



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA - PPGBTOX**

**ESTUDO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO  
POR PLACEBO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO  
DE GUARANÁ EM MARCADORES BIOQUÍMICOS  
ASSOCIADOS À ATEROSCLEROSE**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Leila Atiyeh Mustafa Suleiman**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

**ESTUDO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO POR  
PLACEBO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE GUARA-  
NÁ EM MARCADORES BIOQUÍMICOS ASSOCIADOS À  
ATEROSCLEROSE**

**Leila Atiyeh Mustafa Suleiman**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica,  
da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),  
como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivana Beatrice Mânica da Cruz**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ATIYEH MUSTAFA SULEIMAN, LEILA  
ESTUDO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO POR PLACEBO  
DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE GUARANÁ EM MARCADORES  
BIOQUÍMICOS ASSOCIADOS À ATEROSCLEROSE / LEILA ATIYEH  
MUSTAFA SULEIMAN.-2013.  
70 f.; 30cm

Orientadora: IVANA BEATRICE MÂNICA DA CRUZ  
Coorientadores: - -, - -, - -  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica  
Toxicológica, RS, 2013

1. ATEROSCLEROSE 2. ESTRESSE OXIDATIVO 3. DOENÇAS  
CARDIOVASCULARES I. BEATRICE MÂNICA DA CRUZ, IVANA II. -  
, - III. -, - IV. -, - V. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:  
Bioquímica Toxicológica - PPGBTOX**

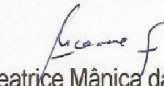
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**ESTUDO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO POR  
PLACEBO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE GUARANÁ  
EM MARCADORES BIOQUÍMICOS ASSOCIADOS À  
ATEROSCLEROSE**


elaborada por  
**Leila Atiyeh Mustafa Suleiman**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

  
Ivana Beatrice Mânica da Cruz, Dra. (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

  
Maria Rosa Chitolina Schetinger, Dra. (UFSM)

  
Alexis Trott, Dr. (UNOESC)

Santa Maria, outubro de 2013.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por oportunizar minha qualificação profissional e pessoal. A Ele, que em todos os momentos da minha vida se Faz presente e que, em Sua imensa bondade, proporciona-me um momento tão importante da vida; que ilumina meu caminho e o das pessoas que vivem próximas a mim.

Ao meu querido marido José que, em sua incansável paciência, apoiou-me em todos os momentos, não deixando que desanimasse pelo caminho. A ele, que só trouxe palavras de incentivo, que acreditou e que, com seu imenso bom humor, fazia das horas difíceis um incentivo maior para prosseguir a caminhada.

Aos meus queridos filhos Chérrer e Anissa que, apesar de minha ausência, guardavam para mim sempre uma palavra de amor e carinho.

Aos meus pais que, apesar de não estarem próximos, rezam por mim e são as pessoas maravilhosas a quem eu devo minha trajetória.

Aos meus queridos irmãos que desejam sempre o meu sucesso.

À minha querida amiga Jamila que, não fosse sua insistência, talvez não tivesse retornado à Universidade. Obrigada, amiga!

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivana, obrigada pela oportunidade, confiança para que eu pudesse concluir mais essa jornada. Mas, acima de tudo, agradeço a sua humildade, que acredito ser a qualidade mais completa que o ser humano possa ter, pois é detentora de um saber inquestionável, mas consegue manter-se sempre disposta a trocar conhecimentos com seus orientandos.

Aos voluntários da pesquisa, por sua disponibilidade e confiança em todos os momentos que se fizeram necessários. Aos colegas do Laboratório de Biogenômica: Caroline Beló, Maria Fernanda, Fernanda Barbisan, Thaís Algarve e Francine Cado-ná, obrigada pela disponibilidade para a conclusão dos trabalhos. Admiro a qualidade e competência com que executam suas tarefas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, pela atenção e organização demonstrada durante o período de realização do curso. À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pela qualidade de seus docentes e excelência em formação.

Àqueles que aqui não foram citados, mas certamente foram lembrados por contribuírem, de alguma forma, para este trabalho.

Muito Obrigada!

Quem busca o conhecimento e o acha  
obterá dois prêmios: um por procurá-lo e  
outro por achá-lo. Se não o encontrar, a-  
inda assim, restará o primeiro prêmio.

(Maomé, 278).

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica da  
Universidade Federal de Santa Maria

### **ESTUDO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO POR PLACEBO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE GUARANÁ EM MARCADORES BIOQUÍMICOS ASSOCIADOS À ATEROSCLEROSE**

AUTORA: LEILA ATIYEH MUSTAFA SULEIMAN

ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> IVANA BEATRICE MÂNICA DA CRUZ

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 17 de outubro de 2013.

Guaraná (*Paullinia cupana*) é um alimento funcional e estudos prévios sugerem atividades antioxidante, antiplaquetária, antiobesogênica, hipolipemiante e moduladora dos níveis de óxido nítrico (ON). Os prováveis efeitos do guaraná relacionam-se à sua composição química constituída principalmente por xantinas como a cafeína, teofilina, teobromina e de polifenóis como as catequinas e seus derivados. A identificação de compostos bioativos em frutos brasileiros é de extrema relevância para o desenvolvimento de produtos naturais que apresentem atividade terapêutica e, nesse contexto, encontra-se o guaraná. Evidências sugerem que o seu consumo pode intervir no estabelecimento da aterosclerose, patologia determinante nas doenças cardiovasculares (DCVs). A maior parte dos estudos prévios realizados, analisou compostos herbais que continham guaraná na sua composição, em modelos experimentais animais ou em estudos populacionais transversais observacionais. Portanto, é incipiente a investigação para analisar se o guaraná apresenta atividade sobre biomarcadores sanguíneos glicêmicos, lipídicos, nutricionais, oxidativo-inflamatórios e isquêmicos. Objetivos: investigar se a suplementação com uma reduzida dose de guaraná em um curto espaço de tempo poderia ter influência sobre marcadores bioquímicos associados à aterosclerose em adultos jovens com sobrepeso, portanto, com risco de desenvolver a patologia. Métodos: foi realizado um ensaio clínico, randomizado, controlado por placebo para testar se a suplementação de uma dose mínima diária (90mg) de guaraná poderia afetar biomarcadores sanguíneos metabólicos, oxidativos e isquêmicos. Voluntários saudáveis (n=14) com sobrepeso consumiram cápsulas de guaraná pó (90/mg dia) durante 14 dias. Os resultados mostraram que o suplemento com guaraná reduziu em 20% os níveis de triglicérides (p=0,015). Observou-se também redução nos níveis de ácido úrico (p=0,042) e marcadores do metabolismo oxidativo, como TBARS (p=0,0015), carbonilação de proteínas (p<0,0001) e AOPP (p=0,025) enquanto houve um aumento nos níveis sanguíneos da enzima catalase (p=0,001), albumina (p<0,0001) e proteína total (p=0,0005). Estes resultados foram independentes de sexo e idade. O presente estudo sugere que uma dose mínima de guaraná em um período reduzido de tempo provoca efeito modulador positivo em alguns biomarcadores sanguíneos de risco cardiovascular humano independentemente da perda de peso, apresentando, desta forma, efeito positivo sobre os moduladores de risco ateroscleróticos.

**Palavras-chave:** *Paullinia cupana*. Marcadores bioquímicos. Estresse oxidativo. Doenças cardiovasculares.

## ABSTRACT

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica da  
Universidade Federal de Santa Maria

### CLINICAL, RANDOMIZED, PLACEBO CONTROLLED OF GUARANÁ SUPPLEMENTATION ON BIOCHEMICAL MARKERS ASSOCIATED TO ATHEROSCLEROSIS

AUTORA: LEILA SULEIMAN

ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> IVANA BEATRICE MÂNICA DA CRUZ

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 17 de outubro de 2013.

Guarana (*Paullinia cupana*) is a functional food and previous studies suggest antioxidant, antiplatelet, antiobesogenic lipid-lowering and modulating activities of the levels of nitric oxide (ON) effects. The probably effects of guarana are related to their chemical composition consisting mainly of xanthine as caffeine, theophylline, theobromine and polyphenols such as catechins and their derivatives. The identification of bioactive compounds in Brazilian fruit is of extreme relevance for the development of natural products that have therapeutic activity and, in this context, is guarana. Evidence suggests that consumption may intervene in the establishment of atherosclerosis pathology in determining cardiovascular diseases (CVDs). Most previous studies examined herbal compounds containing guarana in its composition, in experimental animal models or observational cross-sectional population studies. Therefore, is incipient research to analyze if the guarana presents activity on biomarkers blood glucose, lipid, nutritional, oxidative - inflammatory and ischemic. Objectives: Investigate whether supplementation with a low dose of guarana in a short space of time could have an influence on biochemical markers associated with atherosclerosis in young adults overweight, therefore at risk of developing pathology. Methods: We performed a clinical trial, randomized, placebo-controlled trial, to test whether supplementation of a minimum daily dose (90mg) of guarana may affect blood biomarkers metabolic, oxidative and ischemic. Healthy volunteers (n = 14) overweight consumed capsules guarana powder (90/mg day) for 14 days. The results showed that supplementation with guarana reduced by 20% triglyceride levels (p = 0.015). It was also observed reductions in uric acid levels (p = 0.042) and markers of oxidative metabolism, such as TBARS (p = 0.0015), protein carbonylation (p <0.0001) and AOPP (p = 0.025) while there was an increase in blood levels of catalase (p = .001), albumin (p <0.0001) and for total protein (p = 0.0005). These results were independent of gender and age. The present study suggests that a minimum dose of guarana in a reduced period of time causes a positive modulatory effect on some blood biomarkers of human cardiovascular risk, regardless of the weight loss, showing thus a positive effect on atherosclerotic risk modulators.

**Keywords:** *Paullinia cupana*. Biochemical markers. Oxidative stress. Cardiovascular disease.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aC	Antes de Cristo
AOPP	<i>Advanced oxidized protein products</i> (produtos avançados de oxidação proteica)
dC	Depois de Cristo
DHAP	Fosfato de diidroxiacetona
DCV	Doença cardiovascular
DCVs	Doenças cardiovasculares
EANs	Espécies ativas de nitrogênio
EAOs	Espécies ativas de oxigênio
EGCG	Epigallocatequina-galato
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> (lipoproteína de alta densidade)
IAM	Infarto agudo do miocárdio
Igf y	Interferon gama
IMA	Albumina modificada pela isquemia
IL -1	Interleucina 1
IL -1 $\beta$	Interleucina 1 Beta
IL - 6	Interleucina 6
IL - 10	Interleucina 10
Kg/m <sup>2</sup>	Quilos por metros ao quadrado
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (lipoproteína de baixa densidade)
mg	Miligramas
mg/dl	Miligramas por decilitros
mM	Milimolar
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
n	Número de voluntários
OMS	Organização Mundial da Saúde
ON	Óxido nítrico
ox LDL	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
SM	Síndrome metabólica
SNP	Nitroprussiato de sódio
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral $\alpha$

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema geral do vaso sanguíneo mostrando as suas principais camadas teciduais .....	12
Figura 2 -	Aspectos histopatológicos da aterosclerose .....	14
Figura 3 -	Hipótese oxidativo-inflamatória do desenvolvimento da aterosclerose .....	18
Figura 4 -	Aspectos relacionados à região produtora de guaraná .....	22
Figura 5 -	Principais moléculas bioativas identificadas no guaraná com potencial efeito terapêutico.....	24

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>1.1 Aspectos etiológicos e patológicos da aterosclerose</b> .....	11
<b>1.2 Histórico e importância das plantas medicinais</b> .....	15
<b>1.3 A influência da dieta e dos fitoterápicos na prevenção e tratamento da aterosclerose e seus fatores de risco</b> .....	17
<b>1.5 Potencial efeito do guaraná (<i>Paullinia cupana</i>) nos fatores de risco da aterosclerose</b> .....	21
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	26
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	27
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	27
<b>3 ARTIGO - Daily guaraná powder supplementation modulates some metabolic and oxidative blood biomarkers</b> .....	28
<b>Abstract</b> .....	30
<b>Introduction</b> .....	31
<b>Subjects and Methods</b> .....	33
<b>Subjects</b> .....	33
<b>Methods</b> .....	35
<b>Statistical analysis</b> .....	36
<b>Results</b> .....	37
<b>Discussion</b> .....	41
<b>References</b> .....	45
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	50
<b>CONCLUSÕES</b> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	59
<b>Anexo A - Carta de Aprovação</b> .....	69
<b>Anexo B - Autorização de acesso e de remessa de amostra de componentes do patrimônio genético</b> .....	70

# ***1 INTRODUÇÃO***

As doenças cardiovasculares (DCVs) são responsáveis pela maior parte dos óbitos na população mundial, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), (WHO, 2011). Dentre os principais fatores de risco estão: a dislipidemia, hipertensão arterial, obesidade, diabetes mellitus do tipo 2 e síndrome metabólica aliados a maus hábitos alimentares e ao sedentarismo. Estes fatores não são exclusivos de adultos e idosos, podendo estar presentes precocemente em crianças e adolescentes (ECKEL et al., 2005).

Tais fatores de risco estão associados ao estabelecimento de um processo patológico denominado aterosclerose que é o principal fator causal das DCVs. Em cerca de 98% dos casos, alterações ateroscleróticas são responsáveis pelas doenças arteriais coronarianas (KLUTHCOUSKI; PORTO, 1999). O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma doença arterial coronariana que, em 85% a 90% dos casos, deve-se à obstrução aguda da artéria coronária, resultante da cascata de coagulação iniciada pela ruptura da placa aterosclerótica (PATTERSON et al., 1995).

### **1.1 Aspectos etiológicos e patológicos da aterosclerose**

A aterosclerose caracteriza-se pela formação de placas gordurosas nos vasos sanguíneos que pode ter consequências fatais. Para que a fisiopatologia da aterosclerose seja entendida, faz-se necessário conhecer a estrutura cito-histológica dos vasos sanguíneos (Figura 1). Vasos sanguíneos, como as artérias, são constituídos por uma camada monocelular, mais interna, que recobre o seu lúmen formada por tecido epitelial de revestimento, denominada endotélio. Abaixo do endotélio, encontra-se uma pequena camada de tecido conjuntivo frouxo, o subendotélio, também conhecido como “íntima”. A camada íntima, por sua vez, liga-se a uma camada mais espessa formada de tecido muscular liso, responsável pela contração e relaxamento dos vasos sanguíneos. Este movimento de contração e relaxamento é de fundamental importância para a manutenção da homeostase corporal e está diretamente associada à pressão arterial sanguínea. Por fim, o vaso é revestido por um tecido conjuntivo que o delimita, denominado túnica adventícia ou albugínea.

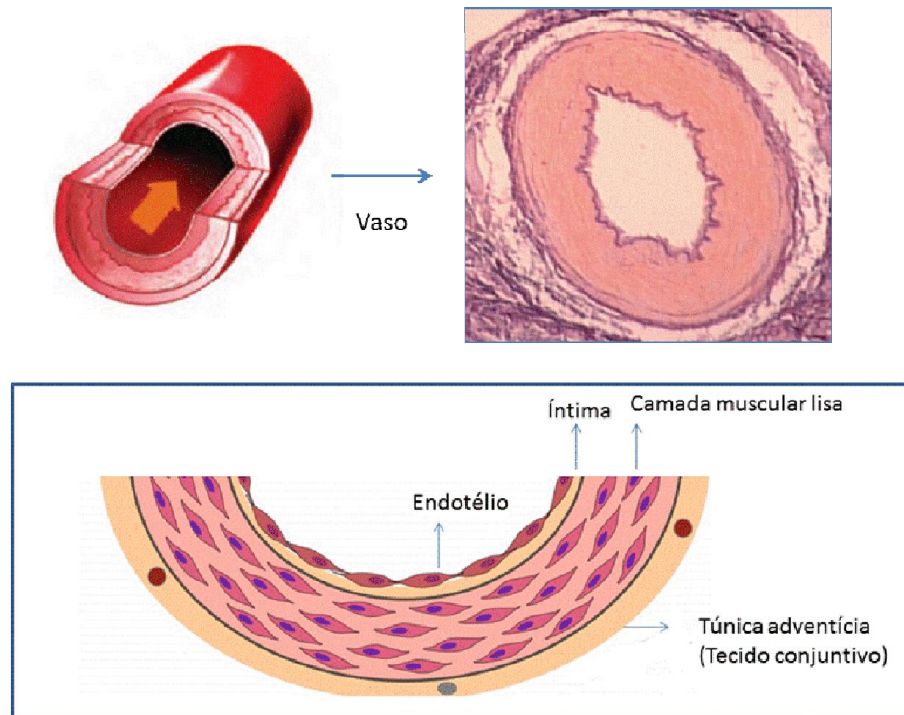


Figura 1 - Esquema geral do vaso sanguíneo mostrando as suas principais camadas teciduais.

Fonte: Junqueira e Carneiro (2012).

O tecido conjuntivo das camadas íntima e túnica adventícia são ricos em fibras elásticas que auxiliam na contração e relaxamento dos vasos sanguíneos, mantendo a circulação e pressão sanguínea em níveis de normalidade (Junqueira e Carneiro 2012).

Apesar de o endotélio ser formado por uma única camada de células epiteliais, ele é biologicamente ativo e está relacionado com diversas funções fisiológicas importantes (VAHOUTTE et al., 1996), dentre elas, o controle da vasodilatação através da produção da molécula de óxido nítrico (ON). A camada subendotelial (íntima) nutre o endotélio e o liga à camada constituída de células musculares lisas que irão contrair-se ou dilatar-se, regulando assim a pressão sanguínea (AIRD WC, 2004).

Em presença de fatores de risco anteriormente citados, pode ocorrer elevação e oxidação do LDL colesterol, formando moléculas de LDL-oxidado (oxLDL). Estas moléculas possuem grande afinidade pelo tecido conjuntivo, podendo migrar da corrente circulatória para a camada do subendotélio. Reconhecidas como moléculas estranhas, podem desencadear uma resposta imunológica na qual os monócitos di-

ferenciam-se em macrófagos (FROSTEGARD et al., 1990; ROSS, 1999; GOTTLIEB et al., 2005.) , e passam a migrar para a camada do subendotélio com o intuito de fagocitar as moléculas de oxLDL.

Estas moléculas não são completamente digeridas pelos macrófagos, acumulando-se no citoplasma sob a forma de gotículas. Após a ingestão de um número elevado de oxLDL, ocorre a morte de macrófagos na camada do subendotelial, formando as células gordurosas (*foam cells*) conhecidas como “células espumosas”. Estas células tendem a aglomerar-se, induzindo a migração de algumas células musculares lisas e resíduos de coagulação que se aderem às “células espumosas”, originando a estrutura da placa aterosclerótica (SNIDERMAN, 2004). Sob a persistência da interação de fatores anteriormente citados, a inflamação crônica persiste, levando a um rompimento desta placa, o que pode resultar na formação de um coágulo ou trombo sanguíneo, o qual pode obstruir o vaso sanguíneo, impossibilitando a passagem de oxigênio e nutrientes.

A oclusão do lúmen vascular apresenta como consequência patologias como isquemia cardíaca e acidente vascular cerebral (BRAUNWALD, 2001). Assim, a formação e progressão da placa aterosclerótica envolve processos ligados a alterações glicêmicas, lipídicas, estados: inflamatório, oxidativo e isquêmico que, por sua vez, levam a processos cardiovasculares importantes. As múltiplas interações entre plaquetas, linfócitos T, macrófagos, células do tecido muscular liso, moléculas de adesão e componentes genéticos têm sido documentadas e provavelmente promovam o ambiente de inflamação necessário para provocar a injúria endotelial (LIBBY, 2002).

A Figura 2 mostra um esquema do processo de desenvolvimento e estabelecimento da aterosclerose.

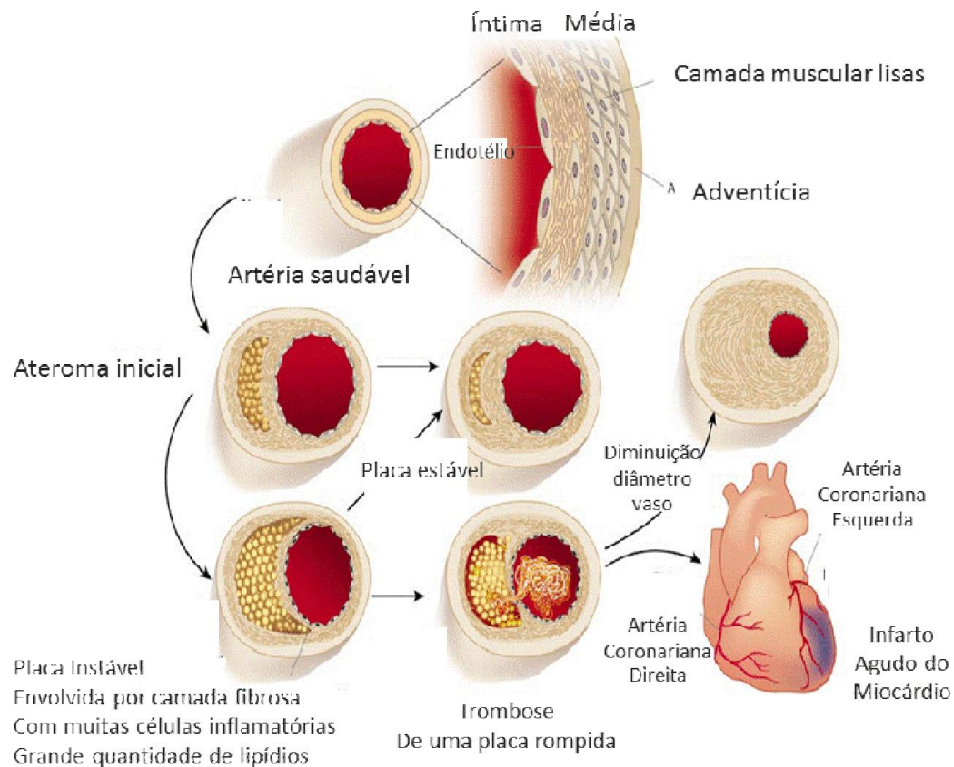


Figura 2 - Aspectos histopatológicos da aterosclerose.

Fonte: Libby (2002).

Os processos oxidativos e inflamatórios auxiliam no estabelecimento dos mecanismos pelos quais a aterosclerose tem sua origem e progressão. Através destes fatores, foram identificados biomarcadores associados à aterosclerose que podem ser utilizados para a investigação da influência de fatores de risco emergentes ou de fatores antiateroscleróticos com alimentos presentes na dieta, fitoterápicos e suplementos alimentares. Os biomarcadores têm características passíveis de avaliação e mensuração, como indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou de resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica (ZWART et al., 1999; LA BAER, 2005).



## 1.2 Histórico e importância das plantas medicinais

Considerada em tempos remotos como uma manifestação divina, a utilização de plantas medicinais é tão antiga quanto a própria civilização (YAMADA, 1998). Povos inteiros dominavam seus segredos, muitas vezes associados à magia e rituais religiosos, buscando na natureza recursos para melhorar suas próprias condições de vida, aumentando suas chances de sobrevivência. Portanto, o tratamento das enfermidades com a utilização de plantas medicinais é uma prática que sempre existiu na história da humanidade (MORAES; SANTANA, 2001).

De acordo com Simões, Schenkel e Simon (2001) e Vale (2002), os primeiros registros fitoterápicos datam do período 2.838-2.698 a. C., quando o imperador chinês Shen Nung catalogou 365 ervas medicinais e venenos que eram usados sob inspiração taoísta de Pan Ki, considerado Deus da criação. Esse primeiro herbário foi organizado seguindo uma ordenação de dois polos opostos: yang-luz, céu, calor, esquerdo; e o yin-trevas, terra, frio. Assim, a Medicina Tradicional Chinesa utiliza, de forma expressiva, plantas medicinais desde 2.500 a.C até os dias atuais, para o tratamento de várias enfermidades que acometem o ser humano (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2007). Pode-se afirmar que dois mil anos antes do aparecimento dos primeiros médicos gregos como Hipócrates e Galeno, já existia uma medicina egípcia organizada. Em relação à medicina egípcia também foram encontrados papiros datados do período entre 2200 a 1800 a.C., escritos na XII dinastia. Ebers Papyrus, datado de 1.500 a. C., foi um manuscrito egípcio que já continha informações sobre 811 prescrições e 700 drogas. O rolo teria sido encontrado junto a uma múmia e estima-se que tenha sido escrito por volta do ano 1550 a.C. (DEVIIENNE et al., 2004).

O Império Romano também desenvolveu a sua medicina através das plantas com o surgimento de complexas misturas de ervas, conhecidas como galênicas, que nada mais eram que reproduções das primitivas misturas gregas e egípcias. No registro da “História das plantas”, Theofrasto de Eresus (371-328 a.C.), considerado o “pai da Botânica”, relata descrições botânicas muito precisas, acompanhadas de indicações sobre efeitos tóxicos e propriedades curativas (LORIN, 2005).

Com o Renascimento, houve um estímulo ao pensamento científico, e, com o advento da imprensa, o conhecimento existente foi distribuído dos confins das clau-

suras monásticas, complementando a medicina popular e aprimorando remédios herbais caseiros, que eram passados de geração em geração verbalmente. No curso da história, por volta de 1200 d.C., o desenvolvimento da medicina restringiu-se aos persas e árabes, mantendo-se, entretanto, as ideias de Galeno e Hipócrates. O resultado da medicina greco-islâmica também foi descrito na *Canon Medicina*, uma enciclopédia escrita no século XI por Ibn Sina, médico conhecido atualmente por Avicena. Esta obra foi repassada ao Ocidente e tornou-se base fundamental do tratamento médico no final da Idade Média (GILSON, 1998).

Na Europa, o primeiro jardim destinado exclusivamente ao estudo e produção de plantas medicinais surgiu em torno de 1545 d.C., na escola médica de Pádua, Itália. Ao final do século XVI, encontravam-se completamente difundidos os saberes medicinais da época por toda a Europa e estes ligados a uma Universidade com a cadeira de medicina.

Pesquisas, como o isolamento da quinina a partir da quina por Pelletier e Caventou por volta de 1820, contribuíram para ratificar a constatação de que as plantas medicinais tinham um importante valor. Em 1831, o farmacêutico alemão Mein isolou o composto químico atropina, um antagonista muscarínico não seletivo utilizado como adjuvante em processos anestésicos e utilizado no tratamento da bradicardia e da hipermotilidade intestinal (BARREIRO, 1990; RANG et al., 2007).

Por este motivo, até o século XIX, plantas medicinais e extratos vegetais representavam os recursos terapêuticos utilizados nas enfermidades em geral, o que pode ser ilustrado pelas Farmacopeias da época. A maioria dos medicamentos de origem vegetal representavam os próprios remédios utilizados na medicina (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2000). Entretanto, os avanços na química impulsionaram o desenvolvimento de uma grande quantidade de medicamentos produzidos a partir de moléculas sintéticas que são utilizados na medicina e farmácia contemporânea (SOUZA, 2006). Apesar da relevância destes medicamentos, em 1978, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu a medicina tradicional e seus efeitos benéficos para a saúde. Em 1985, a OMS publicou uma estatística, na qual aproximadamente 80% da população mundial ainda utilizava como tratamento primário para as moléstias a medicina tradicional (VEIGA et al., 2005).

Portanto, os vegetais representam uma fonte de princípios ativos com ação farmacológica. O crescente destaque refere-se ao seu papel importante na nutrição humana e na prevenção de patologias, como fornecedores naturais de vitaminas e

sais minerais, elementos indispensáveis para a higidez do organismo, tendo reflexo positivo na Saúde Pública (WAGNER, 2003).

Assim, estima-se a existência de 250.000-500.000 espécies de plantas no mundo, porém o potencial das plantas superiores como fonte de medicamentos é pouco explorado (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991). Das 25.000 a 75.000 espécies vegetais estimadas utilizadas nas medicinas tradicionais do mundo, apenas 1% é conhecida por estudos científicos, demonstrando seu valor terapêutico, quando administradas em seres humanos (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991).

Desta forma, parte-se hoje para a utilização racional de plantas medicinais, procurando garantir a segurança de sua utilização e, mais além, desenvolvendo mecanismos de manejo sustentado para assegurar a constância desta terapia. Muitas plantas medicinais que têm sua eficiência e toxicidade terapêutica avaliadas, ou já determinadas, podem ser utilizadas pela população, atendendo às suas necessidades básicas de saúde e garantindo um tratamento de baixo custo, fácil acesso e com grande compatibilidade cultural.

A relevância do uso das plantas na prevenção e tratamento de doenças como a aterosclerose está fortemente associada à presença de determinadas moléculas químicas entre as quais os polifenóis, mais especificamente os flavonoides que apresentam papel de destaque.

### **1.3 A influência da dieta e dos fitoterápicos na prevenção e tratamento da aterosclerose e seus fatores de risco**

Uma vez que a aterosclerose é uma doença cardiovascular sistêmica, que apresenta uma patogênese complexa envolvendo estresse oxidativo, disfunção endotelial e inflamação crônica, existem muitos estudos voltados para o entendimento do efeito da dieta na prevenção e tratamento, assim como nos mecanismos que promovem o desencadeamento da aterosclerose. Neste trabalho, será focado apenas os aspectos que relacionam a dieta e o uso de fitoterápicos na prevenção terapêutica da aterosclerose e seus fatores de risco. Muitos extratos têm sido testados com destaque a plantas como a *Salvia miltiorrhiza*, *Curcuma longa*, *Rheum undulatum* and *Panax notoginseng*, que parecem regular a iniciação e a propagação da aterosclero-

se (ZENG et al., 2011). Pesquisas revelam que fatores dietéticos são de suma importância nos processos de desenvolvimento da aterogênese. Uma das hipóteses relacionadas ao desenvolvimento da aterosclerose seria a de que esta alteração patológica é desencadeada pelo estresse oxidativo (Figura 3). Portanto, o estresse oxidativo é considerado causa primária desta patologia (OZKANLAR; AKCAY, 2012). A peroxidação lipídica causada pela presença de espécies ativas de oxigênio (EAOs) como os radicais hidroxila e espécies ativas de nitrogênio (EANs) como o peróxido nítrico, resultam na formação de malondialdeído (produto citotóxico), propiciando a formação de estresse oxidativo.

Esta condição pode causar disfunção endotelial. O estresse oxidativo, produção e oxidação de todos os tipos de lipídios incluindo o LDL-colesterol, origina o oxLDL. O oxLDL estimula a liberação da citocina pró-inflamatória, interleucina 1 (IL-1) pelas células endoteliais e pelos macrófagos. Entretanto, se ocorrer liberação de ON, responsável pela vasodilatação, esta molécula possui a capacidade de inibir os efeitos das citocinas inflamatórias e outras moléculas de adesão que estão relacionadas com a aterosclerose.

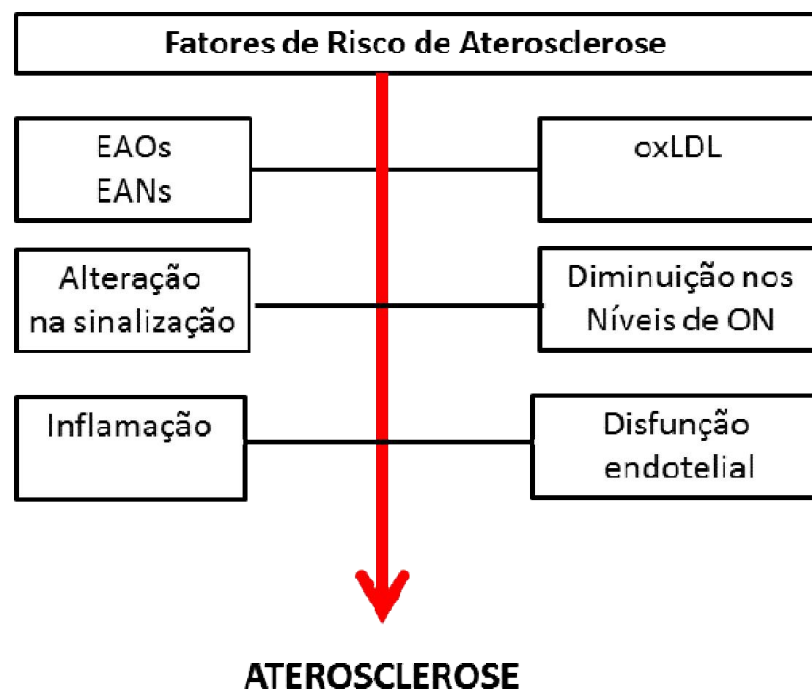


Figura 3 - Hipótese oxidativo-inflamatória do desenvolvimento da aterosclerose

Fonte: Ozkanlar e Akcay (2012).

Entretanto, em presença de disfunção endotelial, ocorre redução nos níveis de ON, contribuindo para o desenvolvimento da placa aterosclerótica. Este fato ocorre em situações de estresse oxidativo, onde há uma elevação substancial da produção do ânion superóxido. Esta molécula possui alta afinidade pelo ON e ligando-se a ela produz principalmente a substância reativa peroxinitrito, causando peroxidação lipídica e prejudicando assim os níveis de ON e causando a disfunção endotelial. Portanto, esta alteração fisiológica desencadeia a produção da placa adiposa aterosclerótica (OZKANLAR; AKCAY, 2012).

Há aproximadamente duas décadas, o uso de suplementação com antioxidantes começou a ser implantado com o objetivo de realizar estudos que comprovem o uso de plantas medicinais, alimentos e fitoterápicos na prevenção de DCVs. Uma variedade muito grande destes compostos são ricos em antioxidantes e podem minimizar o desenvolvimento da aterosclerose. Os antioxidantes naturais são um conjunto muito heterogêneo de moléculas que, presentes em baixas concentrações, comparativamente às biomoléculas que supostamente protegeriam, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo (HALLIWELL, 2012). São também as principais responsáveis pelos efeitos benéficos à saúde cardiovascular, incluindo moléculas como a vitamina E, pigmentos carotenoides, vitamina C, flavonoides, beta-caroteno e outros compostos fenólicos (KIM et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2006). As principais classes de antioxidantes naturais são: compostos fenólicos (flavonoides e não-flavonoides), carotenoides, vitaminas (A, C e E) e compostos nitrogenados (DEVASAGAYAM et al., 2004).

Entretanto, uma meta-análise dos ensaios clínicos randomizados não mostrou benefícios consistentes na proteção à aterosclerose de pessoas suplementadas com vitaminas (C, E, carotenoides, etc.). Porém foram descritos potentes efeitos terapêuticos de ingestão elevada de frutas e vegetais na prevenção à aterosclerose. Pesquisas recentes como a realizada por Holt et al. (2009) sugeriram que o consumo de cinco ou mais porções diárias de frutas e verduras poderia ser benéfico para a saúde cardiovascular. Dentro destas frutas e verduras existe uma variedade de polifenóis, especialmente flavonoides, que possuem importante ação sobre o sistema cardiovascular e sobre a inibição da aterogênese. Os flavonoides estão entre os mais importantes grupos do reino vegetal. Mais de 4.000 deles já foram identificados em fontes vegetais (MIDDLETON et al., 2000), sendo suas maiores classes os flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavona, diidroflavonóis, e chalconas.

nas (YAO et al., 2004). Estas moléculas são encontradas em frutos, legumes, noz, sementes, alguns tipos de ervas, especiarias, caules e folhas (ACKER et al., 1996). Em sua ação antioxidante, a atividade alvo é principalmente sobre radicais do tipo hidroxila e superóxido, que são espécies altamente reativas envolvidas na oxidação das moléculas de LDL e, portanto, no processo de iniciação da aterosclerose (JOVANOVIC et al., 1998). Flavonoides também podem apresentar atividade modificadora na síntese de eicosanoides, com respostas anti-inflamatórias e antitrombóticas na inibição da agregação plaquetária (GELEIJNSE et al., 2002).

A influência dos flavonoides com atividade inibitória em algumas enzimas oxidases representa um outro tipo de mecanismo que justifica a sua atividade antioxidante. Estudos sugerem que substâncias como a quercetina, morina e catequinas em concentrações de 0,125; 0,25 e 0,5 mM, respectivamente, protegem células endoteliais do ataque de radicais livres gerados pelo sistema xantina oxidase (ZENG et al., 1997).

Estudos sobre o efeito de fitoterápicos como o chá verde e o chá preto sobre a saúde cardiovascular também têm sido conduzidos. Estes são produzidos a partir da planta *Camelia sinensis* e são também ricos em moléculas bioativas como as catequinas, pertencentes à classe de flavonoides. Evidências disponíveis sugerem que o consumo destes chás pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares como descreve a recente revisão feita por Hodgson e Croft (2013). Segundo os autores, os benefícios referem-se à presença de flavonoides que foram isolados e testados em modelos animais, demonstrando capacidade inibitória no estabelecimento da placa aterosclerótica. Estas moléculas possuem a capacidade de aumentar a disponibilidade de ON e melhorar a função endotelial. Elas também possuem algum nível de impacto no peso e gordura corporal. Estas moléculas agem reduzindo o estresse, os danos oxidativos, os processos inflamatórios e a ativação plaquetária. Possuem também ação hipotensiva e diminuem o risco de ocorrência de diabetes do tipo 2.

## **1.5 Potencial efeito do guaraná (*Paullinia cupana*) nos fatores de risco da aterosclerose**

As florestas tropicais e as plantas medicinais são parte significativa da biodiversidade. A biodiversidade é responsável pelo equilíbrio e pela estabilidade dos ecossistemas. Por tratar-se de fonte de imenso potencial econômico, está relacionada com atividades agrícolas, pecuárias, pesqueiras, florestais e também com a base da indústria da biotecnologia, ou seja, da fabricação de medicamentos, cosméticos, sementes agrícolas. Portanto, a biodiversidade possui, além do seu valor intrínseco, valor ecológico, genético, social, econômico, científico, educacional e cultural. Aproximadamente um terço da flora mundial encontra-se localizada em países em desenvolvimento como o Brasil, embora o país não se encontre entre os que mais manufaturam e comercializam produtos naturais. O Brasil é um dos países com maior diversidade genética vegetal, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas (20-22% do total existente no planeta), sendo assim a maior cobertura vegetal em todo o globo (CORRÊA, 2002; MELO et al., 2007).

A tradição no uso de plantas medicinais, aliada ao grande número e variedade nas espécies vegetais, instiga o interesse no estudo das mesmas, dando foco ao efeito terapêutico pesquisado por brasileiros e, mais recentemente, pela indústria farmacêutica, interessada em desenvolver novos medicamentos (SCHENKEL et al., 2007).

Acredita-se que os fitomedicamentos podem ter a mesma eficácia dos medicamentos de referência desde que sejam priorizados aspectos importantes como estudos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos, farmacológicos e o desenvolvimento de metodologias analíticas (TOLEDO et al., 2003). Estes itens fazem com que os estudos, eficácia e segurança assegurem aspectos importantes a serem analisados para que o uso das plantas medicinais seja apropriado em termos de eficácia e segurança (FISCHER, 2005).

Na dieta brasileira, alguns alimentos também podem ser de interesse na prevenção da aterosclerose. Este é o caso do guaraná (*Paullinia cupana*) que é uma planta arbustiva nativa da Amazônia (CORRÊA, 1984) pertencente à família Sapindaceae, muito comum no Amazonas e Pará, também conhecido como uaraná, gua-

ranaúva e guaranaína (CORRÊA, 1984). A semente é a parte utilizável dando origem a um pó produzido através de processo de torrefação e moagem (Figura 3).

Descoberto em 1821 por Humboldt que, em contato com indígenas, principalmente da tribo Maués, que viviam na Amazônia, observou o uso frequente da semente do fruto na forma de pastas, xaropes, pomadas em várias moléstias e para obtenção de energia (SCHIMPL et al., 2013).

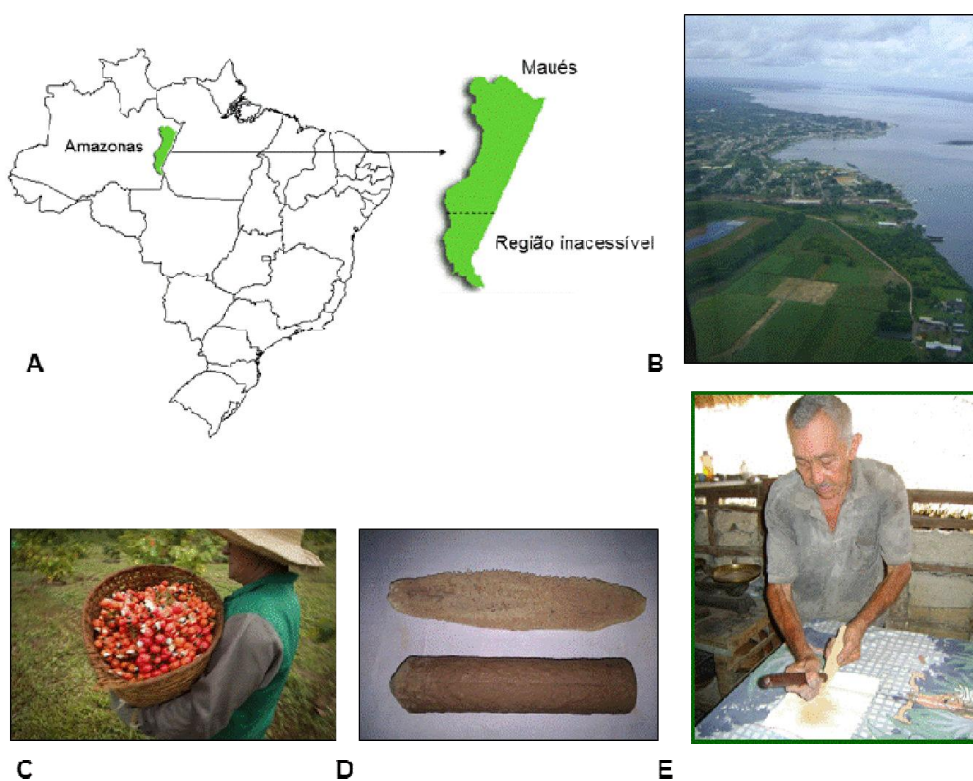


Figura 4 - Aspectos relacionados à região produtora de guaraná. (A) Mapa indicando a localização geográfica de Maués; (B) Maués é um município com cerca de 50 mil habitantes dos quais 50% vivem na região urbana apresentada na foto. Os demais vivem em 175 pequenas comunidades ribeirinhas distribuídas nos 40 mil km<sup>2</sup> do município; (C) Colheita do guaraná; (D) Tradicionalmente a semente do guaraná é lavada, tostada e moída e é feito um bastão com este pó. (E) Posteriormente, este bastão de guaraná é ralado na língua do pirarucu (que é óssea). O pó obtido é colocado em água e tomado com mel ou açúcar, pela manhã, em jejum.



Estudos iniciais sobre a composição do guaraná descreveram como componentes principais a celulose (47,12%), amido (9,35%), resina vermelha (7,80%), pectina (7,40%), ácido guaraná-tânico (5,90%), materiais albuminoides (1,75%), saponina (0,66%), glicose (0,77%) e água (7,65%). Outras substâncias em concentrações reduzidas também foram descritas como: ácido málico e a dextrina (CORRÊA, 1984). O guaraná também é rico em compostos bioativos que incluem xantinas e polifenóis (Figura 4) como a cafeína, teobromina, teofilina e catequinas (SMITH; ATROCH, 2010). Particularmente a cafeína e as catequinas presentes no guaraná também são encontradas em outros alimentos com efeito antiaterosclerótico como o chá verde e preto e o café. O guaraná também possui teobromina que é o principal composto ativo encontrado no chocolate (ÂNGELO et al., 2008).

Citado pelas farmacopeias brasileira, europeia, mexicana e americana, dentre as plantas constituídas de cafeína, o guaraná detém o maior percentual desse alcaloide. O percentual de cafeína encontrado nas sementes de guaraná variam em média de 2,5% a 6,9% (SCHIMPL et al., 2013).

Estudos científicos com guaraná começaram a ser realizados por volta de 1940 por pesquisadores franceses e alemães cujos achados confirmaram as indicações preconizadas pelos indígenas. Suas propriedades benéficas foram passadas aos colonizadores europeus que logo começaram a utilizá-lo principalmente como estimulante até seu uso comercial na composição de um dos principais refrigerantes consumidos no Brasil, o popular “Guaraná” (SMITH; ATROCH, 2010; SCHIMPL et al., 2013).

Importantes efeitos biológicos do guaraná têm sido relatados em artigos científicos produzidos a partir de estudos em seres humanos e modelos experimentais, incluindo aqueles que potencialmente teriam ação antiaterosclerótica. Entre estes efeitos estão: (1) antioxidante (MATEI et al., 1998; BASILE et al., 2005; PINHEIRO et al., 1987; YAMAGUTI-SASAKI et al., 2007); (2) antiplaquetário (HALLER et al., 2005); (3) antiobesogênico (OPALA et al., 2006), (4) termogênico (BERUBÉ-PARENT et al., 2005) e (5) hipolipemiante (LIMA et al., 2005); (6) modulatório dos níveis intracelulares de ON (BITTENCOURT et al., 2013).



## MOLÉCULAS IDENTIFICADAS NO PÓ DO GUARANÁ

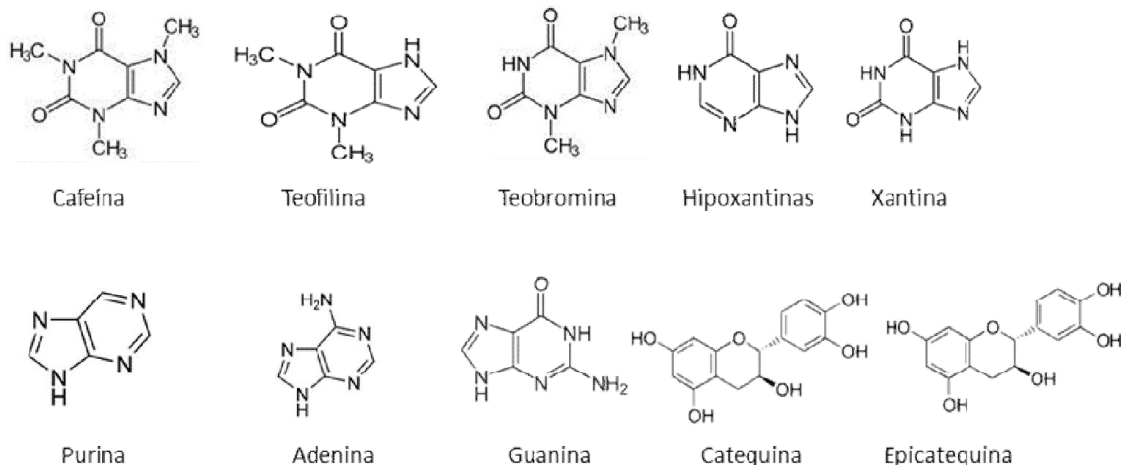


Figura 5 - Principais moléculas bioativas identificadas no guaraná com potencial efeito terapêutico.

Fonte: Bravo (1998).

Apesar de os estudos experimentais e algumas investigações em seres humanos sugerirem efeitos importantes do guaraná na modulação da aterosclerose, só recentemente foi conduzido um estudo epidemiológico que sugeriu que a ingestão habitual do guaraná seria um fator de proteção associado às doenças cardiovasculares. Este estudo foi conduzido por Krewer et al. (2011) que investigaram 637 idosos ribeirinhos que vivem no Município de Maués, no interior do Amazonas, onde existe a maior produção agrícola de guaraná do Brasil.

Estes autores dividiram os idosos em dois grupos. Naqueles que relataram consumir habitualmente guaraná ( $\geq 5$  vezes na semana) e os que nunca consumiam guaraná, por não gostar e não por indicação médica. Os dois grupos foram comparados quanto a diversos indicadores epidemiológicos, antropométricos e bioquímicos relacionados às doenças cardiovasculares.

Os resultados mostraram que idosos que consumiam habitualmente guaraná apresentaram menor prevalência de obesidade, diabetes do tipo 2, hipertensão, síndrome metabólica, bem como de doenças cardiovasculares do que os que não consumiam.

Adicionalmente, os idosos que relataram consumir guaraná apresentaram níveis pressóricos menores, bem como menor concentração plasmática de marcadores oxidativos como os produtos avançados de oxidação proteica (*advanced oxidative proteic products*, AOPP).

Com base nestes resultados, Krewer et al. (2011) realizaram um estudo *in vitro* onde células mononucleares periféricas obtidas de seres humanos saudáveis foram expostas ao guaraná com e sem suplementação de glicose e insulina para mimetizar estados associados à resistência insulínica. Os resultados mostraram que o guaraná agiu modulando o metabolismo oxidativo bem como diminuindo a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1B, IL-6, TNF $\alpha$ , Ig $\kappa$  bem como aumentou os níveis da citocina anti-inflamatória IL-10.

Outra investigação conduzida por Portella et al. (2013) que incluiu protocolos *in vitro* com sangue de idosos com e sem relato de consumo habitual de guaraná mostrou que o guaraná tem a capacidade de diminuir os níveis de oxLDL que é um dos fatores primários da aterosclerose.

Entretanto, as evidências que sugerem que o guaraná poderia ter efeito na modulação de fatores de risco de desenvolvimento da aterosclerose precisam ser avaliadas a partir de estudos controlados, de intervenção a serem conduzidos em seres humanos.

***2 OBJETIVOS***

## 2.1 Objetivo Geral

Investigar se a suplementação diária de guaraná em pó (*Paullinia cupana*) em baixa dosagem e em reduzido espaço de tempo poderia ter influência sobre marcadores sanguíneos associados ao estabelecimento da aterosclerose, fator causal da maior parte de doenças cardiovasculares em adultos jovens saudáveis com sobrepeso e, portanto, com risco de desenvolverem a patologia.

## 2.2 Objetivos Específicos

A partir de um estudo de intervenção, paralelo, cruzado, controlado por placebo em adultos saudáveis com risco de obesidade (índice de massa corporal  $> 23$  e  $\leq 30$  kg/m<sup>2</sup>), avaliar o efeito da suplementação de 90 mg/diárias de guaraná durante 14 dias na modulação:

- do peso, índice de massa corporal e circunferência abdominal;
- dos níveis pressóricos sistêmicos;
- do perfil lipídico e glicêmico;
- nos níveis da albumina, proteína total e ácido úrico;
- nos níveis da albumina modificada pela isquemia (IMA), marcador isquêmico;
- avaliar nos níveis de marcadores do metabolismo oxidativo: a lipoperoxidação, (TBARS), carbonilação de proteínas, AOPP (produto proteico da oxidação avançada de proteínas), ON (óxido nítrico), tióis totais (proteicos e não proteicos), polifenóis totais, os sistemas enzimáticos superóxido dismutase e catalase;
- avaliar os níveis de proteína C reativa ultrasensível, marcador inflamatório.
- analisar a potencial influência nos resultados obtidos sobre: o gênero, a idade, o índice de massa corporal e a circunferência abdominal.

**3 ARTIGO**

# DAILY GUARANÁ POWDER SUPPLEMENTATION MODULATES SOME METABOLIC AND OXIDATIVE BLOOD BIOMARKERS<sup>1</sup>

Leila Suleiman<sup>1</sup>, Caroline Beló<sup>1</sup>, Euler E. Ribeiro<sup>2</sup>, Rafael N. Moresco<sup>3</sup>, Guilherme Boschi<sup>3</sup>, Marta M.M.F. Duarte<sup>3</sup>, Katiuscia T. Antunes<sup>1</sup>, Maria Fernanda Mânica-Cattani<sup>4</sup>, Fernanda Barbisan<sup>3</sup>, Taís Cristina Unfer<sup>1</sup>, Alencar Kolinski Machado<sup>1</sup>, Francine Carla Cadoná<sup>1</sup>, Ivana B.M. da Cruz<sup>1,4,5</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria

<sup>2</sup> Universidade Aberta da Terceira Idade, Universidade do Estado do Amazonas

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria

<sup>5</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria

**Corresponding author:** Ivana B.M. da Cruz, Av. Roraima 1000, Prédio 19, Santa Maria-RS, Brasil. Zip code: 90.105-900. Phone: 55-55-32208163, Fax: 55-55-32208239, email: [ibmcruz@hotmail.com](mailto:ibmcruz@hotmail.com)

---

<sup>1</sup> Manuscrito submetido ao periódico de circulação internacional *Journal of Functional Foods*, publicado pela Elsevier, com índice de impacto de 2.742.

## Abstract

Guarana (*Paullinia cupana*) is a functional food and previous studies suggest antioxidant, antiplatelet, antiobesogenic lipid-lowering and modulating activities of the levels of nitric oxide (ON) effects. The probably effects of guarana are related to their chemical composition consisting mainly of xanthine as caffeine, theophylline, theobromine and polyphenols such as catechins and their derivatives. The identification of bioactive compounds in Brazilian fruit is of extreme relevance for the development of natural products that have therapeutic activity and, in this context, is guarana. Evidence suggests that consumption may intervene in the establishment of atherosclerosis pathology in determining cardiovascular diseases (CVDs). Most previous studies examined herbal compounds containing guarana in its composition, in experimental animal models or observational cross-sectional population studies. Therefore, is incipient research to analyze if the guarana presents activity on biomarkers blood glucose, lipid, nutritional, oxidative - inflammatory and ischemic. Objectives: Investigate whether supplementation with a low dose of guarana in a short space of time could have an influence on biochemical markers associated with atherosclerosis in young adults overweight, therefore at risk of developing pathology. Methods: We performed a clinical trial, randomized, placebo-controlled trial, to test whether supplementation of a minimum daily dose (90mg) of guarana may affect blood biomarkers metabolic, oxidative and ischemic. Healthy volunteers (n = 14) overweight consumed capsules guarana powder (90/mg day) for 14 days. The results showed that supplementation with guarana reduced by 20% triglyceride levels (p = 0.015). It was also observed reductions in uric acid levels (p = 0.042) and markers of oxidative metabolism, such as TBARS (p = 0.0015), protein carbonylation (p <0.0001) and AOPP (p = 0.025) while there was an increase in blood levels of catalase (p = .001), albumin (p <0.0001) and for total protein (p = 0.0005). These results were independent of gender and age. The present study suggests that a minimum dose of guarana in a reduced period of time causes a positive modulatory effect on some blood biomarkers of human cardiovascular risk, regardless of the weight loss, showing thus a positive effect on atherosclerotic risk modulators.

**Keywords :** *Paullinia cupana* .Biochemical markers . Oxidative stress. Cardiovascular disease.



## Introduction

Obesity has become a major worldwide health mainly, because it increases cardiovascular risk through risk factors, such as increased fasting plasma triglycerides, high LDL cholesterol, low HDL cholesterol, elevated blood glucose and insulin levels, and high blood pressure (Klop et al., 2013). Evidence suggests that foods rich in polyphenolic and alkaloids compounds, like caffeine, catechins and epigallocatechin-3-gallate (EGCG), as coffee, green tea and yerba mate, present antiobesogenic effect. These foods also present metabolic effects, such as improvement on endothelial function, glucose metabolism, increase of reverse cholesterol transport, inhibition of foam cell formation, as well as, antioxidant, anti-inflammatory and lipid-lowering activities (Heckman et al., 2010; Bracesco et al., 2011 Bøhn et al., 2012).

Guarana, an Amazon native fruit, has gained popularity in developed countries ,like the U.S., in beverages that provide caffeine or energy boosts, such as energy drinks and sports drinks (Smith & Atroch, 2010; Higgins et al., 2010; Andrews et al., 2007). Some previous investigations suggested that guaraná, or herbal preparations, containing this plant had some positive effects on weight loss, increased basal energy expenditure and lipid metabolism modulation (Boozer et al., 2001; Opala et al., 2006; Berubé-Parent et al., 2005; Lima et al., 2005).

The guarana effects is probably is related to a chemical composition that presents high caffeine concentrations and other methylxanthines such as theobromine, theophylline. This plant contains about twice the caffeine found in coffee beans (about 2-4.5% caffeine in guaraná seeds compared with 1-2% for coffee beans) (Bempong et al., 1993). Guaraná also has saponins, catechins, epicatechins, and proanthocyanidols, along with other compounds, in trace concentrations in this nutritional matrix. Guarana also contains a high concentration of tannins (about 16% in

dry matter). An investigation of guarana transcriptome found out the presence of transcripts related to secondary metabolism and protection against biotic stress, such as enzymes involved in biosynthesis of catechins and epicatechin, dihydroflavonol-4-reductase and anthocyanidin synthase and caffeine. The authors also identified other metabolic pathways activated in guaraná transcriptome such as carotenoid biosynthesis, like lycopene and zeta-carotene (Angelo et al., 2008).

Until recently, epidemiological evidence suggested that guaraná's effect on cardio metabolic risk factors was incipient. To evaluate if guaraná has an impact on the health of persons that habitually consumes this fruit, a previous case-controlled study was performed by Krewer et al. (2011). The study included 637 elderly Amazonian riverine subjects ( $\geq 60$  years of age). These elderly people were classified as either those who habitually drank guaraná or those who never drank guaraná. The results showed a lower prevalence of hypertension, obesity and metabolic syndrome in the elderly group that habitually drank guaraná. Additionally, the authors reported a significant association between lower levels of advanced oxidative protein product (AOPP) and habitual guaraná consumption.

An *in vitro* and *in vivo* protocols performed by Portella et al. (2013) showed that guaraná, similar to other foods rich in caffeine and catechins had some effect on LDL oxidation that could partially explain the protective effects of this food in cardiometabolic diseases.

This evidence support that guaraná powder supplementation could present some action on the modulation of blood biochemical markers related to obesity and other cardio metabolic diseases. Therefore, we performed a controlled study to test if the minimum daily guaraná dose (90 mg) supplementation could present effects on

blood biomarkers associated with metabolic, oxidative and inflammatory biomarkers in overweight adults.

## **Subjects and Methods**

### **Subjects**

The study was undertaken in 14 volunteers (six male and eight female) with a mean age of 37.1 years old. All participated voluntarily in the study after giving their consent. The study was approved by the Ethics Committee of the Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, N° 23081.015838/2011-10). They were recruited in Rosário do Sul city, localized in the Southern Brazilian State (Rio Grande do Sul). They were non-smokers, recreationally active, with body mass index (BMI)  $> 23$  and  $\leq 30$  kg/m and without chronic morbidities. Body weight, height BMI, waist circumference (WC) and blood pressure were measured according to previously described by Krewer et al (2011).

A crossover, controlled intervention protocol was performed and divided in 4 consecutive periods (Figure 1). The protocol started with an initial washout period (7 days) during which the participants were instructed not to deviate from their regular habits and to maintain their normal diet and exercise level, avoiding medications and alcohol intake. The volunteers were advised to not ingest foods rich in caffeine such as coffee, tea, *chimarrao*, a traditional yerba mate beverage, and other nutritional supplements that could have an influence on biochemical variables analyzed. In the second period, the volunteers were supplemented with guaraná capsules during 14 days. The third wash-out period (75 days), the volunteers did not receive any sup-

plementation, and they were advised to follow their everyday lifestyle. In the fourth period, the volunteers were supplemented again during 14 days with placebo capsules. The volunteers were informed that they would receive guaraná supplementation along with placebo. However, it was not informed to them whether supplementation with guaraná would occur in the first or second phase of the intervention. Fasting blood samples were also collected at baseline and after each period. At baseline and after each intervention period, a medical examination and a nutrient intake and physical activity, along with structured questionnaires were made.

In order to perform the trial, a health history, a physical examination and basic laboratory indices were collected on all subjects before their inclusion in the study protocol. The guaraná powder was packaged in capsules of 90mg to facilitate administration and ensure the correct bioavailability. The subjects took one capsule (90/mg) every day between 8:00 AM and 9:00 AM during the intervention period.

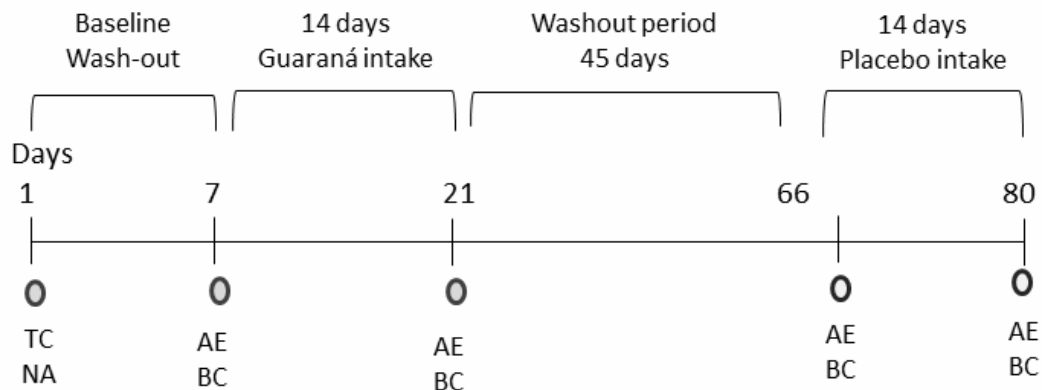


Figure 1 - Experimental design. TC= volunteer inclusion; term consent sign; NA= nutritional advisement. The volunteers were orientated to maintain the same dietary pattern, with exception of caffeine and antioxidant foods and supplement intake that were prohibited in the intervention periods; AE= anthropometric examination; BC= blood collection. All volunteers were supplemented with guaraná capsule (90 mg) and placebo capsule. The randomization was performed to determine if the first intervention was made with guaraná or placebo intake. The wash-out period is the interval where the volunteers did not receive any treatment or dietary intervention.

### *Guaraná powder characteristics and doses*

The guaraná powder was supplied by EMBRAPA, Amazônia Ocidental (Agropecuária Research Brazilian Enterprise) governmental sector that control the guaraná production in the Amazonas State. The bioactive compounds present in guaraná powder was used as a supplement in this study and was previously determined by Bittencourt et al. (2013) and bromatological characteristics were informed by EMBRAPA. We chose the minimal dose guaraná supplementation of 90 mg per day. Previous determination of caffeine (12.24%), theobromine (6.7%) and catechin (4.3%) were performed in the guaraná powder used in this study (Bittencourt et al., 2013).

From this analysis, it was estimated that a daily ingestion of 22 mg of methylxanthines (mainly compounded by caffeine) from guaraná supplementation. This methylxanthines daily dose from guaraná supplementation is within the range recommended by ANVISA (15 to 70 mg), a Brazilian regulatory agency that has similar action that US Food & Drug Administration (FDA). This dose also decreased the probability to occurrence of caffeine symptoms (Higgins et al., 2010) in the volunteers that could lead to a discontinuity of subjects during the treatment period.

### **Methods**

Blood samples were collected after 12 h overnight fasting by venous puncture into Vacutainers® tubes (BD Diagnostics, Plymouth, UK). Fasting glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, uric acid, creatinine, total proteins and albumin were evaluated using standard methods on Cobas MIRA® automated analyzer

(Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Low-density lipoprotein cholesterol was estimated with the Friedewald equation (1972). High-sensitivity C reactive protein (hs-CRP) was measured by nephelometry (Dade Behring, Newark, DE, EUA). Serum ischemic modified albumin (IMA) used as an ischemic marker was measured by a colorimetric assay reported in absorbance units (ABSU).

The biomarkers of oxidative metabolism spectrophotometrically analyzed here were: total polyphenol content, lipid peroxidation quantified by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) using method described by Jentzsch et al. (1996). Protein carbonyls were measured according to the method described by Morabito et al. (2004). Results were expressed as nanomoles of carbonyl groups per mg protein. The catalase (CAT) enzyme was determined in whole blood using method described by Aebi (1984) by measuring the rate of decomposition of  $H_2O_2$  at 240 nm and superoxide dismutase enzymes (SOD) activity using the method described by McCord and Fridovich (1969). Thiol groups were determined, as described by Ellman (1959). Total polyphenols were spectrophotometrically determined in plasma by reading the absorbance at 750 nm (Folin-Ciocalteu method) and using gallic acid as a standard, as described by Chandra and de Mejia (2004). Advanced oxidative protein products (AOPP) was spectrophotometrically measured according Selmechi et al. (2005) and nitric oxide (NO) according Tatsch et al. (2011).

### **Statistical analysis**

Statistical analyses were performed and the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests were used to determine variable distribution and values from data that did not present normal distribution was log transformed before statistical analy-

sis. Data comparison baseline 1, after 14 days of guaraná supplementation, baseline 2 and after 14 days of placebo supplementation was performed by one-way analysis of variance followed by Bonferroni *post hoc* test. An additional multivariate analysis of variance was performed to evaluate the potential influence of sex and age in the results. The  $p$  values were two-tailed and the differences were considered to be statistically significant at  $p \leq 0.05$ .

## Results

The baseline characteristics of all parameters evaluated in the volunteers that participated of the study are described in Table 1. Sex and age did not present significant influence on the biochemical variables analyzed here.

During the intervention period, no significant changes in BMI, waist circumference and blood pressure were observed in the volunteers. Although, guaraná daily supplementation had affected significantly some metabolic and oxidative variables. As can see in Figure 2, the guaraná supplementation decreased the triglycerides levels ( $102.7 \pm 38.5$  mg/dL,  $p=0.015$ ) and uric acid ( $4.3 \pm 1.2$  mg/dL,  $p=0.042$ ) when compared to baseline values. On the other hand, guaraná daily intake increased the albumin levels ( $4.8 \pm 0.23$  mg/dL,  $p<0.0001$ ) as well as total proteins ( $74.3 \pm 4.1$  g/dL,  $p= 0.0005$ ) when compared to baseline values. When the volunteers were supplemented with placebo these results were not observed, indicating guaraná effect on these variables.

Some variables associated with oxidative metabolism were also significantly affected by guaraná supplementation (Figure 3). Considering the antioxidant variables whereas proteic and no-proteic thiols ( $p=0.048$ ) and SOD activity ( $p=0.0009$ )

decreased their levels after guaraná supplementation, an increase in the catalase activity ( $p=0.001$ ) was observed.

Table 1 - Baseline characteristics of adult healthy volunteers

Variables	Mean $\pm$ SD	95% CI
Age (years)	37.0 $\pm$ 8.3	32.1-41.8
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	27.1 $\pm$ 3.5	25.0-29.1
Waist circumference (cm)	93.7 $\pm$ 11.6	87.5-102.7
Systolic blood pressure (mmHg)	118.9 $\pm$ 11.8	112.1-125.7
Diastolic blood pressure (mmHg)	72.9 $\pm$ 7.3	68.7-77.1
Glucose (mg/dL)	86.1 $\pm$ 12.3	79.0-93.2
Cholesterol total (mg/dL)	192.8 $\pm$ 29.0	176.0-209.6
Triglycerides (mg/dL)	146.0 $\pm$ 36.7	103.6-188.4
LDL- cholesterol (mg/dL)	113.9 $\pm$ 27.2	98.2-129.6
HDL- cholesterol (mg/dL)	49.2 $\pm$ 11.1	42.7-51.8
Total protein (g/dL)	45.2 $\pm$ 4.9	42.4-48.1
Albumin (mg/dL)	4.5 $\pm$ 0.3	3.2-4.9
IMA (ABSU)	0.75 $\pm$ 0.13	0.67-0.82
Uric acid (mg/dL)	4.9 $\pm$ 1.2	4.0-5.8
HS-CRP (mg/L)	4.2 $\pm$ 4.3	1.7-7.5
Total Polyphenols (mg/dL)	2.7 $\pm$ 0.3	2.52-2.9
Thiols ( $\mu$ mol/mL plasma)	154.1 $\pm$ 28.2	137.7-170.3
Protein carbonyl (mg/dL)	0.47 $\pm$ 0.09	0.7-0.8
TBARS (nmol/mL erit)	16.3 $\pm$ 12.1	9.3-23.3
SOD (uSOD)	32.7 $\pm$ 11.9	25.7-39.5
Catalase (Imol /mL)	38.1 $\pm$ 3.4	31.4-36.6
NO (mmol/L)	140.9 $\pm$ 141.6	89.1-252.6
AOPP (mmol/L)	179.1 $\pm$ 42.2	154.6-203.6

SD= standard deviation; CI =confidence interval



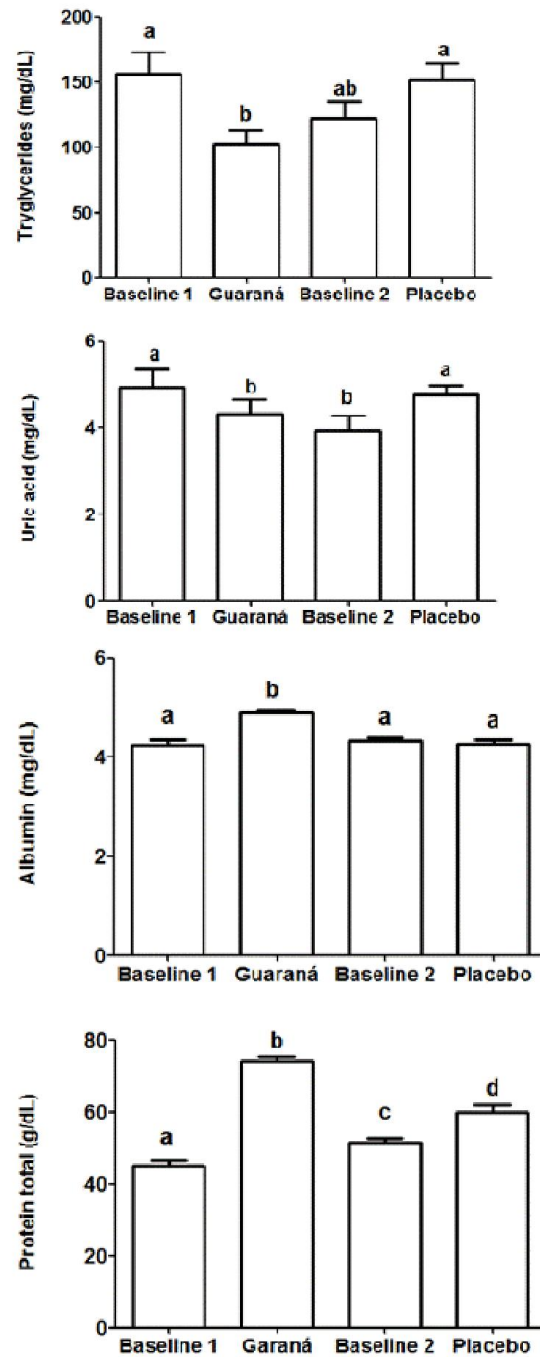


Figure 2 - Guarana and placebo effect on blood triglycerides, albumin, uric acid and total protein levels (mean  $\pm$  standard deviation). Different letters indicate statistical differences determined by analysis of variance followed by Bonferroni *post hoc* test at  $p < 0.05$ .

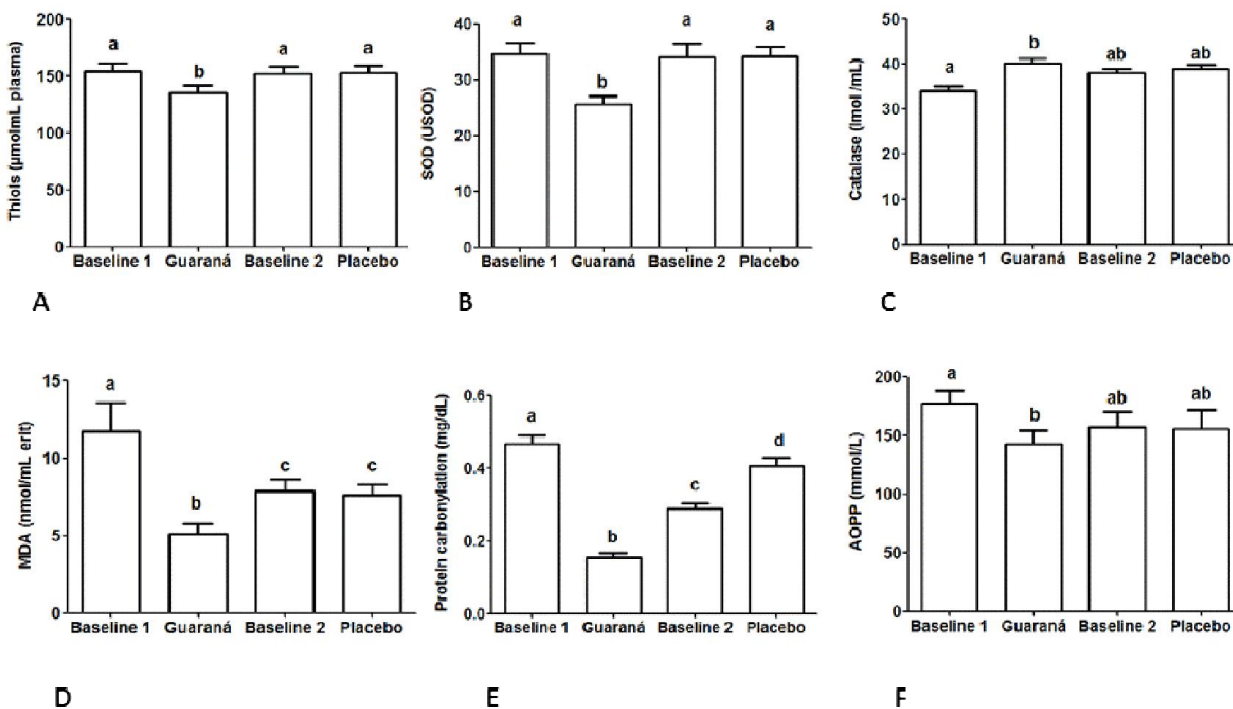


Figure 3 - Guarana and placebo effect on oxidative metabolism variables thiols total, superoxide dismutase, catalase, lipoperoxidation (TBARS/MDA), protein carbonylation and advance oxidative protein products (AOPP) presented as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters indicate statistical differences determined by analysis of variance followed by Bonferroni *post hoc* test at  $p < 0.05$ .

On the other hand, there occurred to be a decreasing in the level of some oxidative variables as lipoperoxidation measured by TBARS ( $p=0.0015$ ), protein carbonylation ( $p < 0.0001$ ) and AOPP ( $p=0.025$ ). These results were independent of sex and age of the volunteers.

When the volunteers were treated with placebo; the variables that are responsive to guarana supplementation did not present significant alterations. The glucose, other lipid parameters, hsCRP, IMA and NO were not influenced by the placebo treatment.

## Discussion

Guaraná is broadly used in energetic drinks and in antiobesogenic herbal formulations involving increase in the thermogenesis and decrease in the appetite (Harrold et al., 2013). However, the investigations of guaraná ingestion on human blood biomarkers associated with metabolic and oxidative variables without loss weight intervention was not previously analyzed. In this study, we observed a decrease in triglycerides levels about 20% after the short-time (14 days) of guaraná supplementation when compared to basal values. This result is relevant considering that high triglycerides levels ( $\geq 150$  mg/dl) represent an important cardiovascular risk factor. In addition, the influence of guaraná on triglycerides levels is according to epidemiological investigation performed by Krewer et al.[8] that found lower prevalence of metabolic syndrome (MS) in riverine elderly that intake guaraná habitually.

The results also corroborate the 8 weeks randomized study performed by Boozer et al. (2001) that examined the efficacy for weight loss of an herbal supplement containing Ma Huang, guaraná and other ingredients. In this study the authors reported lipid-lowering as decrease in triglycerides levels of the herbal supplement guaraná containing.

The hypo-triglycerides effect is probably associated with the presence of catechins in the guaraná powder. Experimental *in vitro* and *in vivo* studies have suggested that catechins are able to inhibit the intestinal absorption of dietary lipids. These molecules also inhibit the glycerol-3-phosphate dehydrogenase that catalyses the  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)-dependent reduction of dihydroxyacetone phosphate (DHAP) to yield glycerol-3-phosphate, which serves as one of the

major precursors of triacylglycerols (Kao et al., 2010). Catechins as, EGCG also reduces food uptake, gluconeogenesis and stimulates energy expenditure.

Other results described here showed guaraná influence on albumin and total protein. Serum albumin, the most abundant protein in the blood, plays an important role in the reversible binding of many compounds, being the most important carrier of dietary flavonoids (Pal & Saha, 2013). However, we are not able to identify studies showing the potential stimulation of foods rich in catechin and/or caffeine on albumin levels. Therefore, complementary investigations need to be performed to understand the nature of the association between guaraná ingestion and blood albumin levels.

We also found a decrease in plasmatic uric acid levels after 14 days of guaraná powder supplementation. Hyperuricaemia may result from an increased production of uric acid, decreased renal excretion, or both. Serum uric acid has been found to be related not only to a risk of clinical gout, but also to hypertension, diabetes mellitus and cardiovascular diseases. Previous studies as performed by Kiyohara et al. (1999) had 2240 Japanese male, self-defense officials, describe that the consumption of a beverage rich in caffeine, such as coffee and green tea, were related to lower serum uric acid concentrations. The authors hypothesized that as caffeine has a diuretic action probably associated with an increase in renal blood flow, caffeine-rich beverages might increase the renal excretion of uric acid, thereby lowering serum uric acid concentrations. The guaraná seed is a very rich caffeine source, therefore, we can hypothesize that a similar effect described in coffee and green tea beverages could be found in a guaraná powder supplementation. Additionally, the increase in total protein and albumin concentration could also be related to the diuretic effect related to caffeine present in guaraná powder.

Guaraná supplementation presented an important effect on the blood concentration of the most oxidative metabolism biomarkers studied here. Oxidative biomarkers like lipoperoxidation, protein carbonylation and AOPP decreased the levels after 14 days of guaraná supplementation. However, we also observed a decreasing in enzymatic antioxidant markers (SOD and catalase) as well as in total thiois levels. These results are opposed by Bittencourt et al. (2013) that found an increase in SOD levels when embryonic fibroblast culture (NIH-3T3 cells) were exposed to sodium nitroprusside (SNP), that generate high intracellular nitric oxide (NO) levels, with and without guaraná supplementation.

On the other hand, *in vitro* investigations as performed by Zeidán-Chuliá (2013) that treated human neuronal SH-SY5Y cells with caffeine, taurine and guaraná, found that these compounds reduced SOD and catalase activities. These contradictory data could indicate that guaraná affects the SOD activity but this effect is dependent of experimental conditions and the guaraná concentration. The authors also found that excessive removal of intracellular ROS, to nonphysiological levels could cause important *in vitro* toxicity induced by these drugs.

Although the present study has some methodological concerns which include the short time of the guaraná treatment, our results suggest that daily low dose intake of guaraná (90 mg) may exert beneficial and short-time effects on some variables as triglycerides, uric acid, and oxidative parameters related to cardiometabolic physiology without weight loss. In addition, we cannot discard the guaraná effect on other blood metabolic variables after more time of supplementation.

However, we opted to perform a short-time investigation to guarantee that volunteer's continuity in the investigation since our diet is very rich in foods rich in caffeine that, if concomitantly consumed, could influence this investigation.

In conclusion, the results described in this controlled study are in line with previous investigations that suggested positive effects of functional foods rich in polyphenols and caffeine on cardiometabolic risk factors associated to atherogenesis (Baboota et al., 2013).

---

### **Acknowledgment**

The authors thank Mr. Sérgio Mesquita Dantas from Laboratório Proanálise (Rosário do Sul, Brasil) and Centro Vêrdi-Fisioterapia, Hidroterapia e Nutrição for help in blood and anthropometric data collection. This research was supported by the Brazilian government research agencies: FAPERGS, FAPEAM and CNPq. The authors declare no conflict of interest.

## References

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 105, 121-126.

Andrews, K. W., Schweitzer, A., Zhao, C., Holden, J. M., Roseland, J. M., Brandt, M., Dwyer, J.T., Picciano, M. F., Saldanha, L. G., Fisher, K. D., Yetley, E., Betz, J. M., Douglass, L. (2007). The caffeine contents of dietary supplements commonly purchased in the US: analysis of 53 products with caffeine-containing ingredients. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 389, 231-239.

Angelo, P.C., Nunes-Silva, C.G., Brígido, M.M., Azevedo, J.S., Assunção, E.N., Sousa, A.R., Patrício, F.J., Rego, M.M., Peixoto, J.C., Oliveira, W.P. Jr, Freitas, D.V., Almeida, E.R., Viana, A.M., Souza, A.F., Andrade, E.V., Acosta, P.O., Batista, J.S., Walter, M.E., Leomil, L., Anjos, D.A., Coimbra, R.C., Barbosa, M.H., Honda, E., Pereira, S.S., Silva, A., Pereira, J.O., Silva, M.L., Marins, M., Holanda, F.J., Abreu, R.M., Pando, S.C., Gonçalves, J.F., Carvalho, M.L., Leal-Mesquita, E.R., da Silveira, M.A., Batista, W.C., Atroch, A.L., França, S.C., Portom J.I., Schneiderm M.P., Astolfi-Filho, S., Brazilian Amazon Consortium for Genomic Research (REALGENE). (2008). Guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*), an anciently consumed stimulant from the Amazon rain forest: the seeded-fruit transcriptome. *Plant Cell Reports*, 27, 117-124.

Baboota, R. K., Bishnoi, M., Ambalam, P., Kondepudi, K.K., Sarmaa, S. M., Boparaic, R. K., Podili, K. (2013). Functional food ingredients for the management of obesity and associated co-morbidities - A review. *Journal of Functional Foods*, 5, 997-1012.

Bempong, D. K., Houghton, P. J., Steadman, K. (1993). The xanthine content of guarana and its preparations. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 31, 175-181.

Bérubé-Parent, S., Pelletier, C., Doré, J., Tremblay, A. (2005). Effects of encapsulated green tea and Guarana extracts containing a mixture of epigallocatechin-3-

gallate and caffeine on 24 h energy expenditure and fat oxidation in men. *British Journal of Nutrition*, 94, 432-436.

Bittencourt, L. S., Machado, D. C., Machado, M. M., Dos Santos, G. F., Algarve, T. D., Marinowic, D. R., Ribeiro, E. E., Soares, F. A., Barbisan, F., Athayde, M. L., Cruz, I. B. (2013). The protective effects of guaraná extract (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 119-125.

Bøhn, S. K., Ward, N. C., Hodgson, J.M., Croft K. D. (2012). Effects of tea and coffee on cardiovascular disease risk. *Food Funct*, 3, 575-591.

Boozer, C. N., Nasser, J. A., Heymsfield, S. B., Wang, V., Chen, G., Solomon J. L. (2001). An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. *International Journal of Obesity*, 25, 316-324.

Bracesco, N., Sanchez, A. G., Contreras, V., Menini, T., Gugliucci, A. (2011). Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *Journal of Ethnopharmacology*, 136, 378-384.

Chandra, S., Gonzalez de Mejia, E. (2004). Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3583-3589.

Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70-77.

Friedewald, W. T., Levy, R. I., and D. S. Fredrickson. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18, 499-502.

Harrold, J. A., Hughes, G. M., O'Shiel, K., Quinn, E., Boyland, E. J., Williams, N.J., Halford, J. C. (2013). Acute effects of a herb extract formulation and inulin fibre on appetite, energy intake and food choice. *Appetite*, 62, 84-90.



Heckman, M. A., Weil, J., Gonzalez de Mejia, E. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal Food Sciences*, 75, R77-87.

Higgins, J. P., Tuttle, T. D., Higgins, C. L. (2010). Energy beverages: content and safety. *Mayo Clinic Proceedings*, 85, 1033-1041.

Jentzsch, A. M., Bachmann, H., Fürst, P., Biesalski, H.K. (1996). Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical in Biology and Medicine*, 20, 251-256.

Kao, C.C , Wu, B.T., Tsuei ,Y.W., Shih, L. J., Kuo, Y.L., Kao,Y. H. (2010).Green tea catechins: inhibitors of glycerol-3-phosphate dehydrogenase. *Planta Medica*, 76, 694-696.

Kim, H. M., Kim, J. (2013). The effects of Green tea on obesity and type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolism*, 37, 173-175.

Kiyohara, C., Kono, S., Honjo, S., Todoroki, I., Sakurai, Y., Nishiwaki, M., Hamada, H., Nishikawa, H., Koga, H., Ogawa, S., Nakagawa, K. (1999). *British Journal of Nutrition*, 82,125-130.

Klop, B., Elte, J. W., Cabezas, M. C. (2013). Dyslipidemia in obesity: Mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5, 1218-1240.

Krewer, C. C., Ribeiro, E. E. RIBEIRO, E. A., Moresco, R. N., Ugalde, M. R. M. I.,Santos, M. G .F.,Machado, M. M.,Viegas, K., Brito, E.,CRUZ,I. B.(2011). Habitual Intake of Guaraná and Metabolic Morbidities: An Epidemiological Study of an Elderly Amazonian Population. *Phytotherapy Research*, 25, 1367-1374.

Lima, W. P., Carnevali, L. C., Eder, R., Costa Rosa, L. F., Bacchi, E. M., Seelaender, M.C. (2005). Lipid metabolism in trained rats: effect of guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. *Clinical Nutrition*, 24, 1019-1028.

Mc Cord, J. M, Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049-6055.

Morabito, F., Cristani, M., Saija, A., Stelitano, C., Callea, V., Tomaino, A., Minciullo, P., Gangemi, S. (2004). Lipid peroxidation and protein oxidation in patients affected by Hodgkin's lymphoma. *Mediators of Inflammation*, 13, 381-383.

Opala, T., Rzymiski, P., Pischel, I., Wilczak, M., Wozniak, J. (2006). Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on body weight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects-a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial. *European Journal of Medical Research*, 11, 343-350.

Pal, S., Saha, C. (2013). A review on structure-affinity relationship of dietary flavonoids with serum albumins. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics* (Epub ahead of print).

Portella, R. de L., Barcelos, R. P., da Rosa, E. J., Ribeiro, E. E., da Cruz I. B., Suleiman, L., Soares, F. A. (2013). Guaraná (*Paulinnia cupana* Kunth) effects on LDL oxidation elderly people: na in vitro and in vivo study. *Lipids in Health and Disease*, 12, 12-18.

Selmeçci, L., Seres, L., Antal, M., Lukács, J. A., Regöly-Mérei, A., Acsády, G. (2005). Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 43, 294-297.

Smith, N., Atroch, A., L. (2010) .Guaraná's Journey from Regional Tonic to Aphrodisiac and Global Energy Drink. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 7, 279-282.

Tatsch, E.,Bochi, G. V., Pereira, R. da S., Kober,H., Agertt, V.A, de Campos, M. M., Gomes, P., Duarte, M. M., Moresco, R.N. (2011). A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clinical Biochemistry*, 44, 348–350.

Zeidán-Chuliá, F., Gelain, D. P., Kolling, E. A., Rybarczyk-Filho, J. L., Ambrosi, P., Terra, S. R., Pires, A. S., da Rocha, J. B.; Behr, G. A.,Moreira, J. C. (2013). Major components of energy drinks (caffeine, taurine, and guarana) exert cytotoxic effects on human neuronal SH-SY5Y cells by decreasing reactive oxygen species production. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2013/791795.

## ***4 DISCUSSÃO***

O presente estudo foi realizado pelo período de 14 dias com o intuito de fidelizar os voluntários e manter o tratamento durante este período. Tratando-se de guaraná, rico em cafeína e catequinas, os indivíduos foram orientados a não fazerem uso de café, chá de qualquer tipo e mate (bebida tradicional da região), pois o retorno destes elementos na dieta habitual poderia influenciar, de maneira significativa, os resultados da pesquisa. Deste modo, optou-se pela execução de um estudo com menor intervalo de intervenção. A dosagem administrada de 90 mg/diária, corresponde a 22mg de metilxantinas. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária( ANVISA), órgão regulatório, preconiza uma dosagem de 15-70 mg de metilxantinas em compostos contendo estas substâncias.

Após o período de 14 dias (intervenção), observou-se que o guaraná age sobre alguns marcadores bioquímicos importantes, com destaque para a queda nos níveis de triglicérides e biomarcadores do metabolismo oxidativo, apesar da baixa concentração administrada. Estes resultados corroboram com a ideia de que o guaraná tenha potencial efeito sobre marcadores de risco ateroscleróticos.

No Brasil, o pó do guaraná, além do seu consumo tradicional, tem sido amplamente utilizado em bebidas do tipo cola (refrigerantes) e também sob a forma de suplementos. Em outros países, com destaque aos Estados Unidos, o guaraná é utilizado para a produção de bebidas energéticas devido a sua grande concentração de cafeína. Também é encontrado em formulações à base de plantas como antiobesogênico, envolvendo aumento da termogênese e redução no apetite (HARROLD et al., 2013; BERUBÉ-PARENT et al., 2005; OPALA et al., 2005).

No entanto, não foram constatadas, na literatura, investigações em seres humanos, averiguando o efeito da ingestão de guaraná em modificações a curto prazo de marcadores bioquímicos associados a risco de aterosclerose e doenças cardiovasculares. Neste estudo, observou-se uma redução de 20% nos níveis de triglicérides após a suplementação com guaraná por um período reduzido de tempo, sem que esta condição fosse consequência de dieta para perda de peso, fato que merece atenção.

Este resultado é muito importante, considerando que os níveis elevados de triglicérides ( $\geq 150$  mg/dl) representam um importante fator de risco cardiovascular. A influência do guaraná nos níveis de triglicérides vem ao encontro da investigação epidemiológica realizada por Krewer et al. (2011), que constataram uma menor pre-

valência de síndrome metabólica (SM) em idosos de regiões ribeirinhas do Amazonas que habitualmente consumiam guaraná.

Os resultados confirmam um estudo randomizado de 8 semanas realizado por Boozer et al (2001), no qual analisaram a perda de peso em indivíduos com sobrepeso ou obesos após o consumo de um suplemento de ervas contendo a erva Ma Huang, guaraná e outros ingredientes. Neste estudo, os autores relataram efeitos hipolipemiantes do suplemento como a redução nos níveis de triglicerídeos.

O efeito na redução de triglicerídeos está relacionado provavelmente com a presença de catequinas do guaraná em pó. Estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* sugerem que as catequinas são capazes de inibir a absorção intestinal de lipídios provenientes da dieta. Estas moléculas também inibem a enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase que, por sua vez, catalisa o NADH dependente da redução da dihidroxiacetona fosfato (DHAP), para obtenção do glicerol -3- fosfato, um dos principais precursores na formação dos triacilgliceróis. Assim como as catequinas, a EGCG também reduz a absorção de alimentos gliconeogênese e estimula o gasto energético (KAO et al., 2010).

Uma redução nos níveis de ácido úrico plasmáticos após a suplementação do guaraná em pó foi observada nos voluntários. Tais resultados não foram observados quando os mesmos foram suplementados com placebo, o que indicou potencial efeito do guaraná sob este parâmetro. Níveis elevados de ácido úrico no plasma sanguíneo têm sido relacionados com manifestações clínicas importantes como a gota clínica, e também com disfunções e doenças cardiometabólicas. O ácido úrico é considerado, portanto, um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, pois favorece o desenvolvimento do estresse oxidativo, a disfunção endotelial e também está envolvido na patofisiologia da síndrome metabólica (SIMÃO et al., 2012).

A hiperuricemia pode ser resultante do aumento nos níveis de ácido úrico, redução da excreção renal, ou ambos. Estudos anteriores, como o realizado por Kiyohara et al. (1999) em 2240 funcionários japoneses do sexo masculino, relataram que o consumo de uma bebida rica em cafeína, tal como o café e o chá verde, diminuíam os níveis de ácido úrico no soro dos voluntários. A hipótese, segundo estes autores, é de que a cafeína possuiria ação diurética, provavelmente relacionada ao aumento do fluxo sanguíneo renal. Atualmente é considerado que alguns elementos da dieta

como vegetais ricos em purina, grãos, nozes, legumes, frutas e café diminuem o risco de hiperúremia e de gota (TORRALBA et al., 2012).

A semente de guaraná é fonte muito rica em cafeína, portanto, supõe-se que a suplementação de guaraná em pó possa apresentar efeitos semelhantes a atividades descritas em pesquisas realizadas com o café e bebidas à base de chá verde. Na revisão bibliográfica conduzida, até o presente momento não foi possível encontrar estudo prévio indicando efeito exclusivo do guaraná, ou seja, sem a interferência de outros componentes, no mesmo produto, ao analisar os níveis de ácido úrico. Fato importante relatado neste trabalho.

Outros resultados encontrados neste trabalho através da suplementação de guaraná dizem respeito ao aumento nos níveis séricos de albumina e proteína total, porém estes aumentos não foram superiores aos valores considerados normais.

O aumento nos níveis de proteína total e albumina encontrados após a suplementação pode estar relacionado ao efeito diurético em consequência da presença de altos níveis de cafeína presentes no guaraná em pó. Entretanto, estudos prévios relatando potencial efeito do café nos níveis de albumina e proteína total não mostraram resultados significativos. Este foi o caso da investigação conduzida por Onuegbu et al. (2011). Estes autores trataram 30 voluntários saudáveis durante 30 dias com 2g de café. Por outro lado, um estudo realizado por Singha et al. (2012) considerando os principais polifenóis presentes no chá verde como a epicatequina galato (ECG) e a epigallocatequina-3-galato (EGCG) mostrou que estas moléculas interagem ativamente com a albumina.

A albumina é a proteína mais abundante existente no sangue; desempenha papel importante na ligação reversível de muitos compostos, como ácidos graxos e hormônios, além de transportar flavonoides da dieta (PAL; SAHA, 2013). Porém, os estudos não foram capazes de identificar o potencial estímulo dos alimentos ricos em catequina e/ou cafeína sobre os níveis de albumina. Portanto, exames complementares devem ser realizados para compreender a natureza da associação entre a ingestão de guaraná e os níveis de albumina sanguíneos.

A suplementação de guaraná apresentou um efeito importante sobre a concentração sanguínea de biomarcadores do metabolismo oxidativo analisados neste estudo. Houve redução nos níveis da peroxidação lipídica, TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), carbonilação de proteínas e de AOPP (produto proteico de oxidação avançada), após 14 dias de suplementação com guaraná. Foi observa-

da uma redução no marcador antioxidante enzimático superoxidodismutase (SOD), bem como nos níveis de tióis totais, porém houve aumento do marcador enzimático catalase (CAT) e, como citado anteriormente, houve redução na lipoperoxidação lipídica, demonstrando um possível efeito antioxidante do guaraná em substituição à SOD, desempenhando assim, efeito cardioprotetor.

Estes resultados são contrários aos descritos por Bittencourt et al. (2013), que observaram um aumento nos níveis de SOD, em cultura de fibroblastos embrionários (células NIH-3T3) expostos ao nitroprussiato de sódio (SNP). O SNP gera, por sua vez, altos níveis de óxido nítrico intracelular. No entanto, outros estudos *in vitro* como o realizado por Zeidan-Chuliá (2013) em células SH-SY5Y neuronais humanas, tratadas com cafeína, taurina e guaraná resultaram em redução nos índices de SOD e catalase. Estes dados são, a princípio, contraditórios, entretanto podem indicar que, dependendo das circunstâncias, o guaraná modula a SOD, aumentando ou diminuindo a sua atividade. Porém, se este efeito é dependente das condições experimentais bem como da concentração de guaraná é uma questão em aberto. Os autores também descobriram que a remoção excessiva das EAOs intracelulares, em níveis não fisiológicos, poderia causar importante toxicidade *in vitro* através da indução destes medicamentos (ZEIDÁN-CHULIÁ et al., 2013). A redução nos níveis de lipoperoxidação lipídica e principalmente da AOPP está compatível com os resultados descritos por Krewer et al. (2011) em idosos ribeirinhos que consomem habitualmente guaraná.

É também importante comentar algumas limitações metodológicas relacionadas ao presente estudo. Entre estas, a que mais se destaca é a relacionada com o relativo curto tempo de tratamento dos voluntários com o pó de guaraná. Esta condição pode ter diminuído as chances de averiguação de efeitos mais contundentes nos marcadores bioquímicos investigados, com destaque ao perfil lipídico. Entretanto, a opção por realizar um estudo de curta duração ocorreu a fim de garantir que não ocorresse a descontinuidade dos voluntários durante o estudo, conforme citado inicialmente. Uma vez que a intervenção contou com uma fase placebo, precedida por um período de *washout* relativamente longo (45 dias), a não detecção de resultados similares aos observados, quando os voluntários foram suplementados com guaraná, assegurou a investigação de que os efeitos observados eram devido aos efeitos associados a este alimento. Cabe aqui destacar que, no jargão dos ensaios clínicos, é chamado de período de '*washout*' o tempo que o indivíduo participante de



uma pesquisa permanece sem tomar o medicamento e/ou suplemento para que o mesmo seja eliminado de seu organismo. Assim, por exemplo, pesquisa com uma substância para uma determinada patologia para a qual o voluntário usa um medicamento aprovado, o estudo com *washout* estabelece a suspensão da medicação para eliminação da mesma de seu organismo com intuito de iniciar um novo tratamento com uma substância em estudo (FOZ et al., 2011).

Também é importante comentar que os resultados aqui descritos sugeriram que mesmo uma ingestão mínima diária de guaraná (90/mg) pode exercer efeitos benéficos em curto prazo em algumas variáveis bioquímicas associadas ao risco de aterosclerose e doenças cardiovasculares.

Na Instrução Normativa n. 05, publicada em 11 de dezembro de 2008 pela ANVISA que versa sobre a publicação da lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado, a tintura ou extrato de guaraná está incluída, considerando a presença de trimetilxantinas (cafeína) na sua composição. Dentre as indicações terapêuticas do guaraná, está a sua propriedade psicoestimulante, sendo indicado em casos de astenia (fraqueza/fadiga). A ingestão deve ser via oral e não necessita de prescrição médica. Considerando que, em média, o guaraná possui 44 mg/g de cafeína, o suplemento de 90 mg/dia ministrado neste estudo significou a ingestão de uma quantidade mais baixa de cafeína do que a preconizada pela ANVISA. Mesmo esta baixa quantidade mostrou efeito no metabolismo, sugerindo que o guaraná possui efeitos biológicos bastante consistentes. Neste sentido, o quanto superdoses não significariam alterações indesejáveis no metabolismo é uma questão importante a ser considerada.

Esta questão tem sido foco de interesse de alguns trabalhos, principalmente envolvendo os efeitos da ingestão de bebidas energéticas que contêm altas concentrações de cafeína provenientes do guaraná. Tem sido sugerido que bebidas energéticas podem melhorar o desempenho físico e cognitivo. Entretanto, não está claro se os benefícios são realmente relacionados apenas com a cafeína ou também com outras moléculas presentes nestas bebidas. Uma bebida energética típica contém altos níveis de cafeína (entre 40 a 250 mg). Geralmente, estas bebidas contêm taurina, guaraná, ginseng, glucoronolactona, vitaminas B e outros componentes. Porém, o consumo excessivo de cafeína pode causar sintomas conhecidos como “cafeísmo”, que inclui queda dos níveis pressóricos, sensação de cabeça vazia, sudorese, e grande mal-estar. Deste modo, seu consumo descontrolado pode causar efeitos

adversos graves (RATH, 2012). Os resultados aqui descritos sugerem que, mesmo em concentração bastante baixa, o guaraná afeta o metabolismo, indicando potentes atividades farmacológicas, superiores às suas propriedades nutricionais e que, a questão do seu uso indiscriminado, deveria ser revista.

Por outro lado, os resultados aqui obtidos sugerem que o guaraná tem efeito benéfico contra fatores de risco de desenvolvimento da aterosclerose, doenças metabólicas e cardiovasculares. Estes resultados provavelmente são causados pela sua composição química, em consonância com investigações anteriores que descreveram o efeito de alimentos funcionais ricos em polifenóis e cafeína sobre os fatores de risco cardiometabólicos (BABOOTA et al., 2013).

***CONCLUSÕES***

A partir deste estudo clínico, randomizado, controlado por placebo em que adultos saudáveis, porém com sobrepeso, foram suplementados com uma dose mínima de guaraná, em um período relativamente reduzido de tratamento, e com base em todos os resultados aqui apresentados, conclui-se que:

- nestas condições, o guaraná em pó apresentou atividade antioxidante, o que poderia auxiliar na redução do risco cardiovascular devido ao seu potencial efeito positivo sobre os biomarcadores sanguíneos associados à aterosclerose;

- o estudo também mostrou redução dos níveis plasmáticos de triglicérides que é um fator que merece destaque neste período de tratamento;

- também foi observada redução nos níveis de ácido úrico, com consumo do guaraná. Relato prévio da potencial ação do guaraná sobre os níveis de ácido úrico não foi encontrado na revisão bibliográfica realizada. Este é um resultado relevante, uma vez que o ácido úrico é considerado um importante marcador de risco cardiovascular e de síndrome metabólica;

- ao longo do tratamento, não houve perda de peso, o que poderia influenciar os resultados obtidos;

- estes dados foram independentes de sexo, idade, índice de massa corporal e circunferência abdominal;

- no tratamento com placebo, não foram obtidos os mesmos resultados, indicando que as alterações metabólicas ocorreram em consequência da suplementação diária com o guaraná em pó;

- a composição química do guaraná constituída por metilxantinas como a cafeína, teofilina e teobromina, além de catequinas, pode ser responsável pelos efeitos metabólicos do guaraná observados no presente estudo;

- os efeitos do guaraná aqui descritos foram obtidos a partir da suplementação de adultos com uma dose diária mínima de guaraná. Esta dose (90 mg/dia) é muito inferior à dosagem máxima preconizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que é de até 500mg/dia. Portanto, a mesma apresenta baixo risco de toxicidade ainda que tenha ação biológica sobre o metabolismo.

## REFERÊNCIAS

- ACKER, V. S. A. B. E ; BERG, D. V. D. J.; TROMP, M. N. J. L.; GRIFFIOEN, D. H.; BENNEKOM, V. W. P. ; VIJGH, W. J. F. V. D.; BAST, A . Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical in Biology & Medicine**, v. 20, n.3, p. 331-342, 1996.
- AIRD, W. C. Endothelium as an organ system. **Crit Care Med**, v.32, p.271-279, 2004.
- ANGELO, P.C.; NUNES-SILVA, C. G.; BRÍGIDO, M. M.; AZEVEDO, J. S.; ASSUNÇÃO, E.N.; SOUSA, A. R.; PATRÍCIO, F. J.; REGO, M. M.; PEIXOTO, J. C.; ANJOS, D. A.; COIMBRA, R. C.; BARBOSA, M. H.; HONDA, E.; PEREIRA, S.S.; SILVA, A.; PEREIRA, J. O.; SILVA, M. L.; MARINS, M.; HOLANDA, F. J.; ABREU, R. M.; PANDO, S. C.; GONÇALVES, J. F.; CARVALHO, M.L.; LEAL-MESQUITA, E. R.; BABOOTA, R. K.; BISHNOI, M.; AMBALAM, P.; KONDEPUDI, K. K.; SARMAA, S. M.; BOPARAIC, R.K.; PODILI, K. Functional food ingredients for the management of obesity and associated co-morbidities - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 997-1012, 2008.
- BABOOTA, R. K.; BISHNOI, M.; AMBALAM, P.; KONDEPUDI, K.K.; SARMAA, S. M.; BARREIRO, E. J. Produtos naturais bioativos de origem vegetal e o desenvolvimento de fármacos. **Química nova**, v. 13, p. 29-39, 1990.
- BASILE, A.; FERRARA, L.; PEZZO, M.D.; MELE, G.; SORBO, S.; BASSI, P.; MONTESANO, D. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, v.102, n.1, p.32-36, 2005.
- BERUBÉ-PARENT, S.; PELLETIER, C.; DORÉ, J.; TREMBLAY, A. Effects of encapsulated green tea and Guarana extracts containing a mixture of epigallocatechin-3-gallate and caffeine on 24 h energy expenditure and fat oxidation in men. **British Journal of Nutrition**, v.94, p. 432-436, 2005.
- BITTENCOURT, L. S.; MACHADO, D. C.; MACHADO, M. M.; Santos, G.F; ALGARVE, T. D.; MARINOVIC, D.R.; RIBEIRO, E. E., SOARES, F. A. A.; BARBISAN, F.; ATHAYDE, M. L.; CRUZ, I. B. M. The protective effects of guaraná extracts (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. **Food and Chemical Toxicology**, v.53, p.119-125, 2013.

BOOZER, C. N.; NASSER, J. A.; HEYMSFIELD, S. B.; WANG, V.; CHEN, G.; SOL-OMON, J. L. An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. **International Journal of Obesity**, v.25, p.316-324, 2001.

BOPARAIC, R. K.; PODILI, K. (2013). Functional food ingredients for the management of obesity and associated co-morbidities - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p.997-1012, 2013.

BRAUNWALD, E. Changing the practice of cardiovascular medicine. **Atherosclerosis**, v. 2, p.24-30, 2001.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutrition significance. **Nutr. Rev**, n.56, p.317-333, 1998.

CORRÊA, A.D.; BATISTA, R.S.; QUINTAS, L.E.M. **Plantas Medicinais**: do cultivo à terapêutica. 5. ed., Petrópolis: Vozes, 2002.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. IBDF, **Ministério da Agricultura**, v. 1, p. 384, 1984.

DEVASAGAYAM, T.P.; TILAK, J.C.; BOLOOR, K.K.; SANE K.S.; GHASKADBI S.S.; LELE R.D. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. **J Assoc Physicians India**,v.52,p.794-804, 2004.

DEVIENNE, K. F.; RADDI, M. S. G.; POZETTI, G. L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, p. 11-14, 2004.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome is a common metabolic disorder that results from the increasing prevalence of obesity. **Lancet**, v.365, p.16-22, 2005.

FISCHER, D.C.H. Controle de qualidade de matérias-primas vegetais e produtos fitoterápicos. In: GIL, E.S.; ORLANDO, R.M.; MATIAS, R.; SERRANO, S.H.P. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. Campo Grande: Uniderp, 2005.

FOZ, A. M.; JÚNIOR, S.B. F. ; PONCHIO, J.; GONÇALVES, R.P.; PANNUTI,C. M., DE LIMA,L. A. P. A. Delineamentos de ensaios clínicos em pesquisas odontológicas. **Braz J Periodontol**, v.21, n.4, 2011.

FROSTEGARD, J.; NILSSON, J.; HAE, G. D. A.; WIGZELL, H.; GIDLUND, M. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytes cell line U937. **Proceedings National Academy Sciences**, v.87, n.3, p. 904-908, 1990.

GELEIJNSE, J. M.; LAUNER, L. J.; VAN DER HUIP, D. A. M.; Hofman, A.; WITTEMAN, C. M. J. Inverse association of tea and flavonoid intake with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.25, p. 880-886, 2002.

GILSON, E. **A Filosofia na Idade Média**. Trad. Eduardo Brandão. São Paulo: Martins Fontes, 1998.

GOTTLIEB, M. G. V.; BONARDI, G.; MORIGUCHI, E. H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. **Scientia Medica**, v.15, n.3, p.203-207, 2005.

HALLER, C. A.; JACOB, P.; BENOWITZ, L. N. Short-term metabolic and hemodynamic effects of ephedra and guarana combinations. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v.77. p. 560-571, 2005.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutr Rev.** v.70, n.5, p.257-65, 2012.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v.30, p. 3864-3874, 1991.

HARROLD, J. A.; HUGHES, G. M.; O'SHIEL, K.; QUINN, E.; BOYLAND, E. J.; WILLIAMS, N.J.; HALFORD, J. C. Acute effects of a herb extract formulation and inulin fibre on appetite, energy intake and food choice. **Appetite**, v. 62, p. 84-90, 2013.

HODGSON J.M; WOODMAN R.J; PUDDEY I.B; MULDER T.; FUCHS D.; CROFT K.D. Short-term effects of polyphenol-rich black tea on blood pressure in men and women. **Food Function**, v.4, n.1, p.111-115, 2013.

HOLT, E.M.; STEFFEN, L.M.; MORAN, A.; BASU, S.; STEINBERGER, J.; ROSS, J.A.; HONG, C.P.; SINAICO, A.R. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. **Journal American Dietetic Association**, v. 109, n.3, p.414-21, 2009.

JOVANOVIC, S. V.; STEENKEN, S.; SIMIC, M. G.; HARA, Y. Antioxidant properties of flavonoids: Reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals, in *Flavonoids in Health and Disease*, **Rice-Evans C and Packer L eds**, p. 137-161, Marcel Dekker, New York, 1998.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**, 9. ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

KAO, C. C.; Wu, B. T.; Tsuei, Y.W.; Shih, L. J.; Kuo, Y.L.; Kao, Y. H.) Green tea catechins: inhibitors of glycerol-3-phosphate dehydrogenase. **Planta Medica**, v. 76, p. 694-696, 2010.

KIM, Y.; Giraud, D. W.; Driskell, J. A. Food Compos. **Anais**, v.20, p.458, 2007.

KIYORA, C.; KONO, S.; HONJO, S.; TODOROKI, I.; SAKURAI, Y.; NISHIWAKI, M.; HAMADA, H.; NISHIKAWA, H.; KOGA, H.; OGAWA, S.; NAKAGAWA, K. Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males. **British Journal of Nutrition**. v.82, n.2, p.125-130, 1999.

KLUTHCOUSKI, J. M. C.; PORTO, A. L. Efeitos do tabagismo no controle da pressão arterial e hipercolesterolemia. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 56, n. 9, p. 933-938, 1999.

KREWER, C. C.; RIBEIRO, E. E.; RIBEIRO, E. A.; MORESCO, R. N.; UGALDE, M. R. M. I.; SANTOS, M. G.F.; MACHADO, M. M.; VIEGAS, K.; BRITO, E.; CRUZ, I. B. Habitual Intake of Guaraná and Metabolic Morbidities: An Epidemiological Study of an Elderly Amazonian Population. **Phytotherapy Research**, v. 25, p.1367-1374, 2011.

KREWER, C. C.; SULEIMAN, L.; DUARTE, M. M. M. F.; RIBEIRO, E. E.; MOSTARDEIRO, C. P.; MONTANO, M. A. E.; ROCHA, M. I. U. M. M.; BRESCIANI, G.; CRUZ, I. B. M. **Efeito in vivo e in vitro do guaraná nos distúrbios metabólicos e nos biomarcadores inflamatórios associados à lipotoxicidade**. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, UFSM, Santa Maria, 2011.

LABAER, J.J. **Proteome Res**, v.4, p.1053, 2005.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis, **Nature**, v.420, n.6917, p.868-874, 2002.



LMA,W.P.;CARNEVALI,L.C.Jr.;EDER,R.;COSTA,R.L.F.;BACCHI,E.M.;SEELAENDE R,M.C. Lipid metabolism in trained rats:effects of guarana (Paullinia cupana Mart.) supplementation. **Clinical Nutrition**, v.24, p.1019-1028, 2005.

LORIN,F.La douleur dans la Grèce antique.Douleur et Analgésie.**Edition Médecine et Hygiène**,Genève, v.18, n.1, p.9-11, 2005.

MATTEI, R.; DIAS, R. F.; ESPINOLA, E. B.; CARLINI, E. A. Guaraná (Paullinia cupana): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidants activity in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v.60, n.2, p.111-116, 1998.

MELO, J. O.; ENDO, T. H.; BERSANI-AMADO, L. E.; SVIDZINSKI, A. E.; BARONI, S.; MELLO, J. C. P.; BERSANI-AMADO, C. A. Effect of Stryphnodendron adstringens (barbatimão) bark on animal models of nociception. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n.3, p.465-469, 2007.

MIDDLETON, E. JR.; KANDASWAM, C.; THEOHARIDES, T. C., The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 53, p. 673-751, 2000.

MORAES, M. E. A.; SANTANA, G.S.M. Aroeira do Sertão: um candidato promissor para o tratamento de úlceras gástricas. **Funcap**, v.3, p. 5 - 6, 2001.

ONUEGBU, A.J.; OLISEKODIAKA,J.M.; ADEBOLU,O.E.;ADESIYAN, A.;AYODELE,O.E. Coffee consumption could affect the activity of some liver enzymes and other biochemical parameters in healthy drinkers. **Medical Principles and Practice**, v. 20, n.6, p. 514-518, 2011.

OPALA, T.; RZYMSKI, P.; PISCHEL, I.; WILCZAK, M.; WOZNIAK, J. Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on body weight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects-a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Medical Research**, v. 11, n.8, p. 343-350, 2006.

OZKANLAR,S.; AKCAY, F. Antioxidant vitamins in atherosclerosis-animal experiments and clinical studies. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v.21, n.1, p.115-123, 2012.

PAL, S.; SAHA, C. A review on structure-affinity relationship of dietary flavonoids with serum albumins. **Journal of Biomolecular Structure & Dynamics**, (no prelo), 2013.

PATTERSON, R. F.; EISNER, R. L.; HOROWITZ, S. F. Comparison of cost-effectiveness and utility of exercise ecg, single photonemission computed tomography, positron emission tomography, and coronary angiography for diagnosis of coronary artery disease. **Circulation**, v. 91, p. 54-65, 1995.

PINHEIRO, C.E.; DE OLIVEIRA, S.S.; DA SILVA, S.M.; POLETO, M.I.; PINHEIRO, C. F. Effect of guaraná and Stévia Rebaudiana Bertoni (leaves) extracts, and stevioside, on the fermentation and synthesis of extracellular insoluble polysaccharides of dental plaque. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v.1, p. 9-13, 1987.

PORTELLA, R.; BARCELOS, R. P.; da ROSA, E. J. ; RIBEIRO, E. E. ; CRUZ I. B.; SULEIMAN, L., SOARES, F. A.. Guaraná (Paulinnia cupana Kunth) effects on LDL oxidation elderly people: na in vitro and in vivo study. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n.12, 2013.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Rang & Dale Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RATH, M. Energy drinks: what is all the hype? The dangers of energy drink consumption. **J Am Acad Nurse Pract**, v. 24, n.2, p.70-76, 2012.

ROSS, R. Atherosclerosis : an inflammatory disease. **New England Journal of Medicine**, v.340, p.115-126, 1999.

SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Florianópolis: Ed. da UFRGS/UFSC, 2000. cap.15, p. 301-332.

SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS/UFSC, 2007. cap.15, p.371-400.

SCHIMPL, F.C.; DA SILVA J.F.; GONÇALVES, J.F.; MAZZAFERA, P. Guarana: Revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, 2013.

SIMÃO, A. N.; LOZOVY, M. A.; DICHI, I. The uric acid metabolism pathway as a therapeutic target in hyperuricemia related to metabolic syndrome. **Expert Opinion of Therapeutic Targets**. v. 16, n.12, p. 1175-1187, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; SIMON, D. **O guia decepar chora de ervas: 40 receitas naturais para sua saúde perfeita**. Rio de Janeiro: Campus, 2001.

SINGHA, R. A.; GHOSH, K. S.; DASGUPTA, S. An investigation into the altered binding mode of green tea polyphenols with human serum albumin on complexation with copper. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, 2012 (no prelo).

SMITH, N.; ATROCH, L. A. Guaraná's journey from regional tonic to aphrodisiac and global energy drink. **Evidences Based in Complementart Alternative Medicine**, v.7, n.3, p. 279-282, 2010.

SNIDERMAN, A. D. Applying apoB to the diagnostics and therapy of atherogenic this lipoproteinemias: a clinical diagnostic algorithm. **Currente Opinion Lipidology**, v.15, n.4, p.433-438, 2004.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J .M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás,GO, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, p.135-142, 2006.

TAVAKOL, H. S.; AKRAM, R.;AZAM, S.;NAHID, Z. Protective effects of green tea on antioxindant. **Toxicology and Industrial Health**. 2013,apr 10. (no prelo).

TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, p. 7-13, 2003.

TORRALBA, K. D.; DE JESUS , E.; RACHABATTULA, S. The interplay between diet, urate transporters and the risk for gout and hyperuricemia: current and future directions. **International Journal of Rheumatism Diseases**, v.15, n.6, p.499-506, 2012.

VAHOUTTE, P.M.; MOMBOULI, J.V. Vascular endothelium: vasoactive mediators. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 39, p. 229-238, 1996.

VALE, N.B. A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 3, p. 368-380, 2002.

VASCONCELOS, S. M.L.; SILVA, A. M.; GOULART, M.O. **Nutrire**, v.31, p.95-2006.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

WAGNER, K. H. Biological relevance of terpenoids overview focusing on mono, di and tetraterpenes. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 47, p. 95-106, 2003.

WHO. World Health Organization. Stop the global epidemic of chronic disease. Report of WHO Global Infobase. World Health Organ Tech Rep Ser: 2011. Disponível em: <https://apps.who.int/infobase/>

YAMADA, C. S. B. Fitoterapia: sua história e importância. **Revista Racine**, v. 43, p. 50-51, 1998.

YAMAGUTI, S.E.; ITO, L. A.; CANTELI, V. C.; USHIROBIRA, T. M.; NAKAMURA, U.T; DIAS, B. P; NAKAMURA, C. V; MELLO, J. C. Antioxidant capacity and in vitro prevention of dental plaque formation by extracts and condensed tannins of Paullinia cupana. **Molecules**, v.12, n.8, p.1950-1963, 2007.

YAO, L. H.; JIANG, Y. M.; SHI, J.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; DATTA, N.; CHEN, S.S. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.59, p.113-122, 2004.

ZEIDÁN-CHULIÁ, F.; GELAIN, D. P.; KOLLING, E. A.; RYBARCZYK-FILHO, J. L.; AMBROSI, P.; TERRA, S. R.; PIRES, A. S.; DA ROCHA, J. B.; BEHR, G. A.; MOREIRA, J. C. Major components of energy drinks (caffeine, taurine, and guarana) exert cytotoxic effects on human neuronal SH-SY5Y cells by decreasing reactive oxygen species production. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p.791-795, 2013.



ZHENG, S.; YANG, H.; ZHANG, S.; WANG, X.; YU, L.; LU, J.; LI, J. Initial study on naturally occurring products from traditional Chinese herbs and vegetables for chemoprevention. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.27, p.106-112, 1997

ZHENG, Y.; GARDNER, S.E.; CLARKE, M.C. Cell death, damage-associated molecular patterns, and sterile inflammation in cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.31, n.12, p.2781-2786, 2011.

ZWART, L.L.; MEERMAN, J. H. N.; COMMANDEUR, J. N. M.; VERMEULEN, N. P. E. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.202, 1999.

## **ANEXOS**

## Anexo A - Carta de Aprovação

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFSM REGISTRO CONEP: 243</p> 
--	---

### CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

**Título:** Efeitos farmacogenômicos de extratos de paulinia cupana no metabolismo oxidativo-inflamatório associado à obesidade

**Número do processo:** 23081.015080/2011-10

**CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética):** 0315.0.243.000-11

**Pesquisador Responsável:** Ivana Beatrice Manica da Cruz

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê.

O pesquisador deve apresentar ao CEP:

**Novembro/2012 - Relatório Parcial**  
**Janeiro/2014 – Relatório Final**

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

**DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO:** 22/11/2011

Santa Maria, 22 de Novembro de 2011.

## Anexo B - Autorização de acesso e de remessa de amostra de componentes do patrimônio genético



3905612739716199

### AUTORIZAÇÃO DE ACESSO E DE REMESSA DE AMOSTRA DE COMPONENTE DO PATRIMÔNIO GENÉTICO nº 010547/2013-4

O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO - CNPq, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 246, de 27 de agosto de 2009, para autorizar instituições nacionais, públicas ou privadas, que exerçam atividades de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar e remeter amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, neste ato representado pelo seu Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde, nos termos da Portaria CNPq nº 161/2010, autoriza a instituição abaixo qualificada a acessar e remeter amostras de componentes do patrimônio genético.

**Instituição:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA - UFSM

**CNPJ:** 055.917.640/000 1-05

**Representante Legal:** IVANA BEATRICE MANICA DA CRUZ

**Cargo/Função:** Docente - Departamento de Morfologia -Centro de Ciências da Saúde - UFSM

**CPF:** 331.322.400-87 **RG:** 8017462709

**Projeto:** ESTUDOS IN VITRO E IN VIVO DOS EFEITOS BIOATIVOS PRESENTES EM FRUTOS AMAZÔNICOS

**Coordenador do Projeto:** Ivana Beatrice Mânica Da Cruz

**CPF:** 331.322.400-87 **RG:** 8017462709 - ssp / RS

**Finalidade do projeto:** Este projeto irá realizar estudos in vitro e in vivo para avaliar a atividade biológica (antioxidante, antimicrobiana, anticolinesterásica, hipolipimante, hipotensiva, antiobesogênica, hipoglicêmica, anticarcinogênica, no metabolismo e comportamentos circadianos) de frutos nativos da região amazônica.

**Amostras a serem acessadas:**

**Espécie(s):** frutos das seguintes famílias botânicas serão investigados: Arecaceae, Sapindaceae, Lecythidaceae, Myrtaceae, Clusiaceae, Solanaceae, Malvaceae e Fabaceae.

**Tipo de material/quantidade de amostras:** Serão coletados frutos, em um total máximo de 50 kg

**Local de depósito de subamostra:** NÃO INFORMADO