela equação de Blackburn e Thornton (1979). A circunferência do braço foi aferida com fita inelástica (Cescorf Equipamentos para Esporte Ltda - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil) e a prega cutânea tricipital pelo adipômetro Lange® (Beta Technology Incorporated Cambridge, Maryland). Ambas as aferições foram realizadas conforme descrito por Lohman et al (1988).

2.6 Desfechos

O EO foi o desfecho, especificamente, os biomarcadores relacionados à glutatona: glutatona reduzida (GSH), glutatona oxidada (GSSH), relação GSH:GSSG, glutatona peroxidase (GPx-1), malondialdeído (MDA) e vitamina C. Para este propósito, as amostras de sangue foram coletadas antes do paciente se conectar à máquina de HD, no momento basal e final do estudo (sempre na 2ª sessão de HD da semana).

Coleta de sangue

O acesso da fístula ou cateter foi utilizado para coletar o sangue. O sangue foi coletado em dois tubos (4 mL cada) com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e um com heparina (4 mL), por enfermeiros/técnicos de enfermagem habilitados.

Decorrido até 1 hora da coleta, as amostras de sangue foram transportadas em isopor com gelo e armazenadas em microtubos em triplicata no freezer a - 80 °C. O armazenamento não excedeu 2 semanas e, especialmente para a vitamina C, as análises foram realizadas 1 dia após a coleta de sangue.

O sangue total foi utilizado para a análise de GSH e GSSG, o plasma para o MDA e a vitamina C e, por fim, o hemolisado para análise de GPx-1. Para GSH e GSSG, o sangue total foi dividido em alíquotas em microtubos contendo 100 µL de N-etilmaleimida (NEM) 310 mM por mL/sangue. O plasma foi obtido por centrifugação (1000 g durante 10 min, a 4°C). Para o hemolisado, foram utilizados 100 µL de hemácias e 1 mL de solução hemolisada (4 nM MgSO₄ e 1 nM de ácido acético). O mesmo protocolo foi seguido para a análise do material biológico de ambas as clínicas de diálise, no momento basal e final da suplementação. A alíquotagem e as análises do sangue foram realizadas no Laboratório de pesquisa de Lipídeos, Antioxidantes e Análises de Aterosclerose na Universidade Federal de Santa Catarina.

Glutathione reduzida (GSH)

A GSH foi determinada no sangue total por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo Giustarini et al (2013). Alíquotas do sangue total com EDTA tratado com NEM foram desproteinizadas pela adição de ácido tricloroacético a 15% e centrifugadas a 14.000 g à temperatura ambiente durante 2 min. O conteúdo de GSH foi quantificado através de uma curva padrão e análise de regressão linear. Os resultados foram expressos em µmol/g/Hb.

Glutathione oxidada (GSSG)

A GSSG foi determinada no sangue total por espectrofotometria UV-1800 - Shimadzu® (Kyoto, Japão), de acordo com os procedimentos descritos por Giustarini et al. (2013). Alíquotas do sangue total com EDTA tratado com NEM foram desproteinizadas e centrifugadas como descrito na metodologia da GSH. A cinética da reação foi monitorada a 412 nm à temperatura ambiente. Os resultados foram expressos como nmol/g/Hb.

Razão GSH:GSSG

A razão GSH:GSSG foi calculada pela fórmula: GSH (µmol/g/Hb) / GSSG (nmol/g/Hb).

Glutathione peroxidase (GPx-1)

A atividade de GPx-1 foi analisada de acordo com Wendel (1981), monitorizando a oxidação do fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenina (NADPH) na presença do peróxido de hidrogênio. A absorbância foi medida a 340 nm em um leitor de microplacas (*Epoch-Biotek*

Instruments®, Winooski, Vermont, EUA), usando o software GEN 5®. Os resultados foram expressos como U/mg Hb.

Malondialdeído (MDA)

O MDA foi analisado em alíquotas do plasma em EDTA de acordo com Domijan et al (2014). As análises foram realizadas em CLAE com injetor manual e detector UV-Visible DAD SPD-M20A (Shimadzu, Kyoto, Japão). A quantificação de MDA foi feita por meio da curva padrão e análise de regressão linear. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$.

Vitamina C

A vitamina C foi analisada em alíquotas do plasma em heparina de acordo com Emadi-Konjin (2005). As análises foram realizadas em CLAE com injetor manual e detector UV-Visible DAD SPD-M20A (Shimadzu, Kyoto, Japão). O teor de vitamina C foi quantificado por curva padrão e análise de regressão linear. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$.

2.7 Amostragem

A amostragem foi não probabilística por conveniência, de acordo com os critérios de elegibilidade.

2.7.1 Randomização e estratificação

Os pacientes foram randomizados em três grupos (1: 1: 1) e estratificados de acordo com a frequência de HD, separadamente em cada clínica. Essa característica de estratificação foi escolhida, pois identificaram-se padrões bioquímicos distintos entre os dois grupos de frequência de HD (HWANG et al, 2016).

Os pacientes elegíveis foram separados em dois estratos: (1) HD 2 vezes por semana e (2) HD 3 vezes por semana. Em seguida, blocos equivalentes em ambos os estratos foram criados em cada grupo. Posteriormente, códigos sequenciais foram gerados para cada paciente no programa Microsoft Office Excel® pelas pesquisadoras MLM e ATS. Por fim, os pacientes foram designados para cada grupo por uma ferramenta desenvolvida no Microsoft Office Excel®, que usa linguagem de programação VB (Visual Basic) e seleciona aleatoriamente indivíduos de cada estrato, dentro do valor mínimo e máximo.

2.7.2 Cegamento

Duas etapas configuraram este estudo como duplo-cego: (1) o cegamento dos participantes pela utilização de sachês idênticos e pela similaridade dos suplementos quanto à cor e textura e (2) o cegamento do pesquisador

responsável pela análise estatística por desconhecer a distribuição dos códigos randomicamente em cada grupo.

2.8 Ética

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CAAE: 76599817.6.0000.0121, número do parecer: 2.537.090) e pelo Comitê de Ética Médica dos dois hospitais. E, está inscrito no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos sob o número RBR-65b8f4.

2.9 Análise estatística

Para as análises estatísticas, o teste não paramétrico ANOVA foi utilizado para detectar diferenças entre os três grupos no momento basal e intragrupo no momento final, seguido pelo pós-teste não paramétrico de comparação múltipla de Dunn, cujo objetivo foi verificar diferenças em uma amostra pequena. Os valores foram expressos como *score mean difference* (SMD), indicando a diferença entre subgrupos do momento basal (t0) e final (t1) de cada um dos três grupos suplementados, assim, ele expressa uma medida de efeito pela média do escore de classificação das observações do subgrupo t0 menos a do subgrupo t1, de cada grupo (DUNN, 1961).

O teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliar mudança no controle bioquímico e indicadores nutricionais intragrupo para variáveis quantitativas e o teste de qui-quadrado de McNemar para as variáveis qualitativas. Para a comparação entre as clínicas de diálise (A e B), foi utilizado o teste de Mann-Whitney nas variáveis quantitativas.

A análise das diferenças intra e intergrupos em variáveis qualitativas foi realizada pelo teste qui-quadrado de Pearson. As variáveis quantitativas foram expressas como mediana e intervalos interquartis (IQ25; IQ75) e as quantitativas como valor absoluto e percentual.

Os resultados foram exibidos como gráficos boxplot, e nestes, o grupo vitamina C foi colorido diferentemente dos demais grupos, pois durante o processo de randomização cega, sua codificação era grupo 1 (o primeiro grupo), deste modo, o pós-teste começou as análises intergrupos pelo grupo vitamina C no momento inicial.

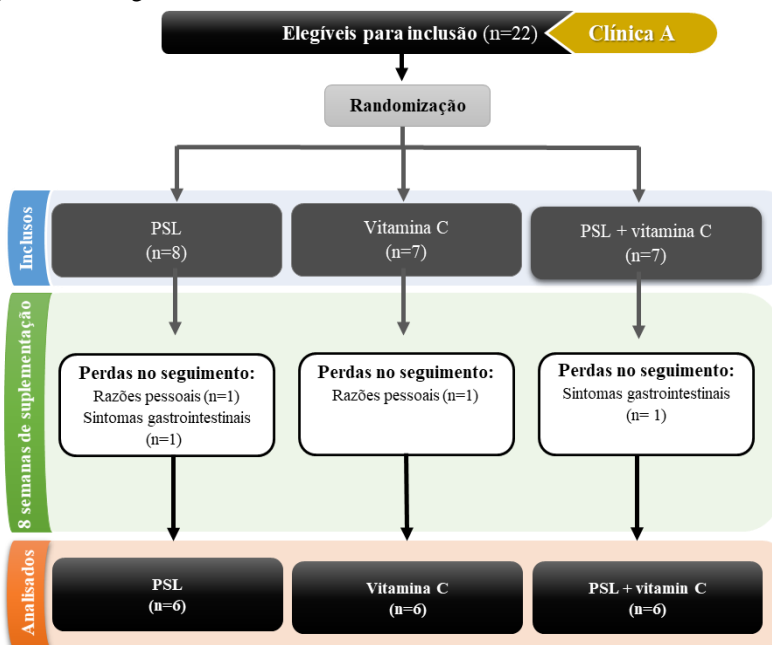
Todas as análises foram realizadas no programa estatístico Stata 15.1 ® (Stata Corporation, College Station, Estados Unidos) e valores de $p \leq 0,050$ foram considerados como estatisticamente significativos.

3. Resultados

3.1 Pacientes

A Clínica A completou o estudo com 6 pacientes por grupo (fig. 1), apresentando 18,2% (n = 4) de perdas durante o seguimento. A Tabela 1 mostra as características basais nos três grupos, com amostra total de 18 pacientes. Na clínica A, a maioria dos pacientes era do sexo feminino (72,2%, n = 13), com idade média de 55 (50 - 62) anos e o amostra foi estratificada adequadamente nos grupos pela frequência de HD (tabela 1). Na amostra total (n=18), 44,0% (n = 8) apresentaram nefropatia hipertensiva e 33,3% (n = 6) nefropatia hipertensiva + diabética, como as principais causas primárias de DRC.

Figura 1. Fluxograma da amostra na clínica A.

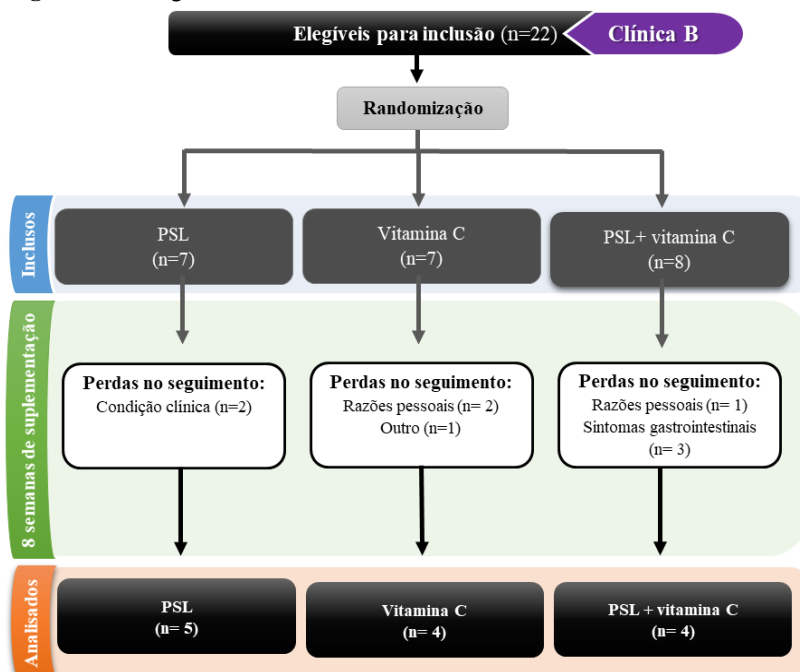


PSL: proteínas do soro do leite

A clínica B não conseguiu uma estratificação adequada pela frequência de HD no grupo PSL e PSL + Vitamina C, devido às perdas durante o seguimento (fig. 2). Assim, esses grupos concluíram o estudo com 80,0%

(n = 4) dos pacientes em HD 3 vezes por semana e 75,0% (n = 3) em HD 2 vezes por semana, respectivamente (tabela suplementar 3).

Figura 2. Fluxograma da amostra na clínica B.



PSL: proteínas do soro do leite

Como a estratificação foi priorizada neste protocolo de estudo, a clínica B foi excluída das análises finais, razões de exclusão e características basais estão disponíveis em materiais suplementares (tabelas suplementares 3 e 4). Além disso, houve diferença significativa em indicadores bioquímicos entre a clínica A e B no início do estudo (tabela suplementar 5), o que inviabilizou a soma das amostras provenientes das duas clínicas.

3.2 Dados basais

A Tabela 1 mostra as características basais entre os três grupos da clínica A. Não houve diferenças nas características clínicas entre os grupos.

Tabela 1. Características clínicas e nutricionais no momento basal da amostra.

	Grupos			Valor de p
	PSL (= 6)	Vitamina C (n= 6)	PSL + vitamina C (n= 6)	
Sexo				
Feminino	4 (66,7%)	4 (66,7%)	5 (83,3%)	0,758 ^a
Idade (anos)	61,0 (27,0-66,0)	54,0 (53,0-55,0)	56,0 (50,0-62,0)	0,727 ^b
Tabagismo				
Ex-fumante	2 (33,3%)	3 (50,0%)	2 (33,3%)	
Fumante	0 (0,0%)	1 (16,7%)	0 (0,0%)	0,544 ^a
Nunca fumou	4 (66,7%)	2 (33,3%)	4 (66,7%)	
Causa primária da DRC				
Nefropatia hipertensiva	1 (16,7%)	2 (33,3%)	5 (83,3%)	
Nefropatia diabética	1 (16,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,220 ^a
Nefropatia hipertensiva + diabética	3 (50,0%)	2 (33,3%)	1 (16,7%)	
Outro	1 (16,7%)	2 (33,3%)	0 (0,0%)	
Tempo em HD (meses)	22,0 (12,0-28,0)	11,5 (7,0-15,0)	23,0 (15,0-31,0)	0,130 ^b
Frequência de HD (semanal)				
2 vezes	3 (50,0%)	4 (66,7%)	3 (50,0%)	0,799 ^a
3 vezes	3 (50,0%)	2 (33,3%)	3 (50,0%)	
<i>Indicadores nutricionais</i>				
IMC (kg/m ²)	24,4 (19,0-31,6)	28,4 (25,0-31,8)	28,7 (26,2-37,0)	0,484 ^b
< 23 kg/m²	3 (50,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,027 ^{a*}
ASG-7p (pontos)	5,5 (5,0-7,0)	5,0 (5,0-6,0)	5,0 (5,0-6,0) [§]	0,753 ^b
Risco muito leve de desnutrição a bem nutrido (6 ou 7)	3 (50,0%)	2 (33,3%)	2 (33,3%)	
Desnutrição leve a moderada (3 a 5)	3 (50,0%)	4 (66,7%)	4 (66,7%)	0,792 ^b
Desnutrição severa (1 ou 2)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	

(Continuação) Tabela 1. Características clínicas e nutricionais no momento basal da amostra.

	Grupos			Valor de p
	PSL (n= 6)	Vitamina C (n= 6)	PSL + vitamina C (n = 6)	
IGRN (pontos)	97,5 (87,4-107,7)	104,0 (100,8-106,7)	104,2 (95,7-120,1)	0,547 ^b
Sem risco de desnutrição (> 98)	3 (50,0%)	5 (83,3%)	4 (66,6%)	
Baixo risco de desnutrição (92 a 98)	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1 (16,7%)	0,736 ^a
Desnutrição moderada a severa (< 92)	2 (33,3%)	1 (16,7%)	1 (16,7%)	
FAM (kg)	22,0 (16,0-22,0) [§]	24,0 (24,0-36,0)	24,0 (20,0-24,0)	0,280 ^b
Mulheres < 18.0 kg	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1 (16,7%)	0,801 ^a
Homens < 28.5 kg	1 (16,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
PEW	3 (50,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,020 ^{a*}

Nota: Valores para variáveis categóricas foram expressos com valor absoluto (porcentagem); valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75), §: dado de 1 paciente faltando. **Abreviação:** PSL: Proteínas do soro do leite; DRC: Doença renal crônica; HD: hemodiálise; IMC: índice de massa corporal; ASG-7p: Avaliação subjetiva global de 7 pontos; IGRN: Índice geriátrico de risco nutricional; FAM: Força de aperto da mão; PEW: *Protein energy wasting*. **Análise estatística:** ^a: Qui-quadrado de Pearson; ^b: ANOVA não paramétrica; * p < 0.050.

De acordo com indicadores nutricionais, a amostra total (n = 18) apresentou mediana do IMC de 28,47 (24,98-31,76) kg/m² e a maioria dos pacientes estavam > 23,0 kg/m² (83,3%, n = 15). A pontuação mediana da ASG-7p foi de 5,0 (5,0-6,0), destes, 61,1% (n = 11) foram diagnosticados com desnutrição leve a moderada e 38,9% (n = 7) com risco muito leve de desnutrição a bem nutrido.

A pontuação mediana do IGRN foi de 103,38 (91,84-107,73), dos quais, 66,7% (n = 12) não apresentaram risco de desnutrição, 11,1% (n = 2) estavam com baixo risco e 22,2% (n = 4) apresentavam desnutrição moderada a severa. A mediana da FAM foi de 32,0 (30,0-36,0) kg e 22,0 (20,0-24,0) kg em homens e mulheres, respectivamente. Além disso, o PEW foi diagnosticado em 3 pacientes (18,8%). A Tabela 1 mostra diferenças significativas entre os grupos no diagnóstico de desnutrição pela classificação do IMC (p = 0,027) e PEW (p = 0,020), devido a 50,0%

(n = 3) dos pacientes do grupo PSL apresentarem características de desnutrição nas duas condições.

A tabela 2 mostra os indicadores de controle bioquímico (Kt/V, albumina, fósforo e potássio séricas) e biomarcadores do EO (GSH, GSSG, GSH:GSSG, GPx-1, MDA e vitamina C) no momento basal.

Tabela 2. Indicadores basais de controle bioquímico e biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes por grupo.

	Grupos			Valor de p
	PSL (n= 6)	Vitamina C (n= 6)	PSL + vitamina C(n=6)	
<i>Controle bioquímico</i>				
Adequação de diálise (Kt/V)	1,49 (1,27-1,68)	1,38 (1,33-1,48)	1,49 (1,27-1,68)	0,308
Albumina (g/dL)	3,3 (3,3-3,5)	3,3 (3,1-3,6)	3,4 (2,9-3,5)	0,930
Fósforo (mg/dL)	5,45 (4,7-5,8)	5,7 (5,2-5,9)	6,65 (5,5-7,0)	0,132
Potássio (mEq/L)	5,5 (5,0-5,8)	4,55(3,9-5,1)	5,35 (4,8-6,0)	0,259
<i>Biomarcadores do EO</i>				
<i>Sangue total</i>				
GSH (µmol/g Hb)	6,65 (6,21-6,91)	6,38 (5,56-7,10)	5,77 (5,04-6,37)	0,103
GSSG (nmol/g Hb)	18,22 (10,31-22,97)	14,13 (8,70-18,85)	8,15 (2,30-13,25)	0,074
GSH:GSSG	0,35 (0,30-0,63)	0,45 (0,40-0,78)	0,75 (0,40-2,40)	0,100
<i>Hemácias</i>				
GPx-1 (U/mg Hb)	3,45 (2,15-4,38)	4,18 (2,43-5,96)	5,12 (1,83-7,91)	0,587
<i>Plasma</i>				
MDA (µM)	0,79(0,73-0,90)	0,78 (0,75-0,83)	0,81 (0,78-0,90)	0,552
Vitamina C (µM)	19,7 (18,71-21,35)	20,21 (18,97-21,56)	19,30 (18,73-20,88)	0,692

Nota: Valores para variáveis categóricas estão expressos com valor absoluto (porcentagem); valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75). **Abreviação:** PSL: proteínas do soro do leite; EO: estresse oxidativo; GSH: glutatona reduzida; GSSG: glutatona oxidada; Hb: hemoglobina MDA: malondialdeído; GPx-1: glutatona peroxidase-1. **Análise estatística:** ANOVA não paramétrica.

Entre a amostra total (n = 18), a mediana de Kt/V foi 1,44 (1,33 - 1,69) e de albumina: 3,35 (3,20 - 3,50) g/dL. Valores medianos de fósforo e potássio séricos foram de 5,75 (5,20 - 6,40) mg/dL e 5,20 (4,70 - 5,80) mEq/L, respectivamente. Nos biomarcadores da GSH, a amostra total (n = 18) apresentou medianas no MDA de 0,80 (0,76-0,84) µM; vitamina C de 19,72 (18,91-21,06) µM, GSH de 6,31 µmol/g Hb (5,60-6,88); GSSG de 11,84 (9,19-18,15) nmol / g Hb; razão GSH:GSSG de 0,45 (0,40-0,70) e GPx-1: 3,82 (2,32-5,94) U / mg Hb. Não houve diferenças estatísticas intergrupos nas características basais de controle bioquímico de EO (tabela 2).

3.3 Perdas no seguimento

A tabela 3 e a tabela suplementar 4 apresentam os motivos para a exclusão de pacientes ao longo das 8 semanas de suplementação, na clínica A e B (respectivamente). Os pacientes da clínica A e B foram somados no momento basal perfazendo, no total, 44 indivíduos (22 em cada clínica). Os principais motivos para a exclusão de pacientes em ambas as clínicas durante o seguimento foram: condição clínica (n = 2) no grupo PSL, razões pessoais (n = 3) (principalmente devido ao sabor, n = 2) no grupo da vitamina C e sintomas gastrointestinais (n = 4) no grupo PSL + vitamina C.

Tabela 3. Razões para a exclusão de pacientes durante a suplementação de 8 semanas na clínica A.

	Grupos		
	PSL (n= 2)	Vitamina C (n= 1)	PSL + vitamina C (n= 1)
<i>Pessoal</i>			
Sabor	1 (50,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Ausência na coleta de sangue	0 (0,0%)	1 (100,0%)	0 (0,0)
<i>Sintomas gastrointestinais</i>			
Nausea e vômito	1 (50,0%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)

Nota: Valores para variáveis categóricas foram estão expressos com valor absoluto (porcentagem). **Abreviação:** PSL: proteínas do soro do leite.

3.4 Indicadores nutricionais

Como esperado, os indicadores nutricionais não mostraram mudanças significativas após 8 semanas de suplementação (tabela suplementar 6).

3.5 Controle bioquímico

A tabela suplementar 7 mostra os parâmetros de controle bioquímico (kt/V, albumina, fósforo e potássio) após 8 semanas de suplementação. Não foram observadas mudanças significativas.

3.6 Desfechos

A Tabela 4 demonstra o efeito da suplementação em biomarcadores de EO nos pacientes por grupo. De acordo com o SMD, todos os grupos tiveram uma inclinação para aumentar as concentrações de GSSG e GSH no momento final (figura 3), mas entre eles, apenas o grupo PSL + vitamina C apresentou resultado estatístico no aumento do GSSG ($p = 0,005$) (figura 3B).

Além disso, os grupos PSL + vitamina C e vitamina C mostraram uma razão GSH:GSSG menor (- 16,4 SMD e - 11,8 SMD, respectivamente),

enquanto o grupo PSL apresentou uma relação maior da GSH:GSSG após a suplementação (+ 3,8 SMD) (fig. 4A) (tabela 4). Todos os grupos apresentaram aumento não significativo na atividade da GPx-1, mas o grupo PSL mostrou melhor resultado quando comparado aos demais grupos (não significativo) (fig. 4B) (tabela 4).

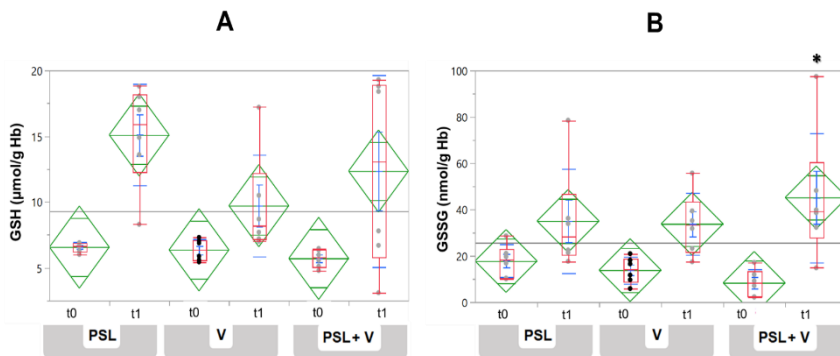
Ainda, todos os grupos apresentaram aumento na concentração plasmática de vitamina C (figura 5A), mas somente os grupos PSL + vitamina C e vitamina C aumentaram significativamente (tabela 4). Por fim, todos os grupos diminuíram as concentrações de MDA, mas os grupos suplementados com PSL tiveram resultados mais expressivos (grupo PSL: -15,3 SMD e grupo PSL + vitamina C: -15,8 SMD) do que o grupo vitamina C (- 4,4 SMD) (não significativos) (figura 5B, tabela 4).

Tabela 4. Efeito da suplementação em biomarcadores do estresse oxidativo na amostra.

Momento	Grupos											
	PSL (n= 6)				Vitamina C (n= 6)				PSL + vitamina C (n= 6)			
	Basal	Final	SMD	p	Basal	Final	SMD	p	Basal	Final	SMD	p
Sangue total												
GSH ($\mu\text{mol/g Hb}$)	6,65 (6,21-6,91)	15,95 (12,28-18,20)	+ 16,1	0,123	6,38 (5,56-7,10)	8,20 (7,15-12,18)	+11,8	0,776	5,77 (5,04-6,37)	13,10 (5,80-18,92)	+16,9	0,081
GSSG (nmol/g Hb)	18,22 (10,31-22,97)	28,20 (20,45-46,77)	+ 9,8	1,000	14,13 (8,70-18,85)	33,50 (21,75-43,48)	+14,8	0,221	8,15 (2,30-13,25)	39,20 (27,92-60,50)	+21,8	0,005*
GSH:GSSG	0,35 (0,30-0,63)	0,55 (0,35-0,65)	+3,8	1,000	0,45 (0,40-0,78)	0,30 (0,25-0,43)	-	0,785	0,75 (0,40-2,40)	0,30 (0,18-0,50)	- 16,4	0,101
Hemácias												
GPx-1 (U/mg Hb)	3,45 (2,15-4,38)	11,90 (5,50-21,80)	+16,8	0,085	4,18 (2,43-5,96)	11,05 (7,15-13,78)	+12,7	0,556	5,12 (1,83-7,91)	15,40 (5,03 - 26,50)	+12,0	0,728
Plasma												
MDA (μM)	0,79 (0,73-0,90)	0,40 (0,38-0,50)	-15,3	0,170	0,78 (0,75-0,83)	0,50 (0,40-1,7)	- 4,4	1,000	0,81 (0,78-0,90)	0,35 (0,25-0,65)	- 15,8	0,139
Vitamin C (μM)	19,75 (18,71-21,35)	32,45 (29,37-36,30)	+15,3	0,176	20,21 (18,97-21,56)	35,40 (31,15-40,80)	+18,2	0,042*	19,30 (18,73-20,88)	33,40 (30,18-49,35)	+20,0	0,012*

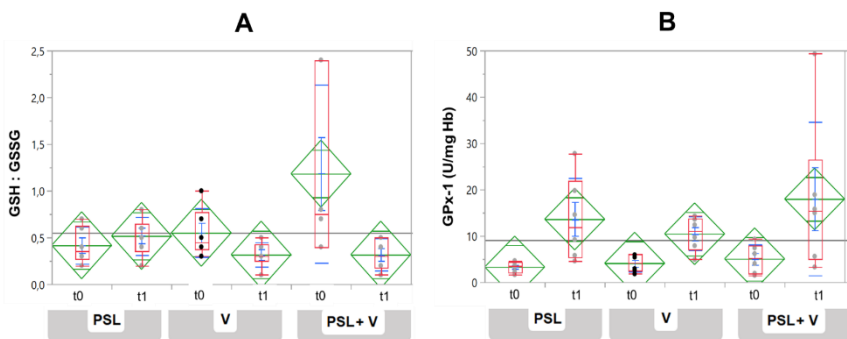
Nota: valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75). **Abreviação:** PSL: proteínas do soro do leite; SMD: score mean difference; GSH: glutatona reduzida; GSSG: glutatona oxidada; Hb: hemoglobina MDA: malondialdeído; GPx-1: glutatona peroxidase-1. **Análise estatística:** ANOVA não paramétrica, seguida do teste de comparação múltipla de Dunn; * $p < 0,050$.

Figura 3. Gráfico *boxplot* das concentrações de **glutaciona reduzida (GSH, A)** e **oxidada (GSSG, B)** nos três grupos, nos momentos basal (t0) e final (t1).



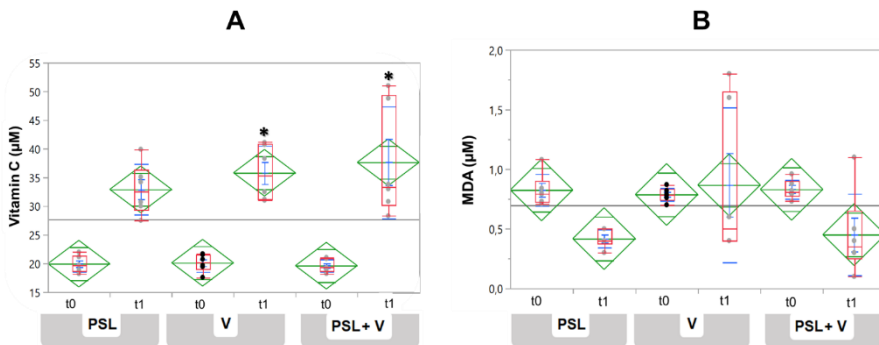
Nota: O grupo da vitamina C (V) no início do estudo (t0) está colorido diferente dos demais grupos e momentos, pois quando o pós-teste foi aplicado, este grupo no t0 foi considerado para iniciar as comparações. **Abreviaturas:** PSL: proteínas do soro do leite; V: vitamina C. **Análise estatística:** pós teste de comparação múltipla de Dunn; *

Figura 4. Gráfico *boxplot* da **razão glutaciona reduzida e oxidada (GSH: GSSG, A)** e da **atividade da glutaciona peroxidase (GPx-1, B)** nos três grupos, nos momentos basal (t0) e final (t1).



Nota: O grupo da vitamina C (V) no início do estudo (t0) está colorido diferente dos demais grupos e momentos, pois quando o pós-teste foi aplicado, este grupo no t0 foi considerado para iniciar as comparações. **Abreviaturas:** PSL: proteínas do soro do leite; V: vitamina C. **Análise estatística:** pós teste de comparação múltipla de Dunn.

Figura 5. Gráfico *boxplot* das concentrações de vitamina C (A) e do malondialdeído (MDA, B) nos três grupos, nos momentos basal (t0) e final (t1).



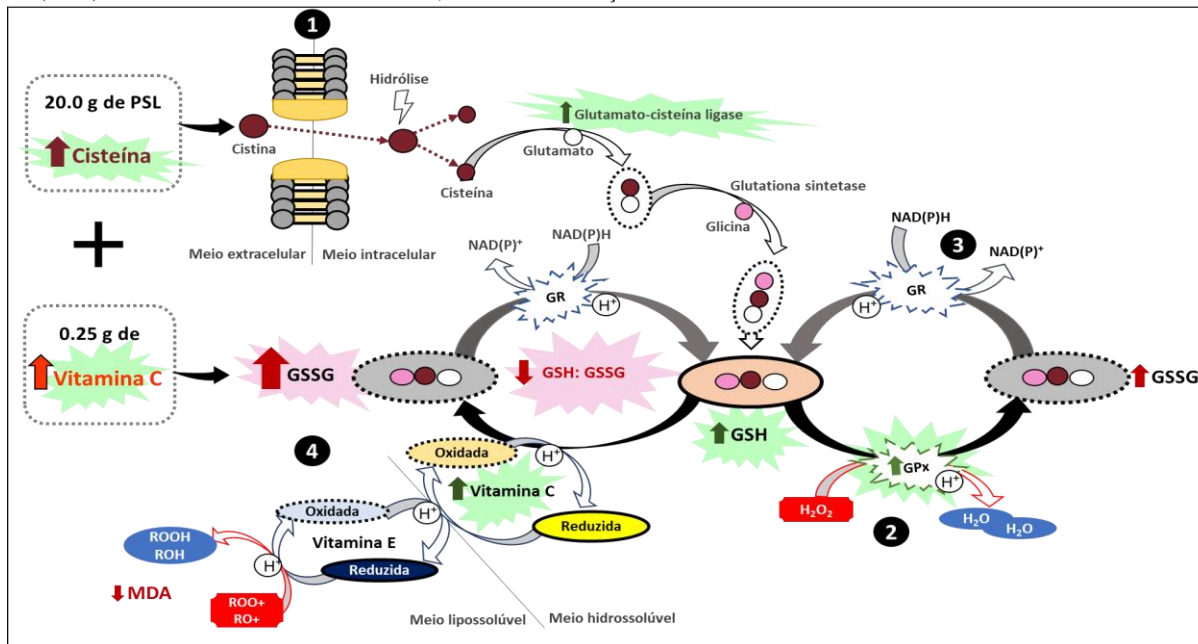
Nota: O grupo da vitamina C (V) no início do estudo (t0) está colorido diferente dos demais grupos e momentos, pois quando o pós-teste foi aplicado, este grupo no t0 foi considerado para iniciar as comparações. **Abreviaturas:** PSL: proteínas do soro do leite; V: vitamina C. **Análise estatística:** pós teste de comparação múltipla de Dunn; * $p < 0,050$.

4. Discussão

Este estudo clínico piloto foi bem tolerado por pacientes em HD na clínica A e a nossa hipótese da ação sinérgica positiva da suplementação de PSL e da vitamina C em biomarcadores do EO não foi confirmada.

O grupo PSL + vitamina C não apresentou uma razão GSH:GSSG maior que os demais grupos após 8 semanas de suplementação, pelo contrário, aumentou significativamente a concentração de GSSG e demonstrou inclinação para diminuir a razão GSH:GSSG. Entretanto, destaca-se que este grupo apresentou uma razão GSH:GSSG superior aos demais no momento basal (grupo PSL + vitamina C: 0,75; grupo PSL: 0,35; grupo vitamina C: 0,45), o que pode indicar um melhor controle do EO (LU, 2013). Deste modo, mesmo com o maior controle do EO na GSH:GSSG, o grupo PSL + vitamina C apresentou a maior diminuição desta razão após a suplementação (- 16,4 SMD), assim, sugere-se o possível efeito pró-oxidante da vitamina C em biomarcadores do EO neste grupo (fig. 6).

Figura 6. Mecanismo hipotético da suplementação de proteínas do soro do leite (PSL) e vitamina C em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise: (1) As PSL fornecem cisteína, que é instável extracelularmente, onde se auto oxida à cistina. Após a entrada na célula, a cistina é rapidamente hidrolisada para formar duas moléculas de cisteína. Em seguida, ocorrem as reações sequenciais para adicionar cisteína e glutamato pela glutamato-cisteína ligase, seguida pela adição de glicina, catalisada pela glutatona sintetase para formar a glutatona (GSH). (2) A concentração de GSH pode aumentar e melhorar a sua ação antioxidante local, por meio de duas glutatona (2 GSH) inibindo diretamente uma molécula de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) e formando 2 moléculas de água ($2 H_2O$) e 1 de glutatona oxidada (1 GSSG), reação catalisada pela glutatona peroxidase (GPx). (3) A GSSG é reduzida novamente a 2 GSH, pela enzima glutatona redutase (GR) usando a molécula NAD(P)H. (4) A suplementação de vitamina C melhora a concentração plasmática dessa vitamina, o que pode aumentar o seu mecanismo de reciclagem pela oxidação de GSH, produzindo mais GSSG. No entanto, a reciclagem de vitamina E e a atividade de GR podem não estar aumentando proporcionalmente, resultando em um pequeno decréscimo na concentração de malondialdeído (MDA) e uma razão mais oxidada de GSH:GSSG, devido a uma formação excessiva de GSSG.



PSL: Proteínas do soro do leite; GR: glutatona redutase; GPx: glutatona peroxidase; GSH: glutatona reduzida; GSSG: glutatona oxidada; MDA: malondialdeído.

A síntese endógena da GSH *in vivo* ocorre por duas etapas sequenciais, com atividade enzimática, na (1) formação de γ -glutamilcisteína a partir de glutamato e cisteína e, (2) formação de GSH a partir de γ -glutamilcisteína e glicina. Na primeira etapa, a enzima responsável, a glutamato-cisteína ligase, tem sua atividade modulada pela disponibilidade de cisteína, que desempenha ação limitadora essencial na síntese da GSH (LU, 2013; MEISTER; ANDERSON, 1983; RICHMAN; MEISTER, 1975).

As PSL fornecem cisteína, que é instável no meio extracelular onde se auto oxida prontamente à cistina. Após a entrada na célula, a cistina é rapidamente hidrolisada para formar duas moléculas de cisteína, que podem, então, participar da biossíntese de GSH (FALKOWSKI et al, 2018; IGNOWSKI et al, 2018; BUMRUNGPET et al, 2018; WINTER et al, 2017; CHENG et al, 2017; MCPHERSON; HARDY, 2011; MORENO et al, 2005; KENT; HARPER; BOMSER, 2003; GREY et al, 2003).

Quando a cisteína é suplementada de forma isolada, ela é preferencialmente utilizada como substrato pelo cólon, estômago, pâncreas e baço, sugerindo que a cisteína dietética contida nos peptídeos e proteínas (como nas PSL) seja mais efetiva no aumento do metabolismo da cisteína e de suas funções específicas, como a biossíntese GSH (MCPHERSON; HARDY, 2011).

A ação antioxidante direta da GSH é desempenhada pela a atividade da GPx. Esta enzima catalisa a neutralização do peróxido de hidrogênio e gera água e GSSG, que é posteriormente reduzida novamente a GSH pela ação da glutathione reductase (LU, 2013; MEISTER; ANDERSON, 1983; RICHMAN; MEISTER, 1975).

Estudos *in vitro* evidenciam a relação de PSL com a GSH, preservando ou aumentando significativamente a sua concentração (WINTER et al, 2017; CHENG et al, 2017; KENT; HARPER; BOMSER, 2003). Além disso, em experimentos com ratos e camundongos foi observado o mesmo efeito (FALKOWSKI et al, 2018; IGNOWSKI et al, 2018). Em ensaios clínicos, os resultados corroboram os achados *in vitro* e experimentais. Em crianças portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV), observou-se que as PSL, além de estimular a síntese de GSH, possivelmente estariam associadas à menor ocorrência de outras infecções (MORENO et al, 2005). Com a suplementação em pacientes com câncer, também houve aumento nas concentrações de GSH e melhora do estado nutricional e imunológico durante o tratamento quimioterápico (BUMRUNGPET et al, 2018). Além disso, na fibrose

cística foi verificado o aumento de GSH e a diminuição do EO em pacientes suplementados (GREY et al, 2009).

Por sua vez, em pacientes com DRC em HD não há estudos que analisaram a suplementação de PSL e biomarcadores da glutathione. Portanto, compreende-se que a cisteína obtida pela suplementação de PSL pode, também, aumentar a síntese endógena de GSH em outras doenças crônicas (MCPHERSON; HARDY, 2011).

Todavia, no presente estudo, o grupo da vitamina C também aumentou a concentração de GSH (+11,8 SMD), mas esse aumento foi menor do que nos grupos suplementados com PSL (cerca de +16,0 SMD). Essa elevação da GSH no grupo vitamina C, pode ter ocorrido em função da maior disponibilidade dessa vitamina aumentar sua reciclagem pela ação da GSH, o que pode ter influenciado positivamente esse acréscimo na concentração da GSH (SHANG, 2003).

Observou-se também uma inclinação a diminuir a relação GSH:GSSG nos grupos suplementados com vitamina C (grupo PSL + vitamina C = - 16,4 SMD; grupo vitamina C = - 11,8 SMD), o que não foi encontrado no grupo PSL (+3,8 SMD).

Essa condição foi apresentada em estudo similar com pacientes em HD, quando foi suplementado: 0,25 g de vitamina C, 3 vezes por semana, após a sessão de HD por 8 semanas, e observou-se a mesma tendência de diminuir a razão GSH:GSSG, além de, aumentar discretamente a concentração de deidroascorbato (forma oxidada de vitamina C) (FUMERON et al, 2005). Portanto, os possíveis efeitos pró-oxidantes da vitamina C não são excluídos.

A vitamina C age como um pró-oxidante devido a reação de Fenton, que converte o Fe^{3+} em Fe^{2+} e catalisa a formação de espécies reativas de oxigênio (HERBERT, 1996; MINETTI et al, 1992). Entre os pacientes em HD, a administração intravenosa de compostos com ferro é uma prática comum para o tratamento da anemia, sendo bem reconhecida a sua relação com o EO (LIAKOPOULOS et al, 2017). No presente estudo, nenhum paciente recebeu esse tratamento intravenoso nos dias de coleta de sangue (no momento basal e final).

Foi observada uma maior tendência ao aumento da atividade da GPx-1 no grupo de PSL (+16,8 SMD) quando comparado aos grupos suplementados com vitamina C (cerca de +12,0 SMD) (não significativo estatisticamente), o que sugere uma inclinação para uma melhor resposta na ação antioxidante direta da GSH, uma vez que, essa enzima atua especificamente na neutralização do peróxido de hidrogênio (LU, 2013).

Como esperado, os grupos suplementados com vitamina C apresentaram um aumento significativo na concentração plasmática desta

vitamina, porém, o grupo PSL mostrou aumento expressivo desta vitamina (não estatístico), o que pode ter refletido o aumento no consumo recente de alimentos fontes de vitamina C (CHAZOT; KOPPLE, 2013; DEGHAN et al, 2007). Os três grupos iniciaram o estudo com concentrações de vitamina C plasmática abaixo de valores consideráveis adequados de 22 a 85 $\mu\text{mol/L}$ (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000). O grupo PSL apresentou mediana de 19,75 $\mu\text{mol/L}$, grupo vitamina C de 20,21 $\mu\text{mol/L}$ e grupo PSL + vitamina C de 19,30 $\mu\text{mol/L}$. Entretanto, compreende-se que pacientes em HD podem mostrar frequentemente valores $< 10 \mu\text{mol/L}$ de vitamina C plasmática (WANG et al, 1999; JACKSON et al, 1995). Ainda, estudo com 91 pacientes indicou que concentrações plasmáticas baixas de vitamina C foram significativamente associadas à presença de comorbidades e mortalidade na HD (DASHTI-KHAVIDAKI et al, 2011). Após 8 semanas de suplementação, todos os grupos ficaram dentro do intervalo considerável adequado com mediana de 32,45 $\mu\text{mol/L}$, 35,40 $\mu\text{mol/L}$ e 33,40 $\mu\text{mol/L}$ nos grupos PSL, vitamina C e PSL + vitamina C (respectivamente).

No entanto, o grupo vitamina C apresentou uma menor inclinação para diminuir a concentração de MDA (- 4,4 SMD) quando comparado aos grupos suplementados com PSL (cerca de -15,0 SMD), sugerindo uma tendência ao aumento da ação antioxidante da vitamina E (indiretamente) pela reciclagem de vitamina C (diretamente), quando houve a suplementação com as PSL. Além disso, a suplementação de vitamina C poderia estar facilitando reações de oxidação na ausência da vitamina E (GIULIVI; CADENAS, 1993).

Ensaio clínico com a suplementação oral de vitamina C analisando o EO em pacientes em HD, mostraram resultados contraditórios em relação ao efeito dose-dependente, duração e momento da suplementação (LIAKOPOULOS et al, 2017). Abdollahzad et al (2009) administraram 0,25 g de vitamina C, 3 vezes por semana por 12 semanas e observaram uma diminuição da concentração de MDA e aumento na vitamina C plasmática. O mesmo resultado foi observado no estudo de Candan et al (2002), quando 0,25 g de vitamina C foi suplementada diariamente por 8 semanas. No entanto, Ramos e Martínez-Castelao (2008) não mostraram mudança na concentração de MDA após suplementação diária de 0,25 g de vitamina C por 1 ano.

Em contrapartida, uma diminuição nas concentrações de MDA, pela suplementação de PSL, foi observada originalmente em 2016, quando 23 pacientes em HD foram suplementados com 15,0 g PSL, 3 vezes por semana, após a sessão de HD por 8 semanas. No mesmo estudo, o grupo suplementado com PSL + vitamina E também mostrou uma diminuição

significativa do MDA, quando comparado ao grupo controle (SOHRABI et al, 2016). Até o momento, não há evidências sobre a suplementação simultânea de PSL, vitamina C e E em pacientes em HD.

O presente estudo apresenta diversas limitações. Primeiramente, deve ser considerado um estudo piloto com um pequeno tamanho amostral, o que impede a extrapolação dos resultados encontrados. Da mesma forma, o estudo teve a aderência subótima da suplementação, uma vez que alguns pacientes (aqueles em HD 2 vezes por semana) administraram um sachê semanalmente em casa. Além disso, a ausência de um grupo controle deve ser considerada como fator limitante deste ensaio clínico.

Outra limitação importante foi a impossibilidade de controlar o consumo alimentar seguindo as recomendações da *National Kidney Foundation* (NKF-KDOQI, 2000). A NKF-KDOQI (2000) recomenda 3 dias de registro alimentar em diferentes dias, entretanto, os pacientes deste estudo mostraram baixa adesão para registrar a ingestão alimentar. Contudo, os pesquisadores aplicaram dois recordatórios alimentares de 24 horas em dias diferentes a fim de viabilizar o controle do consumo alimentar. Em seguida, quando os dados de ingestão alimentar foram analisados, a os pacientes apresentaram uma ingestão energética abaixo de suas taxas metabólicas basais. Ainda, quando os valores de proteínas consumidas foram ajustados por energia, a distribuição dos valores de proteínas distorceu expressivamente, não representando a realidade da população estudada (*Iowa State University*, 2001). Demonstrou-se, então, que o valor energético não estava relacionado ao consumo proteico, o que indica uma avaliação ineficaz, resultando em dados não fidedignos.

A ausência de análises do estado inflamatório, aliada à falta de dados de consumo e bioquímicos de outros antioxidantes importantes como o Se, cuja síntese de GPx é dependente, são limitações importantes neste estudo. Assim como, a ausência da dosagem da glutathione redutase, enzima fundamental para complementar o mecanismo hipotético (fig.6). Ainda, a suplementação proteica teve padronização de 20 g para todos os pacientes, independentemente do peso e estado nutricional de cada um, deste modo o resultado encontrado pode não transparecer o mesmo efeito para todos nos grupos PSL, devido às diferenças dose-dependentes individuais. Entretanto, não houve diferença dos valores de IMC entre os grupos no momento basal. No entanto, considerou-se segura a suplementação de PSL, devido às poucas perdas por sintomas gastrointestinais nos grupos suplementados com esta proteína (grupo PSL: 1 perda e grupo PSL + vitamina C: 1 perda).

Apesar das limitações, o estudo pode ser caracterizado como original e relevante, devido ao seu propósito pioneiro de mostrar o efeito da

suplementação de PSL e vitamina C em biomarcadores do EO, uma vez que a literatura não dispõe de dados quanto a essa intervenção. Destaca-se que, para minimizar os vieses metodológicos, aplicaram-se: randomização, estratificação e duplo-cegamento.

5. Conclusão

Em conclusão, estes resultados sugerem um efeito pró-oxidante da vitamina C quando 0,25 g de vitamina C foram administradas com 20,0 g de PSL, 3 vezes por semana, durante 8 semanas.

Este foi o primeiro estudo a mostrar o efeito de tal suplementação em biomarcadores do EO em pacientes com DRC em HD. Futuros ensaios clínicos controlados, multicêntricos e de longo prazo são necessários para esclarecer os resultados encontrados.

Agradecimentos

Os autores são extremamente gratos a todos os pacientes, médicos e equipe de enfermagem das clínicas de diálise do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina e do Hospital Governador Celso Ramos, Florianópolis, Brasil. Assim como, ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina por todo o apoio acadêmico e financeiro.

Além disso, os autores gostariam de agradecer à equipe de pesquisa da Divisão de Medicina Renal e Baxter Novum, localizado no *Karolinska Institutet* e Hospital Universitário Karolinska em Estocolmo, Suécia, por ter recebido MLM como pesquisadora visitante e ter apoiado suas análises estatísticas e interpretação de dados. Especialmente, aos pesquisadores: Bengt Lindholm, Abdul Rashid Qureshi e Carla Maria Avesani por toda colaboração no desenvolvimento deste manuscrito.

Recursos financeiros

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES com o Código Financeiro 001, e pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZAD et al. **Effect of vitamin C supplementation on oxidative stress and lipid profiles in hemodialysis patients.** International Journal for Vitamin and Nutrition Research, v. 79, n. 56, p. 281-287, 2009.
- BLACKBURN, G.L.; THORNTON, P.A. **Nutritional assessment of the hospitalized patients.** Medical Clinics of North America. v.63, p.1103-115, 1979.
- BORRELLI et al. **Amino acid loss during dialysis treatment.** Giornale Italiano di Nefrologia, v. 28, n. 1, p. 26-31, 2011.
- BOSSOLA et al. **Appetite and gastrointestinal symptoms in chronic hemodialysis patients.** Journal of Renal Nutrition, v. 21, n. 6, p. 448-454, 2011.
- BOUILLANNE et al. **Geriatric nutritional risk index: a new index for evaluating at-risk elderly medical patients.** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 82, n. 4, p. 777-783, 2005.
- BUMRUNGPET et al. **Whey protein supplementation improves nutritional status, glutathione levels, and immune function in cancer patients: a randomized, double-Blind controlled trial.** Journal of Medicinal Food, 2018.
- CANUSA - Canada-USA peritoneal dialysis study group. **Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis: association with clinical outcomes.** Journal of the American Society of Nephrology, v. 7, n. 2, p. 198-207, 1996.
- CANDAN, F.; GÜLTEKIN, F.; CANDAN, F. **Effect of vitamin C and zinc on osmotic fragility and lipid peroxidation in zinc-deficient haemodialysis patients.** Cell Biochemistry and Function, v. 20, n. 2, p. 95-98, 2002.
- CHANG, S.K.; ISMAIL A.; DAUD Z. A. M. Encyclopedia of Food and Health: **Ascorbic acid: properties, determination and uses:** Sciencedirect, p. 275-2849, 2016.
- CHENG et al. **Whey protein concentrate renders MDA-MB-231 cells sensitive to rapamycin by altering cellular redox state and activating GSK3 β /mTOR signaling.** Scientific Reports, v. 7, n. 1, p. 15976, 2017.
- CHUMLEA et al. **Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry.** Journal of the American Dietetic Association, v. 88, n. 5, p. 564-8, 1988.

- **DASHTI-KHAVIDAKI et al. Plasma vitamin C concentrations in patients on routine hemodialysis and its relationship to patients' morbidity and mortality.** International journal for vitamin and nutrition research, v. 81, n. 4, p. 197-203, 2011.
- **DEHGHAN et al. Is plasma vitamin C an appropriate biomarker of vitamin C intake? A systematic review and meta-analysis.** Nutrition Journal, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2007.
- **DOMIJAN et al. Quantification of malondialdehyde by HPLC-FL – application to various biological samples.** Biomedical Chromatography, v. 29, n. 1, p. 41-46, 2015.
- **DUNN, O. Multiple comparisons among means.** Journal of the American Statistical Association, v. 56, n. 293, p. 52-64, 1961.
- **EMADI-KONJIN, P. Measurement of intracellular vitamin C levels in human lymphocytes by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC).** Clinical Biochemistry, v.38, pg 450-456, 2005.
- **EPIFÂNIO et al. Predictores clínico-nutricionales, inflamatorios y de estrés oxidativo en la hormodísis mortalidad: una revisión.** Nutrición Hospitalaria, v. 0, n. 0, p. 461-468, 2018.
- **FALKOWSKI et al. Whey protein concentrate WPC-80 improves antioxidant defense systems in the salivary glands of 14-month wistar rats.** Nutrients, v. 10, n. 6, p. 782, 2018.
- **FETTER et al. Adaptação transcultural para o português de instrumentos de avaliação do estado nutricional de pacientes em diálise.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 36, n. 2, p. 176-185, 2014.
- **FORMAN, H.; ZHANG, H.; RINNA, A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis.** Molecular Aspects of Medicine, v. 30, n. 1-2, p. 1-12, 2009.
- **FOUQUE et al. European Renal Best Practice - guideline on Nutrition.** Nephrology Dialysis Transplantation, v. 22, n. suppl 2, p. ii45-ii87, 2007a.
- **FOUQUE et al. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein–energy wasting in acute and chronic kidney disease.** Kidney International, v. 73, n. 4, p. 391-398, 2007b.

- FRISANCHO, A. R. **Triceps skin fold and upper arm muscle size norms for assessment of nutritional status.** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 27, n. 10, p. 1052-1058, 1974.
- FUMERON et al. **Effects of oral vitamin C supplementation on oxidative stress and inflammation status in haemodialysis patients.** Nephrology Dialysis Transplantation, v. 20, n. 9, p. 1874-1879, 2005.
- GARCIA et al. **Diagnostic accuracy of handgrip strength in the assessment of malnutrition in hemodialyzed patients.** e-SPEN Journal, v. 8, n. 4, p. e181-e186, 2013.
- GIULIVI, C.; CADENAS, E. **The reaction of ascorbic acid with different heme iron redox states of myoglobin.** FEBS Letters, v. 332, n. 3, p. 287-290, 1993.
- GIUSTARINI et al. **Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide.** Nature Protocols, v. 8, n. 9, p. nprot.2013.095, 2013.
- GREY et al. **Improved glutathione status in young adult patients with cystic fibrosis supplemented with whey protein.** Journal of Cystic Fibrosis, v. 2, n. 4, p. 195-198, 2003.
- HWANG et al. **Comparison of clinical outcome between twice-weekly and thrice-weekly hemodialysis in patients with residual kidney function.** Medicine, v. 95, n. 7, p. e2767, 2016.
- IGNOWSKI et al. **The cysteine-rich whey protein supplement, Immunocal®, preserves brain glutathione and improves cognitive, motor, and histopathological indices of traumatic brain injury in a mouse model of controlled cortical impact.** Free Radical Biology & Medicine, 2018.
- INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids.** PMC, Washington (DC): National Academies Press (US), 2000.
- IOWA STATE UNIVERSITY (EUA). **Intake Distribution Estimation.** 2001. Disponível em: <<http://www.side.stat.iastate.edu/>>. Acesso em: 15 jul. 2019.
- JACKSON et al. **Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure.** Clinical Chemistry, v. 41, n. 8 Pt 1, p. 1135-8, 1995.

- LIAKOPOULOS et al. **Oxidative stress in hemodialysis patients: a review of the literature.** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2017, p. 1-22, 2017.
- LOHMAN, T. G.; ROCHE, A.F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual.** New York: Champaign Human Kinetics Books; 1988.
- LU, S. **Glutathione synthesis.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 1830, n. 5, p. 3143-3153, 2013.
- MCPHERSON, R.; HARDY, G. **Clinical and nutritional benefits of cysteine-enriched protein supplements.** *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, v. 14, n. 6, p. 562-568, 2011.
- MEISTER, A; ANDERSON, M.E. **Glutathione.** *Annual Review of Biochemistry*, v. 52, n. 1, p. 711-760, 1983.
- MINETTI et al. **Iron-induced ascorbate oxidation in plasma as monitored by ascorbate free radical formation.** No spin-trapping evidence for the hydroxyl radical in iron-overloaded plasma. *Biochemical Journal*, v. 282, n. 2, p. 459-465, 1992.
- MORENO et al. **Features of whey protein concentrate supplementation in children with rapidly progressive HIV Infection.** *Journal of Tropical Pediatrics*, v. 52, n. 1, p. 34-38, 2005.
- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure.** *American Journal of Kidney Disease*, v.35, p. 1-139; 2000.
- OLIVEIRA et al. **Correlation between nutritional markers and appetite self-assessments in hemodialysis patients.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 25, n. 3, p. 301-307, 2015.
- RAMOS, R.; MARTÍNEZ-CASTELAO, A. **Lipoperoxidation and hemodialysis.** *Metabolism*, v. 57, n. 10, p. 1369-1374, 2008.
- RICHMAN P; MEISTER A. **Regulation of gamma-glutamyl-cysteine synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione.** *The Journal of biological chemistry*, v. 250, n. 4, p. 1422-6, 1975.
- SCHLÜSSEL, M. M.; ANJOS, L. A.; KAC, G. **Handgrip strength test and its use in nutritional assessment.** *Revista de Nutrição*, v. 21, p. 223-235, 2008.
- SHANG et al. **Vitamin C and vitamin E restore the resistance of GSH-depleted lens cells to H₂O₂.** *Free Radical Biology and Medicine*, v. 34, n. 5, p. 521-530, 2003.

- SOHRABI et al. **Intradialytic oral protein supplementation and nutritional and inflammation outcomes in hemodialysis: a randomized controlled trial.** American Journal of Kidney Diseases, v. 68, n. 1, p. 122-130, 2016.
- STEIBER et al. **Multicenter study of the validity and reliability of subjective global assessment in the hemodialysis population.** Journal of Renal Nutrition, v. 17, n. 5, p. 336-342, 2007.
- VAZ et al. **Food intake in patients on hemodialysis.** Revista de Nutrição, v. 27, n. 6, p. 665-675, 2014.
- WANG et al. **Plasma ascorbic acid in patients undergoing chronic haemodialysis.** European Journal of Clinical Pharmacology, v. 55, n. 7, p. 527-532, 1999.
- WASHIO et al. **Oral vitamin C supplementation in Hemodialysis patients and its effect on the plasma levels of oxidized ascorbic acid and Cu/Zn superoxide dismutase, an oxidative stress marker.** Nephron Clinical Practice, v. 109, n. 2, p. c49-c54, 2008.
- WENDEL, A. **Glutathione peroxidase.** Methods in Enzymology, v. 77, p. 325-333, 1981.
- WINTER et al. **A cystine-rich whey supplement (Immunocal®) provides neuroprotection from diverse oxidative stress-inducing agents in vitro by preserving cellular glutathione.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2017, p. 3103272, 2017.
- WHO - World Health Organization. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry.** Geneva: World Health Organization; 1995

Material suplementar

Tabela suplementar 1. Composição de aminoácidos do módulo proteico.

Aminoácidos essenciais (g)	1 dose (20 g)	3 doses (60 g)
Lisina	1,80	5,40
Treonina	1,40	4,20
Metionina	0,40	1,20
Fenilalanina	0,56	1,68
Triptofano	0,36	1,08
Valina	1,16	3,48
Leucina	2,00	6,00
Isoleucina	1,32	3,96
Aminoácidos condicionalmente essenciais (g)		
Tirosina	0,56	1,68
Cisteína	0,48	1,44
Histidina	0,36	1,08
Arginina	0,36	1,08
Glutamina	1,08	3,24
Aminoácidos não-essenciais (g)		
Glicina	0,32	0,96
Alanina	0,96	2,88
Prolina	1,28	3,84
Serina	1,00	3,00
Ácido glutâmico	2,32	6,96
Ácido aspártico/Asparagina	2,08	6,24

Fonte: Ficha técnica do *Fresubin® protein powder*.

Tabela suplementar 2. Composição nutricional de 20 g do modulo proteico e seu placebo (farinha de arroz branca).

Composição nutricional	Módulo proteico (20 g)	Placebo (20 g)
Energia (kcal)	72,0	73,2
Proteína (g)	17,6	1,4
Lipídios (g)	0,2	0,1
Carboidrato (g)	< 0,2	16,4
Fibra (g)	0,0	0,1
Ca (mg)	12,0	0,0
P (mg)	48,0	0,0
Na (mg)	110,0	0,0
K (mg)	240,0	0,0
Vitamina C (mg)	0,0	0,0
Vitamina E (mg)	0,0	0,0

Fonte: Ficha técnica do *Fresubin® protein powder* e da farinha de arroz branca da RisoVita®.

Tabela suplementar 3. Características clínicas e nutricionais da amostra no momento basal (clínica B).

	Grupos			Valor de p
	PSL (n= 5)	Vitamina C (n= 4)	PSL + vitamina C (n= 4)	
Sexo				
Masculino	3 (60,0%)	3 (75,0%)	3 (75,0%)	0,850 ^a
Idade (anos)	56,0 (28,0-60,0)	58,0 (50,0-61,0)	61,0 (53,0-71,0)	0,341 ^b
Tabagismo				
Ex-fumante	1 (20,0%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	
Fumante	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,557 ^a
Nunca fumou	4 (80,0%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	
Causa primário da DRC				
Nefropatia hipertensiva	0 (0,0%)	1 (25,0%)	1 (25,0%)	
Nefropatia diabética	0 (0,0%)	1 (25,0%)	0 (0,0%)	
Nefropatia hipertensiva + diabética	3 (60,0%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	0,342 ^a
Outro	2 (40,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Desconhecida	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (25,0%)	

(Continuação) Tabela suplementar 3. Características clínicas e nutricionais da amostra no momento basal (clínica B).

	Grupos			Valor de p
	PSL (n= 5)	Vitamina C (n= 4)	PSL + vitamina C (n= 4)	
Tempo em HD (meses)	12,0 (9,0-23,0)	19,0 (8,5-79,0)	7,5 (6,5-40,0)	0,591 ^b
Frequência de HD (semanal)				
2 vezes	1 (20,0%)	2 (50,0%)	3 (75,0%)	0,254 ^a
3 vezes	4 (80,0%)	2 (50,0%)	1 (25,0%)	
Indicadores Nutricionais				
IMC (kg/m ²)	24,7 (23,5-25,0)	25,0 (23,8-28,3)	23,9 (23,1-25,5)	0,862 ^b
< 23 kg/m ²	1 (20,0%)	0 (0,0%)	1 (25,0%)	0,579 ^a
ASG-7p (pontos)	4,0 (4,0-6,0)	6,5 (5,5-7,0)	5,0 (4,0-6,0)	0,254 ^b
Risco muito leve de desnutrição a bem nutrido (6 ou 7)	2 (40,0%)	3 (75,0%)	1 (25,0%)	
Desnutrição leve a moderada (3 a 5)	3 (60,0%)	1 (25,0%)	3 (75,0%)	0,344 ^a
Desnutrição severa (1 ou 2)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	

(Continuação) Tabela suplementar 3. Características clínicas e nutricionais da amostra no momento basal (clínica B).

	Grupos			Valor de p
	PSL (n= 5)	Vitamina C (n= 4)	PSL + vitamina C (n= 4)	
IGRN (pontos)	104,5 (103,3-110,4)	109,7 (105,9-111,1)	104,5 (100,1-107,5)	0,252 ^b
Sem risco de desnutrição (> 98)	2 (40,0%)	3 (75,0%)	1 (25,0%)	
Baixo risco de desnutrição (92 to 98)	3 (60,0%)	1 (25,0%)	3 (75,0%)	0,344 ^a
Desnutrição moderada/severa(< 92)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
FAM (kg)	22,0 (18,0-24,0)	22,0 (20,5-28,5)	22,5 (16,0-28,5)	0,765 ^b
Mulheres < 18,0 kg	1 (20,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,071 ^a
Homens < 28,5 kg	3 (50,0%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	
PEW	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,0 ^a

Nota: Valores para variáveis categóricas foram expressos com valor absoluto (porcentagem); valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75). **Abreviação:** PSL: Proteínas do soro do leite; DRC: Doença renal crônica; HD: Hemodiálise; IMC: Índice de massa corporal; ASG-7p: Avaliação subjetiva global de 7 pontos; IGRN: Índice geriátrico de risco nutricional; FAM: Força de aperto da mão; PEW: *Protein energy wasting*. **Análise estatística:** a: Qui-quadrado de Pearson; b: ANOVA não paramétrica; * p < 0.050.

Tabela suplementar 4. Razões para exclusão de pacientes durante a suplementação de 8 semanas na clínica B.

	Grupos		
	PSL (n= 2)	Vitamina C (n= 3)	PSL + vitamina C (n= 4)
<i>Pessoal</i>			
Sabor	0 (0,0%)	2 (66,7%)	1 (25,0%)
<i>Sintomas gastrointestinais</i>			
Nausea e vômito	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (50,0%)
Dor abdominal e diarreia	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (25,0%)
<i>Condição clínica</i>			
Tranferência de clínica	1 (50,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Hospitalização seguida de morte	1 (25,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Outro</i>	0 (0,0%)	1 (33,3%)	0 (0,0%)

Nota: Valores para variáveis categóricas foram estão expressos com valor absoluto (porcentagem). **Abreviação:** PSL: proteínas do soro do leite.

Tabela suplementar 5. Comparação das características clínicas, nutricionais e do estresse oxidativo entre as clínicas A e B.

Clínicas	Grupos								
	PSL			Vitamina C			PSL + vitamina C		
	A (n=6)	B (n=5)	P	A (n=6)	B (n=4)	P	A (n=6)	B (n=4)	P
Sexo									
Feminino	4 (66,7%)	2 (40,0%)	0,39 ¹	4 (66,7%)	1 (25%)	0,26 ¹	5 (83,3%)	1 (25,0%)	0,12 ¹
Idade (anos)	61,0 (27,0-66,0)	56,0 (28,0-60,0)	0,41 ²	54,0 (53,0-55,0)	58,0 (50,0-61,0)	0,39 ²	56,0 (50,0-62,0)	61,0 (53,0-71,0)	0,45 ²
Tabagismo									
Ex-fumante	2 (33,3%)	1 (20%)		3 (50,0%)	2 (50%)		2 (33,3%)	2 (50,0%)	
Fumante	0 (0%)	0 (0%)	0,57 ¹	1 (16,7%)	0 (0%)	0,65 ¹	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,55 ¹
Nunca fumou	4 (66,7%)	4 (80%)		2 (33,3%)	2 (50%)		4 (66,7%)	2 (50,0%)	
Causa primário da DRC									
Nefropatia hipertensiva	1 (16,7%)	0 (0%)		2 (33,3%)	1 (25%)		5 (83,3%)	1 (25,0%)	
Nefropatia diabética	1 (16,7%)	0 (0%)		0 (0%)	1 (25%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Nefropatia + hipertensiva + diabética	3 (50,0%)	3 (60,0%)	0,52 ¹	2 (33,3%)	2 (50%)	0,60 ¹	1 (16,7%)	2 (50,0%)	0,19 ¹
Outro	1 (16,7%)	2 (40,0%)		2 (33,3%)	0 (0%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Desconhecida	0 (0%)	0 (0%)		0 (0%)	0 (0%)		0 (0,0%)	1 (25,0%)	
Tempo em HD (meses)	22,0 (12,0-28,0)	12,0 (9,0-23,0)	0,41 ²	11,5 (7,0-15,0)	19,0 (8,5-79,0)	0,39 ²	23,0 (15,0-31,0)	7,5 (6,5-40,0)	0,78 ²
Frequência de HD (semanal)									
2 vezes	3 (50,0%)	1 (20,0%)	0,34 ¹	4 (66,7%)	2 (50,0%)	0,54 ¹	3 (50,0%)	3 (75,0%)	0,45 ¹
3 vezes	3 (50,0%)	4 (80,0%)		2 (33,3%)	2 (50,0%)		3 (50,0%)	1 (25,0%)	

(Continuação) Tabela suplementar 5. Comparação das características clínicas, nutricionais e de estresse oxidativo entre as clínicas A e B.

Clínicas	Grupos								
	PSL			Vitamina C			PSL + vitamina C		
	A	B	p	A	B	p	A	B	p
Indicadores Nutricionais									
IMC (kg/m ²)	4,38 (18,97-31,60)	24,67 (23,51-24,99)	0,89 ²	28,43 (25,0-31,75)	25,04 (23,77-28,25)	0,25 ²	28,67 (26,22-37,0)	23,88 (23,1-25,46)	0,09 ²
< 23 kg/m ²	3 (50%)	1 (20%)	0,35 ¹	0 (0%)	0 (0%)	1,0 ¹	0 (0%)	1 (25,0%)	0,40 ¹
ASG-7p (pontos)	5,5 (5,0-7,0)	4,0 (4,0-6,0)	0,22 ²	5,0 (5,0-6,0)	6,5 (5,5-7,0)	0,22 ²	5,0(5,0-6,0)	5,0 (4,0-6,0)	0,45 ²
Risco muito leve de desnutrição a bem nutrido (6 ou 7)	3 (50%)	2 (40%)		2 (33,3%)	3 (75%)		2 (33,3%)	1 (25,0%)	
Desnutrição leve a moderada (3 a 5)	3 (50%)	3 (60%)	0,61 ¹	4 (66,7%)	1 (25,0%)	0,26 ¹	4 (66,7%)	2 (50,0%)	0,76 ¹
Desnutrição severa (1 ou 2)	0 (0%)	0 (0%)		0 (0%)	0 (0%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)	
FAM (kg)	19,0 (15,0-27,0)	22,0 (18,0-24,0)	0,84 ²	24,0 (24,0-36,0)	22,0 (20,5-28,5)	0,38 ²	24,0 (20,0-24,0)	22,5 (16,0-28,5)	0,92 ²
Mulheres < 18,0 kg	1 (16,7%)	1 (20,0%)	0,26 ¹	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,053 ^{2*}	1 (16,7%)	0 (0,0%)	0,13 ¹
Homens < 28,5 kg	1 (16,7%)	3 (50,0%)		0 (0,0%)	2 (50,0%)		0 (0,0%)	2 (50,0%)	
IGRN (pontos)	97,47 (87,39-107,73)	104,49 (103,32-110,36)	0,08 ²	103,96 (100,82-106,69)	109,70 (105,90-111,10)	0,29 ²	104,15 (95,70-120,1)	104,5 (100,1-107,5)	0,72 ²
Sem risco de desnutrição (> 98)	3 (50,0%)	5 (100%)		5 (83,3%)	4 (100,0%)		4 (66,7%)	4 (100%)	
Baixo risco de desnutrição (92 a 98)	1 (16,7%)	0 (0%)	0,17 ¹	0 (0%)	0 (0%)	0,38 ²	1 (16,6%)	0 (0%)	0,43 ¹
Desnutrição moderada/severa (< 92)	2 (33,3%)	0 (0%)		1 (16,%)	0 (0%)		1 (16,7%)	0 (0%)	
PEW	3 (50%)	0 (0%)	0,32 ¹	0 (0%)	0 (0%)	1,0 ¹	0 (0%)	0 (0%)	1,0 ¹

(Continuação) Tabela suplementar 5. Comparação das características clínicas, nutricionais e de estresse oxidativo entre as clínicas A e B.

Clínicas	Grupos								
	PSL			Vitamina C			PSL + vitamina C		
	A	B	p	A	B	p	A	B	p
Controle bioquímico									
Adequação de diálise (Kt/V)	1,49 (1,27-1,68)	1,44 (1,29-1,54)	0,89 ²	1,38 (1,33-1,48)	1,22 (0,88-1,63)	0,70 ²	1,60 (1,40-1,85)	1,31 (1,20-1,35)	0,08 ²
Albumina (g/dL)	3,3 (3,3-3,5)	4,1 (3,9-4,3)	<0,01 ^{2*}	3,3 (3,1-3,6)	4,1 (3,8-4,25)	<0,01 ^{2*}	3,4 (2,9-3,5)	3,85 (3,75-4,1)	0,01 ^{2*}
Fósforo (mg/dL)	5,45 (4,7-5,8)	6,8 (4,1-7,0)	0,58 ²	5,7 (5,2-5,9)	4,55 (4,0-7,8)	0,23 ²	6,65 (5,5-7,0)	6,5 (5,2-8,2)	0,89 ²
Potássio (mEq/L)	5,5 (5,0-5,8)	5,0 (4,9-5,3)	0,41 ²	4,55 (3,9-5,1)	5,6 (5,25-6,3)	0,09 ²	5,35 (4,8-6,0)	5,3 (4,8-5,45)	0,52 ²
Biomarcadores do EO									
GSH (µmol/g Hb)	6,65 (6,27-6,90)	3,39 (2,13-3,54)	<0,01 ^{2*}	6,37 (5,60-7,03)	3,17 (2,50-3,90)	<0,01 ^{2*}	5,77 (5,12-6,34)	2,95 (2,00-3,36)	<0,01 ^{2*}
GSSG (nmol/g Hb)	18,21 (10,38-21,08)	27,31 (24,99-31,54)	0,01 ^{2*}	14,12 (9,64-18,15)	22,74 (17,84-37,04)	0,06 ²	8,14 (2,34-11,95)	37,49 (25,42-42,74)	<0,01 ^{2*}
GSH:GSSG	0,35 (0,3-0,6)	0,1 (0,1-0,1)	<0,01 ^{2*}	0,45 (0,40-0,70)	0,10 (0,10-0,15)	<0,01 ^{2*}	0,75 (0,40-2,40)	0,10 (0,07-0,20)	<0,01 ^{2*}
GPx-1 (U/mg Hb)	3,45 (2,32-4,28)	9,11 (8,88-12,91)	<0,01 ^{2*}	4,17 (2,63-5,93)	9,75 (8,41-11,30)	<0,01 ^{2*}	5,11 (1,93-7,43)	5,03 (4,86-11,65)	0,32 ²
MDA (µM)	0,80 (0,73-0,84)	0,77 (0,74-0,78)	0,41 ²	0,79(0,76-0,82)	0,68 (0,42-0,82)	0,28 ²	0,81 (0,79-0,88)	0,62 (0,31-0,84)	0,20 ²
Vitamina C (µM)	19,75 (18,87-21,14)	11,13 (10,92-11,14)	<0,01 ^{2*}	20,21 (19,43-21,51)	11,07 (10,95-11,32)	0,01 ^{2*}	19,30 (18,90-20,82)	11,03 (10,89-11,55)	<0,01 ^{2*}

Nota: Valores para variáveis categóricas estão expressos em valor absoluto (porcentagem); valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75). **Abreviação:** PSL: Proteínas do soro do leite; DRC: Doença renal crônica; HD: Hemodialíse; IMC: Índice de massa corporal; ASG-7p: Avaliação subjetiva global de 7 pontos; IGRN: Índice geriátrico de risco nutricional; FAM: Força de aperto da mão; PEW: Protein energy wasting; EO: estresse oxidativo; GSH: glutationa reduzida; GSSG: glutationa oxidada; Hb: hemoglobina MDA: malondialdeído; GPx-1: glutationa peroxidase-1. **Análise estatística:** 1: Qui-quadrado de Pearson; 2: Mann-Whitney; * p < 0.050.

Tabela complementar 6. Efeito da suplementação em indicadores nutricionais na clínica A.

Momento	Grupos								
	PSL (n= 6)			Vitamina C (n= 6)			PSL + vitamin C (n= 6)		
	Basal	Final	p	Basal	Final	p	Basal	Final	p
IMC (kg/m ²)	24,4 (19,0-31,6)	24,6 (18,7-31,6)	0,46 ¹	28,4 (25,0-31,8)	29,0 (25,1-31,5)	0,34 ¹	28,7 (26,2-37,0)	27,4 (26,7-38,9)	0,60 ¹
< 23 kg/m ²	3 (50,0%)	3 (50,0%)	1,00 ²	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00 ²	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00 ²
ASG-7p (pontos)	5,5 (5,0-7,0)	5,0 (5,0-6,0)	0,27 ¹	5,0 (5,0-6,0)	6,0 (5,0-7,0)	0,45 ¹	5,0 (5,0-6,0) [§]	5,5 (5,0-6,0)	0,89 ¹
Risco muito leve de desnutrição a bem nutrido (6 ou 7)	3 (50,0%)	2 (33,3%)		2 (33,3%)	4 (66,7%)		2 (33,3%)	3 (50,0%)	
Desnutrição leve a moderada (3 a 5)	3 (50,0%)	4 (66,7%)	1,00 ²	4 (66,7%)	2 (33,3%)	1,00 ²	4 (66,7%)	3 (50,0%)	1,00 ²
Desnutrição severa (1 ou 2)	0 (0,0%)	0 (0,0%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)	
FAM (kg)	22,0 (16,0-22,0) [§]	18,0 (18,0-21,0)	0,71 ¹	24,0 (24,0-36,0)	25,5 (23,0-32,0)	1,00 ¹	24,0 (20,0-24,0)	18,5(16,0 – 24,0)	0,58 ¹
Mulheres < 18,0 kg	1 (16,7%)	1 (16,7%)	1,00 ²	0 (0,0%)	1 (16,7%)	1,00 ²	1 (16,7%)	1 (16,7%)	0,50 ²
Homens < 28,5 kg	1 (16,7%)	1 (16,7%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)		0 (0,0%)	2 (33,3%)	
IGRN (pontos)	97,5 (87,4-107,7)	97,0 (88,4 – 103,5)	0,91 ¹	104,0 (100,8-106,7)	102,3 (100,5-107,7)	0,91 ¹	104,2 (95,7-120,1)	101,5 (95,5 – 123,6)	0,60 ¹
Sem risco de desnutrição (> 98)	3 (50,0%)	3 (50,0%)		5 (83,3%)	5 (83,3%)		4 (66,6%)	4 (66,6%)	
Baixo risco de desnutrição (92 a 98)	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1,00 ²	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00 ²	1 (16,7%)	2 (33,3%)	1,00 ²
Desnutrição moderada/severa (< 92)	2 (33,3%)	3 (50,0%)		1 (16,7%)	1 (16,7%)		1 (16,7%)	0 (0,0%)	
PEW	3 (50,0%)	3 (50,0%)	1,00 ²	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00 ²	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00 ²

Nota: Valores para variáveis categóricas estão expressos em valor absoluto (porcentagem); valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75). **Abreviação:** PSL: Proteínas do soro do leite; IMC: Índice de massa corporal; ASG-7p: Avaliação subjetiva global de 7 pontos; IGRN: Índice geriátrico de risco nutricional; FAM: Força de aperto da mão; PEW: *Protein energy wasting*. **Análise estatística:** ¹Teste de Wilcoxon; ²:Qui-quadrado de McNemar.

Tabela suplementar 7. Efeito da suplementação em indicadores de controle bioquímico (clínica A).

<i>Momento</i>	Grupos								
	PSL (n= 6)			Vitamina C (n= 6)			PSL + vitamina C (n= 6)		
	<i>Basal</i>	<i>Final</i>	<i>p</i>	<i>Basal</i>	<i>Final</i>	<i>p</i>	<i>Basal</i>	<i>Final</i>	<i>p</i>
Adequação de diálise (Kt/V)	1,49 (1,27-1,68)	1,43 (1,34-1,83)	0,463	1,38 (1,33-1,48)	1,40 (1,28-1,49)	0,917	1,49 (1,27-1,68)	1,66 (1,33-1,91)	0,917
Albumina (g/dL)	3,3 (3,3-3,5)	3,4 (3,3-3,6)	0,398	3,3 (3,1-3,6)	3,3 (3,1-3,4)	0,458	3,4 (2,9-3,5)	3,4 (3,3-3,4)	0,600
Fósforo (mg/dL)	5,45 (4,7-5,8)	5,1 (4,3-5,7)	0,463	5,7 (5,2-5,9)	5,2 (4,9-5,9)	0,173	6,65 (5,5-7,0)	5,6 (5,0-5,9)	0,463
Potássio (mEq/L)	5,5 (5,0-5,8)	5,0 (4,8-5,2)	0,463	4,55 (3,9-5,1)	4,5 (4,0-4,9)	0,917	5,35 (4,8-6,0)	5,0 (5,0-5,3)	0,074

Nota: Valores para variáveis categóricas estão expressos em valor absoluto (porcentagem); valores de variáveis quantitativas são expressos como mediana (intervalo interquartil 25-75). **Abreviação:** PSL: proteínas do soro do leite. **Análise estatística:** Teste de Wilcoxon.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados não demonstraram um melhor controle do EO no grupo suplementado com PSL + vitamina C, mas, um efeito pró-oxidante da vitamina C.

Observou-se em todos os grupos, o aumento na concentração dos biomarcadores GSSG e GSH, porém o único a mostrar aumento estatístico da GSSG foi o grupo PSL + vitamina C. Ademais, a razão GSH:GSSG apresentou-se mais oxidada nos grupos suplementados com vitamina C e mais reduzida naquele suplementado apenas com PSL. Ainda, a atividade da GPx-1 aumentou em todos os grupos, mas no grupo PSL houve melhor inclinação ao aumento.

Contudo, os grupos suplementados com PSL mostraram melhor inclinação a diminuir o MDA do que o grupo vitamina C. E, como esperado, os grupos suplementados com vitamina C tiveram aumento significativo na concentração plasmática desta vitamina. Já no grupo PSL, observou-se também um aumento, porém não estatístico.

O estudo teve várias limitações. Primeiramente, deve ser considerado o pequeno tamanho amostral, o que impede a extrapolação dos resultados encontrados. Da mesma forma, o estudo teve a complacência sub-ótima, uma vez que alguns pacientes (aqueles em HD 2 vezes por semana) administraram um sachê semanalmente em casa. Além disso, a ausência de um grupo controle deve ser considerada como fator limitante deste ensaio clínico.

Outra limitação importante foi a impossibilidade de controlar o consumo alimentar seguindo as recomendações da *National Kidney Foundation* (NKF-KDOQI, 2000). A NKF-KDOQI (2000) recomenda 3 dias de registro alimentar em diferentes dias, entretanto, os pacientes deste estudo mostraram baixa adesão para registrar a ingestão alimentar por si mesmos. Contudo, os pesquisadores aplicaram dois recordatórios alimentares de 24 horas em dias diferentes a fim de viabilizar o controle do consumo alimentar. Posteriormente, quando os dados de ingestão alimentar foram analisados, os pacientes apresentaram uma ingestão energética abaixo de suas taxas metabólicas basais e, ainda, quando valores de proteínas (g) consumidas foram ajustados por energia, estas ampliaram sua distribuição expressivamente, não refletindo a realidade da população estudada (*Iowa State University*, 2001). Demonstrou-se, então, que o valor energético não estava relacionado ao consumo proteico, o que indica uma avaliação ineficaz, resultando em dados não fidedignos.

A ausência de análises do estado inflamatório, aliado à falta de dados de consumo e concentrações sanguíneas de outros importantes

antioxidantes como o Se, cuja síntese de GPx é dependente, são limitações importantes neste estudo. Assim como, a padronização da dose da suplementação proteica a todos os pacientes, independentemente do peso e estado nutricional.

Apesar das declaradas limitações, o estudo deve ser caracterizado como original e relevante, devido ao seu propósito pioneiro de mostrar o efeito das PSL e da vitamina C em biomarcadores do EO nunca analisados. Além disso, para diminuir os vieses metodológicos, aplicaram-se: randomização, estratificação e duplo-cegamento.

Este foi o primeiro estudo a mostrar o efeito de tal suplementação em biomarcadores do EO em pacientes com DRC em HD. Futuros ensaios clínicos controlados, multicêntricos, maiores e de longo prazo são necessários para esclarecer os resultados encontrados.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZAD et al. **Effect of vitamin C supplementation on oxidative stress and lipid profiles in hemodialysis patients.** International Journal for Vitamin and Nutrition Research, v. 79, n. 56, p. 281-287, 2009.
- AFAGHI et al. **The effect of BCAA and ISO-WHEY oral nutritional supplements on dialysis adequacy.** Nephro-urology monthly, v. 8, n. 6, p. e34993, 2016.
- AHMADPOOR et al. **Glutathione, glutathione-related enzymes, and total antioxidant capacity in patients on maintenance dialysis.** Iranian Journal of Kidney Diseases, v. 3, n. 1, p. 22-7, 2009.
- AMMIRATI, A.L. **Fisiopatologia da doença renal crônica.** In: CUPPARI, L; AVESANI, C.M; KAMIMURA, M.A. Nutrição na Doença Renal Crônica. 1 ed. São Paulo: Editora Manole, 2013.
- ARTHUR, J. R.; BECKETT, G. **Symposium 2 newer aspects of micronutrients in at risk groups.** Proceedings of the Nutrition Society, v. 53, n. 3, p. 615-624, 1994.
- AVISSAR et al. **Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase.** The American Journal of Physiology, v. 266, n. 2, p. C367-75, 1994.
- BABIOR, B. **The respiratory burst oxidase.** Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology, v. 65, p. 49-95, 1992.
- BARRETO et al. **Em busca de uma melhor compreensão da doença renal crônica: uma atualização em toxinas urêmicas.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 221-235, 2014.
- BARRETO et al. **Chronic kidney disease among adult participants of the ELSA-Brasil cohort: association with race and socioeconomic position.** Journal of Epidemiology and Community Health, v. 70, n. 4, p. 380-389, 2016.

- BELINO et al. **Survival of hemodialysis patients: a new reality?** Portuguese Journal of Nephrology & Hypertension, v. 31, n. 1, p. 37-41, 2017.
- BIRBEN et al. **Oxidative Stress and Antioxidant Defense.** World Allergy Organization Journal, v. 5, n. 1, p. 9, 2012.
- BLACKBURN, G.L.; THORNTON, P.A. **Nutritional assessment of the hospitalized patients.** Medical Clinics of North America. v.63, p.1103-1115, 1979.
- BÖHM et al. **Vitamin C status of patients with chronic renal failure, dialysis patients and patients after renal transplantation.** International journal for vitamin and nutrition research. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, v. 67, n. 4, p. 262-6, 1997.
- BOIRIE et al. **Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 94, n. 26, p. 14930-14935, 1997.
- BORRELLI et al. **Amino acid loss during dialysis treatment.** Giornale Italiano di Nefrologia, v. 28, n. 1, p. 26-31, 2011.
- BOSSOLA et al. **Appetite and gastrointestinal symptoms in chronic hemodialysis patients.** Journal of Renal Nutrition, v. 21, n. 6, p. 448-454, 2011.
- BOUILLANNE et al. **Geriatric nutritional risk index: a new index for evaluating at-risk elderly medical patients.** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 82, n. 4, p. 777-783, 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes Clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica (DRC): DRC no Sistema Único De Saúde.** 2014.
- BRENNER, B.M.; RECTOR, F.C. **Brenner & Rector's the kidney,** 8° ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008.

- BRIGELIUS-FLOHÉ, R. **Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases.** Free Radical Biology and Medicine, v. 27, n. 9-10, p. 951-965, 1999.
- BUMRUNGPET et al. **Whey Protein Supplementation Improves Nutritional Status, Glutathione Levels, and Immune Function in Cancer Patients:** a randomized, double-blind controlled trial. Journal of Medicinal Food, 2018.
- BURRINGTON, K. **Functional properties of whey products. Reference Manual for U.S.** Whey and Lactose Products. U.S. Dairy Export Council, 2004.
- BUZBY et al. **Study protocol:** a randomized clinical trial of total parenteral nutrition in malnourished surgical patients. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 47, n. 2, p. 366-381, 1988.
- CABEZAS-RODRIGUEZ et al. **Influence of body mass index on the association of weight changes with mortality in hemodialysis Patients.** Clinical Journal of the American Society of Nephrology, v. 8, n. 10, p. 1725-1733, 2013.
- CANUSA - Canada-USA peritoneal dialysis study group. **Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis:** association with clinical outcomes. Journal of the American Society of Nephrology, v. 7, n. 2, p. 198-207, 1996.
- CANAUD et al. **Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients.** Blood Purification, v. 17, n. 2-3, p. 99-106, 1999.
- CANDAN, F.; GÜLTEKIN, F.; CANDAN, F. **Effect of vitamin C and zinc on osmotic fragility and lipid peroxidation in zinc-deficient haemodialysis patients.** Cell Biochemistry and Function, v. 20, n. 2, p. 95-98, 2002.

- CARR, A.; ZHU, B.; FREI, B. **Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and α -tocopherol (Vitamin E).** *Circulation Research*, v. 87, n. 5, p. 349-354, 2000.
- CARRERO et al. **Etiology of the protein-energy wasting syndrome in chronic kidney disease: A Consensus Statement from the International Society of Renal Nutrition and Metabolism (ISRNM).** *Journal of Renal Nutrition*, v. 23, n. 2, p. 77-90, 2013.
- CARRERO et al. **Global prevalence of protein-energy wasting in kidney disease: A meta-analysis of contemporary observational studies from the international society of renal nutrition and metabolism.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 28, n. 6, p. 380-392, 2018.
- CEDERHOLM et al. **European Society Parenteral Enteral Nutrition - ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition.** *Clinical Nutrition*, v. 36, n. 1, p. 49-64, 2017.
- CHANG, S.K.; ISMAIL A.; DAUD Z. A. M. **Encyclopedia of Food and Health: Ascorbic acid: properties, determination and uses:** Sciencedirect, p. 275-2849, 2016.
- CHAO et al. **Simple self-report FRAIL scale might be more closely associated with dialysis complications than other frailty screening instruments in rural chronic dialysis patients.** *Nephrology*, v. 20, n. 5, p. 321-328, 2015.
- CHAO, C.; HUANG, J. **Frailty severity is significantly associated with electrocardiographic QRS duration in chronic dialysis patients.** *PeerJ*, v. 3, p. e1354, 2015.
- CHAZOT, C.; KOPPLE, J. D. **Nutritional Management of Renal Diseases: Vitamin Metabolism and Requirements in Renal Disease and Renal Failure: Elsevier.** 3 ed., p. 351-382, 2013.
- CHEN et al. **Determination of urinary malondialdehyde by isotope dilution LC-MS/MS with automated solid-phase extraction: A**

cautionary note on derivatization optimization. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 51, n. 9, p. 1823-1829, 2011.

•CHEN et al. **Efficacy and safety of oral branched-chain amino acid supplementation in patients undergoing interventions for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis.** *Nutrition Journal*, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2015.

•CHENG et al. **Whey protein concentrate renders MDA-MB-231 Cells sensitive to rapamycin by altering cellular redox state and activating GSK3 β /mTOR signaling.** *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 15976, 2017.

•CHOLEWA et al. **Dietary proteins and amino acids in the control of the muscle mass during immobilization and aging: role of the MPS response.** *Amino Acids*, v. 49, n. 5, p. 811-820, 2017.

•CHUMLEA et al. **Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry.** *Journal of the American Dietetic Association*, v. 88, n. 5, p. 564-8, 1988.

•CONWAY et al. **Effectiveness of the US Department of Agriculture 5-step multiple-pass method in assessing food intake in obese and nonobese women.** *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 77, n. 5, p. 1171-8, 2003.

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

•CORTI, A.; CASINI, A., POMPELLA, A. **Cellular pathways for transport and efflux of ascorbate and dehydroascorbate.** *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 500, n. 2, p. 107-115, 2010.

•COVENEY et al. **Water-soluble vitamin levels in extended hours hemodialysis.** *Hemodialysis International*, v. 15, n. 1, p. 30-38, 2011.

- CUPPARI, L.; AVESANI, C.M.; BUFARAH, M.N.B.; BAXMANN, A.C. **Doenças renais**. In: CUPPARI, L. Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar: EPM-UNIFESP. 3 ed. São Paulo: Manole, 2011.
- DA FINK, J.; DE MELLO, P.; DE MELLO, E. **Subjective global assessment of nutritional status** – A systematic review of the literature. *Clinical Nutrition*, v. 34, n. 5, p. 785-792, 2015.
- DAI et al. **Clinical global assessment of nutritional status as predictor of mortality in chronic kidney disease patients**. *PLOS ONE*, v. 12, n. 12, p. e0186659, 2017.
- DASHTI-KHAVIDAKI et al. **Plasma vitamin C concentrations in patients on routine hemodialysis and its relationship to patients' morbidity and mortality**. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, v. 81, n. 4, p. 197-203, 2011.
- DE ARAÚJO et al. **Nutritional Parameters and Mortality in Incident Hemodialysis Patients**. *Journal of Renal Nutrition*, v. 16, n. 1, p. 27-35, 2006.
- DE CARVALHO, A.; CUPPARI, L. **Controle da hiperfosfatemia na doença renal crônica**. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 33, p. 1-6, 2011.
- DE WIT, J.N. **Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products**. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n. 3, p. 597-608, 1998.
- DEGER et al. **Systemic inflammation is associated with exaggerated skeletal muscle protein catabolism in maintenance hemodialysis patients**. *The Journal of Clinical Investigation: Insight*, v. 2, n. 22, p. e95185, 2017.
- DEHGHAN et al. **Is plasma vitamin C an appropriate biomarker of vitamin C intake?** A systematic review and meta-analysis. *Nutrition Journal*, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2007.

- DEICHER, R.; HÖRL, W.H. **Vitamin C in chronic kidney disease and hemodialysis patients.** *Kidney and Blood Pressure Research*, v. 26, n. 2, p. 100-106, 2003.
- DEL RIO, D.; STEWART, A.; PELLEGRINI, N. **A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress.** *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, v. 15, n. 4, p. 316-328, 2005.
- DELANAYE, P.; QUINONEZ, K.; BUCKINX, F.; KRZESINSKI, J.M.; BRUYÈRE, O. **Handgrip strength measurement in haemodialysis patients: before or after the session?** *Clinical Kidney Journal*, sfx139, 2017.
- DEPNER, T. A. **Prescribing hemodialysis: a guide to urea modeling.** Kluwer Academic: Boston, 1991.
- DETSKY e et. **What is subjective global assessment of nutritional status?** *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, v. 11, n. 1, p. 8-13, 1987.
- DEVRIES, M.; PHILLIPS, S. **Supplemental protein in support of muscle mass and health: Advantage whey.** *Journal of Food Science*, v. 80, n. S1, p. A8-A15, 2015.
- DODD, K.; TEE, A. **Leucine and mTORC1: a complex relationship.** *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 302, n. 11, p. E1329-E1342, 2012.
- DODDS et al. **Global variation in grip strength: a systematic review and meta-analysis of normative data.** *Age and Ageing*, v. 45, n. 2, p. 209-216, 2016.
- DOMIJAN et al. **Quantification of malondialdehyde by HPLC-FL – application to various biological samples.** *Biomedical Chromatography*, v. 29, n. 1, p. 41-46, 2015.

- DRAI et al. **Oxidants and antioxidants in long-term haemodialysis patients**. *Il Farmaco*, v. 56, n. 5-7, p. 463-465, 2001.
- DRAIBE, S.A; AJZEN, H. **Doença Renal Crônica**. In: AJZEN, H; SCHOR, N. *Nefrologia*. 3 ed. São Paulo: Editora Manole, 2011.
- DRAPER et al. **Identification of N-ε-(2-propenal) lysine as a major urinary metabolite of malondialdehyde**. *Lipids*, v. 23, n. 6, p. 626-628, 1988.
- DRAPER, H.; CSALLANY, A. S.; HADLEY, M. **Urinary aldehydes as indicators of lipid peroxidation *in vivo***. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 29, n. 11, p. 1071-1077, 2000.
- DREW et al. **Cognitive decline and its risk factors in prevalent hemodialysis patients**. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 69, n. 6, p. 780-787, 2017.
- DUNN, O. **Multiple Comparisons among means**. *Journal of the American Statistical Association*, v. 56, n. 293, p. 52-64, 1961.
- EDALAT-NEJAD et al. **Geriatric nutritional risk index: A mortality predictor in hemodialysis patients**. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, v. 26, n. 2, p. 302-308, 2015.
- EL-FAR et al. **Glutathione peroxidase activity in patients with renal disorders**. *Clinical and Experimental Nephrology*, v. 9, n. 2, p. 127-131, 2005.
- EMADI-KONJIN, P. **Measurement of intracellular vitamin C levels in human lymphocytes by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC)**. *Clinical Biochemistry*, v.38, pg 450-456 (2005).
- EPIFÂNIO et al. **Metabolic, inflammatory and oxidative stress markers in the nitric oxide variation of hemodialysis subjects**. *Nutrición Hospitalaria*, v. 35, n. 1, p. 176-184, 2018b.

- EPIFÂNIO et al. **Predictores clínico-nutricionales, inflamatorios y de estrés oxidativo en la hormodísis mortalidad:** una revisión. *Nutrición Hospitalaria*, v. 0, n. 0, p. 461-468, 2018^a.
- ESSADIK et al. **Assessing the prevalence of protein-energy wasting in haemodialysis patients:** A cross-sectional monocentric study. *Néphrologie & Thérapeutique*, v. 13, n. 7, p. 537-543, 2017.
- ETZEL, M. **Manufacture and use of dairy protein fractions.** *The Journal of Nutrition*, v. 134, n. 4, p. 996S-1002S, 2004.
- FALKOWSKI et al. Whey protein concentrate WPC-80 improves antioxidant defense systems in the salivary glands of 14-month wistar rats. *Nutrients*, v. 10, n. 6, p. 782, 2018.
- FAO/WHO Expert Consultation. **Protein quality evaluation report of the Joint FAO/WHO:** Expert Consultation held in Bethesda USA, FAO Food and Nutrition Paper 51, Rome,1989.
- FEHRMAN-EKHOLM et al. **Concentrations of vitamin C, vitamin B12 and folic acid in patients treated with hemodialysis and on-line hemodiafiltration or hemofiltration.** *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, v. 42, n. 1, p. 74-80, 2009.
- FERREY et al. **Dialysate potassium and mortality in a prospective hemodialysis cohort.** *American Journal of Nephrology*, v. 47, n. 6, p. 415-423, 2018.
- FETTER et al. **Adaptação transcultural para o português de instrumentos de avaliação do estado nutricional de pacientes em diálise.** *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 36, n. 2, p. 176-185, 2014.
- FIGUEROA-MÉNDEZ, R.; RIVAS-ARANCIBIA, S. **Vitamin C in Health and Disease:** Its Role in the Metabolism of Cells and Redox State in the Brain. *Frontiers in Physiology*, v. 6, p. 397, 2015.
- FISBERG, R.; MARCHIONI, D.; COLUCCI, A. **Assessment of food consumption and nutrient intake in clinical practice.** *Arquivos*

Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, v. 53, n. 5, p. 617-24, 2009.

•FORMAN, H.; ZHANG, H.; RINNA, A. **Glutathione:** Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 30, n. 1-2, p. 1-12, 2009.

•FOUQUE et al. **A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein–energy wasting in acute and chronic kidney disease.** *Kidney International*, v. 73, n. 4, p. 391-398, 2007a.

•FOUQUE et al. **European Renal Best Practice - guideline on Nutrition.** *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 22, n. suppl 2, p. ii45-ii87, 2007b.

•FRISANCHO, A. R. **Triceps skin fold and upper arm muscle size norms for assessment of nutritional status.** *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 27, n. 10, p. 1052-1058, 1974.

•FUKAGAWA et al. **Abnormal mineral metabolism and mortality in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism: Evidence from marginal structural models used to adjust for time-dependent confounding.** *American Journal of Kidney Diseases*, v. 63, n. 6, p. 979-987, 2014.

•FUKUMA et al. **Impact of nutritional index on the association between phosphorus concentrations and mortality in haemodialysis patients: a cohort study from dialysis outcomes and practice pattern study in Japan.** *BMJ Open*, v. 7, n. 8, p. e016682, 2017.

•FUMERON et al. **Effects of oral vitamin C supplementation on oxidative stress and inflammation status in haemodialysis patients.** *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 20, n. 9, p. 1874-1879, 2005.

•GALLI et al. **Accumulation of vitamin E metabolites in the blood of renal failure patients.** *Clinical Nutrition*, v. 23, n. 2, p. 205-212, 2004.

- GARCIA et al. **Diagnostic accuracy of handgrip strength in the assessment of malnutrition in hemodialyzed patients.** e-SPEN Journal, v. 8, n. 4, p. e181-e186, 2013.
- GAUDEL et al. **A whey protein hydrolysate promotes insulinotropic activity in a clonal pancreatic β -Cell line and enhances glycemic function in ob/ob mice.** The Journal of Nutrition, v. 143, n. 7, p. 1109-1114, 2013
- GEISER, M. **The wonders of whey protein.** NSCA's Performance Training Journal, v.2, p13-15, 2003.
- GESUALDO et al. **Fatores associados à fragilidade de idosos com doença renal crônica em hemodiálise.** Ciência & Saúde Coletiva, v. 21, n. 11, p. 3493-3498, 2016.
- GIGLIO et al. **Association of sarcopenia with nutritional parameters, quality of life, hospitalization, and mortality rates of elderly patients on hemodialysis.** Journal of Renal Nutrition, v. 28, n. 3, p. 197-207, 2018.
- GIUSTARINI et al. **Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide.** Nature Protocols, v. 8, n. 9, p. nprot.2013.095, 2013.
- GRACIA-IGUACEL et al. **Prevalence of protein-energy wasting syndrome and its association with mortality in haemodialysis patients in a centre in Spain.** Nefrología : publicación oficial de la Sociedad Española Nefrología, v. 33, n. 4, p. 495-505, 2013.
- GREY et al. **Improved glutathione status in young adult patients with cystic fibrosis supplemented with whey protein.** Journal of Cystic Fibrosis, v. 2, n. 4, p. 195-198, 2003.
- HASSAN, A.; ABDEL-AZIEM, S.; ABDEL-WAHHAB, M. **Modulation of DNA damage and alteration of gene expression during aflatoxicosis via dietary supplementation of Spirulina (Arthrospira) and whey protein concentrate.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 79, p. 294-300, 2012.

- HASSAN, K. **Does whey protein supplementation improve the nutritional status in hypoalbuminemic peritoneal dialysis patients?** Therapeutic Apheresis and Dialysis, v. 21, n. 5, p. 485-492, 2017.
- HAUGEN, E.; NATH, K.A. **The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury.** Blood Purification, v. 17, n. 2-3, p. 58-65, 1999.
- HILL et al. **Global prevalence of chronic kidney disease – a systematic review and meta-analysis.** PLOS ONE, v. 11, n. 7, p. e0158765, 2016.
- HIMMELFARB et al. **The elephant in uremia: Oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia.** Kidney International, v. 62, n. 5, p. 1524-1538, 2002.
- HIMMELFARB, J.; IKIZLER, A. **Hemodialysis.** The New England Journal of Medicine, v. 363, n. 19, p. 1833-1845, 2010.
- HOLDEN et al. **Fat-soluble vitamins in advanced CKD/ESKD: A review.** Seminars in Dialysis, v. 25, n. 3, p. 334-343, 2012.
- HOLEČEK, M. **Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements.** Nutrition & Metabolism, v. 15, n. 1, p. 33, 2018.
- HWANG et al. **Comparison of clinical outcome between twice-weekly and thrice-weekly hemodialysis in patients with residual kidney function.** Medicine, v. 95, n. 7, p. e2767, 2016.
- ICHIISHI, E.; LI, X.; IORIO, E. **Oxidative stress and diseases: clinical trials and approaches.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2016, p. 1-3, 2016.
- IGNOWSKI et al. **The cysteine-rich whey protein supplement, Immunocal®, preserves brain glutathione and improves cognitive, motor, and histopathological indices of traumatic brain injury in a**

mouse model of controlled cortical impact. Free Radical Biology & Medicine, 2018.

•INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids.** PMC, Washington (DC): National Academies Press (US), 2000.

•INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements.** Washington: National Academy of Sciences Press (US), 2006.

•IOWA STATE UNIVERSITY (EUA). **Intake Distribution Estimation.** 2001. Disponível em: <<http://www.side.stat.iastate.edu/>>. Acesso em: 15 jun. 2019.

•JACKSON et al. **Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure.** Clinical Chemistry, v. 41, n. 8 Pt 1, p. 1135-8, 1995.

•JACOB, R.A. **Assessment of human vitamin C status.** The Journal of Nutrition. v120 (Suppl 11), p1480–1485, 1990.

•JELOKA et al. **Are oral protein supplements helpful in the management of malnutrition in dialysis patients?** Indian Journal of Nephrology, v. 23, n. 1, p. 1-4, 2013

•JONES, D. **Redefining oxidative stress.** Antioxidants & Redox Signaling, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

•KALANTAR-ZADEH et al. **Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences.** American Journal of Kidney Diseases, v. 42, n. 5, p. 864-881, 2003.

•KALANTAR-ZADEH et al. **Diets and enteral supplements for improving outcomes in chronic kidney disease.** Nature Reviews Nephrology, v. 7, n. 7, p. nrneph.2011.60, 2011.

- KALANTAR-ZADEH et al. The obesity paradox and mortality associated with surrogates of body size and muscle mass in patients receiving hemodialysis.** Mayo clinic proceedings, v. 85, n. 11, p. 991-1001, 2010.
- KALLNER; HARTMANN; HORNIG. On the absorption of ascorbic acid in man. International journal for vitamin and nutrition research.** International Journal for Vitamin and Nutrition Research, v. 47, n. 4, p. 383-8, 1977.
- KDIGO - Kidney Disease: Improving Global Outcomes. Chronic Kidney Disease Work Group. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease.** Kidney Int Suppl. 2013;3(1):1–150, 2012.
- KENT, K.D; HARPER, W.J; BOMSER, J.A. Effect of whey protein isolate on intracellular glutathione and oxidant-induced cell death in human prostate epithelial cells.** Toxicology in Vitro, v. 17, n. 1, p. 27-33, 2003.
- KEYS et al. Indices of relative weight and obesity.** Journal of Chronic Diseases, v. 25, n. 6-7, p. 329-343, 1972.
- KHALIL et al. Oxidative stress during erythropoietin hyporesponsiveness anemia at end stage renal disease: Molecular and biochemical studies.** Journal of Advanced Research, v. 7, n. 3, p. 348-358, 2016.
- KHAZIM et al. Glutathione redox potential is low and glutathionylated and cysteinylated hemoglobin levels are elevated in maintenance hemodialysis patients.** Translational Research, v. 162, n. 1, p. 16-25, 2013.
- KIMBALL, S. ; JEFFERSON, L. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis.** The Journal of Nutrition, v. 136, n. 1 Suppl, p. 227S-31S, 2006.

- KNIGHT et al. **Ascorbic acid intake and oxalate synthesis.** Urolithiasis, v. 44, n. 4, p. 289-297, 2016.
- KWON et al. **Change of nutritional status assessed using subjective global assessment is associated with all-cause mortality in incident dialysis patients.** Medicine, v. 95, n. 7, p. e2714, 2016.
- LANDS et al. **Dietary supplementation with pressurized whey in patients with cystic fibrosis.** Journal of Medicinal Food, v. 13, n. 1, p. 77-82, 2010.
- LEAL et al. **Use of handgrip strength in the assessment of the muscle function of chronic kidney disease patients on dialysis: a systematic review.** Nephrology Dialysis Transplantation, v. 26, n. 4, p. 1354-1360, 2011.
- LEVINE et al. **Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 93, n. 8, p. 3704-3709, 1996.
- LIAKOPOULOS et al. **Oxidative stress in hemodialysis patients: A review of the literature.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2017, p. 1-22, 2017.
- LIM, S.; LIN, X.; DANIELS, L. **Seven-point subjective global assessment is more time sensitive than conventional subjective global assessment in detecting nutrition changes.** Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, v. 40, n. 7, p. 966-972, 2015.
- LINSTER, C.; SCHAFTINGEN, E. **Vitamin C: Biosynthesis, recycling and degradation in mammals.** The FEBS Journal, v. 274, n. 1, p. 1-22, 2007.
- LIU et al. **The effects of oral nutritional supplements in patients with maintenance dialysis therapy: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials.** PLOS ONE, v. 13, n. 9, p. e0203706, 2018.

- LOCATELLI et al. **Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome.** *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 18, n. 7, p. 1272-1280, 2003.
- LOHMAN, T. G.; ROCHE, A.F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual.** New York: Champaign Human Kinetics Books; 1988.
- LU, S. **Glutathione synthesis.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 1830, n. 5, p. 3143-3153, 2013.
- LUHOVYY, B.; AKHAVAN, T.; ANDERSON, H. **Whey proteins in the regulation of food intake and satiety.** *Journal of the American College of Nutrition*, v. 26, n. 6, p. 704S-712S, 2007.
- MANELA-AZULAY et al. **Vitamina C.** *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 78, n. 3, p. 265-272, 2003.
- MANSO; LÓPEZ-FANDIÑO. **κ-casein macropeptides from cheese whey: Physicochemical, biological, nutritional, and technological features for possible uses.** *Food Reviews International*, v. 20, n. 4, p. 329-355, 2004.
- MARCELLI et al. **Physical methods for evaluating the nutrition status of hemodialysis patients.** *Journal of Nephrology*, v. 28, n. 5, p. 523-530, 2015.
- MARINHO et al. **Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura.** *Cadernos Saúde Coletiva*, v. 25, n. 3, p. 379-388, 2017.
- MARTINS, C; SATO, M.N.N; RIELLA, M.C. **Nutrição e hemodiálise.** In: RIELLA, M.C; MARTINS, C. *Nutrição e o rim.* 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- MATSUKUMA et al. **Association of geriatric nutritional risk index with infection-related mortality in patients undergoing hemodialysis: The Q-Cohort Study.** *Clinical Nutrition*, 2018.

- MAY, J.; QU, Z.; MORROW, J. **Mechanisms of ascorbic acid recycling in human erythrocytes**. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 1528, n. 2-3, p. 159-166, 2001.
- MCPHERSON, R.; HARDY, G. **Clinical and nutritional benefits of cysteine-enriched protein supplements**. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, v. 14, n. 6, p. 562-568, 2011.
- MEISTER, A; ANDERSON, M.E. **Glutathione**. *Annual Review of Biochemistry*, v. 52, n. 1, p. 711-760, 1983.
- MEISTER, A. **Biosynthesis and Functions of Glutathione, an Essential biofactor**. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, v. 38, n. Special, p. 1-6, 1992.
- MEISTER, A. **Glutathione metabolism and its selective modification**. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 263, n. 33, p. 17205-8, 1988.
- MICHELS, A.J., FREI, B. **Vitamin C**. In: *Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition*. Stipanuk MH, Caudill MA, editora. St. Louis (MO): Elsevier/Saunders; p. 626–54, 2012.
- MORENA et al. **Convective and diffusible losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients**. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 17, n. 3, p. 422-427, 2002.
- MORENO et al. **Features of whey protein concentrate supplementation in children with rapidly progressive HIV infection**. *Journal of Tropical Pediatrics*, v. 52, n. 1, p. 34-38, 2005.
- MORETTI, H.; JOHNSON, A.; KEELING-HATHAWAY, T. **Effects of protein supplementation in chronic hemodialysis and peritoneal dialysis patients**. *Journal of Renal Nutrition*, v. 19, n. 4, p. 298-303, 2009.

- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure.** American Journal of Kidney Disease, v.35, p. 1-139; 2000.
- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification.** American Journal of Kidney Disease, v.39 (Sup. 2), p. S1-S246; 2002.
- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guidelines for cardiovascular disease in dialysis patients.** American Journal of Kidney Diseases, v. 45(4), suppl.3, 2005.
- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guidelines for Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy, Update.** American Journal of Kidney Diseases, v. 48, p. S2-S90, 2006.
- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease.** American Journal of Kidney Diseases, v. 80 (5):850-86, 2012.
- NKF-KDOQI - National Kidney Foundation. **Clinical practice guideline for hemodialysis adequacy: 2015 update.** American Journal of Kidney Diseases, v. 66 (5):884-93, 2015.
- NOORI et al. **Dietary potassium intake and mortality in long-term hemodialysis patients.** American Journal of Kidney Diseases, v. 56, n. 2, p. 338-347, 2010.
- NORMAN et al. **Handgrip strength: Outcome predictor and marker of nutritional status.** Clinical Nutrition, v. 30, n. 2, p. 135-142, 2011.
- NUTTALL, F. **Body mass index: obesity, BMI, and health: A critical review.** Nutrition Today, v. 50, n. 3, p. 117, 2015.

- OGUNRO et al. **The effect of a membrane dialyzer during hemodialysis on the antioxidant status and lipid peroxidation of patients with end-stage renal disease.** Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, v. 25, n. 6, p. 1186-1193, 2014.
- OLIVEIRA et al. **Correlation between nutritional markers and appetite self-assessments in hemodialysis patients.** Journal of Renal Nutrition, v. 25, n. 3, p. 301-307, 2015.
- PACKER, L.; WEBER, S.; RIMBACH, G. **Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling.** The Journal of Nutrition, v. 131, n. 2, p. 369S-73S, 2001.
- PADAYATTY et al. **Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention.** Journal of the American College of Nutrition, v. 22, n. 1, p. 18-35, 2003.
- PALLESCHI et al. **Vitamins (A, C and E) and oxidative status of hemodialysis patients treated with HFR and HFR-Supra.** BMC Nephrology, v. 17, n. 1, p. 120, 2016.
- PALMER, B.; CLEGG, D. **Diagnosis and treatment of hyperkalemia.** Cleveland Clinic Journal of Medicine, v. 84, n. 12, p. 934-942, 2017.
- PETYAIEV et al. **Whey protein lysosome formulation improves vascular functions and plasma lipids with reduction of markers of inflammation and oxidative stress in prehypertension.** The Scientific World Journal, v. 2012, p. 269476, 2012.
- PHAM-HUY, L.; HE, H.; PHAM-HUY, C. **Free radicals, antioxidants in disease and health.** International Journal of Biomedical Science, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.
- PICCOLI et al. **The diet and haemodialysis Dyad: Three Eras, Four Open Questions and Four Paradoxes. A Narrative Review, Towards a Personalized, Patient-Centered Approach.** Nutrients, v. 9, n. 4, p. 372, 2017.

- PINTO et al. **Impact of hemodialysis session on handgrip strength.** Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 37, n. 4, p. 451-457, 2015.
- PRASAD et al. **Impact of nutritional status on peritonitis in CAPD patients.** Peritoneal Dialysis International: Journal of the International Society for Peritoneal Dialysis, v. 27, n. 1, p. 42-7, 2007.
- PRU C.; EATON J.; KJELLSTRAND C. **Vitamin c intoxication and hyperoxalemia in chronic hemodialysis patients.** Nephron, v. 39, n. 2, p. 112-116, 1985.
- PUPIM et al. **Intradialytic oral nutrition improves protein homeostasis in chronic hemodialysis patients with deranged nutritional status.** Journal of the American Society of Nephrology, v. 17, n. 11, p. 3149-3157, 2006.
- PUPIM et al. **Intradialytic parenteral nutrition improves protein and energy homeostasis in chronic hemodialysis patients.** Journal of Clinical Investigation, v. 110, n. 4, p. 483-92, 2002.
- PUTRI, A.; THAHA, M. **Role of oxidative stress on chronic kidney disease progression.** Acta Medica Indonesiana, v. 46, n. 3, p. 244-52, 2014.
- RAIMANN et al. **Is vitamin C intake too low in dialysis patients?** Seminars in Dialysis, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2013.
- RAIMUNDO et al. **Does nutrition play a role in the quality of life of patients under chronic haemodialysis?** Nutrición Hospitalaria, v. 21, n. 2, p. 139-44, 2006.
- RAJ et al. **Glutamine kinetics and protein turnover in end-stage renal disease.** American Journal of Physiology- Endocrinology and metabolism, v. 288, n. 1, p. E37-46, 2004.
- RAJ, D.; SUN, Y.; TZAMALOUKAS, A. **Hypercatabolism in dialysis patients.** Current Opinion in Nephrology and Hypertension, v. 17, n. 6, p. 589, 2008.

- RAMOS, R.; MARTÍNEZ-CASTELAO, A. **Lipoperoxidation and hemodialysis**. *Metabolism*, v. 57, n. 10, p. 1369-1374, 2008.
- REDDY et al. **Antioxidants status in haemodialysis patients**. *International Journal of Biological & Medical Research*, v. 3, n. 1, p.1466-1468, 2012.
- RICHMAN, P.; MEISTER A. **Regulation of gamma-glutamyl-cysteine synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione**. *The Journal of biological chemistry*, v. 250, n. 4, p. 1422-6, 1975.
- RIMBACH et al. **Regulation of cell signalling by vitamin E**. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 61, n. 4, p. 415-425, 2002.
- RISOVITA (Brasil). **Farinha de arroz branca** - Informações nutricionais: Fumacense Alimentos. 2018. Disponível em: <<https://www.risovita.com.br/index.php?q=farinha-branca-arroz>>. Acesso em: 24 jun. 2018.
- ROEHRS et al. **The relationships between exogenous and endogenous antioxidants with the lipid profile and oxidative damage in hemodialysis patients**. *BMC Nephrology*, v. 12, n. 1, p. 59, 2011.
- RUMSEY, S.; LEVINE, M. **Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans**. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 9, n. 3, p. 116-130, 1998.
- RUSU et al. **Malondialdehyde can predict survival in hemodialysis patients**. *Clujul Medical*, v. 89, n. 2, p. 250-256, 2016.
- SABATINO et al. **Protein-energy wasting and nutritional supplementation in patients with end-stage renal disease on hemodialysis**. *Clinical Nutrition*, v. 36, n. 3, p. 663-671, 2017.
- SAHATHEVAN et al. **Clinical efficacy and feasibility of whey protein isolates supplementation in malnourished peritoneal**

dialysis patients: A multicenter, parallel, open-label randomized controlled trial. *Clinical Nutrition ESPEN*, v. 25, p. 68-77, 2018.

•SANTIN et al. **Performance of subjective global assessment and malnutrition inflammation score for monitoring the nutritional status of older adults on hemodialysis.** *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, v. 37, n. 2, p. 604-611, 2018.

•SANTOS et al. **Associations of physical activity energy expenditure with nutritional-inflammatory markers in hemodialysis patients.** *The International Journal of Artificial Organs*, v. 40, n. 12, p. 670-675, 2017.

•SCHLÜSSEL, M. M.; ANJOS, L. A.; KAC, G. **Handgrip strength test and its use in nutritional assessment.** *Revista de Nutrição*, v. 21, p. 223-235, 2008.

•SESSO et al. **Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2017.** *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 39, n. 3, p. 261-266, 2018.

•SHANG et al. **Vitamin C and vitamin E restore the resistance of GSH-depleted lens cells to H₂O₂.** *Free Radical Biology and Medicine*, v. 34, n. 5, p. 521-530, 2003.

•SIEFKER, K.; DISILVESTRO, R. **Safety and antioxidant effects of a modest soy protein intervention in hemodialysis patients.** *Journal of Medicinal Food*, v. 9, n. 3, p. 368-372, 2006.

•SIES, H. **Oxidative stress: oxidants and antioxidants.** *Experimental Physiology*, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.

•SILVA et al. **Effect of nutritional supplementation with milk whey proteins in amyotrophic lateral sclerosis patients.** *Arquivos de Neuro-Psiquiatria, São Paulo*, v. 68, n. 2, p. 263-268, Apr. 2010.

•SIROVER, W.; SIDDIQUI, A.; BENZ, R. **Beneficial hematologic effects of daily oral ascorbic acid therapy in ESRD patients with**

anemia and abnormal iron homeostasis: A preliminary study. *Renal Failure*, v. 30, n. 9, p. 884-889, 2009.

•**SLININ et al. Timing of dialysis initiation, duration and frequency of hemodialysis sessions, and membrane flux:** A systematic review for a KDOQI Clinical Practice Guideline. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 66, n. 5, p. 823-836, 2015.

•**SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA. Doença Renal Crônica (Pré-terapia Renal Substitutiva):** Diagnóstico. Projeto Diretrizes, 2011.

•**SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA. Terapia Nutricional para Pacientes em Hemodiálise Crônica.** Projeto Diretrizes, 2011.

•**SOHRABI et al. Intradialytic oral protein supplementation and nutritional and inflammation outcomes in hemodialysis:** a randomized controlled trial. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 68, n. 1, p. 122-130, 2016.

•**SOUSA et al. Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic diseases:** a review. *Lipids in Health and Disease*, v. 11, n. 1, p. 67, 2012.

•**SPITTLE et al. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients.** *American Journal of Kidney Diseases*, v. 38, n. 6, p. 1408-1413, 2001.

•**STARK et al. Nutritional intake in adult hemodialysis patients.** *Topics in Clinical Nutrition*, v. 26, n. 1, p. 45, 2011.

•**STEIBER et al. Multicenter study of the validity and reliability of subjective global assessment in the hemodialysis population.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 17, n. 5, p. 336-342, 2007.

- STEIBER et al. **The impact of nutrition intervention on a reliable morbidity and mortality indicator:** the hemodialysis-prognostic nutrition index. *Journal of Renal Nutrition*, v. 13, n. 3, p. 186-190, 2003.
- STEIBER et al. **Subjective Global Assessment in chronic kidney disease:** A review. *Journal of Renal Nutrition*, v. 14, n. 4, p. 191-200, 2004.
- SUM et al. **Comparison of subjective global assessment and protein energy wasting score to nutrition evaluations conducted by registered dietitian nutritionists in identifying protein energy wasting risk in maintenance hemodialysis patients.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 27, n. 5, p. 325-332, 2017.
- SUNDELL et al. **Oral protein supplementation alone improves anabolism in a dose-dependent manner in chronic hemodialysis patients.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 19, n. 5, p. 412-421, 2009.
- SUNG et al. **Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease.** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2013, p. 301982, 2013.
- SZETO et al. **Geriatric nutritional risk index as a screening tool for malnutrition in patients on chronic peritoneal dialysis.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 20, n. 1, p. 29-37, 2010.
- TAKAHASHI et al. **Comparison of nutritional risk scores for predicting mortality in Japanese chronic hemodialysis patients.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 27, n. 3, p. 201-206, 2017.
- TANG et al. **Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men.** *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, v. 107, n. 3, p. 987-92, 2009.
- TENTORI et al. **Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH:** The dialysis

outcomes and practice patterns study (DOPPS). *American Journal of Kidney Diseases*, v. 52, n. 3, p. 519-530, 2008.

•TOMAYKO et al. **Intradialytic protein supplementation reduces inflammation and improves physical function in maintenance hemodialysis patients.** *Journal of Renal Nutrition*, v. 25, n. 3, p. 276-283, 2015.

•TOMSON et al. **Correction of subclinical ascorbate deficiency in patients receiving dialysis: Effects on plasma oxalate, serum cholesterol, and capillary fragility.** *Clinica Chimica Acta*, v. 180, n. 3, p. 255-264, 1989.

•TOON et al. **Ascorbate-induced hyperoxalaemia has no significant effect on lactate generation or erythrocyte 2,3, diphosphoglycerate in dialysis patients.** *European Journal of Clinical Investigation*, v. 20, n. 4, p. 411-415, 1990.

•VAN VLIET, S.; BURD, N.; VAN LOON, L. **The skeletal muscle anabolic response to plant- versus animal-based protein consumption.** *The Journal of Nutrition*, v. 145, n. 9, p. 1981-1991, 2015.

•VANNUCCHI, H.; ROCHA, M. M. **Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes: Ácido ascórbico (Vitamina C) Forçatarefa Alimentos Fortificados e Suplementos Comitê de Nutrição ILSI Brasil.** São Paulo: International Life Sciences Institute do Brasil, 12 p. 2012.

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

•VAZ et al. **Food intake in patients on hemodialysis.** *Revista de Nutrição*, v. 27, n. 6, p. 665-675, 2014.

- VECCHI et al. **Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients.** Nephrology Dialysis Transplantation, v. 24, n. 8, p. 2524-2529, 2009.
- VECCHIO, L.; LOCATELLI, F.; CARINI, M. **What we know about oxidative stress in patients with chronic kidney disease on dialysis—clinical effects, potential treatment, and prevention.** Seminars in Dialysis, v. 24, n. 1, p. 56-64, 2011.
- VEENEMAN et al. **Protein intake during hemodialysis maintains a positive whole body protein balance in chronic hemodialysis patients.** American Journal of Physiology. Endocrinology and metabolism, v. 284, n. 5, p. E954-65, 2003.
- Veterans Affairs Total Parenteral Nutrition Cooperative Study Group. **Perioperative total parenteral nutrition in surgical patients.** The New England Journal of Medicine, v. 325, n. 8, p. 525-32, 1991.
- VRIESE et al. **Oral vitamin C administration increases lipid peroxidation in hemodialysis patients.** Nephron Clinical Practice, v. 108, n. 1, p. c28-c34, 2008.
- WANG et al. **Plasma ascorbic acid in patients undergoing chronic haemodialysis.** European Journal of Clinical Pharmacology, v. 55, n. 7, p. 527-532, 1999.
- WANG, J.; ZHOU, Y.; YUAN, W. **Relationship between body mass index and all-cause mortality in hemodialysis patients: a meta-analysis.** Chinese Journal of Internal Medicine, v. 51, n. 9, p. 702-7, 2012.
- WASHIO et al. **Oral vitamin c supplementation in hemodialysis patients and its effect on the plasma level of oxidized ascorbic acid and Cu/Zn superoxide dismutase, an oxidative stress marker.** Nephron Clinical Practice, v. 109, n. 2, p. c49-c54, 2008.
- WASHKO et al. **Ascorbic acid and dehydroascorbic acid analyses in biological samples.** Analytical Biochemistry, v.204, p.1–14, 1992.

- WEINER et al. **Oral intradialytic nutritional supplement use and mortality in hemodialysis patients.** American Journal of Kidney Diseases, v. 63, n. 2, p. 276-285, 2014.
- WENDEL, A. **Glutathione peroxidase.** Methods in Enzymology, v. 77, p. 325-333, 1981.
- WEST et al. **Rapid aminoacidemia enhances myofibrillar protein synthesis and anabolic intramuscular signaling responses after resistance exercise.** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 94, n. 3, p. 795-803, 2011.
- WHITNEY, E., ROLFES, S.R. **Nutrição: entendendo os nutrientes.** São Paulo: Cengage Learning; 2008.
- WILLCOX, J.K.; ASH, S.L.; CATIGNANI, G.L. **Antioxidants and Prevention of Chronic Disease.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 44, n. 4, p. 275-295, 2004.
- WINTER et al. **A cystine-rich whey supplement (Immunocal®) provides neuroprotection from diverse oxidative stress-inducing agents in vitro by preserving cellular glutathione.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2017, p. 3103272, 2017.
- WIRUNSAWANYA et al. **Whey protein supplementation improves body composition and cardiovascular risk factors in overweight and obese patients: a systematic review and meta-analysis.** Journal of the American College of Nutrition, p. 1-11, 2017.
- WOLFE, R. **Protein supplements and exercise.** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 72, n. 2, p. 551S-557S, 2000.
- WHO - World Health Organization. **BMI classification.** Geneva: World Health Organization, 2008. Disponível em: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html>. Acesso em: 25 de Abril de 2018.

- WHO - World Health Organization. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry.** Geneva: World Health Organization; 1995.
- YOUNG, I.; WOODSIDE J. **Antioxidants in health and disease.** Journal of Clinical Pathology, v. 54, n. 3, p. 176-186, 2001.
- ZACHARA et al. **Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: a review.** Acta biochimica Polonica, v. 53, n. 4, p. 663-77, 2006.
- ZHA, Y.; QIAN, Q. **Protein nutrition and malnutrition in CKD and ESRD.** Nutrients, v. 9, n. 3, p. 208, 2017.
- ZHANG et al. **Low levels of vitamin C in dialysis patients is associated with decreased prealbumin and increased C-reactive protein.** BMC Nephrology, v. 12, n. 1, p. 1-7, 2011.
- ZHANG et al. **Association between vitamin C deficiency and dialysis modalities.** Nephrology, v. 17, n. 5, p. 452-457, 2012.
- ZHANG, K. **Vitamin C supplementation in patients on maintenance dialysis.** World Journal of Clinical Urology, v. 3, n. 3, p. 344, 2014.

APÊNDICES

Apêndice 1. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Efeito da suplementação oral de proteínas do soro do leite e ácido ascórbico em marcadores do estado nutricional, parâmetros inflamatórios, estresse oxidativo e qualidade de vida: ensaio clínico randomizado em pacientes submetidos à hemodiálise

O(a) Senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Por favor, leia com atenção as informações a seguir e se desejar, discuta com sua família e com seu médico, para fazer uma decisão bem informada. A pesquisadora principal é professora doutora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O objetivo do estudo é: Avaliar os marcadores do estado nutricional, os parâmetros inflamatórios, de estresse oxidativo e a qualidade de vida em pacientes submetidos à hemodiálise antes, durante e após a suplementação de proteínas do soro do leite e/ou de ácido ascórbico. Cabe ao senhor(a) decidir se irá ou não participar. Caso não queira, não terá nenhuma desvantagem, inclusive em relação ao tratamento médico e aos cuidados que tenha direito a receber. Se decidir participar, o(a) senhor(a) irá assinar este termo de consentimento, mas mesmo depois de assinado estará livre para sair do estudo a qualquer momento, basta para isso informar a sua desistência. Isso não atrapalhará de maneira nenhuma os cuidados que receberá.

Caso aceite participar, no início, após 6 semanas e após 12 semanas, serão coletados: dados do prontuário referentes à caracterização, peso, altura, quatro dobras cutâneas (bicipital, tricipital, subescapular e suprailíaca), força do aperto da mão, espessura do músculo adutor do polegar e circunferência do braço, da cintura e do quadril. Além da avaliação da composição corporal pelo equipamento de impedância bioelétrica e aplicação de questionários para diagnóstico do estado nutricional e da qualidade de vida. O senhor (a) será orientado a preencher, em casa, registros dos alimentos consumidos em três dias

diferentes (um dia de hemodiálise, um dia que você não faça hemodiálise e um dia de final de semana). Poderá sentir-se cansado com as perguntas e avaliações, porém se necessitar de uma pausa ou interrupção tem toda a liberdade para fazê-la. Também será retirado uma amostra de sangue para avaliação bioquímica laboratorial. No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor decorrente da punção da pele. Complicações de coleta de sangue rotineira são raras e geralmente de pequeno porte. Se houver pequena perda de sangue no local da punção geralmente há um pequeno desconforto que desaparece em poucos dias. Os participantes da pesquisa serão divididos aleatoriamente em quatro grupos. Os indivíduos do grupo 1 irão consumir 1 copo de água (150 mL) com proteínas do soro do leite (17,3 g de proteína) e 0,25 g de vitamina C após a sessão de hemodiálise, 3 vezes por semana, durante 12 semanas. Os pacientes no grupo 2 receberão 1 copo de água (150 mL) com proteínas do soro do leite (17,3 g de proteína) 3 vezes por semana, durante 12 semanas. Os pacientes no grupo 3 receberam 1 copo de água (150 mL) com 0,25 g de ácido ascórbico 3 vezes por semana durante 12 semanas, e os pacientes do grupo 4 receberão 1 copo de água (150 mL) com farinha de arroz durante 12 semanas imediatamente após a sessão de hemodiálise. A ingestão dos suplementos alimentares pode gerar algum desconforto relacionado à digestão do alimento, porém o pesquisador e a equipe estarão aptos a lhe dar assistência. O(a) senhor(a) não terá nenhum gasto com a pesquisa e não receberá nada financeiramente por sua participação. Os suplementos serão doados pela pesquisadora, ela também pagará os exames. Os potenciais benefícios que serão avaliados incluem: redução da inflamação, manutenção ou melhora do estado nutricional, melhora da qualidade de vida durante o tratamento. Contudo, não podemos assegurar que os mesmos irão ocorrer. Algumas informações clínicas e de exames laboratoriais serão coletados de seu prontuário. As amostras de sangue coletadas serão armazenadas até o final da vigência do presente projeto em biorrepositório (biofreezer) localizado em Laboratório no Departamento de Nutrição – UFSC, para as avaliações propostas neste estudo e outras avaliações importantes que possam complementar os resultados desta pesquisa. Uma vez vencido

esse prazo as amostras serão descartadas em lixo hospitalar. Garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais, apenas a pesquisadora e colaboradores terão acesso aos dados. Não serão tiradas fotos, nem realizadas filmagens ou qualquer tipo de gravação das avaliações. Caso seja do seu interesse, todos os resultados das avaliações e acesso às suas amostras coletadas estarão disponíveis, ao final da pesquisa. Para tanto, basta contatar o pesquisador responsável, cujo número telefônico está descrito a seguir, identificar-se e declarar seu interesse nos resultados obtidos de suas avaliações. Esta pesquisa está pautada nas orientações e recomendações da Resolução CNS 466/2012 e suas complementares, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes da pesquisa. A pesquisadora e colaboradores sempre irão acompanhar o consumo dos suplementos nas clínicas de hemodiálise. Em caso de alguma dúvida ou dificuldade em relação ao estudo, o(a) senhor(a) pode entrar em contato com a pesquisadora responsável: Elisabeth Wazlawik ou com a doutoranda Angela Teodósio da Silva e a mestrandia Mayara Lopes Martins pelos seguintes meios: telefone fixo: (48) 3721-2281 e (48) 3721-9784; telefone celular: (48) 99951- 8247, (48)991322424; e-mail: nutri.angela@hotmail.com ou mayara.lopes.martins@hotmail.com. Se tiver dúvidas sobre seus direitos, o (a) senhor(a) pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, coordenador Washington Portela de Souza pelo telefone (48)3721-9206. Ou diretamente no Comitê que fica localizado no prédio da Reitoria II, 4º andar, sala 401, Rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina.

Eu, portador do RG:.....
Fone(s) para contato: ()..... () fui esclarecido sobre a pesquisa: Efeito da suplementação oral de proteínas do soro do leite e ácido ascórbico em marcadores do estado nutricional, parâmetros inflamatórios, estresse oxidativo e qualidade de vida: ensaio clínico randomizado em pacientes submetidos à hemodiálise, além de ter lido e entendido todas as informações fornecidas sobre minha participação na pesquisa, tive oportunidade de discuti-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente. Eu, voluntariamente, concordo em participar deste estudo e autorizo a coleta

de informações do meu prontuário, além de autorizar a coleta, o armazenamento e a utilização de minhas amostras sanguíneas pela pesquisadora para as avaliações pretendidas nesta pesquisa. Ao assinar este termo de consentimento, estou de pleno acordo com os dados a serem coletados, podendo os mesmos ser utilizados conforme descrito neste termo de consentimento. Entendo que receberei uma cópia assinada deste termo de consentimento.

Florianópolis, de de 20 .

Nome e assinatura do participante ou respectivo legal

Profa. Dra. Elisabeth Wazlawik

Mestranda Mayara Lopes Martins

Doutoranda Angela Teodósio Silva

Apêndice 2. Avaliação dos efeitos colaterais da suplementação

Semana nº 1 2 3 4 5 6 7 8

Clínica:

Nº prontuário: _____ Código de randomização:

Nome: _____

Sexo: Fem Masc

Sintoma	SIM	NÃO
Dor abdominal		
Constipação		
Náusea		
Enjôo		
Vômito		
Diarréia		
Flatulência		
Outro (qual?)		

Apêndice 3. Questionário de pesquisa.

Dados gerais				
Nome:		Data da entrevista:		
Dias de HD:		Turno:		
No prontuário: _____ N ^o inclusão na pesquisa: _____ Código randomização: _____				
Endereço:				
Escolaridade:				
Telefone:				
Data de nascimento:			Idade:	
Sexo: () Feminino () Masculino				
Braço com fístula: () direito () esquerdo			Acesso:	
Dominância da mão: () direito () esquerdo				
Causa da DRC:				
Tempo de HD:				
Comorbidades:				
Tabagista: Sim () N ^o cigarros/dia: _____ Nunca () Ex-fumante () tempo?				
Semana n^o ____				
Antropometria				
Peso após HD:		IMC:		
Altura:				
Dados bioquímicos				
				nPCR
Circunferência Braquial				Albumina:
Dobra cutânea tricúspita				K:
Repetições	1	2	3	P:
FAM				Kt/V:

Apêndice 4. Nota de imprensa

Pesquisa mostra possível efeito pro-oxidante de 0,25 g de vitamina C suplementada com 20 g de proteínas do soro do leite em pacientes com doença renal crônica realizando hemodiálise.

Pessoas no último estágio da doença renal crônica precisam de terapia renal substitutiva (transplante, diálise peritoneal ou hemodiálise), sendo a hemodiálise a mais comum no Brasil e no mundo. A hemodiálise funciona por meio de uma máquina que retira as impurezas do sangue e restabelece o equilíbrio hidroeletrolítico, necessário para a manutenção da vida. Durante este processo, além de retirar impurezas, a máquina deixa passar nutrientes menores solúveis em água, como a vitamina C e aminoácidos (constituintes de proteína). Deste modo, recomenda-se aumentar o consumo alimentar de alimentos fontes destes nutrientes.

No entanto, a dietoterapia, necessária ao tratamento de hemodiálise, apresenta restrições alimentares particulares, dentre elas, o controle dos minerais potássio e fósforo, os quais estão presentes em alimentos fontes de vitamina C (frutas, vegetais e leguminosas) e proteínas (carnes vermelhas, brancas, produtos lácteos e ovos). Desta maneira, o indivíduo em hemodiálise pode apresentar declínio do estado nutricional, e conseqüentemente, na defesa contra o estresse oxidativo, devido à diminuição da ingestão de alimentos antioxidantes.

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre o aumento dos danos causados pela oxidação de proteínas, gorduras, carboidratos e do próprio DNA nas células, aliado à insuficiência de antioxidantes, aumentando prejudicialmente o estresse oxidativo e causando maior dano celular. O controle do estresse oxidativo é importante para diminuir o agravamento de doenças crônicas, em especial da doença renal, pois relaciona-se com o aumento da inflamação, desnutrição, piora da qualidade de vida e mortalidade por causa cardiovascular, nestes indivíduos.

Desta maneira, a suplementação de proteínas e vitamina C pode ser considerada importante para aumentar seu consumo, sem prejudicar o

controle de potássio e fósforo, e melhorar as defesas antioxidantes. As proteínas do soro do leite contêm aminoácidos, entre eles, a cisteína. A cisteína aumenta a produção de glutatona, considerada a molécula (de baixo peso molecular) produzida endogenamente com maior ação antioxidante. Além da ação direta no controle do estresse oxidativo, a glutatona também age na reciclagem da vitamina C, o que pode aumentar, também, a ação antioxidante desta vitamina no organismo.

Neste contexto, foi desenvolvida uma pesquisa no Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, pela mestrandia Mayara Lopes Martins sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Elisabeth Wazlawik, com o objetivo de verificar o efeito da suplementação de 20 g de proteínas do soro do leite e 0,25 g de vitamina C em biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise.

Os pacientes de duas clínicas (clínica A e B) de hemodiálise de Florianópolis receberam suplementação com proteínas do soro do leite com ou sem vitamina C, 3 vezes por semana, após a sessão de hemodiálise por 8 semanas. Os biomarcadores glutatona reduzida (GSH), glutatona oxidada (GSSG), razão GSH:GSSG, glutatona peroxidase (GPx), malondialdeído (MDA) e vitamina C foram analisados em dois momentos: antes e após a suplementação. A clínica B não foi analisada devido as perdas durante o estudo inviabilizarem uma distribuição equivalente da amostra, quanto à frequência de hemodiálise dos pacientes.

Após 8 semanas de suplementação, observou-se na clínica A um aumento significativo da GSSG no grupo proteína + vitamina, o que desencadeou uma inclinação uma menor razão da GSH:GSSG. Além disto, os dois grupos suplementados com a vitamina C apresentaram menor aumento da ação antioxidante da GSH, pela atividade da GPx, quando comparado àquele suplementado apenas com proteína. Os grupos suplementados com proteína sugeriram maior inclinação a diminuir o MDA (produto de oxidação lipídica) do que o grupo vitamina. E, como esperado, os dois grupos suplementados com

vitamina C tiveram aumento significativo desta vitamina no plasma. Já no grupo proteína, observou-se também um aumento, porém não estatístico.

Os resultados indicaram uma possível ação pro-oxidante de 0,25 g de vitamina C quando suplementada ou não com 20 g de proteínas do soro do leite.

O estudo deve ser considerado um piloto de pequeno tamanho amostral, o que impede a extrapolação dos resultados encontrados. Da mesma forma, o estudo teve a complacência sub-ótima, uma vez que alguns pacientes (aqueles em HD 2 vezes por semana) administraram um sachê de suplementação semanalmente em casa. Outra limitação importante foi a impossibilidade de controlar o consumo alimentar, pois quando os dados de ingestão alimentar foram analisados, a maioria dos pacientes apresentou uma ingestão energética abaixo de suas taxas metabólicas basais, o que indica dados não fidedignos.

Apesar das declaradas limitações, a pesquisa deve ser caracterizada como original e relevante, devido ao seu propósito pioneiro de mostrar o efeito das proteínas do soro do leite e da vitamina C em biomarcadores da glutathione no estresse oxidativo. Além disso, para diminuir os erros metodológicos, aplicaram-se: randomização, estratificação e duplo-cegamento.

Este foi o primeiro estudo a mostrar o efeito de tal suplementação no em biomarcadores do EO em pacientes com DRC em HD. Futuras pesquisas clínicas controladas, multicêntricas, maiores e de longo prazo são necessárias para esclarecer os resultados encontrados.

Mais informações: Mayara Lopes Martins,
mayara.lopes.martins@hotmail.com ou Elisabeth Wazlawik,
e.wazlawik@ufsc.br

**Financiamento: Programa de Pós-Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Bolsas
Demanda Social/Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
Nível Superior (CAPES).**

ANEXOS

Anexo 1. Ficha técnica do *Fresubin® Protein Powder*

Fresubin® Protein Powder



**100% PROTEÍNA DO
SORO DO LEITE**

1 - Nutrientes

		Fresubin Protein Powder®	
		100g	Porção 5g*
Energia	kcal	360	18
Proteína	97% VCT	g	g
- Nitrogênio		g	g
- Relação caseína/proteína do soro do Leite		0:100	0:100
Lípido ***	2% VCT	g	g
dos quais - TCL		g	g
SFA**		g	g
MUFA **		g	g
PUFA **		g	g
CHO ***	% VCT	g	g
Fibras		g	g
Minerais			
Sódio	mg	550	27,5
Potássio	mg	1200	60
Cálcio	mg	60	3
Fósforo	mg	240	12

* 1 colher medida = 5g

** TCL – Triglicerídeos de Cadeia Longa / SFA – Ácidos Graxos Saturados / MUFA – Ácidos Graxos Monoinsaturados / PUFA – Ácidos Graxos Poliinsaturados

*** Sem adição de Lípido ou CHO – As quantidades informadas são apenas residuais

2 - Fonte de Nutriente

	Fresubin® Protein Powder
Proteínas	100% Proteína do Soro do Leite
Carboidratos	Sem Adição – apenas residual
Lípidios	Sem adição – apenas residual

3 - Outros Ingredientes
Ocasionalmente Relevantes para o Gerenciamento Dietético

	Fresubin® Protein Powder
Lactose	(-)
Colesterol	(-)
Purina	(-)
Glúten	-

- isento de

(-) clinicamente isento de

4 - Composição de Carboidratos

		Fresubin® Protein Powder	
		100 g	5 g
Glicose	g	N.C.*	N.C.*
Frutose	g	N.C.*	N.C.*
Galactose	g	N.C.*	N.C.*
Maltose	g	N.C.*	N.C.*
Sacarose	g	N.C.*	N.C.*
Lactose	g	≤1	≤0,05

* N.C.: Não contém

5 - Perfil de Aminoácidos

Aminoácidos		100 g	5 g
Indispensáveis (essenciais)			
Lisina	g	9,05	0,45
Treonina	g	7,05	0,35
Metionina	g	2,09	0,1
Fenilalanina	g	2,78	0,14
Triptofano	g	1,74	0,09
Valina	g	5,74	0,29
Leucina	g	9,92	0,5
Isoleucina	g	6,61	0,33
Condicionalmente indispensáveis			
Tirosina	g	2,70	0,14
Cisteína	g	2,35	0,12
Taurina	g	-	-
Histidina	g	1,74	0,09
Arginina	g	1,83	0,09
Glutamina	g	5,43	0,27



Fresubin® Protein Powder

Dispensáveis (não- essenciais)			
Glicina	g	1,57	0,08
Alanina	g	4,79	0,24
Prolina	g	6,35	0,32
Serina	g	4,96	0,25
Ácido Glutâmico	g	11,5	0,58
Ácido Aspártico e Asparagina	g	10,4	0,52

6 - Modo de Preparo

Ⓢ Módulo de proteína do soro do leite para nutrição enteral. **USAR SOB ORIENTAÇÃO DE NUTRICIONISTA E/OU MÉDICO. USO EXCLUSIVO PARA NUTRIÇÃO ENTERAL. PROIBIDO O USO POR VIA PARENTERAL. CUIDADOS DE CONSERVAÇÃO:** Conservar em local seco e fresco. **INGREDIENTES:** proteínas do soro do leite, emulsificante (lectina de soja). **NÃO CONTEM GLUTEN. DOSAGEM:** A dosagem deverá ser adaptada de acordo com as necessidades de cada paciente. **MODO DE PREPARO:** O produto pode ser adicionado a bebidas quentes ou frias e alimentos sólidos recém preparados, de acordo com as instruções abaixo:

Alimentos líquidos ou sólidos em temperatura acima de 70 °C (sem ferver):

- dissolver 2-3 medidores (10-15 g) de pó em uma pequena quantidade de líquido (25-50 mL) à temperatura ambiente.
- Adicionar essa mistura a 150 mL de líquido quente ou 150 g de alimento sólido aquecido, no máximo 10 minutos antes de servir. Não ferver o alimento durante ou após a adição do pó.

Alimentos líquidos ou sólidos em temperatura abaixo de 70 °C:

- misturar 2-3 medidores (10-15 g) de pó em 150 mL de líquido ou 150 g de alimento sólido.

7 - Informações adicionais

A dosagem e número de porções ao dia deverão ser adaptados às necessidades de cada paciente, conforme prescrição de nutricionista e/ou médico

Após aberta a embalagem, consumir o produto no prazo máximo de 1 mês.

Anexo 2. Laudo do farmacêutico para a vitamina



CERTIFICADO DE ANÁLISE

Insumo:	Vitamina C Revestida	Data de Análise:	16-03-2018
Lote Interno:	18C07-B047-030523	Lote Fabricante:	17120306
Data de Fabricação:	03-12-2017	Data de Validade:	02-12-2019
Origem:	China	Procedência:	Hong Kong
Condições de Armazenamento:	Temperatura Ambiente	Ordem de Fracionamento:	030523

DCB:	00104	DCI:	ASCORBIC ACID
CAS:	50-81-7	Peso Molecular:	176,1232
Fórmula Molecular:	C6H8O6		

Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Descrição *	Grânulos, branco ou quase branco	Conforme		Fabricante
Perda por Dessecação *	$\leq 0,4$ (4 horas / 60°C / a vacuo / 1g)	0,16	%	Fabricante
Resíduo por Ignição *	$\leq 0,1$	0,08	%	Fabricante
Chumbo *	$\leq 0,0002$	Não detectado	%	Fabricante
Ársénio †	$\leq 0,0002$	Não detectado	%	Fabricante
Metas Pesados *	$\leq 0,001$	$< 0,001$	%	Fabricante
Solvente Residual (CG) *	Etanol < 5000	Conforme	ppm	Fabricante
Teor *	$\geq 97,0$	98,45	%	Fabricante
Teste Microbiológico				
Cont total de bactérias *	≤ 1000	< 10	UFC/g	Fabricante
Fungos e leveduras *	≤ 100	< 10	UFC/g	Fabricante
Staphylococcus aureus *	Ausente	Ausente		Fabricante
Salmonella *	Ausente	Ausente		Fabricante
Escherichia coli *	Ausente	Ausente		Fabricante
Teste Adicional				
Densidade Aparente *	Informativo (sem compactação)	0,68	g/mL	MGFB - V

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade, SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA, E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

Conclusão:

Aprovado (X)
Reprovado ()

Anexo 3. Avaliação Subjetiva Global de 7-pontos

Avaliação Global Subjetiva - 7 pontos		
Nome:		Data:
HISTÓRIA		1 a 7
PESO/MUDANÇA DE PESO		
1. Peso anterior (kg) _____ (peso seco de 6 meses atrás)		
Peso atual (kg) _____ (peso seco hoje)		
Perda de peso/últimos 6 meses _____ (%)/ _____ (Kg): perda desde início ou da última AGS.		
2. Mudança de peso nas últimas 2 semanas: (<input type="checkbox"/>) Sem mudança (<input type="checkbox"/>) Aumento (<input type="checkbox"/>) Redução		
INGESTÃO ALIMENTAR		
Sem mudança (adequada): _____ Sem mudança (inadequada) _____		
1. Mudança: ingestão reduzida:		
() proteína, () Kcal, (tempo observado: _____)		
(<input type="checkbox"/>) Apenas líquida (<input type="checkbox"/>) Líquida hipocalórica (<input type="checkbox"/>) Jejum		
SINTOMAS GASTROINTESTINAIS		
Sintomas	Frequência	Duração
(<input type="checkbox"/>) Nenhum		
(<input type="checkbox"/>) Anorexia	_____	_____
(<input type="checkbox"/>) Náusea	_____	_____
(<input type="checkbox"/>) Vômito	_____	_____
(<input type="checkbox"/>) Diarréia	_____	_____
Frequência: Nunca, diariamente, 2 a 3x/semana; 1 a 2 x/semana Duração: > 2 semanas/< 2 semanas		

CAPACIDADE FUNCIONAL	
Descrição	Duração
<input type="checkbox"/> Sem alteração	_____
<input type="checkbox"/> Com alteração	_____
<input type="checkbox"/> Dificuldade para deambular	_____
<input type="checkbox"/> Dificuldade em realizar atividades (aquelas "normais" ao paciente)	_____
<input type="checkbox"/> Atividade leve	_____
<input type="checkbox"/> Sentado/acamado com pouca ou nenhuma atividade	_____
<input type="checkbox"/> Melhora para realizar atividades	_____
DOENÇAS E COMORBIDADES RELACIONADAS COM AS NECESSIDADES NUTRICIONAIS	
Diagnóstico principal: _____ Comorbidades: _____	
Requerimento: <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Reduzido	
Estresse metabólico agudo: <input type="checkbox"/> Nenhum <input type="checkbox"/> Baixo <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Elevado	
EXAME FÍSICO	
<input type="checkbox"/> Redução de gordura subcutânea (tríceps, bíceps, peito, abaixo dos olhos)	
Todas áreas <input type="checkbox"/> Algumas áreas <input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> Redução de muscular (têmporas, clavículas, escápulas, costela, quadríceps, panturrilha, joelho e interósseos)	
Todas áreas <input type="checkbox"/> Algumas áreas <input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> Edema (relacionado à desnutrição/usar este item para avaliar mudança de peso)	
Pontuação Geral	
Risco muito leve para desnutrição a bem nutrido = 6 a 7 para maioria das categorias ou com melhora continuada ou significante.	
Desnutrição leve a moderada = 3, 4 ou 5. Sem sinais evidentes de desnutrição severa ou de estado nutricional normal.	
Desnutrição grave = 1 ou 2 na maioria das categorias/com sinais importantes de desnutrição.	