

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE LINHAÇA NA REDUÇÃO DE
PROTEÍNA C-REATIVA EM PACIENTES EM HEMODIÁLISE CRÔNICA**

Joana Raquel Nunes Lemos

Orientador: Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro

Porto Alegre, Brasil.

2010

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE LINHAÇA NA REDUÇÃO DE
PROTEÍNA C-REATIVA EM PACIENTES EM HEMODIÁLISE CRÔNICA**

Joana Raquel Nunes Lemos

Orientador: Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro

A apresentação desta dissertação é requisito do programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil.

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

1 L557e **Lemos, Joana Raquel Nunes**

Efeito da suplementação de óleo de linhaça na redução de proteína c-reativa em pacientes em hemodiálise crônica / Joana Raquel Nunes Lemos ; orient. Roberto Ceratti Manfro. - 2010.

59 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Diálise renal 2. Inflamação 3. Óleo de semente do linho 4. Proteína C-reativa I. Manfro, Roberto Ceratti II. Título.

NLM: WJ 378

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

*Dedico este trabalho aos meus pais Valerio e Vera Lemos
cujos exemplos de dedicação, amor e superação
tornaram possível a realização desta conquista*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro pela orientação segura e competente que tanto me espelho como um exemplo profissional.

Às Profas. Denise Zaffari e Ana Beatriz Cauduro Harb pela amizade, confiança e por me ensinar que aprender é buscar constantemente novos caminhos.

Aos colegas do curso de pós-graduação de Ciências Médicas: Medicina e principalmente à Mariana Gascue de Alencastro, pela amizade, incentivo e apoio.

À equipe de enfermagem do Hospital São Vicente de Paula, do Centro de Diálise e Transplantes e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo auxílio generosamente prestado, o que tornou possível a concretização deste.

À minha família por todo amparo e incentivo de forma que não existem palavras a agradecer este amor incondicional.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	7
RESUMO	8
Capítulo 1: INTRODUÇÃO	9
Capítulo 2: REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Má Nutrição	16
2.2 Inflamação, Doença Cardiovascular e Disfunção Endotelial	19
2.3 Inflamação, Doença Cardiovascular e Estresse Oxidativo	20
2.4 Componentes Alimentares Antiinflamatórios	22
2.5 Estudos de Intervenção na Inflamação	25
Capítulo 3: OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo Geral	28
3.2 Objetivos Específicos	28
Capítulo 4: REFERÊNCIAS	29
Capítulo 5: ARTIGO EM LÍNGUA INGLESA “Effects of Flaxseed Oil Supplementation in the Reduction of C-Reactive Protein in Chronic Hemodialysis Patients.”	33
Capítulo 6: CONSIDERAÇÕES GERAIS	57
Capítulo 7: ANEXO	59

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido Araquidônico

AGE – Ácido Graxo Essencial

DCV – Doença Cardio-vascular

DEP – Desnutrição Energético-Proteica

DHA – Docosaheptaenóico

DM – *Diabetes Mellitus*

DP – Diálise Peritoneal

DRC – Doença Renal Crônica

EPA – Eicosapentaenóico

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HD – Hemodiálise

HDL – *High Density Lipoprotein* – Lipoproteína de Alta Densidade

IL – Interleucina

LDL – *Low Density Lipoprotein* – Lipoproteína de Baixa Densidade

n-3 – ômega 3

n-6 – ômega 6

ON – Óxido Nítrico

PCR – Proteína C-reativa

TNF- α – *Tumoral Necrosis Factor* – Fator de Necrose Tumoral

TRS – Terapia de Substituição Renal

VLDL – *Very Low Density Lipoprotein* – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

RESUMO

INTRODUÇÃO: Uma elevada proporção dos pacientes em hemodiálise crônica (HD) apresentam estado inflamatório representado pela elevação da proteína C-reativa (PCR) a qual é um marcador prognóstico de aumento de mortalidade. Os ácidos graxos ω 3 possuem atividade anti-inflamatória que ocorre pela inibição de eicosanóides inflamatórios. O óleo de linhaça é o único óleo vegetal composto em 60% pelo precursor α -linolênico. Neste estudo avaliamos a ação do óleo de linhaça no estado inflamatório de pacientes em HD. **METODOLOGIA:** Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e multicêntrico realizado no estado do Rio Grande do Sul. Participaram 114 indivíduos alocados em 2 grupos: placebo, óleo mineral (OM) e óleo de linhaça (OL), sendo incluídos os maiores de 18 anos, em HD há mais de 90 dias, que não apresentassem infecção ou inflamação, doença auto-imune, cateteres endovenosos, infecção por HIV, doença maligna conhecida, e transplante renal prévio. O grupo OL recebeu 2 cápsulas de 1g de óleo de linhaça com α -tocoferol (3,5mg) por 120 dias. O grupo OM recebeu cápsulas de placebo. Foram coletados dados bioquímicos de proteína C reativa e perfil lipídico no início, em 60 e 120 dias de suplementação. Foram aplicados os testes estatísticos ANOVA, t-Student, chi-quadrado e Wilcoxon Mann Whitney (SPSS). O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativos e a correlação foi calculada através do teste de Pearson ou Spearman. **RESULTADOS:** Os grupos foram homogêneos para idade, sexo, etnia, tempo em HD e IMC. Inflamação foi definida por $PCR \geq 5,1 \text{ mg/dL}$ e prevaleceu em 60% dos pacientes na primeira análise. Homens obtiveram maior mediana de PCR (11,8mg/dL x 8,6mg/dL nas mulheres; $p=0,03$). Houve correlação entre PCR e IMC ($R_s=0,22$; $p=0,022$) e HDL-c ($R_s = -0,23$; $p= 0,032$). A variação de PCR do OL foi maior que a do OM no tempo ($p_{\text{interação}} < 0,001$), mas sem diferença entre grupos. Analisando a transição dos pacientes de inflamados à não inflamados, no grupo OL 33,3% mudaram de categoria entre a primeira e a última análise, contra 16,9% no grupo OM ($p=0,04$). Colesterol e frações não apresentaram mudança significativa. No grupo OL, 88,8% ($n=48$) referiram melhora da função intestinal comparados com 25% ($n=15$) do grupo OM ($p < 0,001$). **CONCLUSÃO:** A inflamação nos pacientes em HD parece estar correlacionada ao IMC e a diminuição de HDL-c. A função intestinal do pacientes foi melhor no grupo OL. O óleo de linhaça possibilitou redução do número de pacientes inflamados. Estudos mais prolongados e com maior número de pacientes devem ser feitos para comprovar estes achados.

PALAVRAS CHAVE: [INFLAMAÇÃO – ÓLEO DE LINHAÇA – HEMODIÁLISE – PROTEÍNA C REATIVA].

Capítulo 1: INTRODUÇÃO

Uma elevada proporção dos pacientes em terapia renal substitutiva (TRS) com hemodiálise (HD) ou com diálise peritoneal (DP) apresenta estado micro inflamatório que é em geral evidenciado pela elevação da proteína C reativa (PCR) e de outros marcadores inflamatórios, em especial a interleucina-6 (IL-6) (PACHALY et al, 2008; RAJ et al, 2009). Este estado pró-inflamatório prognostica aumentos significativos da mortalidade e está associado a diferentes fatores como má-nutrição e aterosclerose (PECOITS-FILHO et al, 2002), e outros inerentes ao tratamento dialítico (SNAEDAL et al, 2009; CHMIELEWSKI et al, 2009; SULIMAN et al, 2008). Muitos pacientes urêmicos apresentam também sinais e sintomas relacionados à deficiência de ácidos graxos essenciais (AGE) e síntese anormal de prostaglandinas que podem produzir ou agravar o estado pró-inflamatório (YOSHIMOTO-Furuie et al, 1999).

Os dois ácidos graxos fisiologicamente essenciais e complementares aos humanos são: o membro fundamental da família ômega 6 (n-6), ácido *linoleico* (18:2; n-6) e o ácido *α-linolenico* da família ômega 3 (18:3; n-3) (SIMPOLOUS, 2002a-b). Nos países ocidentais não somente a ingestão de *α-linolenico* é muito diminuída comparada ao *linoleico*, como também a conversão para os seus produtos ativos é reduzida pelo fato do ácido *linoleico*, consumido em grandes quantidades, competir pelas mesmas enzimas nas membranas celulares (ciclooxigenase e lipoxigenase) capazes de realizar esta conversão (KEHN et al, 2001). O resultado é uma superprodução de compostos eicosanóides pró-inflamatórios (prostaglandinas da série 2 e leucotrienos da série 4) comparados aos não inflamatórios (prostaglandinas da série 3 e leucotrienos da série 5), que além de antiinflamatórios são anti-agregatórios e vasodilatadores (JONES et al, 2002; LOSSL et al, 1999; SCHMITZ et al, 2002).

Estudos feitos com animais e ensaios clínicos em humanos sugerem que os óleos de peixe que contém ácidos graxos poliinsaturados da série n-3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5 n3) e o ácido docosahexaenóico (DHA;22:6n3), possuem uma significativa propriedade anti-inflamatória que ocorre pela inibição dos eicosanóides proinflamatórios derivados dos ácidos graxos n-6, como o ácido graxo araquidônico (AA; 20:4n6), e diminuindo a atividade das citocinas pró-inflamatórias (WEISS et al, 2005; HARRIS et al, 2004). No entanto, poucos estudos foram feitos para avaliar a ação do precursor dos ácidos EPA e DHA que está presente em grandes quantidades e fácil acesso em óleos vegetais, este precursor é o α -linolênico. O óleo de linhaça não contém EPA nem DHA, mas é composto em 60% pelo seu precursor α -linolênico.

Em função do exposto e levando em consideração a quantidade significativa de α -linolênico precursor de n-3 presente no óleo de linhaça, o pequeno número de pesquisas feitas com as propriedades deste óleo em doentes renais, a inexistência de efeitos colaterais com sua suplementação e a boa aceitação do produto, consideramos relevante estudar a ação do óleo de linhaça no estado micro-inflamatório de pacientes em tratamento de substituição da função renal com hemodiálise. A hipótese testada neste trabalho foi a de que a administração de óleo de linhaça a indivíduos urêmicos em hemodiálise leva a diminuição do estado inflamatório marcado pelos níveis de PCR.

□

Capítulo 2: REFERENCIAL TEÓRICO

A doença renal crônica (DRC) é atualmente considerada um importante problema clínico e de saúde pública. Isto se deve não apenas pelo grande crescimento no número de doentes como também pelo aumento na velocidade de progressão para o estágio final da doença (ROMÃO J, 2004).

Levantamentos epidemiológicos recentes demonstram a existência de aproximadamente um milhão de pessoas com DRC terminal, submetidas a tratamento dialítico, em todo o mundo (HAFEZ *et al*, 2006), sendo que as perspectivas revelam que este número pode duplicar em um período de apenas cinco anos (NWANKWO *et al*, 2005). Segundo a *International Society of Nephrology* (ISN) e a *International Federation of Kidney Foundations* (IFKF) a ocorrência de óbitos por DRC e doença cardiovascular (DCV) poderá chegar em 36 milhões até o ano de 2015.

Essa epidemia global pode ser explicada pelo aumento nos fatores de risco, como o grande crescimento de incidência de diabetes mellitus, hipertensão arterial (HAS) e pelo aumento na expectativa de vida da população mundial (NWANKWO *et al*, 2005; HAMER *et al*, 2006; MOLITCH *et al*, 2003).

Apesar dos grandes avanços obtidos nos últimos anos no tratamento da DRC e no tratamento dialítico, a mortalidade permanece muito elevada, sendo que a maior causa de morte é de origem cardiovascular, que atinge, anualmente, um índice de aproximadamente 9%, sendo de dez a vinte vezes maior quando comparados à população normal (NASCIMENTO *et al.*, 2004). A DCV presente na maioria dos pacientes com DRC geralmente está associada à própria gênese da doença renal, como o diabetes mellitus (DM) e a hipertensão arterial sistêmica (HAS). Além dos citados, os fatores de risco mais prevalentes, são a dislipidemia e o tabagismo. Estes podem ser chamados de fatores de risco tradicionais. Dentre os fatores não-tradicionais estão a inflamação, o estresse oxidativo, a infecção

persistente, a proteinúria e a hiperfosfatemia, que são fatores importantes no desenvolvimento acelerado do processo arterosclerótico (STENVINKEL et al, 2000).

Estudos têm mostrado que o ciclo combinado: desnutrição, inflamação e aterosclerose são muito comuns na DCV e que estes fatores se relacionam entre si. Esta relação é reconhecida como uma Síndrome, denominada de “Má-Nutrição, Inflamação e Aterosclerose (MIA)” (PECOITS-FILHO et al, 2002) e está amplamente ligada ao alto índice de mortalidade destes pacientes.

Algumas estimativas apontam que 40% dos pacientes em HD têm diagnóstico de desnutrição (YAO et al, 2005), no entanto, a desnutrição energético-proteica (DEP) *per se* não é considerada a causa da mortalidade aumentada, mas sim um agravante de outras doenças crônicas, como a DCV. Muitas pesquisas têm se detido no entendimento da relação da desnutrição e da caquexia com as DCV que têm uma relação importante com a mortalidade de pacientes em HD. Mesmo antes de iniciar a diálise, os doentes renais têm sinais de doença arterosclerótica e, com a progressão da doença renal, a morbidade cardiovascular tende a aumentar (VARELA et al, 2006).

A inflamação sistêmica e subclínica parece ser um fator chave para o desenvolvimento das DCVs nesta população. A noção de que a inflamação exerce papel fundamental no processo aterogênico é existente mesmo em pacientes sem doença renal. Vários estudos em diferentes partes do mundo têm demonstrado que a inflamação crônica é altamente prevalente em pacientes submetidos à HD, caracterizada por um aumento dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas 1 (IL-1) e IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e PCR (YAO, et al, 2004). Embora múltiplos fatores estejam relacionados à inflamação na DRC em pacientes em tratamento hemodialítico, os que contribuem para sua etiologia não estão bem

elucidados. No entanto, os fatores não relacionados à diálise e o procedimento dialítico *per se* podem ser responsáveis pela alta prevalência de inflamação nestes pacientes (MENON et al, 2003). Nos renais crônicos, assim como em outros pacientes o estado inflamatório é geralmente marcado pelo aumento da PCR, um dos muitos marcadores inflamatórios que podem ser usados. A PCR foi a primeira proteína de fase aguda a ser descrita. Ela é produzida pelos hepatócitos, sob estímulo e controle das citocinas pró inflamatórias, em especial pela IL-6. A sua medida é utilizada para diagnosticar estados inflamatórios, mesmo que transitórios. Logo após o estímulo causador da inflamação, a PCR se ativa elevando-se rapidamente (entre seis a doze horas) e demasiadamente entre cem a mil vezes, sendo sua meia vida de aproximadamente 19 horas (MCCORD *et al*, 2005).

A PCR tem sido considerada um bom marcador inflamatório para monitorização ou avaliação da presença de estado inflamatório em pacientes com DRC. Ela também contribui para interpretar o estado nutricional destes pacientes, já que existe relação entre a produção de citocinas inflamatórias e catabolismo metabólico (RIELLA *et al*, 2006).

Esta proteína é também utilizada como preditor de risco em longo prazo de infarto agudo do miocárdio e doença vascular periférica. Isto foi demonstrado na população geral, tendo sido observado que indivíduos que possuem ou já tiveram DCV apresentam níveis de PCR elevados (ALBERT et al 2002). Adicionalmente observou-se que existe uma correlação direta entre inflamação, desnutrição e elevação da mortalidade por doença arterial coronariana (PRINSEN et al, 2003).

O fibrinogênio e a IL-6 são outros exemplos de proteínas de fase aguda. Também se relacionam diretamente com a doença cardiovascular, sendo que a maioria dos pacientes com DRC apresentam níveis séricos elevados de fibrinogênio.

Segundo Pecoits-Filho (2002), os pacientes com DRC possuem níveis elevados de marcadores de atividade inflamatória, como a PCR comparados a controles saudáveis. Estas diferenças podem estar relacionadas a diversos fatores como: infecções recorrentes, uremia, níveis diminuídos de anti-oxidantes, resistência a insulina, comorbidades e associação de diversas alterações ou desordens como: trauma, infarto, artrite e neoplasias.

O prognóstico de mortalidade nestes pacientes está ligado a uma elevação persistente ou mesmo transitória da PCR (NASCIMENTO *et al*, 2004), sendo que, além da existência da inflamação, existe a presença de sintomas de deficiência de ácidos graxos essenciais (AGE), sendo eles: pele seca, perda de cabelo e síntese anormal de prostaglandinas (leucotrienos B4 elevados), que pode acarretar ou agravar o estado inflamatório (YOSHIMOTO *et al*, 1999).

2.1 Má Nutrição

A importância da dieta no tratamento dos pacientes com DRC é reconhecida há vários anos de forma que o tratamento dietético adequado auxilia de maneira importante a prevenção de complicações (KALANTAR-ZADEH *et al*, 2006).

A desnutrição é causada por um desequilíbrio no balanço entre ingestão de nutrientes e a necessidade corpórea. A ingestão de alimentos suficiente para atingir as necessidades de nutrientes do organismo garantirá as funções normais do metabolismo e a composição corporal ideal. Quando a ingestão é menor do que as necessidades ou quando a utilização destas necessidades estiver descompensada ocorrerá um desequilíbrio que implicará em alterações metabólicas que levarão à perda de massa corporal. Quando ocorre a redução na ingestão de nutrientes, o organismo responde com

alterações metabólicas que levam a modificações funcionais, bioquímicas e antropométricas, podendo estas ocorrer em horas ou dias após a baixa ingestão de nutrientes (SHOJI et al, 2005).

Os doentes renais crônicos frequentemente apresentam-se desnutridos. Ocorre perda de peso, depleção do tecido adiposo, perda de massa muscular, devido ao hipercatabolismo protéico, e níveis baixos de proteínas séricas (albumina, transferrina, pré-albumina) assim como das proteínas viscerais (PECOITS-FILHO *et al*, 2002).

Dentre os diversos fatores que acarretam a desnutrição, a ingestão inadequada de proteínas e energia contribui fortemente para seu desenvolvimento em pacientes com DRC. Os desajustes hormonais da concentração de citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda também são reconhecidos como causa de desnutrição (NKF-K/DOQI, 2002).

Mostra-se bastante alta a incidência de desnutrição em pacientes que iniciam diálise, estudos da literatura referem que entre 23 a 76% de pacientes em hemodiálise e entre 18 a 50% de pacientes em diálise peritoneal, apresentam sinais de desnutrição, evidenciando que a mesma se instala antes mesmo do início do tratamento dialítico. O estado nutricional declina juntamente com o declínio da taxa de filtração glomerular abaixo de 20-25 ml/ minuto (PECOITS-FILHO R *et al*, 2002).

De acordo com Riella e col. (2006), a desnutrição em pacientes em diálise é multifatorial e contribuem para seu estabelecimento os distúrbios no metabolismo das proteínas, energético e hormonal, assim como a ingestão de alimentos insuficiente que decorre de anorexia, náuseas e vômitos resultantes da retenção de substâncias tóxicas (toxicidade urêmica) ocasionada pela diminuição da função renal.

O forte impacto da inflamação no estado nutricional deve ser considerado no planejamento de estratégias para prevenir ou tratar a má-nutrição em pacientes em HD.

A presença de pelo menos dois tipos de desnutrição tem sido proposta (STENVINKEL et al, 2000). Na desnutrição do tipo 1, a ingestão nutricional inadequada é a causa predominante e pode ser efetivamente tratada por aumento da ingestão de nutrientes. Em contraste, a do tipo 2, tem a inflamação e as condições co-mórbidas como causas predominantes, sendo mais difícil o seu tratamento pela melhora da ingestão nutricional, a menos que sejam tratados primeiramente a inflamação e as outras co-morbidades. Neste tipo de desnutrição, o hipercatabolismo e a insuficiência de depósitos de nutrientes causadas pela inflamação seriam as principais razões para uma piora no estado nutricional.

Embora vários fatores contribuam para inadequação do estado nutricional dos pacientes em HD, a inflamação pode ser uma das mais importantes causas da desnutrição e, além disso, a inflamação desencadeia a hipoalbuminemia, que é reconhecida como fator prognóstico de mortalidade nesta população (YAO *et al*, 2004).

Nos pacientes em HD acredita-se que entre os fatores relacionados com a inflamação esteja a própria terapia dialítica. A bioincompatibilidade das membranas dialisadoras, a exposição às endotoxinas presentes no dialisato, a presença de cateteres endovenosos e as infecções no acesso vascular são todos potencialmente relacionados ao desenvolvimento do estado micro-inflamatório (KALANTAR-ZADEH et al, 2006; MENON et al, 2005).

A inflamação pode iniciar-se, por exemplo, pela contaminação por endotoxinas presentes no dialisato que pode tornar-se contaminado em diferentes etapas da sua preparação, tais como, na ineficácia do tratamento da água propriamente dito, contaminação de membranas dos sistemas de purificação ou dos circuitos de condução da água e por contaminação das soluções para tratamento

dialítico (THOMÉ et al, 2005). Os produtos pirogênicos de bactérias podem penetrar através da membrana do dialisador estimulando monócitos que ativam a cascata inflamatória (YAO et al, 2004).

Alternativamente as características de bioincompatibilidade das membranas e a interação sangue-membrana geram estímulos catabólicos que irão produzir a liberação de aminoácidos musculares aumentando a liberação de citocinas, interferindo no estado nutricional dos pacientes em tratamento dialítico. Quanto mais biocompatível for a membrana sintética da diálise menor será a liberação destes aminoácidos. Embora relação ainda não esteja clara, mais estudos serão necessários para estabelecer o exato papel da bioincompatibilidade como participante na gênese da desnutrição dos pacientes em hemodiálise crônica (SAITO et al, 2003).

Independente da diversidade etiológica da inflamação, o processo inflamatório interfere no estado nutricional e também na redução da ingestão de nutrientes. Atualmente considera-se que a relação entre mortalidade e desnutrição em pacientes renais crônicos é causada predominantemente pela atividade inflamatória e de forma menos significativa pela redução da ingestão de alimentos (VARELA et al, 2006).

2.2 Inflamação, Doença Cardiovascular e Disfunção Endotelial

O endotélio é um tecido ativo e dinâmico. Esse órgão controla importantes funções orgânicas tais como a regulação do tônus vascular, fluidificação, manutenção da circulação sanguínea, assim como participa da resposta inflamatória. Dessa forma, o endotélio representa uma interface entre os elementos da circulação e os vários sistemas

orgânicos. A disfunção do endotélio se caracteriza pela redução da síntese, liberação e atividade do óxido nítrico (ON) que deriva do endotélio, e fisiologicamente inibe diversos componentes do processo aterogênico, como vasoconstrição, agregação plaquetária, proliferação do músculo liso vascular e adesão de leucócitos ao endotélio (ALBERT *et al*, 2002).

Na presença de fatores de risco cardiovascular como hipertensão, dislipidemia, diabetes, hiperhomocisteinemia e tabagismo, a função endotelial é diretamente afetada. A agressão vascular provocada por esses estímulos reduz a biodisponibilidade do ON endotelial, prejudicando a resposta vasodilatadora dependente, caracterizando a disfunção endotelial (GONZALES *et al*, 2003). Esta é um elemento chave no desenvolvimento da doença cardiovascular em pacientes com DRC (VARELA *et al*, 2006), sendo mais prevalente em indivíduos que apresentam estado inflamatório e estão mal nutridos (PECOITS FILHO *et al*, 2002).

A disfunção endotelial como mecanismo desencadeador de doença cardiovascular pode ser medida em pacientes renais através de métodos diretos e indiretos, como a vasodilatação fluxo mediada, marcadores circulantes e marcadores de processos que interferem na função endotelial como o estresse oxidativo e a inflamação (AMANN *et al*, 2006). Assim sendo, as alterações endoteliais em pacientes com DRC acontecem por diversos motivos: estresse oxidativo, estado micro-inflamatório, retenção de inibidores da L-arginina, hiperhomocisteinemia, dislipidemia, hiperglicemia, hipertensão arterial e tratamento hemodialítico (EMERIT *et al*, 2004).

2.3 Inflamação, Doença Cardiovascular e Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo decorre do desequilíbrio entre os níveis de oxidantes e de antioxidantes, causados pela excessiva produção de oxidantes ou depleção dos níveis

dos antioxidantes. Este processo está diretamente relacionado ao desenvolvimento de diversas patologias crônicas como DRC, aterosclerose e outras DCV (MORENA et al, 2002).

Pacientes com DRC em HD estão constantemente sob estresse oxidativo, ocasionado pela própria doença e principalmente pelo tratamento dialítico. Este desencadeia aumento na formação de espécies reativas de oxigênio e diminuição de antioxidantes, como por exemplo: a vitamina C e vitamina E. Além disso, estes pacientes muitas vezes também apresentam má-nutrição e baixa ingestão de vitaminas e minerais em função das restrições dietéticas (PECOITS FILHO *et al*, 2002).

Os radicais livres de oxigênio estão envolvidos no desenvolvimento de aterosclerose por participarem na geração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) oxidadas que dão início a uma cascata de reações inflamatórias estimulando a adesão de células ao endotélio e assim participando do desencadeamento do processo aterogênico. Em pacientes com DRC, este mecanismo ocorre conforme a insuficiência renal progride. Ocorre a retenção de toxinas urêmicas, o LDL carbamilado, acaba sendo oxidado e após é capturado pelos macrófagos na camada íntima dos vasos levando à formação de células espumosas e da placa aterosclerótica (MCCORD et al, 2005).

Um estudo de três meses com o uso de capilares cobertos com vitamina E, demonstrou aumento nos níveis plasmáticos de lipoproteína de alta densidade (HDL) e redução de LDL oxidado, sendo assim, são notáveis os benefícios desta substância antioxidante nestes pacientes (PECOITS FILHO *et al*, 2002).

Espécies ativas de oxigênio alteram as proteínas através da oxidação de aminoácidos, ocasionando perda acentuada e progressiva das suas propriedades enzimáticas e imunológicas. Estes mecanismos geram diversas alterações biológicas como: inflamação, secreção de citocinas pró-inflamatórias, estímulo a agregação

plaquetária, proliferação de células musculares lisas. Contudo, o estresse oxidativo está fortemente ligado à inflamação, disfunção endotelial e DCV em pacientes renais crônicos (EMERIT *et al*, 2004).

2.4 Componentes Alimentares Antiinflamatórios

Os ácidos graxos poliinsaturados são representados pelas séries n-6 e n-3. Possuem a primeira ligação dupla ocorrendo no sexto ou no terceiro átomo de carbono a partir do carbono metílico terminal, n-3 e n-6, respectivamente, são moléculas essenciais ao organismo humano, mas que não podem ser geradas pelo mesmo, portanto devem ser ingeridos na alimentação conforme revisado na IX Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2007).

Os principais representantes da família n-3 são o ácido α -linolênico (18:3n-3), o ácido eicosapentaenóico ou EPA (20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico ou DHA (22:6n-3) e os principais representantes da família ômega-6 são o ácido linoléico (18:2n-6) e o ácido araquidônico ou AA (20:4n-6). Sendo que, os ácidos α -linolênico e linoléico são considerados ácidos graxos essenciais e precursores dos demais ácidos da família n-3 e n-6, respectivamente (ANDRADE, *et al*, 2006).

A figura abaixo demonstra a composição bioquímica dos ácidos graxos linoléico e α -linolênico:

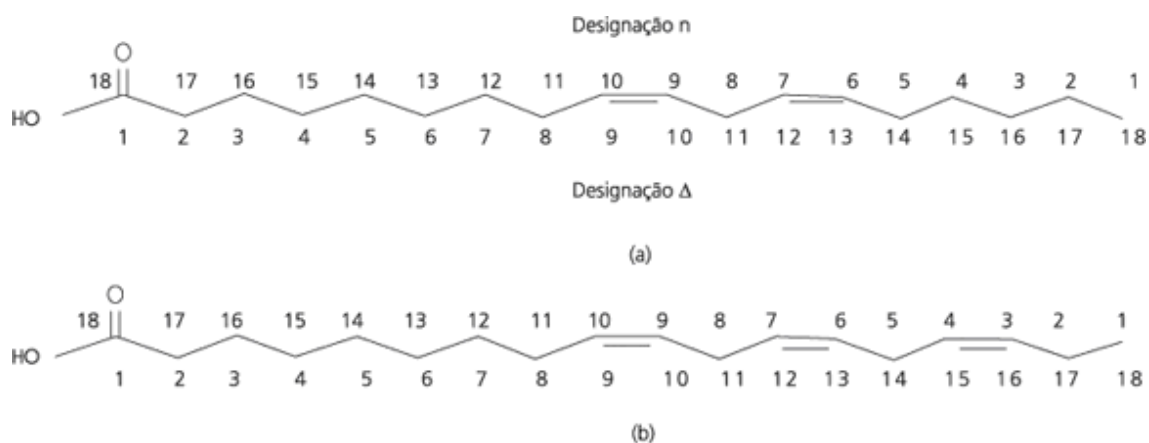


Figura 1: Estruturas dos ácidos linoléicos (a) e α -linolênico (b)

Fonte: (MARTIN *et al*, 2006).

Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 são obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos linoléico e α -linolênico, pela ação de enzimas alongase e dessaturase. Os ácidos linoléicos e α -linolênico são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular (MARTIN *et al*, 2006).

O ácido linoleico pode ser encontrado em abundância nos óleos de milho, girassol, soja, dentre outros. Enquanto, o ácido α -linolênico é encontrado em concentrações elevadas na semente de linho ou linhaça (*Linum usitatissimum*), e suas formas biologicamente ativas, o DHA e EPA são encontrados em concentrações mais expressivas em lipídios de peixes e animais marinhos, especialmente aqueles procedentes de regiões frias, como na cavala, sardinha, salmão e arenque, entre outros (ANDRADE *et al*, 2006).

Conforme revisado na Diretriz Brasileira de Dislipidemias (2007) o ácido graxo n-3 promove redução dos triglicérides plasmáticos pela diminuição da síntese hepática

de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), podendo ainda exercer outros efeitos cardiovasculares, como redução da viscosidade do sangue, maior relaxamento do endotélio e também efeitos anti-arrítmicos.

O ácido linoléico se converte em longas cadeias, tal como o ácido γ -linolênico (GLA) e o ácido araquidônico (AA), através do processo de dessaturação e alongação. O ácido graxo α -linolênico é convertido em EPA e em DHA. Especula-se que a ingestão ideal para que isto ocorra seria na proporção de 2 moléculas de ácidos graxos n-6 para 1 molécula de n-3, mas há relatos de que a proporção ideal possa variar desde 3:1 até 10:1 (WEISS et al, 2005).

Diversos trabalhos realizados demonstram que a ingestão de α -linolênico em países ocidentais é reduzida em relação ao ácido linoléico e além desta ingestão diminuída os dois substratos competem pelas mesmas enzimas nas membranas celulares, a ciclooxigenase e lipoxigenase, que são capazes de gerar a conversão em sua forma ativa (SIMOPOULOS, 2002). Sendo assim, é visto que a conversão de eicosanóides sintetizados pelo ácido graxo n-6 como a prostaglandina E2, leucotrieno B4, tromboxano 2 e fator de agregação de plaquetas é maior, e esses mediadores apresentam potencial pró-inflamatório quando comparados com os eicosanóides sintetizados a partir dos ácidos graxos n-3, como a prostaglandina E3, leucotrieno B5 e tromboxano 3, que além de antiinflamatórios são antiagregatórios e vasodilatadores (HARRIS et al, 2006).

Em função disto, torna-se muito importante a ingestão, de fontes de n-3 obtidas através dos alimentos, como peixes de águas frias, óleo de linhaça e óleo de peixe. Benefícios nutricionais e medicinais do EPA e DHA têm sido discutidos em muitos artigos e conferências. Entre os efeitos fisiológicos nos humanos, estão a prevenção e

tratamento de DCVs, HAS, condições inflamatórias, asma, artrite, psoríase e vários tipos de câncer (ENGLYSTA et al, 2007; CAZZOLA et al, 2007; CALDER, 2006).

O óleo de linhaça não contém os ácidos EPA e DHA, mas é o único óleo vegetal composto em 60% pelo seu precursor, o ácido α -linolênico, sendo ainda o óleo vegetal com maior concentração deste precursor do n-3 (MORI et al, 2003). O óleo de linhaça pode ser uma alternativa para o consumo de ácidos graxos da família n-3, já que os outros produtos que os contém, como os peixes de águas frias e profundas ou o óleo destes peixes, possuem alto custo, sabor e odor marcantes, sendo muitas vezes o seu uso contínuo mal tolerado. (HUSSEIN et al, 2005; JENKINS et al, 1999; OOMAH, 2001; LEANNE et al, 2008).

2.5 Estudos de Intervenção na Inflamação

Como existe a dificuldade de ingestão sob a forma alimentar do ácido graxo α -linoleico, alguns estudos foram feitos avaliando o potencial desta substância em forma suplementada. O seu impacto na saúde humana foi visto em diferentes doses e em diferentes populações (TAPPIERO et al, 2002; MCCORD et al, 2005; EMERIT et al, 2004). Este óleo foi testado em condições médicas tais como a prevenção de aterosclerose, hepatite crônica, doenças inflamatórias intestinais, psoríase e artrite reumatóide (KEHN et al, 2001), infarto do miocárdio, asma e DM (GISSI PREVENZIONE TRIAL, 1999). Em vários estudos observou-se diminuição de citocinas proinflamatórias (CAZZOLA et al, 2007; CIUBOTARU et al, 2003; LOPEZ-GARCIA et al, 2007). Cazzola et al (2007) pesquisou diferentes doses (1,35g; 2,7g; 4,04g) durante 12 semanas em sujeitos saudáveis e encontrou diminuição dos níveis de moléculas de adesão em todas as doses. Calder (2006) relata que é necessário dose de

10g/dia durante 8 semanas de precursor α -linolenico para baixar 27% o TNF-a e 30% IL-1. Lopez-Garcia et al observou uma diminuição de 29% da PCR plasmática num estudo retrospectivo que avaliava a ingestão de ácido α -linolenico na forma alimentar em mulheres saudáveis. A quantidade ingerida que resultou nesta diminuição foi calculada em 1,25g/d. Ciubotaru et al (2003) encontrou uma diminuição de 35% na PCR de mulheres pós menopausa com uma suplementação de 7g/dia por 5 semanas de óleo de peixe.

Poucos estudos relatam que não há diminuição da inflamação. No estudo de Mori et al (2003) foi observada diminuição de stress oxidativo em 20% em pacientes com DM tipo 2 com tratamento de 4g EPA+DHA por 6 semanas, e não houve diminuição significativa nos marcadores inflamatórios.

Capítulo 3: OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a efetividade da suplementação de óleo de linhaça na diminuição sérica de proteína C-reativa em uma população de pacientes em hemodiálise crônica.

3.2 Objetivos Específicos

- Acompanhar e analisar as modificações séricas de proteína C-reativa durante o período de tratamento;
- Avaliar se há modificação dos marcadores bioquímicos de colesterol total, triglicerídeos, HDL-c e LDL-c durante o período de intervenção;
- Observar se há modificação de função intestinal nos indivíduos.

Capítulo 4: REFERÊNCIAS

1. Albert CM; Ma J, Rifai N. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. **Circulation**, n.105, p.2595–9, 2002.
2. Amann K, Wanner C; Ritz E. Cross-Talk between the Kidney and the Cardiovascular System. **J Am Soc Nephrol**, 17:2112-9, 2006.
3. Andrade, PMM; Carmo, MGT. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade, **MN- metabólica**, v.8, n.3, p: 135-143, 2006.
4. Calder P. n_3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **Am J Clin Nutr**, n.83, (suppl):1505S–19S, 2006.
5. Cazzola C. Age- and dose-dependent effects of an eicosapentaenoic acid-rich oil on cardiovascular risk factors in healthy male subjects. **Atherosclerosis**, n.193, p.159-167, 2007.
6. Chmielewski M, Carrero JJ, Stenvinkel P, Lindholm B. Metabolic abnormalities in chronic kidney disease that contribute to cardiovascular disease, and nutritional initiatives that may diminish the risk. **Curr Opin Lipidol.** (1):3-9, 2009.
7. Ciubotaru I; LeeYS; Wander R. Dietary fish oil decreases C-reactive protein, interleukin-6, and triacylglycerol to HDL-cholesterol ratio in postmenopausal women on HRT. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 14, p. 513–521, 2003.
8. Emerit J, Edeas M, Bricaire F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Biomed Pharmacother**, n.58, p.12-39, 2004.
9. Englysta N; Grimbleb R; Byrnea C. Long-chain n-3 fatty acid supplementation in men increases resistance to activated protein C. **Met Clinical and Experimental**, n. 56, p.547– 551, 2007.
10. GISSI. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. **Lancet**, p. 354:447, 1999.
11. Gonzales MA, Selwyn AP. Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. **Am J Méd**, v.115(8A), p.99-106, 2003.
12. Hafez MH, Abdellatif DA, Elkhatib MM. Prevention of renal disease progression and renal replacement therapy in emerging countries. **Artif Organs**, v.30, n. 7, p.501-509. 2006.
13. Harris WS, Assaad B, Poston WC. Tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio and risk for coronary artery disease. **Am J Cardiol**, n. 98(4A), p.19i–26i, 2006.
14. Harris WS. Are omega-3 fatty acids the most important nutritional modulators of coronary heart disease risk? **Curr Atheroscler Rep**, n.6, p.447, 2004.
15. Hussein N. Long-chain conversion of [13C] linoleic acid and α -linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. **J. Lipid Res**, v. 46, p. 269–280, 2005.
16. Jenkins DG, et al. Health aspects of partially defatted flaxseed, including effects on serum lipids, oxidative measure and *ex vivo* androgen and progestin activity: a controlled cross-over trial. **The American Journal of clinical Nutrition**; 69(3): 395-402 (1999).
17. Jones WL, Kaiser SP. Pilot study: An emulsified fish oil supplement significantly improved C-reactive protein, hemoglobin, albumin and urine output in chronic hemodialysis volunteers. **JANA**, n.5, p.45-50, 2002.
18. Kalantar-Zadeh K. Associations of body fat and its changes over time with quality of life and prospective mortality in hemodialysis patients. **Am J Clin Nutr**, 83:202–10, 2006.

19. Kehn P, Fernandes G. The importance of omega-3 fatty acids in the attenuation of immune-mediated diseases. **J Clin Immunol**, n.21, p. 99-101, 2001.
20. LeAnne T, et al. Flaxseed and cardiovascular risk. **Nutrition Reviews – International Life Sciences Insitute**. V. 62, n.1, p.18-27, 2008
21. Lopez-Garcia E. Consumption of (n-3) Fatty Acids Is Related to Plasma Biomarkers of Inflammation and Endothelial Activation in Women. **J. Nutr.** n. 134, p. 1806–1811, 2004.
22. Lossl K. The effect of omega-3 fatty acids on neutrophils in patients on hemodialysis. **Lipids**, n. 34, S185, 1999.
23. Martin. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos, **Rev. Nutr. Campinas**, v.19, n.6, p. 761-770, nov/dez/2006.
24. Mccord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. **Biomed Pharmacother**, n. 50, p.139-44, 2005.
25. Menon V, et al. Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. **Am J Kidney Dis**. 2003; 42(1): 44–52.
26. Molitch ME, Fujimoto W, Hamman RF, Knowler W. The Diabetes Prevention Program and Its Global Implications. **J Am Soc Nephrol**, v.14, p.103-107. 2003.
27. Morena M. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients, **Nephrol Dial Transplant**, v.17: p.422–427, 2002.
28. Mori et al. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treatedhypertensive type 2 diabetic subjects. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 35, n. 7, p. 772–781, 2003.
29. Nascimento MM, Pedeoits-Filho R, Qureshi RA, Hayashi SY, Manfro RC, Pachaly M, Renner L, Stenvinkel P, Lindholm B, Riella M. The prognostic impact fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilians haemodialysis patients: a prospective study. **Nephrol Dial Transplant**, v.19, supl 11: n. 2, p. 2803-2809, 2004.
30. National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Am J Kidney Dis**, v. 39, n.2, supl. 1: p. S1-266, 2002.
31. Natl. Kidney Found. I Init. K-DOQ. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. **Am J Kidney Dis**, 2000; 35:S1-S140.
32. Nwankwo B, El NM. Chronic Kidney Disease: Stemming the Global Tide. **Am J Kidney Dis**, v. 45, p.201-8, 2005.
33. Oomah BD. Flaxseed as a functional food source. **J. Sci. Food Agric.**, v. 81, n.9, p. 91-95, 2001.
34. Pachaly MA, do Nascimento MM, Suliman ME, Hayashi SY, Riella MC, Manfro RC, Stenvinkel P, Lindholm B. Interleukin-6 is a better predictor of mortality as compared to C-reactive protein, homocysteine, pentosidine and advanced oxidation protein products in hemodialysis patients. **Blood Purif**. 26(2):204-10, 2008.
35. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome – the heart of the matter. **Nephrol Dial Transplant**; 17 [Suppl 11]: 28–31, 2002.
36. Prinsen BH. Increased albumin and fibrinogen synthesis rate in patients with chronic renal failure. **Kidney Int**, 2003;64(4):1495-504.

37. Raj DS, et al. Soluble CD14 Levels, Interleukin 6, and Mortality Among Prevalent Hemodialysis Patients. **Am J Kidney Dis.**, 2009
38. Riella M, Martins C. **Nutrição e o Rim.** 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara. p. 1-401, 2006.
39. Romao J. Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação. **J Bras Nefrol**, v.3, Supl 3: p.1-3, 2004.
40. Saito M et al. Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors. **Atherosclerosis**, v.167, p. 73-79, 2003.
41. Schmitz P. Prophylaxis of hemodialysis graft thrombosis with fish oil: Double-blind, randomized, prospective trial. **J Am Soc Nephrol.**, n.13, p.184-190, 2002.
42. Shoji T, Nishizawa Y. Chronic kidney disease as a metabolic syndrome with malnutrition – Need for strict control of risk factors **Internal Medicine**, v.44, p.179-87, 2005.
43. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **J Am Coll Nutr**, n. 21, p. 495– 505, 2002b.
44. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother**, n. 56, p.365– 79, 2002a.
45. Snaedal S. Comorbidity and acute clinical events as determinants of C-reactive protein variation in hemodialysis patients: implications for patient survival. **Am J Kidney Dis.** 53(6):1024-33, 2009.
46. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen G, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). **Nephrol Dial Transplant**, v.15, n. 5, p. 953-960, 2000.
47. Suliman ME, Stenvinkel P. Contribution of inflammation to vascular disease in chronic kidney disease patients. **Saudi J Kidney Dis Transpl.** 19(3):329-45, 2008.
48. Tapiero H, et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomed Pharmacother**, n.56 p.211-215, 2002.
49. Thomé FS, Senger M, Garcez C, Garcez J, Chemello C, Manfro RC. Dialysis water treated by reverse osmosis decreases the levels of C-reactive protein in uremic patients. **Braz J Med Biol Res**, Vol 38(5), P. 789-794, 2005.
50. Varela AM, Pecoits-Filho R. Interações Entre a Doença Cardiovascular e a Doença Renal Crônica, **J Bras Nefrol**, v. 28, n. 3, supl. 2: p. 22 - 27, 2006.
51. Weiss LA, Barrett-Connor E, von Muhlen D. Ratio of n_6 to n_3 fatty acids and bone mineral density in older adults: the Rancho Bernardo Study. **Am J Clin Nutr**, n.81, p.934– 8, 2005.
52. Yao Q, Lindholm B, Stenvinkel P. Inflammation as a cause of malnutrition, atherosclerotic cardiovascular disease, and poor outcome in hemodialysis patients. **Hemodialysis International** 2004; 8: 118-129
53. Yoshimoto-Furuie. Effects of oral supplementation with evening primrose oil for six weeks on plasma essential fatty acids and uremic skin symptoms in hemodialysis patients. **Nephron.** n.81, p.151-159, 1999.

**Capítulo 5: ARTIGO EM LÍNGUA INGLESA “Effects of Flaxseed Oil
Supplementation in the Reduction of C-Reactive Protein in Chronic
Hemodialysis Patients.”**

Formatado para submissão à revista *Journal of Renal Nutrition*

**EFFECTS OF FLAXSEED OIL SUPPLEMENTATION IN THE REDUCTION
OF C-REACTIVE PROTEIN IN CHRONIC HEMODIALYSIS PATIENTS.**

Joana R. N. Lemos¹

Mariana G. de Alencastro¹

Anita Konrath²

Marina Cargnin²

Roberto Ceratti Manfro^{1,3}

1. Post Graduation Medicine: Medical Sciences Program, School of Medicine. Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. Brazil
2. Nutrition Graduate Student, Vale do Rio dos Sinos University. São Leopoldo, RS. Brazil
3. Division of Nephrology. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS. Brazil

Adress for correspondence:

Roberto C. Manfro, MD, PhD

Division of Nephrology. Hospital de Clínicas de Porto Alegre

2300 Ramiro Barcelos Street. Porto Alegre, RS. Brazil. 90035-003

E-mail: rmanfro@hcpa.ufrgs.br

ABSTRACT

OBJECTIVE: To assess the effects of flaxseed oil in the inflammatory state of chronic renal failure patients undergoing renal replacement therapy with hemodialysis. **DESIGN:** Multicenter, double-blind, randomized, placebo controlled clinical trial. **SETTINGS:** three dialysis units in South Brazil. **SUBJECTS:** One hundred and fourteen chronic renal failure patients on hemodialysis therapy for more than three months and without study exclusion criteria were included. **INTERVENTION:** Flaxseed oil (1g twice a day) and placebo (mineral oil, 1g twice a day) were blindly given for a period of 120 days. **MAIN OUTCOME MEASURE:** variation of C-reactive protein. **RESULTS:** inflammation was observed in 68 patients (60%) in the beginning of the study. There was correlation between CRP and BMI ($R_s=0.22$; $p=0.022$) and HDL-c ($R_s = -0.23$; $p= 0.032$). The CRP variation of the flaxseed oil was higher than the MO in the time ($P <0.001$). In the flaxseed oil group 33.3% changed category from inflamed to non-inflamed in the study period whereas 16.9% in the mineral oil group ($p=0.04$) had the same results. In the flaxseed oil group, 88.8% ($n=48$) reported better bowel function while 25% ($n=15$) of mineral oil group ($p<0.001$) reported the same. **CONCLUSION:** Inflammation in hemodialysis patients seems to be correlated to BMI and the reduction of c-HCL. The bowel function was better in the FO group. The flaxseed oil provided decrease in the levels of CRP and in the number of inflamed patients. Studies with higher number of patients and longer duration are necessary to corroborate these findings.

KEY WORDS: HEMODIALYSIS; INFLAMMATION; CRP; FLAXSEED OIL

INTRODUCTION

A significant proportion of patients under renal replacement therapy (RRT) with hemodialysis (HD) or peritoneal dialysis (PD) present a micro inflammatory state which is clinically detected by increased levels of C-reactive protein (CRP) and other inflammatory markers, specially interleukin-6 (Pachaly, 2008-37; Raj, 2009-38). This pro-inflammatory state is predictive of higher mortality rates and is associated with the MIA (malnutrition, inflammation and atherosclerosis) syndrome (Pecoits-filho, 2002-42), and others factors including the dialysis treatment (Snaedal, 2009-39; Chmielewski, 2009-40; Suliman, 2008-41). Moreover several hemodialysis patients also present deficiency of essential fatty acids (EFA) and abnormal prostraglandins synthesis that may produce or worsen the proinflammatory sate (13).

Animals experiments and human clinical trials suggest that fish oils, that contain polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the n-3 series, like eicosapentaenoic acid (EPA;20:5n3) and docosahexaenoic acid (DHA;22:6n3), have anti-inflammatory properties, that are demonstrated by the inhibition of pro-inflammatory eicosanoids derived from n-6 fatty acids, such as arachidonic fatty acid (AA; 20:4n6), and decreasing the activity from the pro-inflammatory cytokines (10,11). The main difficulties for the clinical use of fish oil are the sensorial intolerance and the high cost, leading to high levels of discontinuation even before the therapeutic effects occurs (4). Other oils are described as having similar effects, nevertheless, few studies were carried out to evaluate the action of EPA and DHA precursors, such as the α -linolenic acid, which are present in high quantities in some vegetable oils. The flaxseed oil (FO) (*Linum usitatissimum*) does not contain EPA and DHA fatty acids, but it is the only vegetable oil known to have significant amounts of α -linolenic acid and is considered to

be the vegetable oil with the highest concentration of this fatty acid (29). As its concentration and proportion of n-3 and n-6 fatty acids is considered ideal the FO has been tested in clinical trials that described a potential beneficial effect in some diseases such as dyslipidemias and cardiovascular diseases (30, 33, 8). However, there are no studies which have tested the FO in patients with end-stage renal disease under RRT with hemodialysis.

Considering its described characteristics and the non existence of significant side effects, as well as good acceptability, we undertook the present randomized clinical trial to test the hypothesis that therapeutic doses of FO could lead to a decrease in the CRP levels in patients undergoing RRT with HD.

SUBJECTS AND METHODS

Patients and study design

One hundred and sixty patients undergoing chronic HD from 3 dialysis units in the southern state of Rio Grande do Sul, Brazil were included in a double-blind randomized clinical trial, that observed the following inclusion criteria: (a) ≥ 18 years-old, (b) RRT with HD for at least 90 days, (c) absence of known infection, active inflammation, malignancy, HIV seropositivity, autoimmune disease, (d) absence of intravenous dialysis catheters, (e) never transplanted, (h) acceptance in participating.

Method

Demographic variables and laboratory data included age, gender, race, time under RRT, primary renal disease, CRP, total cholesterol and HDL, triglycerides, complete blood

counts, calcium, phosphorus and antibodies against B and C hepatitis. Urea reduction rate, Kt/V and calcium-phosphorus product were also calculated.

The patients included were randomized to receive two different treatments. The flaxseed oil group (FO) that received 1.0g of FO plus α -tocopherol (3.5mg) twice a day the control MO group (1.0g of mineral oil + 3.5mg of α -tocopherol) twice a day. FO and placebo capsules were visually identical. Patients in both groups were instructed to take the capsules for 120 days. The adherence assessment was made by counting the remaining capsules every 30 days, and in every visit data related to bowel function was investigated. Laboratory data was collected at baseline, 60 and 120 days after the beginning of the therapy. Serum cholesterol and fractions and triglycerides were drawn at baseline and 120 days in 84 patients that could fast for the sampling.

Patients were considered as inflamed if the serum CPR ≥ 5.1 mg/dl (27,37). Patients unable to tolerate intervention or that during the study developed an exclusion criteria were excluded from the study. Only the patients who completed the period proposed for the study were therefore analyzed. The study was approved by the Research Ethics Committee of the coordinating centre (Hospital de Clínicas de Porto Alegre).

Statistical Analysis

Statistical analyzes were performed in the SPSS software 16.0 version for Windows. The continuous variables were expressed as mean \pm SD. The comparisons of the continuous variables between the groups were made by analysis of variance (ANOVA). The categorical variables were analyzed by the chi-square or the Fischer's exact test. Asymmetric variables were logarithmic transformed and compared by the Wilcoxon Mann-Whitney test. The correlations were calculated by the Pearson's or Spearman's

correlation coefficient, accordingly. P level lower than 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

One hundred and sixty patients were randomized at a 1:1 ratio to receive FO (80 patients) or MO (80 patients) for 120 days. During the study there were 46 exclusions. Twenty six occurred in the FO group: 3 for renal transplantation, 2 deaths, 7 for non adherence, 2 with intercurrent infections, 8 for abdominal pain, and 4 for the needing of vascular catheter for hemodialysis. Twenty exclusions occurred in the MO group: 4 for renal transplantation, 2 deaths, 4 for non adherence, 1 with intercurrent infections, 2 for hemodialysis center transference, 5 for abdominal pain and 1 for the need of vascular catheter for hemodialysis. There was no significant statistical difference in the comparisons in the exclusion causes between the two groups ($p = 0.34$). One hundred and fourteen patients completed the study, 57 men (50%), 92 caucasians (81.4%). The mean age of the subjects was 57.2 ± 13.9 years and the BMI 24.6 ± 3.8 . The mean time of dialysis of patients was 49.3 ± 47.8 months. The patients who remained in the study had demographic and laboratorial data analyzed in the beginning of the study, accordingly to the randomization group (**Table 1**). The group of patients randomized for the FO group presented in the beginning of the study CRP values significantly higher ($p < 0.001$) and total cholesterol values significantly lower ($p = 0.017$).

Inflammation was present in 68 of the 114 patients (60%) in the first analysis. Male individuals presented a mean baseline CRP level higher than female individuals (11.2 versus 8.6 mg/dL, respectively; $p=0.035$). Also, a weak but statistically significant correlation was found between BMI and baseline CRP ($R_s=0.22$; $p=0.022$) and a

negative correlation with similar strength between HDL-c and baseline CRP ($R_s = -0.23$; $p= 0.032$).

In the FO group the comparison between the first and the last analysis displayed a statistically significant drop in the CRP values ($p<0.001$), total cholesterol ($p=0.004$) and LDL-c ($p=0.001$) and an increase in the HDL-c ($p=0.004$). Such results were not observed in the MO group (**Table 2**). In the overtime assessment we observed that the CRP variation in the FO group was higher than the one observed in the MO group ($P < 0.001$). In this interaction assessment, in the FO group the drop in the CRP values reached statistical significance (time 1 x time 2 and 3), while the values in the MO group remained stable (**Figure 1**).

In another approach, comparing the initially inflamed with the non-inflamed group we observed lower URR and Kt/V (“dialysis dose”) in the inflamed ($p<0.01$). These individuals also presented a higher BMI mean ($p=0.03$), and the comparisons of the other study variables did not present statistically significant differences (**Table 3**). Moreover, in the FO group a decrease in the percentage of inflammatory patients was observed in the throughout the study, reducing from 36.3%, 23.9% to 21.2% respectively in times 1, 2 and 3 ($p=0.004$). In the MO group no statistically significant differences were observed in the same analysis in the respective times of assessment ($P= 0.487$).

Further intervention analysis was made by separating the patients into inflamed and non-inflamed. Among the non-inflamed patients neither intervention produced a significant decrease in the CRP levels (FO 1.26 ± 1.25 to 0.68 ± 1.49 and MO 2.14 ± 1.15 to 2.33 ± 1.28 ; $P = NS$). Contrariwise, in the inflamed group, a statistically significant

decrease in the CRP levels was observed in the group of inflamed patients that received FO compared to the group that received MO ($p < 0.001$). These results are shown in Figure 2.

Bowel function was assessed in the beginning and at the end of the study and 41 (88.9%) individuals that received FO referred improvement of bowel constipation whereas 15 (25%) of MO group individuals referred the same effect ($p < 0.001$).

DISCUSSION

In spite of the significant advances in RRT technology, specially in hemodialysis equipments and techniques, uremic patients continue to present a high mortality rate mainly due to cardiovascular events (43). The traditional risk factors for cardiovascular mortality are high blood pressure, congestive heart failure, dyslipidemias, diabetes and smoking. More recently inflammation, oxidative stress, hyper-homocysteinemia, and malnutrition have also been associated to cardiovascular mortality in this population (44-46). Furthermore, risk factors specifically related to uremia are now recognized and include divalent ion disturbances, anemia, chronic hypervolemic state, and coronary calcification, among others (49-51). Several studies reported that chronic inflammation is highly prevalent in the uremic population (40,41,42). The observation that inflammation is strongly related to the atherogenic process was reported in renal and non-renal patients and it was suggested that the inflammatory process contributes to increased morbidity and mortality in chronic HD patients (47).

CRP reflects the generation of pro-inflammatory cytokines such as interleukin 1 and 6 (IL-1 and IL-6) and tumor necrosis factor α , all being reported as elevated in a significant portion of patients with terminal renal failure, and considered to be

predictors of mortality among them (37,52). High levels of acute phase proteins, such as CRP, are directly linked to atherogenic properties and may intensify the accelerated atherogenesis observed in patients undergoing hemodialysis (48). Perhaps the main factors identified as contributors to the elevated frequency of inflammation in this population are the exposure of the blood to bio incompatible extra-corporeal circuit including dialysis filters and lines as well as exposure to dialysis water and solutions which are not sterile (53,54).

The two physiologically essential and complementary fatty acids in humans are the linolenic acid (18:2(n-6)) a essential member from omega 6 family, and α -linolenic acid from the omega 3 family (18:3(n-3)) (1,2). In occidental cultures the already reduced intake of α -linolenic fatty acid, compared to the linoleic fatty acids, is aggravated by the reduced conversion from its active products due to the elevated intake of linoleic fatty acid and their competition for the conversion enzymes, namely cyclooxygenase and lipoxygenase, on the cell membranes (3). As a result there is an overproduction of proinflammatory series 2 eicosanoids-like prostraglandins and series 4 leukotrienes, compared to the non-inflammatory series 3 prostraglandins-like and series 5 leukotrienes, that have anti-inflammatory, anti-aggregatory and vasodilatation properties (14-16).

Considering the difficulties of intake of these nutrients through food and the uncertainties in terms of absorption of the α -linolenic fatty acid, many studies were carried out to evaluate this substance as a supplement and its impact in human health in different regimens and populations (4-9). Effects on prevention of atherosclerosis, chronic hepatitis, psoriasis, rheumatoid arthritis, myocardial infarction, asthma and diabetes were described (3, 9) and several studies showed the decrease in pro-

inflammatory cytokines (18-22). Lopez-Garcia et al observed 29% decrease of serum CRP in a retrospective study that evaluated the α -linolenic acid uptake through food in healthy women. Ciubotaru et al found a 35% decrease of CRP levels in post menopause women with a short-term fish oil supplementation. In studies with healthy volunteers and with rheumatoid arthritis patients receiving flaxseed oil and fish oil, control of inflammation was observed, reflected by a drop in the mediators of the inflammatory process (cytokines, TNF α and IL-1 beta) was observed (30).

The flaxseed oil does not contain omega 3 fatty acids, however it is the only vegetable oil rich in its precursor, the α -linolenic acid. The hypothesis that the α -linolenic fatty acid present in the flaxseed oil is able to reduce the inflammatory state in humans is supported by previous studies. Caughey and collaborators studied the effect of a flaxseed oil based diet on the synthesis of TNF α e IL-1 beta in healthy volunteers and observed that its use in the preparation of meals during four weeks inhibited approximately 30% the production of these inflammatory factors, demonstrating its role as a potential inhibitor of these mediators (31). Jenkins et al evidenced that the intake of grain flaxseed or its oil decreases total cholesterol and HDL cholesterol in humans (33). Cunnane et al assessed the plasma effects of the consumption of flaxseed oil in women with normal cholesterol levels that received 1000mg during four weeks. The findings indicated that the oil intake diminished the serum cholesterol, whereas the serum n-3 increased. The flaxseed oil had effect mainly on LDL-c levels, not changing the levels of HDL-c and triglycerides (32). Finally, Singer and collaborators reported the drop in serum lipids in patients with primary hyperlipidemia who received flaxseed oil (36).

Surprisingly that there are few studies that tested therapeutic interventions to the control of inflammatory state in the high-risk population of the uremic patients

(55,56). Considering the knowledge on the use of flaxseed oil in other situations, the absence of significant side effects, the easy access and clinical applicability, its anti-inflammatory and anti-lipemic activity and the beneficial effects observed on the cardiovascular risk factors, we hypothesized that this agent could be useful in reducing the micro inflammatory state in uremic subjects on RRT with hemodialysis. In the present study we observed that the flaxseed oil supplementation during four months was able to reduce the CRP levels in an early and sustained fashion. Interestingly patients previously inflamed seemed to have had better therapeutic results. Furthermore, better response was observed in the lipid profile of individuals supplemented with flaxseed oil between the first and third period of the study, compared to the placebo group.

These data supports studies carried out with omega 3 fatty acids in their bioactive configuration (DHA and EPA), and may suggest that the amounts of α -linolenic acid converted into DHA and EPA, are enough to obtain anti-inflammatory and anti-lipemic effects. The limitations in the interpretation of the present study are mainly because the supplementation group presented, before the beginning of the study, higher PCR levels than the placebo group, having this occurred because of a flawed randomization. However, supporting our results, evaluating the changes in the inflammatory and non-inflammatory state we observed that the migration occurred significantly in the patients that received supplementation and did not occur in the placebo group.

The results here presented support the hypothesis that the flaxseed oil may have a beneficial effect on a intermediary outcome, the inflammatory state marker CRP. Our findings must be confirmed in different cohorts of uremic subjects. If the beneficial effect is confirmed, studies must be designed to optimize the doses, lengths of

administration and test the therapeutic efficiency on more relevant outcomes such as cardiovascular and cerebro-vascular events and mortality.

ACKNOWLEDGEMENTS:

This work was supported by the Research Incentive Fund from Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

The blinded capsules of placebo and flaxseed oil were kindly provided by Naturallis Laboratories, São Paulo, Brazil.

The authors disclose no conflict of interest

RCM is a scholar from CNPq (Brazilian Research Council)

REFERENCES

1. SIMOPOULOS AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother**, n. 56, p.365– 79, 2002.
2. SIMOPOULOS AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **J Am Coll Nutr**, n. 21, p. 495– 505, 2002.
3. KEHN P, FERNANDES G. The importance of omega-3 fatty acids in the attenuation of immune-mediated diseases. **J Clin Immunol**, n.21, p. 99-101, 2001.
4. TAPIERO H, et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomed Pharmacother**, n.56 p.211-215, 2002.
5. MCCORD JM, EDEAS MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. **Biomed Pharmacother**, n. 50, p.139-44, 2005.
6. EMERIT J, EDEAS M, BRICAIRE F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Biomed Pharmacother**, n.58, p.12-39, 2004.
7. ALBERT CM, et al. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. **Circulation**, n.105, p.2595–9, 2002.
8. HARRIS WS, ASSAAD B, POSTON WC. Tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio and risk for coronary artery disease. **Am J Cardiol**, n. 98(4A), p.19i–26i, 2006.
9. GISSI. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. **Lancet**, p. 354:447, 1999.
10. WEISS LA, BARRETT-Connor E, von MUHLEN D. Ratio of n_6 to n_3 fatty acids and bone mineral density in older adults: the Rancho Bernardo Study. **Am J Clin Nutr**, n.81, p.934– 8, 2005.
11. HARRIS WS. Are omega-3 fatty acids the most important nutritional modulators of coronary heart disease risk? **Curr Atheroscler Rep**, n.6, p.447, 2004.
12. HAWKINS R. Observations of an emulsified fish oil supplement in a dialysis population. **JANA**, n.5, p.4-5, 2002.
13. YOSHIMOTO-Furuie et al. Effects of oral supplementation with evening primrose oil for six weeks on plasma essential fatty acids and uremic skin symptoms in hemodialysis patients. **Nephron**. n.81, p.151-159, 1999.
14. JONES WL, KAISER SP. Pilot study: An emulsified fish oil supplement significantly improved C-reactive protein, hemoglobin, albumin and urine output in chronic hemodialysis volunteers. **JANA**, n.5, p.45-50, 2002.
15. LOSSL K, et al. The effect of omega-3 fatty acids on neutrophils in patients on hemodialysis. **Lipids**, n. 34, S185, 1999.
16. SCHMITZ P, et al. Prophylaxis of hemodialysis graft thrombosis with fish oil: Double-blind, randomized, prospective trial. **J Am Soc Nephrol.**, n.13, p.184-190, 2002.
17. ENGLYSTA, Nicola; GRIMBLEB, Robert; BYRNEA, Christopher. Long-chain n-3 fatty acid supplementation in men increases resistance to activated protein C. **Met Clinical and Experimental**, n. 56, p.547– 551, 2007.

18. CAZZOLA et al. Age- and dose-dependent effects of an eicosapentaenoic acid-rich oil on cardiovascular risk factors in healthy male subjects. **Atherosclerosis**, n.193, p.159-167, 2007.
19. CALDER, Philip. n_3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **Am J Clin Nutr**, n.83, (suppl):1505S–19S, 2006.
20. CIUBOTARU, Irina; LEE, Ye-Sun; WANDER, Rosemary. Dietary fish oil decreases C-reactive protein, interleukin-6, and triacylglycerol to HDL-cholesterol ratio in postmenopausal women on HRT. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 14, p. 513–521, 2003.
21. MORI et al. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated hypertensive type 2 diabetic subjects. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 35, n. 7, p. 772–781, 2003.
22. LOPEZ-GARCIA, Esther, et al. Consumption of (n-3) Fatty Acids Is Related to Plasma Biomarkers of Inflammation and Endothelial Activation in Women. **J. Nutr.** n. 134, p. 1806–1811, 2004.
23. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 1999. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 13. Nutrient Data Laboratory Home Page, www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp
24. MA, Qiang; BATTELLI, Lori; HUBBS, Ann. Multiorgan Autoimmune Inflammation, Enhanced Lymphoproliferation, and Impaired Homeostasis of Reactive Oxygen Species in Mice Lacking the Antioxidant-Activated Transcription Factor. **American Journal of Pathology**, v. 168, No. 6, p. 1960-74, 2006.
25. HUSSEIN, Nahed et al. Long-chain conversion of [13C] linoleic acid and α -linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. **J. Lipid Res.** v. 46, p.:269–280, 2005.
26. KRIS-ETHERTON, Penny M. et al. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. **Circulation**, v.106, p.2747-2757, 2002.
27. NASCIMENTO et al. The prognostic impact fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilians haemodialysis patients: a prospective study. **Nephrol Dial Transplant**. V.19, p. 2803-09, 2004.
28. DE VET, Emely, et al. The Transtheoretical model for fruit, vegetable and fish consumption: associations between intakes, stages of change and stage transition determinants. *Int J Behav Nutr Phys Act*. V.p. 13.
29. MARTIN, Clayton Antunes et al . Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, n. 6, Dec. 2006 .
30. PINHEIRO JR., Manuel Neuzimar et al . Uso oral do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) no tratamento do olho seco de pacientes portadores da síndrome de Sjögren. **Arq. Bras. Oftalmol.**, São Paulo, v. 70, n. 4, ago. 2007.
31. CAUGHEY, GE, et al. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin -1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. **The American Journal of clinical Nutrition**. 63:116-122 (1996).
32. CUNNANE SC, et al T. High alpha-linolenic acid flaxseed: some nutritional properties in humans. **British Journal of Nutrition** 69: 443-453 (1993);
33. JENKINS DG, et al. Health aspects of partially defatted flaxseed, including effects on serum lipids, oxidative measure and *ex vivo* androgen and progestin activity: a controlled cross-over trial. **The American Journal of clinical Nutrition**; 69(3): 395-402 (1999).

34. OOMAH, B. D. Flaxseed as a functional food source. **J. Sci. Food Agric.**, v. 81, n.9, p. 91-95, 2001.
35. LEANNE T., BLOEDON M.S., R.D, PHILIPPE O. Szapary M.D., Flaxseed and cardiovascular risk. **Nutrition Reviews – International Life Sciences Institute**. V. 62, n.1, p.18-27, 2008
36. SINGER, P., Berger, 1. & Wirth, M. Slow desaturation and elongation of linoleic and alpha-linolenic acid as a rationale of eicosapentaenoic acid-rich diet to lower blood pressure and serum lipids in normal, hypertensive and hyperlipidemic subjects. **Prostaglandins Leukotrienes and Medicine** **24**, 173-193., 1986.
37. PACHALY MA, et al. Interleukin-6 is a better predictor of mortality as compared to C-reactive protein, homocysteine, pentosidine and advanced oxidation protein products in hemodialysis patients. **Blood Purif.** 26(2):204-10, 2008.
38. RAJ DS, et al. Soluble CD14 Levels, Interleukin 6, and Mortality Among Prevalent Hemodialysis Patients. **Am J Kidney Dis.**, 2009.
39. SNAEDAL S, et al. Comorbidity and acute clinical events as determinants of C-reactive protein variation in hemodialysis patients: implications for patient survival. **Am J Kidney Dis.** 53(6):1024-33, 2009.
40. CHMIELEWSKI M, et al. Metabolic abnormalities in chronic kidney disease that contribute to cardiovascular disease, and nutritional initiatives that may diminish the risk. **Curr Opin Lipidol.** (1):3-9, 2009.
41. SULIMAN ME, STENVINKEL P. Contribution of inflammation to vascular disease in chronic kidney disease patients. **Saudi J Kidney Dis Transpl.** 19(3):329-45, 2008.
42. PECOITS-Filho R, LINDHOLM B, STENVINKEL P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome – the heart of the matter. **Nephrol Dial Transplant**; 17 [Suppl 11]: 28–31, 2002.
43. YAO, Q, Axelsoon, J, Stenvinkel, P, Lindholm, B. Systemic inflammation in dialysis patients with end-stage renal disease: causes and consequences. **Minerva Urol Nefrol.** V 56, p. 237-48, 2004.
44. LAVIE, Carl J., MEHRA, Mandeep R., MILANI, Richard V. Obesity and heart failure prognosis: paradox or reverse epidemiology? **European Heart Journal** (2005) 26, 5–7
45. YAO, Qiang LINDHOLM, Bengt, STENVINKEL Peter. Inflammation as a cause of malnutrition, atherosclerotic cardiovascular disease, and poor outcome in hemodialysis patients. **Hemodialysis International** 2004; 8: 118-129
46. BAYES B, Pastor et al. Homocysteine, C-reactive protein, lipid peroxidation and mortality in haemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant.** 2003; 18(1): 106–112.
47. MENON V, Wang et al. Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. **Am J Kidney Dis.** 2003; 42(1): 44–52.
48. ZWAKA TP, HOMBACH V, TORZEWSKI J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: Implications for atherosclerosis. **Circulation.** 2001; 103(9): 1194–1197.
49. YAVUZ, A et al. Influence of Inflammation on the Relation Between Markers of Iron Deficiency in Renal Replacement Therapy. **Transplantation Proceedings**, 36, 41-43 (2004).

50. STENVINKEL P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. **Blood Purif.** 2001;19(1):53-61.
51. KAYSEN GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. **J Am Soc Nephrol.** 2001;12(7):1549-57.
52. MENON V, Greene T, Wang X, Pereira AA, Marcovina SM, Beck GJ, et al. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. **Kidney Int.** 2005;68(2):766-72

TABLES

Table 1. Demographic and laboratory data.

Parameter	FO group (n=54)	MO group (n=59)	P-value
Male (%)	51.9 (n=28)	48.3 (n=29)	0.851
Race (% caucasian)	77.4 (n=41)	85 (n=51)	0.424
Age (years)	55.7 ± 13.0 ^a	58.3 ± 14.8 ^a	0.338
Time on HD (Months)	28.5 (14-59.5) ^b	34.5 (16.2-72) ^b	0.507
BMI (Kg/m²)	25.1 ± 3.47 ^a	24.2 ± 4.27 ^a	0.212
DM (%)	46.3 (n=25)	57.7 (n=34)	0.16
CRP (mg/dL)	8.1(4.9-19.5)	4.4(2.4-7.5) ^b	0.001
Ht (%)	34.2 ± 4.93 ^a	33.8 ± 4.97 ^a	0.653
Hb (mg/dL)	11.2 ± 1.55 ^a	10.9 ± 1.57 ^a	0.494
URR	70.0 ± 9.89 ^a	71.9 ± 6.97 ^a	0.259
Kt/V	1.46 ± 0.34 ^a	1.55 ± 0.32 ^a	0.202
Ca (mg/dL)	8.43 ± 1.04 ^a	8.22 ± 0.92 ^a	0.22
PO₄ (mg/dL)	5.1 (4.08-6.83) ^b	5 (3.83-7.08) ^b	0.838
Cholesterol (mg/dL)	165.9 ± 46.4 ^a	193.2 ± 58.0 ^a	0.017
HDL (mg/dL)	30.8 ± 7.56 ^a	34.4 ± 14.3 ^a	0.591
LDL (mg/dL)	121 ± 45.8 ^a	94.5 ± 32.5 ^a	0.243
TG (mg/dL)	177 (128-266) ^b	163.5 (112-205) ^b	0.178

^a Values at baseline are expressed as mean ± SD; ^b values at baseline are expressed as median and range. FO = flaxseed oil; MO = Mineral oil; HD = hemodialysis; BMI = body mass index; DM = Diabetes Mellitus; CRP = C-reactive protein; HT = hematocrit; Hb = hemoglobin; URR = urea reduction ration ; Ca = calcium; PO₄ = phosphorus; HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein; TG = triglycerides.

Table 2. Effect of intervention on CRP levels and other laboratory variables.

<i>Parameter</i>	<i>Base</i>	<i>Last time</i>	<i>P-value</i>	<i>Base</i>	<i>Last time</i>	<i>P-value</i>
	FO group (n=54)			MO Group (n=59)		
CRP (mg/dl)	8.1 (4.9-19.5) ^b	4.2 (1.7-8.5) ^b	<0.001	4.4 (2.4-7.5) ^b	3.7(1.3-9.0) ^b	0.337
Ht (%)	34.2 ± 4.93 ^a	33.9 ± 5.7 ^a	0.705	33.8 ± 4.97 ^a	34.1 ± 5.26 ^a	0.769
Hb (mg/dl)	11.2 ± 1.55 ^a	10.9 ± 1.9 ^a	0.461	11.0 ± 1.57 ^a	10.9 ± 1.62 ^a	0.951
URR	70.0 ± 9.89 ^a	69.2 ± 8.74 ^a	0.536	71.9 ± 6.97 ^a	71.5 ± 8.91 ^a	0.608
Kt/V	1.46 ± 0.34 ^a	1.43 ± 0.33 ^a	0.443	1.55 ± 0.32 ^a	1.47 ± 0.33 ^a	0.05
Ca (mg/dl)	8.43 ± 1.04 ^a	8.1 ± 1.12 ^a	0.055	8.22 ± 0.92 ^a	8.43 ± 0.95 ^a	0.084
PO₄ (mg/dl)	5.1 (4.08-6.83) ^b	4.8 (3.75-6.0) ^b	0.08	5.0 (3.83-7.08) ^b	4.55 (3.42-5.47) ^b	0.06
Cholesterol (mg/dl)	193.2 ± 58.0 ^a	178.6 ± 44.4 ^a	0.004	165.9 ± 46.4 ^a	162.5 ± 40.7 ^a	0.588
HDL (mg/dl)	30.8 ± 7.56 ^a	33.3 ± 8.79 ^a	0.004	34.4 ± 14.3 ^a	35.0 ± 15.1 ^a	0.591
LDL (mg/dl)	121.0 ± 45.8 ^a	107.6 ± 31.7 ^a	0.001	94.5 ± 32.5 ^a	88.7 ± 35.3 ^a	0.243
TG (mg/dl)	177 (128-266) ^b	147 (111-231) ^b	0.06	163.5 (112-205) ^b	184 (127-249) ^b	0.05

^a Values are expressed as mean ± SD; ^b values are expressed as median and range. FO = flaxseed oil; MO = Mineral oil; CRP = C-reactive protein; HT = hematocrit; Hb = hemoglobin; URR = urea reduction ration ; Ca = calcium; PO₄ = phosphorus; HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein; TG = triglycerides.

Table 3. Comparison of demographic and laboratory variables in inflamed and non-inflamed patients according to the CRP levels

<i>Parameter</i>	CRP \geq 5.1mg/dL(n=68)	CRP < 5.1mg/dL (n=45)	<i>P-value</i>
Age (years)	57.2 \pm 14.1 ^a	57.1 \pm 14.1 ^a	0.976
Time on HD (months)	26 (13.3-71) ^b	37 (23-67.5) ^b	0.142
White (%)	80.9 (n=55)	81.8 (n=36)	0.141
Male (%)	54.4 (n=37)	42.2 (n=19)	0.554
BMI (Kg/m²)	25.5 \pm 3.94 ^a	23.3 \pm 3.27 ^a	0.03
CRP (mg/dl)	9 (6.7-20.0) ^b	2.2 (1.45-3.55) ^b	<0.001
Ht (%)	32.9 \pm 4.78 ^a	34.1 \pm 5.09 ^a	0.816
Hb (mg/dl)	11.0 \pm 1.53 ^a	11.1 \pm 1.60 ^a	0.624
URR	70.0 \pm 9.89 ^a	73.5 \pm 6.62 ^a	<0.01
Kt/V	1.44 \pm 0.32 ^a	1.60 \pm 0.32 ^a	<0.01
Ca (mg/dl)	8.43 \pm 1.04 ^a	8.23 \pm 1.02 ^a	0.20
PO₄ (mg/dl)	5.25 (4.2-6.88) ^b	4.8 (3.75-7.05) ^b	0.306
Cholesterol (mg/dl)	178.0 \pm 52.4 ^a	183.4 \pm 56.7 ^a	0.653
HDL (mg/dl)	170 (108.5-217.2) ^b	160 (139.5-261.5) ^b	0.377
LDL (mg/dl)	31.7 \pm 11.8 ^a	33.7 \pm 10.9 ^a	0.436
TG (mg/dl)	105.9 \pm 39.7 ^a	110.1 \pm 47.2 ^a	0.662

^a Values are expressed as mean \pm SD; ^b values are expressed as median and range. HD = hemodialysis; BMI = body mass index; CRP = C-reactive protein; HT = hematocrit; Hb = hemoglobin; URR = urea reduction ration; Ca = calcium; PO₄ = phosphorus; HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein; TG = triglycerides.

FIGURE 1.

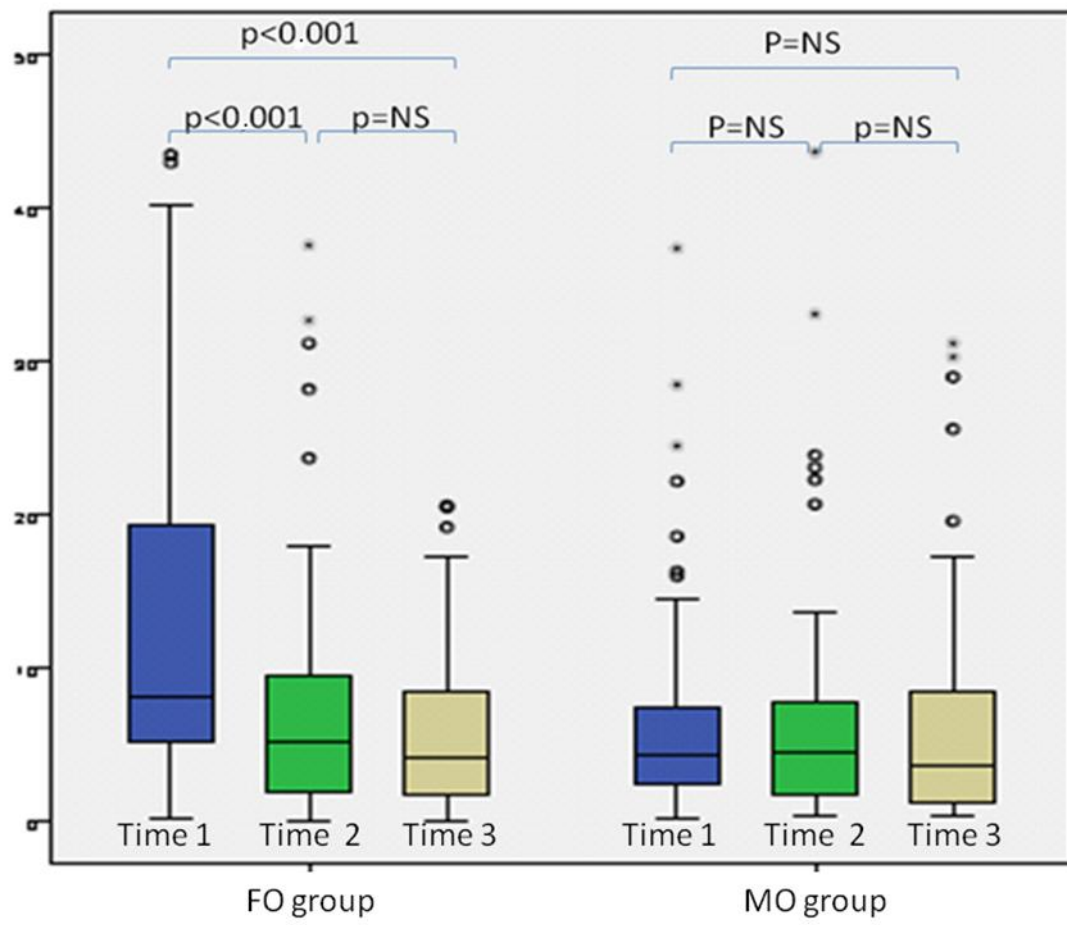
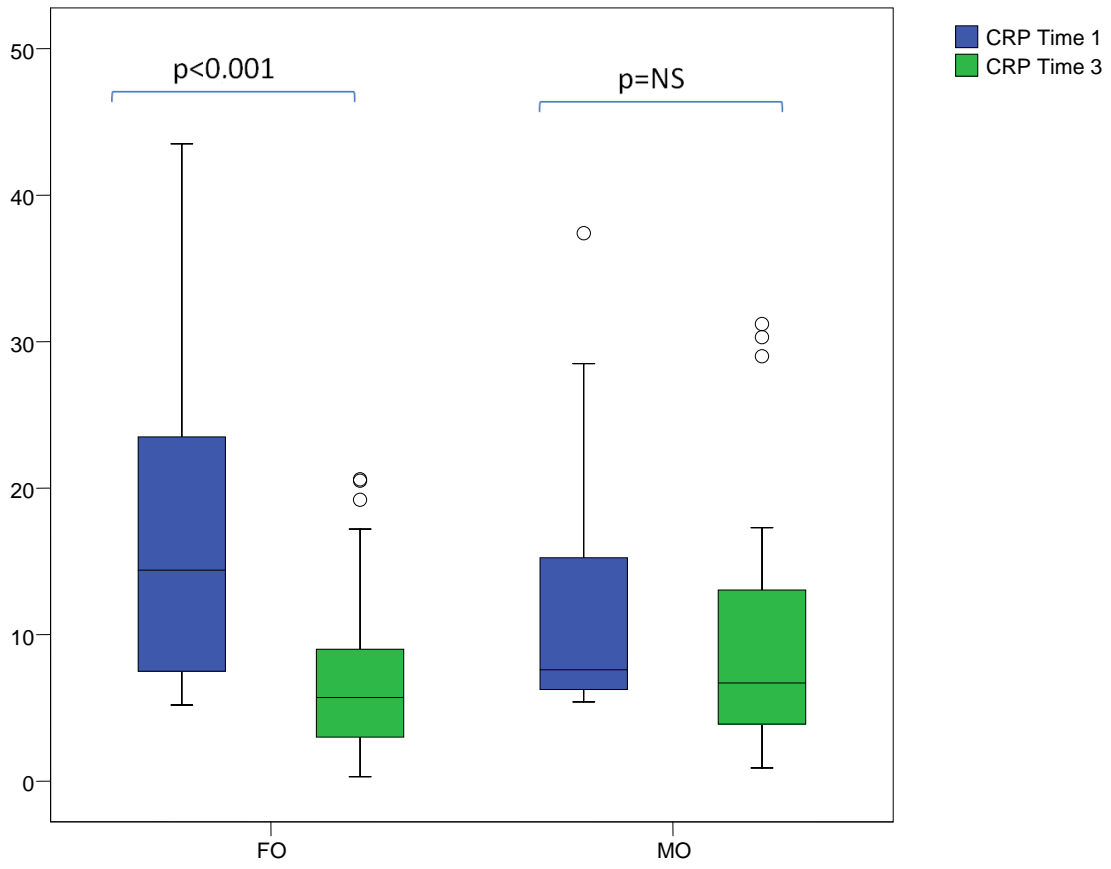


FIGURE 2.



SUBTITLES TO THE FIGURES.

FIGURE 1. CRP (mg/dl) variation at three time points of assessment. Box and whisker plots showing medians (horizontal line) P 25-75 (box); P 10-90 (bars) e outliers (circles). Flaxseed group (FO); Placebo group (MO). In the FO group the decrease in the CRP was statistically significant (CRP 1 x CRP 2 and CRP 3). In the MO group there was no statistically significant statistical difference in the comparisons.

FIGURE 2. CRP variation in the beginning and at the end of the study assessing the inflamed subjects according to the intervention. Box and whisker plots showing medians (horizontal line) P 25-75 (box); P 10-90 (bars) e outliers (circles). FO = Flaxseed oil group; MO = placebo group. In the FO group the decrease in the CRP was statistically significant ($p < 0.001$). In the MO group there was no significant statistical difference in the comparisons.

Capítulo 6: CONSIDERAÇÕES GERAIS

Neste trabalho evidenciou-se que a administração de óleo de linhaça ao longo de quatro meses propiciou a redução de PCR de pacientes com DRC em TRS com HD. Interessantemente os pacientes previamente inflamados pareceram ter melhor resultado terapêutico. Além disso, observou-se melhor resposta no perfil lipídico dos indivíduos suplementados com o óleo de linhaça entre o primeiro e o terceiro período do estudo, comparados ao grupo placebo. Estes dados estão em concordância com os estudos realizados com ácidos graxos n-3 na sua forma bioativa (DHA e EPA), sugerindo que o ácido graxo α -linolênico é convertido em DHA e EPA em quantidades suficientes para que se obtenha atividade antiinflamatória e antilipemiente.

As limitações na interpretação deste estudo devem-se principalmente ao fato de o grupo que recebeu o composto ativo ter apresentado, antes do início das terapias, níveis mais elevados que o grupo que recebeu placebo, tendo isto ocorrido por uma falha na randomização. No entanto, em suporte aos nossos resultados, ao avaliarmos de forma categórica a mudança de status de “inflamado” para “não inflamado” observamos que esta migração ocorreu de forma significativa nos pacientes que receberam o composto ativo não tendo ocorrido nos que receberam placebo.

Os resultados aqui apresentados suportam a hipótese de que o óleo de linhaça exerça efeito benéfico em um desfecho intermediário, marcador de estado inflamatório, a redução da PCR, e devem ser confirmados em diferentes coortes de indivíduos urêmicos. Caso este efeito seja confirmado estudos deverão ser delineados para avaliar a otimização de doses e testar a eficácia terapêutica em desfechos duros mais relevantes tais como incidência de eventos cardíaco-vasculares, cérebro-vasculares e mortalidade.

Capítulo 7: ANEXO

PROTOCOLO DE COLETA DE MATERIAIS

- NOME: _____
- Centro de Diálise: () HCPA () HSVP () Outro: _____
- DATA de Nascimento: __/__/____ Idade: _____
- GRAU DE INSTRUÇÃO: _____
- SEXO: () MASCULINO () FEMININO
- RAÇA: () Branco () Não Branco
- DOENÇA RENAL BÁSICA: _____
- Data do Início do tratamento dialítico: __/__/____

- MEDICAMENTOS EM USO:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.

COLETA 1: __/__/____ COLETA 2: __/__/____ COLETA 3: __/__/____

PCR (mg/dl)			
HT%			
Hb (mg/dl)			
URR			
Kt/V			
Ca (mg/dl)			
P (mg/dl)			
Colesterol			
HDL			
LDL			
Triglicerídeos			