

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição

Área de Ciências Nutricionais

Delfina Alfredo Manjate

**INTERVENÇÃO DIETÉTICA COM SUCO DE LARANJA SOBRE O
ESTADO NUTRICIONAL E OXIDATIVO EM PACIENTES COM
HEPATITE C CRÔNICA**

ARARAQUARA

2011

Delfina Alfredo Manjate

**INTERVENÇÃO DIETÉTICA COM SUCO DE LARANJA SOBRE O
ESTADO NUTRICIONAL E OXIDATIVO EM PACIENTES COM
HEPATITE C CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição, área de Ciências Nutricionais.

Prof^a. Dra. Thais Borges César
Orientadora

ARARAQUARA

2011

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Thais Borges César

Prof. Dr. João Bosco Faria

Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa

Profa. Dra. Ellen Criastiani Freitas

DEDICATÓRIA

À DEUS, por tudo que me tem proporcionado em todos os dias da minha vida e disponibilizar luz para iluminar meus caminhos.

À minha família, pelo apoio incondicional neste momento de ausência e em todos os momentos da minha vida, pelo estímulo dado em continuar a seguir em frente. Em especial, agradeço a minha mãe, filha e irmãos por todo o apoio e, coragem proporcionada nesta longa jornada da minha formação como profissional e como pessoa.

AGRADECIMENTOS

À orientadora, Profa Dra Thaís Borges César, que além de me guiar em todas as fases da realização deste curso de pós-graduação reconheceu em mim a capacidade de levar este projeto adiante. Neste período de convivência, as qualidades de pesquisadora e de ser humano que observei, fizeram aumentar-lhe estima e admiração. Sou grata pela paciência, incentivo, carinho, amizade e apoio durante os momentos de ansiedade preocupações e incertezas que passei neste período no Brasil.

Ao Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa que compartilhou conosco os desafios de nossa proposta e nos auxiliou nesta caminhada, proporcionando meios e contatos para que chegassemos a realização deste projeto.

Ao Diretor do Serviço Especializado de Saúde de Araraquara (SESA), Dr. Walter Manso por ter dispensado o posto de saúde e pessoal de enfermagem, o que possibilitou a realização desta pesquisa.

À Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo Mondlane, por ter cedido esta oportunidade de dois anos de ausência para realização de Mestrado.

Aos meus colegas e amigos do mestrado por partilhar conhecimentos, experiências e pela amizade.

À Ana Lúcia Nasser, Ederlan de Souza Ferreira por inestimável apoio e colaboração nos exames laboratoriais, análise estatística e paciência demonstrada durante todo o período de desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus amigos e colegas Ederlan de Souza Ferreira, Juliana Cristina Bassan e Júlio Vinuesa por se tornarem amigos fundamentais em minha vida, aos quais posso chamar de irmãos. Obrigada pela amizade sincera e por me acolher, acudir em

qualquer circunstância, pela paciência e compreensão desde que cheguei a Araraquara.

Ao pessoal de enfermagem do SESA, em especial a Ângela Costa, Neusa Eli Figueiredo, Sônia Somenzari, Silvana Lupatelli, Fabrícia Bento da Silva, Palmira Temponi, Maria Inês e Ana Lúcia pelo incentivo, apoio dispensado por elas e que possibilitou o desenvolvimento da pesquisa.

A secretaria da pós-graduação da FCF da UNESP de Araraquara, Cláudia Molina, Laura Rosim, Sônia Ornellas pelo apoio dado em manter os prazos e toda burocracia institucional em ordem para que pudesse me deslocar de Moçambique para o Brasil.

Aos voluntários que participaram com muita dedicação para que a pesquisa se realizasse.

Ao Núcleo de Atendimento à Comunidade (NAC) da FCFAR pela realização dos exames Laboratoriais que foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa científica.

À Citrosuco (Grupo Fisher) de Matão e ao Sr. Helton Leão que disponibilizaram suco de laranja para intervenção dietética dos pacientes durante a pesquisa.

À Servipack pela oferta de frascos para envase do suco de laranja para realização deste trabalho.

À todos os funcionários da Biblioteca da FCF (UNESP) de Araraquara pelo apoio e disponibilidade oferecida.

Ao CNPq pela bolsa concedida

A todos os amigos do Departamento de Alimentos e Nutrição especialmente a Maraíza Aparecida da Silva por ter torcido por mim desde o início. Vocês ficarão no meu coração para sempre.

RESUMO

O vírus da hepatite C é um agente infeccioso responsável pela inflamação do fígado e cuja progressão leva a hepatite C podendo produzir complicações como a cirrose, insuficiência hepática e hepatocarcinoma. A infecção pelo VHC progride com inflamação, provocando danos no parênquima hepático, no metabolismo de nutrientes neste órgão, aumento de espécies reativas de oxigênio e à diminuição das concentrações plasmáticas de antioxidantes. Este processo favorece a persistência da replicação viral e a cronicidade podendo levar à ineficiência da resposta imune e agravamento do quadro clínico do paciente. A vitamina C plasmática atua na primeira linha de defesa do organismo inativando as espécies reativas de oxigênio e protegendo os constituintes celulares contra possíveis danos, pois estimula a produção do interferon e citocinas antiinflamatórias, proliferação dos linfócitos T, aumento da atividade anti-apoptótica, entre outras. Uma das principais fontes de vitamina C na dieta humana são as frutas cítricas, em especial o suco de laranja. O objetivo deste estudo foi avaliar o estado nutricional, bioquímico e oxidativo de pacientes com hepatite C crônica. Os pacientes ingeriram 500 mL/dia de suco de laranja durante 8 semanas. No início e final do protocolo proposto foram realizadas avaliações dietéticas, antropométricas, bioquímicas e do estresse oxidativo. Os resultados mostraram que a ingestão regular de suco de laranja não alterou as variáveis antropométricas mas reduziu algumas variáveis bioquímicas, sendo o colesterol total, LDL-c, insulina, destacando-se a redução da proteína C reativa, que houve aumento da capacidade antioxidante e redução da peroxidação lipídica no soro dos pacientes. Pelos resultados observa-se que a ingestão do suco de laranja pode contribuir positivamente para redução do processo inflamatório e do estresse oxidativo e tem efeito hipocolesterolêmico em pacientes com hepatite C crônica.

Palavras chaves: hepatite C, vitamina C, suco de laranja

ABSTRACT

Hepatitis C virus is an agent responsible for liver inflammation and the progression can lead to hepatitis C and complications such as cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma. VHC infection progresses to inflammation, causing damage in the liver parenchyma, metabolism of nutrients, increase reactive oxygen species and decrease plasma concentration of antioxidants. This process favors the persistence of viral replication and chronic liver disease and lead to inefficiency of the immune response and aggravation of the clinical status of the patients. The plasma vitamin C acts as the first line of defense by inactivation reactive oxygen species and protecting cellular components potential damage and stimulates the production of interferon and anti-inflammatory cytokines, proliferation of T lymphocytes increase of anti-apoptotic among others. The greatest sources of vitamin C in the human diet are citrus fruits, especially orange juice. This study is aimed to evaluate the nutritional, biochemical and oxidative status of patients with chronic hepatitis C infection. The patients ingested 500 mL/Day of orange juice for eight weeks. At the beginning and end of the study were evaluated dietary, anthropometric, biochemical and markers of oxidative stress. The study showed that regular intake of orange juice did not change the nutritional status, reduced some biochemical variables, and increased the antioxidant capacity and decrease lipid peroxidation in the serum of the patients. This study summarizes that the ingestion of orange juice can contribute positively to reduce inflammation oxidative stress have effect to hypocholesterolemic effect to chronic hepatitis C patients.

Keywords: hepatitis C, vitamin C, orange juice

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

	Pg.
Figura 1. Representação esquemática da organização do RNA genômico do VHC.....	05
Figura 2. Mapa de distribuição da Hepatite C no mundo.....	07
Figura 3. História Natural da Hepatite C.....	12

CAPÍTULO II

	Pg.
Figura 1. Níveis de Proteína C reativa de pacientes com hepatite C crônica homens e mulheres quando comparados ao período antes e após ingestão regular de 500 mL/dia.....	37

CAPÍTULO III

	Pg.
Figura 1. Reação entre o MDA e o TBA.....	62
Figura 2. Reação entre o radical DPPH e o antioxidante.....	63
Figura 3. Concentrações séricas de DPPH e TBARS no período antes e após a ingestão do suco de laranja.....	68

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

	Pg.
Tabela 1. Características clínicas basais de homens e mulheres com hepatite C crônica classificados de acordo com o IMC e gênero.....	32
Tabela 2. Estimativa da ingestão de energia e nutrientes de homens e mulheres com hepatite C crônica antes a após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja.....	33
Tabela 3. Variáveis antropométricas e bioquímicas de homens com hepatite C crônica antes a após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja classificados de acordo com o IMC.....	34
Tabela 4. Variáveis antropométricas e bioquímicas de mulheres com hepatite C crônica antes a após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja.....	35
Tabela 5. Variáveis antropométricas de mulheres e homens com hepatite C crônica antes a após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja.....	36

CAPÍTULO III

	Pg.
Tabela 1. Principais nutrientes do suco de laranja integral pasteurizado.....	60
Tabela 2. Características clínicas basais de homens e mulheres com hepatite C crônica classificados de acordo com o IMC e gênero.....	66
Tabela 3. Variáveis antropométricas e do estresse oxidativo de homens com hepatite C crônica antes a após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja classificados de acordo com o IMC.....	67

LISTA DE ABREVIATURA

ACAT: Acilcolesterol aciltransferase
ANTI-VHC: Anticorpos contra Vírus da Hepatite C
ANSG: Avaliação Nutricional Subjetiva
BP: Baixo peso
CAT: Catalase
CT: Colesterol Total
CEP: Comitê de Ética em Pesquisa
DNA: Ácido desoxiribonucleico
DSB: *Double strand break*
DPPH: 2,2-difenil-1-picril hidrazil
DRI: *Dietary Reference Intake*
ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
EO: Estresse Oxidativo
EROs: Espécies Reativas de Oxigênio
FAM: Aferição de aperto de mão
GSH: Glutathiona
GPx: Glutathiona peroxidase
HDL: Lipoproteína de Alta Densidade
HMG CoA: 3-metilglutaril coenzima A
HOMA: *Homeostatic Model Assessment*
IFN: Interferon
IMC: Índice de Massa Corporal
IL: Interleucina
IR: Resistência a Insulina
LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade
MDA: Malonaldeído
NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NF-kB: Fator nuclear de transcrição kappa-B
NK: Células Natural killer
LT: Linfócitos T
PCR: Proteína C Reativa

PN: Peso normal

PO: Pré obesos

QFA: Questionário de Frequência Alimentar

RA-24h: Recordatório Alimentar de 24 Horas

RNA: Acido ribonucléico

RDA: *Recommended Dietary Allowances*

RIBA: Ensaio de Imunoblot Recombinante

SSB: *Single Strand Break*

SOD: Superóxido Dismutase

SR-BI: Receptor Scavenger classe B tipo I

TG: Triglicérideos

TBA: Ácido Tiobarbitúrico

TBARS: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbiturico

TNF- α : Fator de Necrose Tumoral Alfa

TP: Total da população

VLDL: Lipoproteína de densidade muito baixa

VHC: Vírus da Hepatite C

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
CAPÍTULO I	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo geral	2
2.2. Objetivos específicos	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. O Vírus da hepatite C.....	3
3.2. Patogenia da hepatite C.....	7
3.3. História natural	11
3.4. Mecanismo de transmissão	13
3.5. Diagnóstico da hepatite C	15
3.6. Tratamento.....	18
4. Bibliografia	20
CAPÍTULO II - <i>intervenção dietética com suco de laranja sobre o estado nutricional e variáveis bioquímicas em pacientes com hepatite c crônica</i>	24
1. Introdução.....	25
2. Casuística e métodos	29
3. Resultados.....	31
4. Discussão	37
5. Conclusão.....	47
6. Referências.....	48
CAPÍTULO III - <i>Intervenção dietética com suco de laranja sobre o estado oxidativo de pacientes com hepatite c crônica</i>	52
1. Introdução	54
2. Casuística e métodos	60
3. Resultados.....	64
4. Discussão	68
5. Conclusão.....	72
6. Referências.....	73

Capítulo II

1. INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) é um problema mundial de saúde pública, pois afeta cerca de 170 a 250 milhões de indivíduos no mundo podendo levar as complicações como a cirrose e o hepatocarcinoma (World Health Organization, 2008). A infecção pelo VHC progride com inflamação que induz ao aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e à diminuição das concentrações plasmáticas de antioxidantes. Este processo favorece a persistência da replicação viral, cronificação da mesma, ineficiência da resposta imune e agravamento do quadro clínico (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006; GRONBAEK et al. 2006).

O organismo possui dois sistemas de defesa contra o estresse oxidativo, o sistema de defesa enzimático e sistema de defesa não enzimático, constituído por antioxidantes dietéticos, como a vitamina C, vitamina E e compostos polifenólicos, dentre eles os flavonóides (YILMAZ et al. 2004).

A vitamina C plasmática atua na primeira linha de defesa do organismo inativando os radicais livres e protegendo os constituintes celulares contra possíveis danos, pois estimula a produção do interferon e citocinas antiinflamatórias, proliferação dos linfócitos T, aumento da atividade anti-apoptótica, dentre outras (LEITE e SARNI, 2003; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006). Algumas das principais fontes de vitamina C na dieta humana são as frutas cítricas, em especial o suco de laranja, cujo consumo tem se tornado cada vez mais prevalente pelo seu teor de vitamina C, folato, além de ser fonte de flavonóides cítricos (CÉSAR et al. 2010).

Estudos reportam que os flavonóides cítricos tem propriedades anti-inflamatórias, anticarcinogênicas e reduzem o risco de desenvolvimento de doenças crônicas, prevenindo doenças cardiovasculares (GARCIA, 2008; TERAQ, et al. 2009; RISO, et al. 2005; TAPIERO et al. 2002).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Este estudo teve como objetivo avaliar o estado nutricional, bioquímico e oxidativo, de pacientes com hepatite C crônica, antes e após a intervenção dietética com 500 mL/dia de suco de laranja durante oito semanas.

2.2. Específicos

- Avaliar a influência do consumo regular do suco de laranja sobre os parâmetros nutricionais através de medidas antropométricas: peso, estatura, dobras cutâneas, percentagem de gordura corporal, medidas de circunferências (abdômen e cintura);
- Avaliar a ingestão dietética por meio de registro alimentar de duas semanas e recordatório de 24 horas;
- Avaliar parâmetros bioquímicos: colesterol total, LDL-C, HDL-C, triglicérides, glicemia, insulina e proteína C-reativa ultrasensível.
- Avaliar biomarcadores do estresse oxidativo: capacidade antioxidante pelo método difenilpicril-hidrazil (DPPH) e peroxidação lipídica pelo método de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O VHC é o agente responsável pela inflamação do fígado cuja progressão leva à hepatite C. Esta enfermidade constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial da atualidade pelo fato de ser uma doença insidiosa, de proporção elevada para cronicidade (80% dos casos), de frequente etiologia em casos de transplante hepático, com potencial evolutivo para cirrose, hepatocarcinoma, baixa efetividade no tratamento (40-50%) e ausência de uma vacina (STRAUSS et al. 2001).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que entre 170 e 250 milhões de indivíduos, correspondendo a 3% da população mundial, estejam infectados pelo VHC e que aproximadamente 3 a 4 milhões de indivíduos tornam-se infectados a cada ano, sendo relevante o número de indivíduos que desconhecem sua condição de portadores do vírus (WHO, 2008; FOCACCIA et al. 2003; SEEFF et al. 2002).

O VHC foi identificado e caracterizado pela primeira vez por CHOO et al (1989) da *Chiron Corporation* em colaboração com o *Center for Disease Control* (CDC), que através dos avanços da biologia molecular conseguiram extrair e identificar o RNA viral em chimpanzés infectados com soro de pacientes, permitindo efetuar a genotipagem do vírus (CHOO et al. 1989).

3.1. O vírus da hepatite C (VHC)

3.1.1. Estrutura do vírus

Taxonomicamente o VHC pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus* e tem como hospedeiro natural o homem e o chimpanzé (PYBUS et al. 2009; FOCACCIA et al. 2003). O vírion é uma partícula esférica com um tamanho que

oscila entre 50-70 nm de diâmetro, constituída por um invólucro lipídico na qual estão ancoradas as glicoproteínas estruturais do vírus E1 e E2. No interior se encontra o nucleocapsídeo constituído pela proteína core (C) que protege o RNA viral no seu interior (LINDENBACH e RICE, 2005).

3.1.2. Organização genômica do vírus

O genoma do VHC é formado por uma fita simples de RNA de polaridade positiva contendo cerca de 9.600 nucleotídeos. Esta fita contém uma única e longa fase de leitura aberta (*ORF-Open Reading Frame*), a qual codifica uma poliproteína precursora com cerca de 3010 a 3033 aminoácidos, dependendo do genótipo, flanqueada em ambas as extremidades por pequenas regiões não traduzidas e com extensa estrutura secundária denominadas 5'UTR e 3'UTR. Pela ação autoproteolítica e proteolítica da célula hospedeira, a poliproteína precursora é clivada em proteínas estruturais (core, E1 e E2) e proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (CHOO et al. 1989).

Entre as proteínas estruturais e não estruturais existe uma pequena proteína (proteína p7) que regula a permeabilidade dos íons na membrana e apresenta um importante papel na maturação e liberação da partícula viral (PAVLOVIC et al. 2003). A proteína estrutural do core é a principal constituinte do nucleocapsídeo, e está envolvida nos mecanismos de montagem e secreção das partículas infecciosas do vírus (PAWLOTSKY et al. 2007, GOTTO et al. 2004). Estudos têm indicado que esta proteína apresenta outras funções tais como, modulação da transcrição gênica, proliferação, morte e sinalização celular, podendo interferir com o metabolismo lipídico e suprimir a resposta imune do hospedeiro via mecanismos ainda não conhecidos (MCPARLAND et al. 2009).

As glicoproteínas E1 e E2 do envelope são essenciais para a entrada do vírus na célula hospedeira e no ciclo replicativo. As proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B), na extremidade amino da poliproteína possuem ações helicásica, proteásica e RNA polimerásica. A figura 1 mostra a organização genômica do VHC (DUBUISSON, 2007; COCQUEREL et al. 2006; OKUDA et al. 2002; WARIS e SIDDIQUI, 2005). As proteínas NS5A e a do core, interferem no metabolismo intracelular dos lipídeos e de lipoproteínas, com efeito direto no desenvolvimento da esteatose a qual é comum em indivíduos infectados pelo VHC (PEARLMAN et al. 2007).

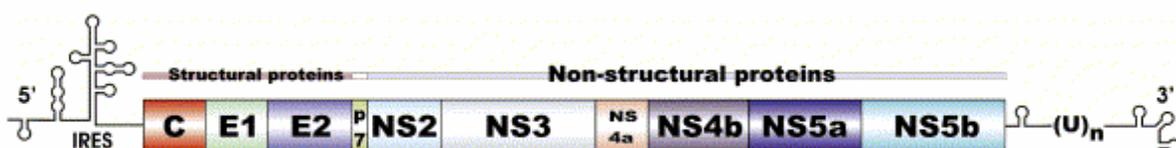


Figura 1. Representação esquemática da organização do RNA genômico do VHC. O genoma é constituído por 9.600 nucleotídeos. As regiões 5'UTR que contém *IRES* (*Internal Ribosome Entry Site*) e a 3'UTR flanqueiam a *ORF* (*Open Reading Frame*), cuja poliproteína correspondente é clivada em proteínas estruturais e não estruturais (ROINGEARD et al. 2004).

3.1.3. Variabilidade genética

O VHC possui a capacidade de se diversificar dentro de um indivíduo infectado ao longo do tempo, resultando em *quasispecies*, isto é, uma população de variantes virais distintas, mas estreitamente relacionadas, pertencentes a um único indivíduo. Geralmente parte da variação genética do VHC é devida a ocorrência de uma elevada taxa de mutações resultante de erros na incorporação de nucleotídeos durante a replicação viral e ausência de mecanismos de reparação (DOMINGO et al. 1998; FREEMAN, 2001, SIMMONDS, 2004). Este fato tem importante papel no

desenvolvimento da infecção viral, permitindo a seleção de variantes mais resistentes sob a pressão da resposta imunológica do hospedeiro (NEUMANN et al. 1998; FOCACCIA et al. 2003; ALBERTI, 2003).

A partir da análise filogenética das cepas do VHC foi possível distinguir vários tipos virais em diferentes regiões do mundo que são classificadas como genótipos. Existem seis tipos principais, enumerados de 1 a 6, e aproximadamente 100 subtipos identificados por letras minúsculas do alfabeto por ordem de descoberta. (SIMMONDS et al. 2004).

Dados de estudos epidemiológicos mostram que os genótipos estão geograficamente distribuídos, registrando-se grandes assimetrias no mesmo continente, entre países e áreas distintas. Os genótipos 1, 2 e 3 estão amplamente distribuídos, sendo o genótipo 1 predominante nas Américas, Japão e Europa e está associado com a forma mais severa da doença, evolução para cirrose, carcinoma hepatocelular e alta resistência ao tratamento antiviral (WASLEY et al. 2000). O genótipo 3 é mais prevalente na América do Sul e em alguns países da Europa, onde está muitas vezes associado ao uso de drogas endovenosas. O genótipo 4 é endêmico no Egito e encontrado em outros países da África e Oriente Médio. O genótipo 5 ocorre principalmente na África e o genótipo 6 e seus variantes são encontrados principalmente na Ásia (CAMPIOTTO et al. 2005; MURPHY et al. 2007). A figura 2 mostra a prevalência da distribuição da hepatite C no mundo.

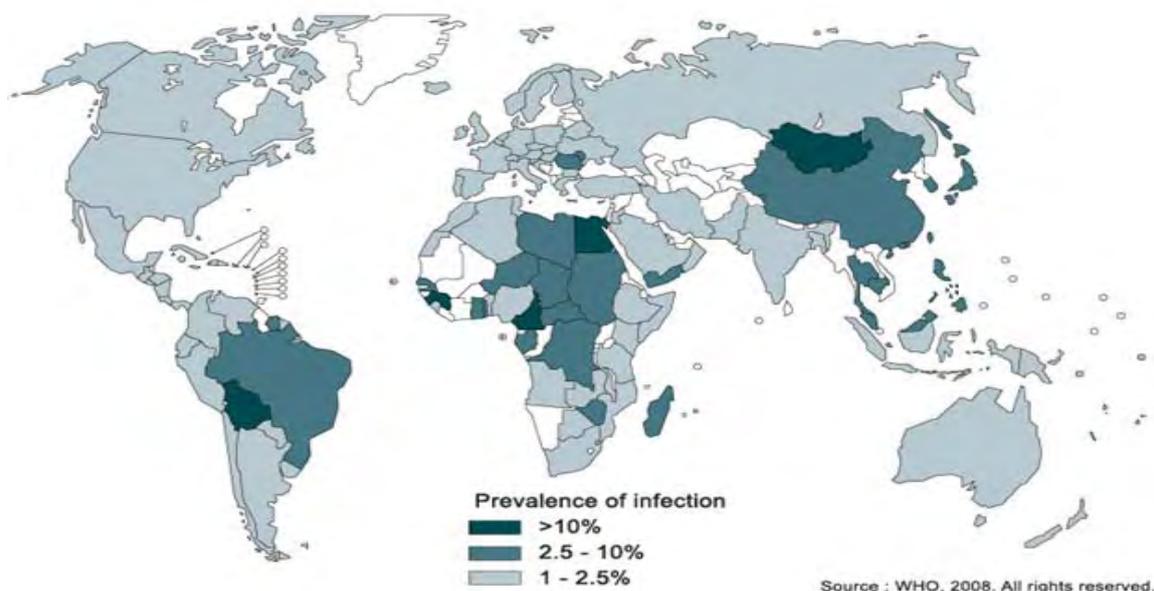


Figura 2. Mapa de distribuição da Hepatite C no mundo (WHO 2008)

3.2. Patogenia da hepatite C

3.2.1. *Imunopatogênese da infecção pelo VHC*

Após a infecção, o VHC se difunde rapidamente para os hepatócitos, pois estes são as principais células-alvo. Contudo existem evidências da presença do vírus em células do sistema imune, como linfócitos, monócitos e células dendríticas, do epitélio intestinal e sistema nervoso (FARCI et al. 2000; MAcPARLAND et al. 2009). Estas infecções das células não hepáticas poderão ser potenciais reservatórios, contribuindo para a seleção de variantes e persistência viral (FREEMAN et al. 2001).

A primeira etapa do ciclo replicativo consiste na ligação do vírion à célula hospedeira através da interação entre a glicoproteína E2 que se liga com alta afinidade a molécula CD81, uma tetraespanina encontrada na superfície de algumas células incluindo as do fígado (MacPARLAND et al. 2009). Outras moléculas da

célula hepática são também apontadas como receptores para entrada do VHC. Dentre elas, os receptores de lipoproteína de baixa densidade (LDLr) e receptor *scavenger* tipo B classe I (SR-BI), que se liga e funciona como receptor de lipoproteína de alta densidade (HDL) de alta expressão no fígado, aumentando desta forma a entrada de partículas virais na célula (SABAHI, 2009).

Nos pacientes infectados pelo VHC, as partículas virais podem estar associadas às lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e de baixa densidade (LDL). Deste modo, podem ser reconhecidas tanto pelos receptores do tipo LDLr, quanto pelos receptor do tipo SR-BI, que se liga a várias lipoproteínas incluindo HDL e VLDL. O SR-BI caracteriza-se por ser uma proteína cuja expressão ocorre no fígado e sua função é facilitar a absorção de lipídeos (RIGOTTI et al. 2003; KAPADIA et al. 2007).

O RNA viral liberado no interior da célula apresenta três funções: (1) tradução das proteínas estruturais e não-estruturais e replicação sob a ação da RNA polimerase, (2) empacotamento e montagem do vírus e (3) a saída das partículas virais da célula por exocitose (PAWLOTSKY et al. 2007; DUBUISSON et al. 2007).

Os mecanismos responsáveis pelo dano aos hepatócitos não estão bem elucidados.

A infecção pelo VHC induz a uma resposta imune efetiva do hospedeiro, tanto específica como inespecífica contra o antígeno viral (FOCACCI et al. 2003). Na fase inicial o organismo é defendido pela resposta imune inespecífica que controla a replicação viral induzindo a produção de Interferon (IFN) do tipo I (α , β) (CHISARI, 2005). A resposta imune não específica envolve células de imunidade inata, macrófagos *natural killer* e células dendríticas que produzem IFN-I e fator de necrose tumoral (TNF- α).

Os macrófagos e células dendríticas imaturas do parênquima hepático infectados são capazes de processar fragmentos antigênicos do VHC (SZABO e DOLGANIUC, 2006) e apresentá-los a outras células do sistema imune. Na presença de antígenos virais, as células dendríticas imaturas são induzidas a migrar para gânglios linfáticos regionais, transformando-se em células maduras com capacidade de ativar linfócitos T e influenciar a polarização da resposta de linfócitos T CD4 em tipo Th1, secreção de IL-2, IFN, TNF- α) que facilitam a resposta imune celular ou citotóxica ou Th2 (ativação de linfócitos B e citocinas: IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) que leva à estimulação da imunidade humoral (GUTCHER e BECHER, 2007; SKINNIDER et al. 2002).

A ativação das células B induz a produção e secreção de anticorpos, capazes de se unir as partículas virais circulantes, impedindo a entrada do vírus nas células e deste modo limita a expansão viral. Porém, este tipo de resposta tem sido incapaz de atuar sobre as células infectadas (GOTTO et al. 2004). Uma vez a célula infectada, a resposta imune celular se torna crucial para a eliminação ou persistência da infecção por VHC (SKINNIDER et al. 2002).

3.2.2. Mecanismos de Persistência Viral

A persistência e o clearance viral dependem da interação vírus-hospedeiro, porém, o mecanismo responsável não está bem elucidado (FOCACCIA, 2003). Contudo, diferentes mecanismos incluindo o dano hepático imunológico, citotoxicidade mediada por diferentes produtos virais e indução do estresse oxidativo, tem sido sugeridos como papel importante na persistência e patogênese da hepatite C (STRAUSS et al. 2001).

Vários estudos reportam que além das *quasispécies*, a grande capacidade mutagênica do vírus propicia seu constante escape à intensa resposta imunológica desenvolvida pelo hospedeiro. A via de contaminação parece influenciar a história natural da hepatite C, pois indivíduos infectados com produtos de sangue por via parenteral evoluem em maior proporção para a forma crônica em relação a outras vias de contaminação. Estudos realizados em indivíduos com hepatite C pós transfusional, demonstram índices de cronificação de 74 a 85%. Em outros tipos de contaminação a evolução para forma crônica pode ocorrer em percentagens menores, ao redor de 55% (FOCACIA et al. 2003).

Outros fatores podem condicionar a progressão da lesão hepática, como sexo, idade, consumo de álcool ou concomitância de outros vírus. Fatores hormonais bem como fatores genéticos podem influenciar na história natural da hepatite pelo VHC, sendo que a enfermidade progride mais rapidamente no sexo masculino, provavelmente por não existir um efeito protetor do hormônio estrógeno (STRAUSS et al. 2001).

Estudos experimentais mostram que doses de álcool superior que 60 g/dia e o VHC têm efeitos inibitórios aditivos sobre a resposta imune antiviral e que ambos interagem na ativação dos hepatócitos, com aumento da apoptose celular e indução da resposta inflamatória. Todos estes mecanismos, além de induzirem o aparecimento mais precoce de cirrose hepática, parecem estar também implicados no desenvolvimento do carcinoma hepatocelular. A co-infecção do VHC com outros vírus, aumento da hepatotoxicidade e elevação da viremia secundária, induz a uma progressão mais rápida da doença devido a cargas virais elevadas (THOMAS et al. 2000; LAUER e WALKER, 2001).

Indivíduos com idade superior a 40 anos no momento da infecção têm rápida progressão da doença. Entre crianças e jovens adultos a eliminação espontânea do vírus ocorre em torno de 40 a 45% e o desenvolvimento de cirrose em 2 a 4% após 20 anos de infecção (FOCACIA et al. 2003). A etnia apresenta-se também como um fator adicional que influencia a progressão para fibrose. Estudos sugerem que afro-americanos podem apresentar doença histológica mais branda comparada aos caucasianos, mas comprovam uma maior taxa de evolução para carcinoma hepatocelular (SUGIMOTO et al. 2003).

3.3. História natural

Estabelecer a história natural da infecção pelo VHC é complexo, pela falta de dados prospectivos, dificuldade em definir a data de transmissão, associações com outros fatores que alteram o curso da doença e pela ausência de sintomas na maioria dos casos (AUGUSTO e LOBATO, 2004). Normalmente os sintomas não são detectados antes de 20-30 anos após a infecção, quando o quadro pode ser mais grave. Por se tratar de uma doença insidiosa, possui um grande número de indivíduos infectados portadores do vírus e uma ampla distribuição (SHEHAB, 2004). A história natural da hepatite C está dividida em duas fases distintas, fase aguda e fase crônica Figura 3.

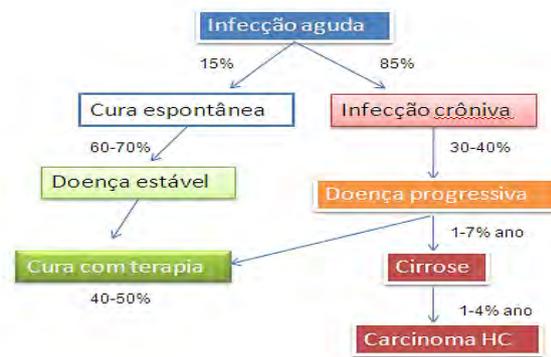


Figura 3. História Natural da Hepatite C adaptada de Rodrigues-Luna e Douglas (2004).

Fase Aguda: Com período de incubação de 2 semanas a 6 meses após a infecção. A maioria dos pacientes não apresenta sintomas clínicos nesta fase ou quando presentes são: cansaço intenso, colúria, acolia fecal, febrícula, mal estar gastrointestinal e icterícia encontrados em cerca dos 30% dos pacientes (AUGUSTO e LOBATO, 2004). Apesar da infecção aguda ser ligeira ou inaparente, a cura espontânea da hepatite C aguda verifica-se em apenas cerca de 15% dos casos e parece ocorrer com maior probabilidade em indivíduos jovens, do gênero feminino, caucasianos e/ou com baixos níveis de carga viral (THOMAS et al. 2000; CHEN e MORGAN, 2006; BLACKARD et al. 2008).

Fase Crônica: Observada em aproximadamente 85% de indivíduos sem cura espontânea. Nesta fase ocorre replicação viral persistente com detecção de RNA viral no soro ou tecido hepático, na presença de resposta imune (BLACKARD et al. 2008). Uma vez a cronicidade estabelecida, não existe cura espontânea. Os indivíduos cronicamente infectados podem durante muito tempo apresentar fadiga crônica, desconforto referido ao hipocôndrio direito, sendo estas as queixas mais

frequentes, embora muitos doentes se mantêm assintomáticos até desenvolverem formas avançadas de doença hepática (LEVENT et al. 2006). As principais complicações potenciais da infecção crônica pelo vírus da hepatite C a longo prazo são a cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular (CHC) (LEVENT et al. 2006). Portanto, 15% dos indivíduos com infecção aguda evoluem para cura espontânea e 85% para cronicidade da doença, sendo que destes 60 a 70% permanecem estáveis, e 30 a 40% evoluem de forma progressiva para cirrose (1-7% ao ano) e hepatocarcinoma (1-4%) (FERREIRA, 2004; RODRIGUES-LUNA e DOUGLAS, 2004).

3.4. Mecanismos de Transmissão

Existem três vias principais de transmissão do VHC: percutânea, não percutânea e esporádica.

3.4.1. Transmissão percutânea

A via percutânea consiste na via mais importante de transmissão do VHC. Fazem parte deste tipo de transmissão a transfusão sanguínea e hemoderivados, inoculação por picada de agulhas contaminadas durante a acupuntura, piercing, rituais de escarificação, tatuagens e procedimentos médicos (CHEN e MORGAN, 2006; ACEIJAS e RHODES, 2007; LAVANCHY et al. 2009). Qualquer material perfuro-cortante pode ser veículo transmissor do vírus de um indivíduo para outro, como o alicate da manicure, a lâmina do barbeiro ou mesmo a escova de dentes, compartilhada (WASLEY et al. 2000; ALTER, 2007; LAVANCHY et al. 2009).

A partir de 1991, houve obrigatoriedade em realizar-se exames sorológicos para pesquisa de anticorpos contra o VHC (anti-VHC) aos doadores de sangue,

reduzindo deste modo a hepatite pós-transfusional. Contudo sua transmissão continua sendo disseminada por outros meios parentais e não parentais (CHEN e MORGAN, 2006; ACEIJAS e RHODES, 2007; LAVANCHY et al. 2009). Atualmente a via mais importante de transmissão está relacionada ao uso de seringas contaminadas por usuários de drogas sendo que a prevalência do anti-VHC pode alcançar 90% e esta população permanece como reservatório permanente.

3.4.2. Transmissão não percutânea

Neste tipo de transmissão destaca-se a transmissão sexual e a vertical. A transmissão sexual do VHC pode ocorrer, mas é pouco eficiente, e ocorre principalmente em pessoas com atividade sexual precoce, promíscua, sem proteção, com co-infecção pelo HIV e com traumatismos durante a relação sexual determinando o risco aumentado de infecção pelo vírus (WASLEY et al. 2000; ALTER, 2007). A transmissão vertical revela-se pouco significativa na hepatite C, podendo ocorrer particularmente no momento do parto, dependendo principalmente da carga viral da mãe e do tipo de genótipo. Sua incidência oscila entre 4-7% e ao redor de 20% se a mãe for co-infectada pelo HIV. Aparentemente a transmissão intra-uterina é incomum tornando-se maior o risco durante o parto normal que na cesariana (ROBERTS et al. 2001). Partículas virais foram demonstradas no colostro e leite materno, mas não há até agora evidências conclusivas de aumento do risco à transmissão, exceto na ocorrência de lesões ou sangramento nos mamilos (ROBERTS et al. 2001).

3.4.3. Transmissão esporádica

São designados casos esporádicos quando não se conhece a via de aquisição do VHC, podendo ocorrer por via percutânea ou por via não percutânea predominantemente não identificada (SEEFF et al. 2002; ALTER, 2007). Sendo assim, é importante a forma nosocomial, pois muitos indivíduos têm antecedentes de hospitalização com cirurgias, atendimentos médicos de urgência em pronto-socorro ou contaminação médica durante o ato cirúrgico. Esta forma de contaminação pode ocorrer de doente para doente, de médico para doente e de doente para médico e são responsáveis por 2,3–4,7 milhões de novas infecções anuais em vários países (ALTER, 2008; LAVANCHY et al. 2009).

3.5. Diagnóstico da hepatite C

O diagnóstico da infecção pelo VHC é baseado em dados clínicos, laboratoriais e histológicos. Os testes laboratoriais são constituídos por: testes bioquímicos, imunoenzimáticos, biologia molecular e histológicos (JEROME e GRETCH, 2004)

3.5.1. Testes imunoenzimáticos

O diagnóstico inicia com a pesquisa de anti-VHC dirigidos contra antígenos virais, estruturais e não-estruturais no plasma do indivíduo infectado. Os anticorpos são detectados por vários métodos, sendo o mais utilizado o teste imunoenzimático de imunoabsorção por ligação enzimática (ELISA) de terceira geração (OKAMOTO et al. 1992). O teste ELISA é bem adaptado à triagem de um grande número de amostras, podendo detectar mais de 98% de pacientes infectados, sendo fácil de proceder e apresentar baixo custo. Entretanto, o teste não possibilita distinguir infecções agudas, crônicas ou resolvidas (JEROME e GRETCH, 2004).

No sentido de melhorar o diagnóstico em populações de baixo risco, evitando resultados falsos positivos foram desenvolvidos testes complementares de confirmação. O teste complementar mais usado na pesquisa de anti-VHC que apresenta alta sensibilidade e especificidade o *Recombinant Immunoblotting Assays* (RIBA), de fácil execução, mas apresenta custo elevado (JEROME e GRETCH, 2004; ALTER et al. 2008).

A sensibilidade do teste ELISA tende a diminuir em pacientes hemodialisados, com crioglobulinemia mista associada à infecção pelo VHC no período de janela imunológica, e imunocomprometidos (portadores de HIV em fase adiantada da doença e transplantados de órgãos ou tecidos), por apresentam títulos de anti-VHC abaixo do limiar de detecção dos testes sorológicos, resultando em sorologia falso-negativa. A detecção dos anticorpos não fornece indicações da resposta ao tratamento, pois estes continuam por tempo indeterminado no indivíduo, mesmo depois da eliminação do vírus. Nas crianças recém nascidas não é recomendado a execução de testes sorológicos pelo fato de haver transferência passiva de anticorpos da mãe para o filho durante o período de gestação através da placenta. Após os 18 meses de vida recomenda-se o diagnóstico através de técnicas de biologia molecular (PAWLOTSKY et al. 2007).

3.5.2. Testes de biologia molecular

Os testes moleculares incluem: análise qualitativa, realizada através da detecção de RNA do VHC, análise quantitativa, através da medida da carga viral e a genotipagem (STRAUSS et al, 2001). A detecção do RNA do VHC através do PCR é considerada hoje a técnica mais acurada na caracterização do estado de infecção porque detecta com rapidez pequenas quantidades do genoma viral em amostras

clínicas e são utilizadas também na monitorização da resposta ao tratamento ou para acompanhamento de casos não tratados (FREEMAN et al. 2001; STRAUSS et al. 2001). O método utiliza sequências iniciadoras ou *primers*, complementares a uma região genômica viral a ser amplificada (BRANDÃO et al. 2001; STRAUSS et al. 2001).

Os testes qualitativos informam a presença ou não do RNA viral em indivíduos infectados pelo VHC que ainda não desenvolveram anticorpos, discriminam pacientes com infecção crônica, daqueles com infecção aguda ou resolvida, auxiliam no diagnóstico da infecção em recém nascidos de mães portadoras do vírus, confirmam resultados sorológicos indeterminados, monitoram pacientes em tratamento antiviral e identificam o VHC em indivíduos imunocomprometidos (FREEMAN et al. 2001; PAWLOTSKY et al. 2007). Testes moleculares que quantificam os níveis de RNA no soro de pacientes infectados são utilizados para verificar as taxas de replicação e eliminação do vírus na avaliação do estado do paciente. Os níveis de RNA do VHC no soro (carga viral) podem estar correlacionados com o estágio da doença e também com a resposta ao tratamento (PAWLOTSKY et al. 2007). A genotipagem do VHC tem grande importância na distinção de variantes genômicos do vírus e prescrição terapêutica e não para o diagnóstico (FREEMAN et al. 2001; MARCELIN et al. 2002).

3.5.3. Teste histológico

A avaliação histológica através da biópsia tornou-se o método padrão para determinar a progressão da doença. É considerado o melhor procedimento para determinar a presença de cirrose, intensidade do processo inflamatório e o estágio de fibrose no tecido hepático. É um exame de custo elevado e invasivo, requer

profissionais especializados e está associado a riscos e complicações (FREEMAN et al. 2001; PAWLOTSKY et al. 2007).

3.6. Tratamento

O tratamento disponível atual para a hepatite C crônica baseia-se numa combinação de interferon alfa peguilado (IFN- α) e ribavirina (RBV) cuja resposta virológica sustentada é avaliada pela ausência de RNA viral seis meses após o tratamento (PAWLOTSKY et al. 2007; MAcPARLAND et al. 2009; SABAHI, 2009). O objetivo do tratamento antiviral na hepatite C crônica consiste na erradicação da infecção nas primeiras fases da doença mediante a extinção da viremia, com finalidade de prevenir as complicações da infecção pelo vírus que são a cirrose e o carcinoma hepatocelular (AUGUSTO e LOBATO, 2004). A infecção por VHC mostra ser susceptível ao tratamento, mas este acarreta custos elevados, requer monitorização a longo prazo e está associado a vários efeitos colaterais de difícil tolerância por parte de alguns pacientes (PAWLOTSKY et al. 2007).

O tratamento tem sido eficaz em aproximadamente 80% dos pacientes infectados com o genótipo 2 ou 3 e menos de 50% com o genótipo 1. No tratamento da infecção pelo genótipo 1 recomenda-se uma maior dose de RBV e tempo mais prolongado (1,0-1,2 g/dia, 48 semanas) que na infecção pelo genótipo 2 ou 3 (0,8 g/dia, 24 semanas). Para os pacientes com genótipos 4, 5 e 6 existem ainda poucos estudos clínicos, aplicando-se portanto o protocolo terapêutico utilizado para o genótipo 1 (PAWLOTSKY et al. 2007).

O fármaco IFN- α é uma proteína sintética idêntica à natural, da família das citocinas com amplo espectro de efeitos: (1) antivirais, mediante a inibição da replicação viral nas células infectadas, (2) indução da secreção de citocinas, (3)

antiproliferativos, (4) imunomoduladores ao estimular a resposta antiviral específica do hospedeiro, aumentando a produção de células T *helper* do tipo Th1 e (5) reduzindo a produção de células supressoras o que acelera a morte de células infectadas (FRIED et al. 2002; ACRAS et al. 2004).

A ribavirina é um análogo sintético da guanosina, com atividade direta contra o VHC por mecanismo de inibição da RNA polimerase vírus dependente. Administrada oralmente tem uma vida média longa e apresenta excreção renal (FRIED et al. 2002). É teratogênica e por isso é recomendado evitar a gravidez durante o tratamento até 6 meses depois da suspensão do tratamento (PAWLITSKY et al. 2007).

4. Bibliografia

ACEIJAS, C.; RHODES, T. Global estimates of prevalence of HCV infection among injecting drug users. *Inter. J Drug Policy*, v.18, n.5, p. 352-358, 2007.

CARMES, E. R. A taxa de resposta sustentada da hepatite C crônica ao tratamento com os diversos interferons-alfa e ribavirinas distribuídos pelo governo brasileiro é semelhante à da literatura mundial. *Arq. Gastroenterol.*, v. 41, n.1, p. 3-9, 2004

ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.*, v.13, n.17, p. 2436-2441, 2007.

ALVES, A. V; AZEVEDO, A. P. C.; PERIN C.; RAMOS, G.Z; BRANDÃO, A .B. M; MATTOS, A. A; ALMEIDA, P. R. L. Tratamento de pacientes com hepatite crônica pelo vírus com interferon- α e ribavirina: a experiência da Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul. *Arq. Gastroenterol.*, v.40, n.4, p. 227-232, 2003.

AUGUSTO, F.; LOBATO, C., Hepatites C: casuística da consulta de hepatologia de um hospital distrital dos Hospitais Distritais. *Núcleo Gastreenterol.*, p. 22-130, 2004.

BANDARA, P. ; GEORGE, J.; MCCAUGHAN, G. Antioxidant levels in peripheral blood, disease activity and fibrotic stage in chronic hepatitis C. *Liver Int.* v. 25, p.518-526, 2005.

BARBOSA, E. R. D.; FAINTUCH, J.; MOREIRA, E. A. M. Supplementation of vitamin E, C and zinc attenuates oxidative stress in burned children: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *J. Burn Care & Res.*, v. 30, n.5, p. 859-866, 2009.

BARTENSCHLAGER, R.; LOHMANN, E. Replication of the hepatitis C virus. *Baillière's best practice & research. Clin. I Gastroenterol.*, v. 14, p. 241-254, 2000.

BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. *Quím. Nova.*, v. 29, n. 6, p.1340-1344, 2006.

BLACKARD, J. T.; SHATA, M. T.; SHIRE, N. J. E; SHERMAN K. E. Acute hepatitis C vírus infection: a chronic problem. *Hepatology*, v. 47, n. , p. 321-331, 2008.

BRANDÃO, A. B. M.; FUCHS, S. C.; SILVA, M. A. A. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão de literatura. *Rev. Panam. Saúde Pública.*, v.9, n.3, p.161-168, 2001.

CHEN, S. L. E.; MORGAN, T. R. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int. J. Med. Sci.*, v. 3, n. , p. 47-52, 2006.

CHOO, Q.; KUO G.; WEINER W. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, v.244, p. 359-362, 1989.

FARCI, P.; PURCELL, R. H. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. **Semin Liver Dis** , v.20, n. , p. 103-126, 2000.

FERREIRA, C.T.; SILVEIRA , T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Rev. Bras. Epidemiol**, v.7, n.4, p. 473-487, 2004.

FRANCIS, V.; CHISARI; STEFAN, F.; STEALTH. Hepatitis B and hepatitis C viruses **J.Virol.**, v.79, n. 15, p. 9369–9380, 2005.

FREEMAN, A. J.; DORE, G. J.; LAW, M. G. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. **Hepatology**, v. 34, n. 4, p. 809-816, 2001.

FRIED, M. W.; SHIFFMAN, M. L.; REDDY, K. R. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. **New England J. Med.**, v. 347, p. 975-982, 2002.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 4. ed. Oxford: Clarendon Press, 2006.

JACOBSON, I. M.; BROWN, P. M.; NEUMAN M. G. Immunopathogenesis of hepatitis C viral infection: Th1/Th2 responses and the role of cytokines **Clin. Biochem.**, v. 34, p.167-171, 2001.

JOO, M.; HAN Y. S. Animal models for immune defects caused by hepatitis C virus. **Mol. Med.Today**, v. 6, p.167-177, 2000.

KAMAL, S. M.; NASSER, I. A. Hepatitis C genotype 4. What we know and what we don't yet know. **Hepatology** , v. 47, p.1371-1383, 2008.

KAPADIA, S. B. Initiation of hepatitis C virus infection is dependent on cholesterol and cooperatively between CD81 and Scavenger receptor B type I. **J Virol.**, v.81, p.374-383, 2007.

LAUER, G. M.; WALKER, B. D. Hepatitis C virus infection. **The New England J. Med.** v. 345, n. , p.41-52, 2001.

LAVANCHY, D. The global burden of hepatitis C. **Liv. Intern.**, v. 29, n. , p. 74-81, 2009.

LEE, K. C.; LIM, W. W.; LEE, S. S. High prevalence of HCV in a cohort of injectors on methadone substitution treatment. **J. Clin. Virol.**, v.41, n. , p. 297-300, 2008.

LEITE, H. P.; SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Rev. Bras. Nutr.Clin.**, v.18, n.2, p.60-65, 2003.

LIANG, T. J; REHERMAN, B; SEEF, L.B. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. **Ann. Intern. Med.**, v.132, p. 296-304, 2000.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Unraveling hepatitis C virus replication from genome to function. **Nature**, v. 436, p. 933-938, 2005.

MacPARLAND, S. A.; PHAM, T. N.; GUY, C. S.; MICHALAK, T. I. Hepatitis C virus persisting after clinically apparent sustained virological response to antiviral therapy retains infectivity in vitro. **Hepatology**, v. 49, p.1431-1441, 2009.

MURPHY, D. G.; WILLEMS, B.; DESCHÊNES, M. Use of sequence analysis of the NS5B region for routine genotyping of hepatitis C virus with reference to C/E1 and 5' untranslated region sequences. **J. Clin. Microbiol.**, v.45, n.4, p.1102-1112, 2007.

OKAMOTO, H. S.; OKADA, Y.; SUGIYAMA, S. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers: application to clinical surveys and tracing infectious sources. **J. Gen. Virol.**, v.73, p.673-679, 1992.

PEARLMAN, B. L.; EHLEBEN, C.; SAIFEE, S. Treatment extension to 72 weeks of peginterferon and ribavirin in hepatitis C genotype 1-infected slow responders. **Hepatology**, v.46, p.1688-94, 2007.

PAVLOVIC, D.; NEVILLE, D. C.; ARGAUD, O.; BLUMBERG, B.; DWEK, R.A.; FISCHER, W.B. E.; ZITZMANN, N. The hepatitis C virus p7 protein forms an ion channel that is inhibited by long-alkyl-chain iminosugar derivatives. **Proc. Nat. Acad. Sci. of USA**, v.100, p. 6104-6108, 2003.

PAWLOTSKY, J. M.; CHEVALIEZ, S.; McHUTCHISON, J. G. The hepatitis C virus life cycle as a target for new antiviral therapies. **Gastroenterol.**, v.132, p.1979-1998, 2007.

PYBUS, O. G.; COCHRANE, A.; HOLMES, E.C.; SIMMONDS, P. The hepatitis C virus epidemic among injecting drug users. **Infec. Genetics Evol.**, v.5, p.131-139, 2009.

REXRODE, K. M.; CAREY, V. J.; HENNEKENS, C. H.; WALTERS, E. E., COLDITZ, G. A.; STAMPFER, M. J.; WILLET, W. C. ; MANSON, J. E. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. **J. Am. Med. Assoc**, v. 280, n. 21, p.1843-1848, 1998.

RIGOTTI, A.; MIETTINEN, H. E.; KRIEGER, M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues **Endocr. Rev.**, v.24, p.357-387, 2003.

ROBERTS, E. A. E ; YEUNG, L. Maternal-infant transmission of hepatitis C infection. **Hepatology**, v.36, n.5, p.113, 2002.

RODRIGUES, H.; DOUGLAS, D. D. Natural history of hepatitis C following liver transplantation. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 17, n.4, p. 363-371, 2004.

SABAHI, A. Hepatitis C Virus entry: the early steps in the viral replication cycle. **Virol. J.** v.6, p.117, 2009.

SEEFF, L. B. Natural history of chronic hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n.5 , p. 35-46, 2002.

SHEHAB, T. M. Hepatitis C: an emerging epidemic. **Clin.Family Practice**, v. 6, n.3, p 589-605, 2004.

SIMMONDS, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus-15 years on. **J. Gen. Virol.**, v. 85, n. , p. 3173-3188, 2004.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.34, n.69, p. 82, 2001.

SARACCO, G.; OLIVERO A.; CIANCIO, A.; CARENZI, S. Therapy of chronic hepatitis C: a critical review. **Curr. Drug Targets Infect. Disord.**,v. 3, n.1 , p. 25-32, 2003.

SUGIMOTO, K.; IKEDA, F.; STADANLICK, J. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. **Hepatology**, v. 38, n.3, p.1437-1448, 2003.

WANG, X. W.; HUSSAIN, S. P.; HUO, T. Molecular pathogenesis of human hepatocellular. **Toxicol.**,v. 181-182, p. 43-47, 2002.

WASLEY, A.; ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. **Semin Liver Dis**, v. 20, p. 1-16, 2000.

W.H.O. Hepatitis C. Geneva, 2008.

Capítulo II

**INFLUÊNCIA DA INTERVENÇÃO DIETÉTICA COM SUCO DE LARANJA NO
ESTADO NUTRICIONAL E VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS EM PACIENTES COM
HEPATITE C CRÔNICA**

INFLUÊNCIA DA INTERVENÇÃO DIETÉTICA COM SUCO DE LARANJA NO ESTADO NUTRICIONAL E VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão regular do suco de laranja sobre o estado nutricional e bioquímico de pacientes com hepatite C crônica. Participaram do estudo 23 pacientes voluntários, 13 homens e 10 mulheres, atendidos no Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA), SP. Os pacientes foram voluntários para consumir 500 ml/dia de suco de laranja industrializado durante 8 semanas, sendo avaliados no início e ao final da intervenção dietética. Os resultados mostraram que o consumo regular do suco de laranja não alterou o estado nutricional dos pacientes, porém reduziu o colesterol total (7,8%), o LDL-c (11,4%), a insulina (23,5%) e a proteína C reativa (81%). Em conclusão, foi verificado que a ingestão regular de 500 mL/dia de suco de laranja melhorou a sensibilidade à insulina e mostrou propriedade hipocolesterolêmica e antiinflamatória.

Palavras Chave: Hepatite C, suco de laranja, LDL-c, insulina, Proteína C reativa

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effect of regular intake of orange juice on the nutritional and biochemical status of patients with chronic hepatitis C infection. The study enrolled 23 patients, 13 men and 10 women treated at the Special Health Service of Araraquara (SESA). They were volunteers to consume 500mL/day of commercial orange juice for 8 weeks, and they were evaluated at the beginning and at the end of the experiment. Results showed that the regular consumption of orange juice not changed the nutritional status of patients, although it reduced significantly total cholesterol (7.8%), LDL-c (11.4%), insulin (23 5%) and C Reactive Protein (81%). In conclusion, it was shown that the regular consumption of 500 mL/day of orange juice improved the insulin sensitivity and showed hypocholesterolemic and anti-inflammatory properties.

Keywords: Hepatitis C, orange juice, LDL-c, Insulin, C Reactive Protein

1. Introdução

O vírus da hepatite C (VHC) é o agente infeccioso responsável pela inflamação do fígado e cuja progressão leva à hepatite C. Esta enfermidade constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial da atualidade pelo fato de ser uma doença insidiosa, de proporção elevada para cronicidade (80% dos casos), de frequente etiologia em casos de transplante hepático, com potencial evolutivo para cirrose, insuficiência hepática hepatocarcinoma (STRAUSS et al. 2001). Em condições fisiológicas normais, o fígado assegura a homeostase do metabolismo lipídico e de lipoproteínas pois a maioria das apolipoproteínas, lípideos e lipoproteínas endógenas são sintetizadas neste órgão. Danos às células do parênquima hepático prejudicam esses processos, levando a alterações no metabolismo lipídico (BROOK et al. 2004).

Diversos estudos relatam a associação presente entre a infecção do vírus e o metabolismo de lípideos no fígado. Partículas do VHC circulantes mostram densidade heterogênea, o que poderia refletir a ligação destes vírus ao VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) e LDL (lipoproteína de baixa densidade). Os estudos suportam ainda a teoria de que as lipoproteínas poderiam proporcionar acréscimo da infectividade por certos componentes do soro humano (LAVILLETTE et al, 2005) e que a relação do VHC com LDL parece aumentar a entrada deste vírus mediada pela SR-BI e LDL-recetores e proteger as partículas virais de anticorpos neutralizantes (BARTOSCH et al. 2005).

Sendo assim, a infecção pelo VHC está associada à níveis de colesterol total, LDL-c, triglicérides e HDL-c significativamente mais baixos quando comparados aos indivíduos normais. Um baixo nível de colesterol sérico está associado com uma maior taxa de mortalidade em pacientes com cirrose hepática (CARVALHO et al. 2006). A análise do perfil lipídico de pacientes com hepatite C

crônica pode refletir o estado de lesão celular hepática e também pode ser usado como um indicador do prognóstico do paciente.

A hipocolesterolemia pode surgir também pela inflamação crônica devido ao efeito crônico de citocinas pró-inflamatórias. O metabolismo de lípidos e lipoproteínas pode ser influenciado por citocinas. Por exemplo, a interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF- α), IL-1 podem inibir a síntese de triglicerídeos (TG), (OHATA et al, 2003). As células tumorais são conhecidas por produzir grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez, podem suprimir os níveis plasmáticos de TG. Shepherd et al. (2004) relataram que a IL-1 afeta profundamente o metabolismo lipídico.

A IL-2, por sua vez, pode induzir hipocolesterolemia grave que é mediada pela inibição da enzima lecitina colesterol acil transferase (LCAT). A hipobetalipoproteinemia associada ao VHC é mediada pela proteína do core do VHC que reduz o metabolismo dos triglicerídeos levando à esteatose hepática (YAMAGUCHI et al. 2005). Clinicamente, a hipocolesterolemia no genótipo 3 está associado a uma esteatose mais grave e maior grau de fibrose apontando para uma doença mais agressiva (PETITI et al. 2003). Tem sido demonstrado que triglicerídeos plasmáticos se encontram diminuídos de 20 a 30% nos pacientes com carcinoma hepatocelular (YAMAGUCHI et al. 2005).

Uma avaliação do estado nutricional em pacientes com hepatite C crônica é de extrema importância para se obter uma reversão do quadro de desnutrição em pacientes desnutridos, para manutenção de peso em pacientes eutróficos e redução de peso em pacientes obesos. Doenças hepáticas crônicas tem efeito fatal sobre a composição corporal e o estado nutricional, porque ocorrem alterações no metabolismo de carboidratos, gorduras, proteínas, vitaminas e minerais (FAINTUCH

et al. 2000; LIEBER et al. 2003; DUTRA et al. 2006). O fígado exerce papel fundamental no gerenciamento e metabolização de nutrientes, fornecendo-os ao organismo para desempenho de funções específicas. Sendo assim agrava-se o quadro na presença da desnutrição frequentemente observada em pacientes com doenças hepáticas avançadas.

A proteína C-reativa (PC-R) é uma proteína plasmática que participa da resposta inflamatória sistêmica, podendo aumentar sua concentração mais de 100 vezes durante o processo inflamatório. Ela apresenta um padrão de reconhecimento molecular, ligando-se às moléculas específicas, que são tipicamente expostas durante a morte celular ou encontradas na superfície de microorganismos patogênicos. O rápido aumento na sua síntese após lesão tecidual demonstra claramente que ela contribui para a defesa do organismo através de resposta imune não específica (BLACK et al. 2004). Dentre suas funções, além das já citadas pode-se destacar a opsonização, com consequente aumento da fagocitose, proteção passiva, ativação da via clássica do complemento, serve para limpeza de fragmentos de cromatina, inibe o crescimento e metástase de células tumorais e ainda modula a função de leucócitos polimorfonucleares (CAPPELLI et al. 2006). Assim, a PC-R é um marcador importante do estado inflamatório, especialmente aqueles desenvolvidos durante os processos de infecção crônica, como a Hepatite C.

2. Casuística e métodos

Participaram do estudo 23 pacientes voluntários, 13 homens e 10 mulheres, de 24 a 64 anos, com hepatite C crônica seguidos regularmente pelo setor de infectologia do Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA). A seleção dos participantes foi realizada por entrevista individual, explicando-se os objetivos e procedimentos do protocolo de pesquisa, de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, documento: CEP/FCF/CAr nº 20/2010. Após a aceitação e assinatura do termo de consentimento foram realizadas as avaliações do estado nutricional e colheita de sangue dos pacientes.

2.1. Avaliação Dietética

Foi aplicado o recordatório de 24 horas e o questionário de frequência alimentar no início e no final do estudo, de acordo com o Dietary Assessment Resource (THOMPSON e BYERS, 1994). A análise da ingestão de energia, macronutrientes e micronutrientes foi realizada através do programa NutWin versão 3.1, 2005, da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, SP, Brasil.

2.2. Avaliação Antropométrica

Foram tomadas medidas da estatura (cm), peso corporal (kg), circunferência da cintura (cm), circunferência do abdômen (cm), circunferência do quadril (cm) e gordura corporal (%). As medidas foram tomadas no início e no final do estudo e classificadas de acordo com a Organização Mundial de Saúde (2004), Janssen et al, (2002) e Rexrode et al (1998). A percentagem de gordura corporal foi estimada pelo

exame de bioimpedância elétrica, com o equipamento Biodynamics, Modelo 310, da Biodynamics Corp, EUA.

2.3. Avaliação Bioquímica

Colheita de sangue

Foram colhidos 40 mL de sangue de cada pacientes em jejum de 12 horas em duas ocasiões, uma no início do estudo e outra após 8 semanas. Em seguida foram transportados em caixas de isopor com gelo para o Laboratório de Análises Clínicas e Imunologia Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP onde foram processadas, armazenadas e analisadas.

Dosagem das Variáveis Bioquímicas

As variáveis bioquímicas foram medidas no soro sanguíneo dos pacientes por kits comerciais, descritos a seguir: triglicerídeos e colesterol total por método enzimático Trinder (LABTEST, Brasil), HDL-C por inibição seletiva (LABTEST, Brasil), LDL-C (equação de Friedwald et al, 1972), glicose (GOD-Trinder, LABTEST, Brasil) e insulina por imunoensaio de electroquimioluminescência (ROCHE, USA), proteína C reativa ultra-sensível por nefelometria (BEHRING, USA) e a resistência à insulina foi calculada pela equação $HOMA1-IR = \text{glicemia (mmol/L)} \times \text{insulinemia } (\mu\text{U/mL})/22,5$ (MATTHEWS et al. 1985) e o ponto de corte do índice HOMA1-IR considerado para a população brasileira é $> 2,71$ (GELONEZE et al. 2006).

2.4. Análise Estatística

A análise dos resultados foi realizada pelo software Sigma Stat, versão 3.11, 2004, San Jose, CA, EUA, através do teste t pareado que comparou os resultados

do período antes e após intervenção com suco de laranja. O nível de significância estatística foi de 5% ($p < 0.05$) em todas as comparações efetuadas.

3. Resultados

3.1. População do estudo

Os 23 participantes deste projeto finalizaram todas as etapas do estudo, mostrando elevada aderência à intervenção dietética e à programação dos exames físicos, dietéticos e bioquímicos. Durante o período experimental os voluntários foram acompanhados semanalmente pelos pesquisadores diretamente envolvidos neste projeto e pelos médicos responsáveis de cada paciente e enfermeiros do SESA em Araraquara. Todos estavam sob medicação para o controle da infecção com o VHC. A análise da distribuição dos genótipos do VHC entre os pacientes mostrou que a maioria deles (82,6%) apresentava infecção viral pelo genótipo 1, enquanto 4,3% estavam infectados com o genótipo 2 e 13% com o genótipo 3. Os dados da genotipagem foram fornecidos pelo SESA.

3.2. Variáveis antropométricas e bioquímicas basais

As características antropométricas basais dos voluntários são apresentadas na Tabela 1, de acordo com o IMC e o gênero. A distribuição das características antropométricas apontou variação do estado nutricional entre as três classes de IMC consideradas: abaixo do peso ($IMC < 18 \text{ kg/m}^2$), $n=5$; peso normal ($18,5 < IMC < 24,9 \text{ kg/m}^2$), $n=12$; e pré-obesidade ($25 < IMC < 29,9 \text{ kg/m}^2$), $n=6$. É interessante notar que o IMC aumentou com a idade e que a circunferência da cintura e a gordura corporal aumentaram com o IMC e a idade, tanto em homens como mulheres.

A análise das variáveis bioquímicas basais mostrou que todos os voluntários apresentavam os níveis normais de glicose, insulina, colesterol total e LDL-C

(Tabela 1). A maioria dos indivíduos, em todos os grupos de IMC, apresentou teores de HDL-C e triglicérides normais. A variável que mais foi afetada pela infecção viral foi a PC-R, pois todos os grupos apresentaram valores extremamente elevados sugerindo a presença de estresse oxidativo e inflamação, presumivelmente causada pela infecção do VHC (Tabela 1).

Tabela 1. Características clínicas basais de homens e mulheres com hepatite C crônica classificados de acordo com o IMC e gênero.

Variáveis	Abaixo do Peso^a		Normal^b		Pré-Obeso^c	
	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres
N	3	2	7	5	3	3
Antropométricas						
Idade, anos	40,7 ± 5,5	43,5 ± 27,6	45,7 ± 11,6	48,0 ± 9,0	58,0 ± 3,6	52,7 ± 9,3
IMC, kg/m ²	16,6 ± 0,4	16,8 ± 1,4	22,4 ± 1,6	21,7 ± 1,8	25,6 ± 0,6	26,5 ± 1,3
Gordura Corporal, %	19,2 ± 6,4	35,0 ± 5,2	34,9 ± 12,0	40,6 ± 9,1	44,6 ± 2,7	47,9 ± 5,5
Circ. Cintura, cm	75 ± 4,5	68 ± 2,1	94 ± 7,2	85 ± 11	106 ± 1,3	108 ± 6,4
Cir. Quadril, cm	89 ± 2,6	96 ± 2,1	102 ± 4,9	104 ± 4,9	109 ± 3,5	112 ± 0,7
Bioquímica						
Glicose, mg/dL	81 ± 8	88 ± 9	106 ± 14	104 ± 29	105 ± 17	98 ± 14
Insulina, µUI/mL	1,8 ± 0,4	5,6 ± 0,8	7,9 ± 3,8	8,5 ± 5,9	7,8 ± 8,8	10,6 ± 7,3
Colesterol Total, mg/dL	134 ± 12	118 ± 21	134 ± 51	135 ± 28	133 ± 2	159 ± 21
LDL-C, mg/dL	59 ± 15	55 ± 19	67 ± 41	60 ± 21	66 ± 12	79 ± 18
HDL-C, mg/dL	56 ± 10	50 ± 4	40 ± 9	56 ± 11	51 ± 9	42 ± 18
Triglicérides, mg/dL	97 ± 45	66 ± 10	140 ± 67	98 ± 19	83 ± 14	190 ± 150
Prot C reativa, mg/dL	5,0 ± 2,4	2,75 ± 1,10	5,0 ± 2,6	4,10 ± 1,20	4,0 ± 1,0	10,9 ± 7,8

Valores expressos como médias ± dp; ^a IMC < 18,5; ^b 18,5 < IMC < 24,9; ^c 25 < IMC < 29,9 kg/m²

3.3. Ingestão de energia e nutrientes

Após o período de suplementação com o suco de laranja foi observado um aumento significativo na ingestão média de energia, vitamina C e folato em mulheres (27, 211 e 53%, respectivamente) e nos homens (19, 190 e 52%, respectivamente).

De acordo com a análise dietética, estes resultados se devem em grande parte a adição do suco de laranja na dieta dos pacientes que acrescentou 240 kcal e 58g de carboidratos por dia (Tabela 2).

3.4. Análise dos dados antropométricos e bioquímicos

Apesar da suplementação com o suco de laranja incrementar significativamente a ingestão de energia no grupo de homens e mulheres, como observada pela avaliação dietética (Tabela 2), não foi verificado, entretanto, modificação do estado nutricional dos pacientes abaixo do peso, normais e pré-obesos (Tabelas 3). Da mesma forma, não foram observadas alterações para gordura corporal, circunferência da cintura e circunferência do quadril em homens ou mulheres (Tabelas 4).

Tabela 2. Estimativa da ingestão de energia e nutrientes de homens e mulheres com hepatite C crônica antes e após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja

Nutrientes	Mulheres (n=10)		Homens (n=13)	
	Antes	Após	Antes	Após
Energia, kcal/dia	1584 ± 380	2024 ± 309*	1793 ± 600	2135 ± 676*
Carboidratos, g/d	148 ± 54	175 ± 74	193 ± 124	208 ± 80
Proteínas, g/d	52 ± 21	58 ± 22	79 ± 39	94 ± 71
Lípides, g/d	29 ± 13	31 ± 16	36 ± 23	54 ± 50
Cálcio, mg/d	350 ± 198	436 ± 222	396 ± 192	292 ± 177
Ferro, mg/d	8,0 ± 2,3	11 ± 5,8	11,4 ± 5,0	12,9 ± 4,9
Vitamina E, mg/d	2,4 ± 1,2	2,4 ± 0,8	2,3 ± 1,3	3,3 ± 1,6
Vitamina C, mg/d	89 ± 91	278 ± 90*	93 ± 46	270 ± 259*
Folato, µg/d	147 ± 82	226 ± 185*	212 ± 256	322 ± 127*

* $p < 0.05$ entre o período antes e após ingestão do suco de laranja (teste *t* pareado)

Após o período de suplementação com o suco de laranja foram verificadas diferentes respostas das variáveis bioquímicas de acordo com o estado nutricional e o gênero (Tabelas 3). Por exemplo, pacientes com estado nutricional normal ($18,5 < \text{kg/m}^2 \text{IMC} < 24,9$) reduziram colesterol total e todos os grupos reduziram a PC-R. As outras variáveis não foram modificadas pela suplementação com suco de laranja (Tabela 3).

Tabela 3. Variáveis antropométricas e bioquímicas de homens e mulheres com hepatite C crônica, classificados de acordo com o IMC, antes após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja.

Variáveis	Abaixo do Peso ^a (n=5)		Normal ^b (n=12)		Pré-Obeso ^c (n=6)	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
Antropométricas						
IMC, kg/m ²	16,6 ± 0,9	16,9 ± 0,7	22,4 ± 2,0	22,4 ± 1,9	26,5 ± 0,6	26,2 ± 0,6
Gordura Corporal, %	25,6 ± 10	25,2 ± 8,1	38,0 ± 10	34,8 ± 7,1	44,5 ± 9,9	45,0 ± 10
Circunferencia Cintura, cm	72,2 ± 5,4	72,4 ± 5,5	91,9 ± 10	93,3 ± 11	109 ± 3,8	108 ± 3,8
Circunferencia Quadril, cm	91,6 ± 4,2	91,8 ± 4,2	103 ± 4,8	102 ± 3,9	111 ± 3,1	109 ± 2,3
Bioquímicas						
Glicose, mg/dL	82,8 ± 7,5	86,6 ± 1,8	103 ± 19	92 ± 12,4	104 ± 16	100 ± 13
Insulina, µUI/mL	3,3 ± 2,0	2,2 ± 0,3	8,4 ± 5,0	5,5 ± 2,0	9,8 ± 6,1	7,2 ± 6,0
Colesterol Total, mg/dL	127 ± 16	125 ± 11	136 ± 37	120 ± 37*	146 ± 22	142 ± 31
LDL-C, mg/dL	57 ± 14	50 ± 10	63 ± 30	57 ± 25	78 ± 16	67 ± 30
HDL-C, mg/dL	53 ± 8	52 ± 12	46 ± 13	43 ± 10	48 ± 40	44 ± 33
Triglicérides, mg/dL	84 ± 36	117 ± 21	137 ± 79	126 ± 71	93 ± 16	144 ± 105
Prot C reativa, mg/dL	4,1 ± 2,1	0,8 ± 1,0*	4,0 ± 3,1	0,2 ± 0,2*	9,3 ± 7,0	5,9 ± 4,8*

Valores expressos como médias ± dp; ^a IMC < 18,5; ^b 18,5 < IMC < 24,9; ^c 25 < IMC < 29,9 kg/m² * p < 0,05; teste t pareado entre grupos de IMC

Devido ao pequeno tamanho amostral quando se considerou os grupos de homens e mulheres classificados pelo IMC, foi realizada uma nova análise com os dados antropométricos de todos os indivíduos (Tabela 4). As determinações da circunferência do quadril e a razão entre as circunferências da cintura/quadril também não mostraram modificações significativas ao longo do período experimental para todos (Tabela 4). De forma semelhante, a porcentagem da gordura corporal avaliada pela bioimpedância elétrica também não verificou alteração significativa após a suplementação com suco de laranja (Tabela 4).

Tabela 4. Variáveis antropométricas de mulheres e homens com hepatite C crônica antes e após a suplementação por 8 semanas com suco de laranja.

Variáveis	Mulheres (n=10)		Homens (n=13)	
	Antes	Após	Antes	Após
Antropométricas				
IMC, kg/m ²	22,1 ± 3,9	22,0 ± 3,7	21,8 ± 3,5	21,8 ± 3,3
Gordura corporal, %	44,6 ± 9,6	39,4 ± 9,1	33,5 ± 12,8	31,8 ± 9,7
Circunferencia da cintura, cm	88,5 ± 17,3	88,6 ± 17,0	92,3 ± 12,2	92,7 ± 12,7
Circunferencia do quadril, cm	108 ± 7,0	102 ± 5,7	100 ± 7,8	99,8 ± 7,6

Valores expressos como média ± dp

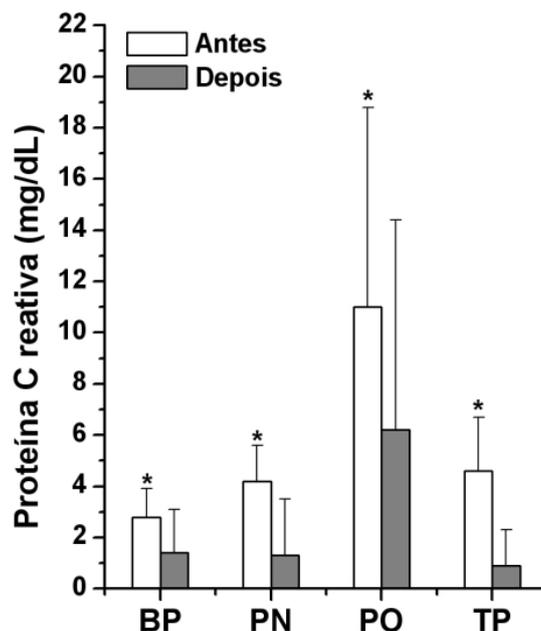
Buscando obter um quadro mais geral da influência do suco de laranja sobre todos os indivíduos, independente do gênero e IMC, os dados bioquímicos foram re-analisados considerando o conjunto de todos os pacientes (Tabela 5), desde que não há valores de referência diferenciais para gênero e ou estado nutricional, exceto para a HDL-c. De acordo com esta análise, houve redução significativa na

concentração de colesterol total (7,8%), LDL-colesterol (11,4%) e insulina de jejum (23,5%). Além disso, foi observada redução altamente significativa para a PC-R indicadora de estado inflamatório (81%), como mostrado na Figura 1.

Tabela 5. Variáveis bioquímicas dos pacientes com hepatite C crônica antes após a suplementação por 8 semanas com suco de laranja.

Variáveis Bioquímicas	Todos Pacientes (n=23)	
	Antes	Após
Glicose, mg/dL	99 ± 18	93 ± 12
Insulina, µUI/mL	7,5 ± 5,0	5,8 ± 5,6*
Colesterol Total,mg/dL	136 ± 31	126 ± 32*
LDL-C, mg/dL	65 ± 26	57 ± 23*
HDL-C, mg/dL	48 ± 12	43 ± 12
Triglicérides, mg/dL	118 ± 67	127 ± 68
Prot C reativa, mg/dL	4,6 ± 2,1	0,9 ± 1,4**

*Valores expressos como médias ± dp; * p<0,05; **p<0,01; teste t pareado entre grupos*



*Redução estatisticamente significante

Figura 1. Níveis de proteína C-reativa de pacientes com hepatite C crônica em homens ($n=13$) e mulheres ($n=10$), ($p>0,05$), quando comparados ao período antes e após ingestão regular de 500 mL/dia suco de laranja por 8 semanas. BP (baixo peso), PN (peso normal), PO (pré obeso), TP (total dos pacientes).

4. Discussão

No presente estudo foi observado entre os pacientes uma predominância de infecção crônica com o VHC genótipo 1 (82,6%), seguida pelo VHC genótipo 3 (13%) e VHC genótipo 2 (4,3%), respectivamente. Estes resultados são semelhantes ao estudo feito no Brasil por Campiotto (2005) com 1688 pacientes infectados pelo VHC. Ele verificou que 64,9% dos indivíduos estavam infectados pelo VHC genótipo 1 e mostrou diferenças regionais para a distribuição dos genótipos. Demonstrou ainda que no estado de São Paulo, a infecção pelo VHC genótipo 1 foi mais prevalente para o genótipo 1 (62,5%), seguida pelo genótipo 3 (32,3%), genótipo 2 (4,6%), genótipo 4 (0,4%) e genótipo 5 (0,2%). Outro estudo

verificou que no Brasil existe maior prevalência do VHC genótipo 1 e que os genótipos 4 e 5 são incomuns (PERONEL et al. 2008).

A avaliação antropométrica dos pacientes no início do estudo (Tabela 1) mostrou variações no estado nutricional, com pacientes abaixo do peso (21,7%), estado nutricional normal (52,1%) e pré-obesos (26%). Foi observado também que em média, homens e mulheres apresentavam ingestão inadequada de energia e macronutrientes em relação as recomendações nutricionais (DRI, 2005) Portanto parece razoável supor que a presença de indivíduos com baixo peso e menor proporção de indivíduos pré-obesos refletiu a deficiência na ingestão de energia e nutrientes, talvez decorrente da inapetência gerada pela infecção viral crônica ou uso crônico dos medicamentos antivirais.

De forma semelhante, em um estudo de avaliação nutricional por análise subjetiva (ANSG) e aferição de aperto de mão não dominante (FAM) em 34 adultos de ambos os sexos com cirrose devido a infecção pelo VHC, Gottschall et al (2004) verificaram que 22 (64,7%) pacientes apresentavam-se bem nutridos e 12 (35,3%) com desnutrição leve, quando avaliados pelo método ANSG, e que 27 (79,4%) dos pacientes se apresentavam em risco nutricional e apenas 7 pacientes se apresentavam bem nutridos pelo método FAM. Dutra et al (2007) avaliaram o estado nutricional de 13 pacientes portadores do VHC, verificando IMC médio igual a 25,8kg/m² para mulheres e 23,7kg/m² para homens. Segundo esta avaliação, 38,5% eram eutróficos ($n=7$), 23,1% apresentavam sobrepeso ($n= 3$), 15,4% eram obesos ($n= 2$) e 23,1% eram desnutridos ($n= 3$).

Maia (2006) avaliou pacientes portadores de hepatite C, em relação aos indicadores antropométricos do estado nutricional e observou que a maioria dos indivíduos (50,9%) apresentava-se eutrófico, 26,9% com sobrepeso, 13,7% com

obesidade, 5,1% abaixo do peso. Carvalho et al (2008) avaliaram o estado nutricional de 300 pacientes cirróticos adultos e encontraram sinais de desnutrição protéico-calórica em 75,3% dos pacientes avaliados. (RITTER e GAZZOLA 2006), relataram que em uma amostra de 43 pacientes cirróticos hospitalizados, 30,2% de obesos, 20,1% com sobrepeso, 46,5% de eutróficos e apenas 3,2% com baixo peso.

Estudos reportam que frequentemente se observa estado nutricional abaixo do peso em indivíduos com hepatopatias e que a avaliação em indivíduos com esta enfermidade é dificultada pela falta de um padrão-ouro que permita avaliar o estado nutricional, pois os índices que envolvem o peso corporal não são os mais adequados para afirmar o comprometimento nutricional nos hepatopatas crônicos pelo fato de muitas das vezes os pacientes apresentarem retenção hídrica, edemas e ascite (RITTER e GAZZOLA 2006).

A literatura reporta ainda que podem ser vários os fatores que contribuem para a desnutrição calórico-protéica na doença hepática, como as deficiências de vitaminas e minerais, ingestão insuficiente de macro e micronutrientes devido a anorexia, náuseas, vômitos, mudanças de paladar induzidas pelos medicamentos ou por distúrbios bioquímicos, comprometimento na digestão e absorção ocasionados por redução de fluxo biliar, causando má absorção de gorduras, vitaminas lipossolúveis, deficiência de ácidos graxos essenciais e pela enteropatia devido à hipertensão portal. Todos estes fatos representam um comprometimento do estado nutricional de pacientes com hepatite C crônica e portanto devem ser considerados fatores de risco para aumento da morbi e mortalidade, sendo por isso indicado um cuidadoso e constante monitoramento do estado nutricional destes pacientes (RITTER e GAZZOLA 2006; GOTTSCHALL et al, 2004; DUTRA et al, 2007; CARVALHO et al, 2008).

No presente estudo com suplementação de suco de laranja foi observado um aumento significativo na ingestão média de energia, vitamina C e folato para mulheres (27, 211 e 53% respectivamente) e para os homens (19, 190 e 52% respectivamente). Era esperado que devido à quantidade de 240 kcal de energia e 58 g de carboidratos acrescidas pela ingestão de suco à dieta diária dos pacientes após o consumo de laranja durante as 8 semanas, ocorresse uma variação nas medidas antropométricas (peso, gordura corporal, circunferência abdominal). Porém, não foram observadas alterações em nenhum grupo de pacientes (abaixo do peso, normais e pré obesos) com relação a estas medidas. Nós sugerimos que o período de suplementação com o suco de laranja (8 semanas) talvez não tenha sido suficiente para refletir uma melhoria significativa no estado nutricional dos indivíduos em risco, mas certamente, devido ao aumento da ingestão total de energia da dieta, assim como de vitamina C e folato, o suco de laranja melhorou o consumo nutricional dos indivíduos analisados.

Os resultados deste estudo corroboram com o de Garcia et al. (2008) e Basile et al. (2010), nos quais não foram observadas alterações no estado nutricional após o consumo regular de suco de laranja. Segundo Bonifácio e César (2009), que investigaram a influência de suco de laranja sobre a composição corporal de 141 homens saudáveis que consumiam esporadicamente ou regularmente o suco de laranja por um ano, observaram que aqueles que ingeriram suco de laranja regularmente apresentavam menor percentagem de sobrepeso e obesidade (25%) e tiveram um aumento significativo de vitamina C em relação aos que não ingeriam (37%). Em outro estudo, Aptekmann e César (2010) verificaram que mulheres de meia idade que ingeriram 750 mL/dia durante 12 semanas enquanto participaram de um programa de exercício físico aeróbico, reduziram o

peso corporal, o IMC e gordura abdominal, e que esta redução foi devido ao exercício físico e não à ingestão de suco de laranja.

Murakami et al. (2005) avaliaram o efeito da suplementação com 750 mg de vitamina C e 500 mg de vitamina E em pacientes com hepatite C crônica em tratamento. Após 2 semanas eles observaram aumento de níveis plasmáticos de vitamina C e redução significativa de transaminases. Kurowska et al. (2000) mostraram que a dieta de indivíduos suplementada diariamente com suco de laranja, aumentava a concentração dos níveis séricos de folato e de vitamina C.

No presente estudo foi possível observar que os pacientes com hepatite C crônica tinham níveis séricos abaixo do limiar de risco para o colesterol total (136 mg/dL), triglicérides (118 mg/dL), LDL-c (65 mg/dL), e níveis normais de HDL-c (48 mg/dL). Estes resultados são próximos aos reportados por Ehab et al (2010) onde observaram alterações no metabolismo lipídico presentes em indivíduos infectados pelo VHC. Neste estudo, os pacientes apresentaram níveis significativamente baixos de colesterol total (162 mg/dL) em relação aos indivíduos não infectados (209 mg/dL), de LDL-c (95 mg/dL) em comparação aos indivíduos não infectados (118 mg/dL) e de triglicérides (115 mg/dL) em relação aos não infectados (164 mg/dL). Os níveis de HDL-c não mostraram diferença entre pacientes infectados e não infectados pelo VHC.

Estudos realizados por outros autores também observaram níveis mais baixos dos lípideos séricos em pacientes com hepatite C crônica em relação a população não infectada (SERFATY et al. 2001; MOORE et al. 2007; MARZOUK et al. 2007; JARMAY, 2005). Contudo, Corey et al (2009) observou níveis de lípideos séricos cinco vezes maior em pacientes com hepatite C em relação à sua população de referência (não infectada).

Vários estudos reportam que níveis séricos do perfil lipídico se encontraram reduzidos provavelmente porque as partículas virais estariam atuando como os fármacos pravastatinas que inibem a síntese de colesterol intracelular por competição com a enzima HMG-CoA redutase, impedindo a transformação do ácido mevalônico em colesterol. Ao ocorrer redução intracelular do colesterol, há estímulo à formação de LDL-receptores na membrana da célula. A presença de maior número de LDL-receptores determina maior captação das LDL em circulação, com diminuição de seu nível plasmático e aumento de colesterol HDL (EHAB et al. 2010).

Por outro lado, os flavonóides (hesperidina e narigina) e vitamina C presentes no suco de laranja favorecem a redução dos lípideos séricos nos indivíduos saudáveis (GARCIA et al. 2008; BASILE et al. 2010; BONIFÁCIO e CÉSAR, 2009 e 2010). O mecanismo provável parece ser a ação inibitória destes flavonóides ou seus metabólitos (glucosídeos de flavanonas) sobre a biossíntese de colesterol hepático, levando a inibição da HMG CoA redutase e redução da ACAT. Esta última leva a menor esterificação do colesterol hepático disponível para a formação de VLDL, resultando assim em uma redução da secreção de VLDL pelo fígado (CARR et al.1992). Associa-se a estes eventos, a capacidade de níveis mais elevados de vitamina C interceptando ROS na fase aquosa do plasma, reduzindo significativamente os níveis de lipídios no plasma e inibindo a oxidação de LDL, além de proteger o HDL-c e torná-lo disponível para o transporte reverso de colesterol (EHAB et al. 2010).

Níveis elevados de HDL também inibem a oxidação das LDL, e esse efeito promove a eliminação de radicais livres por meio da enzima antioxidante paraoxonase 1 (PON 1) associada a HDL. A atividade da PON 1 durante o estresse oxidativo é estimulada pela vitamina C. Outra causa de menor oxidação dos lípides

circulantes, seria o desvio do colesterol para a síntese de membranas intracelulares, que são necessárias para a replicação viral ou para síntese de membranas plasmáticas das células do parênquima hepático, pois durante o processo inflamatório há uma resposta regenerativa do tecido hepático destinado a substituir as células destruídas, sendo por isso o ritmo de divisão dos hepatócitos muito maior em relação ao dos indivíduos sãos (EHAB et al. 2010).

Estudos *in vitro* atribuíram uma possível ação hipolipidêmica da hesperidina na inibição da HMG-CoA redutase e da ACAT (MONFORTE et al. 1995; BOK et al., 1999). Além disso, a administração da hesperidina apresentou ação antioxidante e inibiu a agregação plaquetária (COOK e SAMMAN, 1996).

Neste presente foi observado que após o consumo de 500 mL/dia de suco de laranja durante 8 semanas houve uma redução significativa do colesterol total (8%) e uma redução significativa do LDL-c (12%) nos pacientes crônicos. Não foram observados entretanto mudanças nos triglicérides e HDL-c. Resultados similares foram observados recentemente com a suplementação de 500mg/dia de vitamina C durante 4 semanas em pacientes com hepatite C crônica. Houve redução dos níveis circulantes de colesterol total, LDL-c e triglicérides, e aumento dos níveis de HDL-c, vitamina C e E (MARC et al, 2008; MADHAVI et al, 2009).

Em estudo realizado com indivíduos hipercolesterolêmicos que receberam 270mg de flavonóides cítricos e 30mg de tocotrienóis foi verificado uma redução de 20 a 30% de colesterol total e 19 a 27% no LDL-C (ROZA et al, 2007). Esta redução foi associada às duas substâncias que estimularam um efeito redutor sobre o colesterol total e o LDL-c.

No presente estudo foi observado que a glicemia e insulina no soro em jejum dos pacientes apresentava valores normais antes e após a suplementação com 500

mL/dia de suco de laranja por 8 semanas. Contudo, vários estudos têm reportado que a infecção pelo VHC induz à resistência a insulina e frequentemente tem aumentado o conhecimento sobre o prognóstico negativo que a resistência da insulina representa para pacientes com hepatite C. Algumas das hipóteses para este fato incluem a proteína do core do VHC e a ação das citocinas como a IL-6 e TNF, que normalmente se mostram em concentrações elevadas na presença de inflamação desencadeada pelo VHC.

Mais recentemente foi descoberto que a infecção pelo vírus induz a expressão de genes de uma proteína que desempenha papel central na via de sinalização da insulina (FUKUI, 2002; SU AI, 2002). Estudos revelam também que o aumento da resistência a insulina e a elevação da glicose no sangue aumentam o índice HOMA-IR conhecido como indicador de progressão da fibrose no fígado e também como um indicador de prováveis problemas cardíacos para o indivíduo. Alguns estudos demonstram a importância do índice HOMA-IR por se tratar de um fator independente associado a um maior risco de desenvolver câncer em pacientes infectados com hepatite C.

Na população em estudo, após o consumo regular de suco de laranja durante as 8 semanas, foi observado uma redução significativa de insulina em jejum, sem alteração da glicose sanguínea, sugerindo uma melhoria da sensibilidade à insulina. A avaliação da resistência à insulina (IR) foi realizada pela estimativa do índice HOMA-IR pelo cálculo de execução simples, que se fundamenta nas dosagens da insulinemia e da glicemia, ambas de jejum (GELONEZE, et al. 2006; MATTHEW et al. 1985).

Os pacientes do presente estudo receberam por meio do suco de laranja suplementado na dieta uma dose diária de 168 mg de vitamina C. De acordo com

Sherman et al. (2000), a suplementação com vitamina C pode auxiliar na redução da concentração de insulina de jejum e por isso reduzir o índice HOMA. Porém, são necessários outros estudos de longa duração para comprovar o efeito potencial funcional do suco de laranja na redução de infecção pelo VHC. Similarmente, foi verificada diminuição significativa da glicemia e insulina de jejum entre participantes saudáveis, normolipidêmicos e com peso normal que ingeriram regularmente 750 mL de suco de laranja durante 8 semanas (CESAR, et al. 2010).

No início do presente estudo todos os pacientes tinham níveis séricos elevados de PC-R decorrente da resposta a reação inflamatória presente no parênquima hepático pela infecção do vírus da hepatite C, pela presença do estresse oxidativo ou devido ao tratamento medicamentoso. Porém após o período de tratamento dietético com o suco de laranja houve uma redução significativa dos níveis séricos da PC-R, sugerindo uma redução da própria inflamação e estresse oxidativo. Block et al. (2004) em seu estudo também observou uma redução de 24% da PC-R após suplementação com vitamina C em seu estudo com indivíduos fumantes.

Nosso estudo foi o primeiro a avaliar o efeito da vitamina C e flavonoides presentes no suco de laranja sobre este indicador inflamatório no plasma de pacientes infectados pelo VHC. Os compostos do suco de laranja presumivelmente devem ter contribuído para o efeito anti-inflamatório. A razão biológica provável para esse fato é que a vitamina C inibe o TNF induzido pela ativação do fator de transcrição nuclear k-B (NF-k B). O NF-kB regula genes que codificam fatores pró-inflamatórios, incluindo citocinas supressoras de TNF induzida por ativação de NF-kB, levando à redução de citocinas e produção de PC-R, e que podem ser os

responsáveis pelo efeito de redução da PC-R (RIDKER et al. 2003; PASCERI et al. 2000).

Estudos têm sugerido que a PC-R tem efeito direto sobre a progressão da aterosclerose. Estas funções relatadas incluem uma capacidade de se ligar e ativar o sistema de complemento, induzir a expressão de moléculas de adesão, bem como o fator tecidual, mediar a captação de LDL macrófagos endotelial, induzem recrutamento de monócitos na parede arterial, aumentar a produção de proteína quimiotática de monócitos-1 (BLOOK et al. 2004). Os resultados mostram efeito antioxidante, antiinflamatório e antitrombótico (RIDKER et al. 2003; PASCERI et al. 2006; RADER, 2007).

Os resultados aqui discutidos sugerem a necessidade de acompanhamento clínico controlado com o objetivo específico de avaliar o impacto dos antioxidantes da dieta nos níveis plasmáticos das PC-R e outros fatores pró-inflamatórios em populações de risco para doença cardiovascular. Os resultados aqui obtidos indicaram um verdadeiro impacto da vitamina C e dos flavoníudes do suco de laranja na magnitude do benefício de pacientes acometidos por infecção crônica do vírus de hepatite C.

5. Conclusões

A suplementação com suco de laranja melhorou o padrão dietético dos pacientes com hepatite C crônica, aumentando a ingestão de energia, vitamina C e folato em homens e mulheres.

O consumo regular de suco de laranja não influenciou as variáveis antropométricas (peso corporal, gordura corporal, circunferência abdominal) e o estado nutricional, que se mantiveram estáveis durante o período de suplementação.

A suplementação com o suco de laranja reduziu a concentração do colesterol total, LDL-colesterol e insulina de jejum no sangue dos pacientes afetados com hepatite C, sugerindo um perfil lipídico mais saudável e uma melhoria na sensibilidade à insulina protegendo contra o desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas.

A suplementação com o suco de laranja reduziu em alto grau a concentração da PC-R ultrasensível, sugerindo uma redução do estresse oxidativo e do estado inflamatório decorrente da infecção crônica com o VHC.

6. Referências

APTEKMANN, N. P.; CESAR, T. B. Orange juice improved lipid profile and blood lactate of overweight middle-aged women subjected to aerobic training. **Maturitas** (inpress). Disponível em: <www.elsevier.com/locate/maturitas>. Acesso em: 02 jan. 2011.

BONIFÁCIO, N. P.; CÉSAR T. B. Influência da ingestão crônica do suco de laranja na pressão arterial e na composição corporal **Rev. Bras Hipertens** v.16, n.2, p. 76-81, 2009.

BROOK, G.; HUNT, J.; JOHNSON, A.; REED, J. Supporting the child and family. In: KELLY D.A (Ed). Diseases of the liver and biliary system in children. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. p.1-16.

CAMPIOTTO, S.; PINHO, J. R. R.; CARRILHO, F. J. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Braz. J. Med. Biol Res.**, v.38, n.1 , p. 41-49, 2005.

CARVALHO, L. PARISE E.R. Avaliação em ambulatório do estado nutricional em pacientes com cirrose hepática. **Arq Gastroenterol.**, v. 43, n.4 , p. 269-274, 2006.

CESAR, T. B.; RODRIGUES, L. U.; ARAUJO, M.S.P.; PREISING, N. A. Suco de laranja reduz o colesterol em indivíduos normolipidêmicos. **Rev. Nutr.**, v. 23, p. 779-789, 2010.

Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients), Food and Nutrition Board (FNB) Food and Nutrition Board, Institute of Medicine of the National Academies, The National Academies Press, 2005)

DUTRA, C. N. N. ; BASSO C. Alterações nutricionais em portadores de *hepatite C* **Disc. Scientia.**, v. 7, n. 1, p. 109-120, 2006.

DAMASO, A. R. Métodos de avaliação da composição corporal. In: Nutrição e metabolismo na prevenção de doenças. Rio de Janeiro: Medsi, n.3 , p. 125-152, 2001.

EHAB, H. N. Lipid profile among chronic hepatitis C Egyptian patients and its levels pre and post treatment, **J. Nature Sci.** , v.8, n.2, p.7, 2010

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FRENCKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin.Chem.**, v.18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FRIEDMAN, P. A.; ZELDEL, M. L. Victory at C. **Nature Med**, v. 5, n. 6, p. 620-621, 1999.

FRISANCHO A. R. New norms of upper limb and muscle areas for assessment of nutritional status. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 34, p. 2540–2545, 1991.

FUKUI, M.; KITAGAWA, Y; NAKAMURA, N; YOSHIKAWA, T. Response to Öncül. Insulin sensitivity in patients with chronic hepatitis C virus. **Infection and Diabetes Care**, v.25, p.1900-1901, 2002.

GARCIA, A. C. D. B.; BONIFÁCIO, N. P.; VENDRAMINE, R. C. ; CÉSAR, T. B. Influência do consumo de suco de Laranja nos lípides sanguíneos e na composição corporal de homens normais e com dislipidemias. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, v. 33, n. 2, p.1-11, 2008.

GELONEZE, B.; REPETTO, E. M; GELONEZE, S. R.; TAMBASCIA, M. A.; ERMETICE, M. N. The threshold value for insulin resistance (HOMAIR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. **Diabetes Res Clin Prac**, v.72, n.2, p. 219-220, 2006.

MAIO, R. ; DICHI J. B.; BURINI, R. C. Consequências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. **Arq. Gastroenterol.**,v. 37, n.1 , p. 52-57, 2000.

MADHAVI, M. Effect of antioxidant vitamin C and e supplementation on its plasma levels and on lipid profile in pulmonary tuberculosis patients, **Am. J. Infec. Diseases** v. 5, n. 3, p. 263-272, 2009.

MARC, P. Vitamin c supplementation lowers serum low- density lipoprotein cholesterol and triglycerides: a meta-analysis of 13 randomized controlled trials. **J. Chiropractic Med.**, v.7, n. , p. 48-58, 2008

MATTHEWS, D.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A., TRECHER D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, p. 412-419, 1985.

MONTEIRO, J. P. Consumo alimentar visualizando porções. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

MORIYA, K.; SHINTANI, Y.; FUJIE, H.; MIYOSHI, H.; TSUTSUMI, T.; YOTSUYANAGI, H.; IINO, S. KIMURA, S.; KOIKE, K. Serum lipid profile of patients with genotype 1b hepatitis C viral infection in **Japan.Hepatol Res.** , v. 25, n. 4, p. 371-376, 2003.

MURAKAMI, Y.; NAGAI, A.; KAWAKAMI, T.; HINO, K.; KITASE, A.; HARA, Y.; OKUDA, M.; OKITA, K. OKITA, M. **Vitamin E and C supplementation prevents decrease of eicosapentaenoic acid in mononuclear cells in chronic hepatitis C patients during combination therapy of interferon alpha-2b and ribavirin**, 2004.

OHATA, K.; HAMASAKI, K.; TORIYAMA, K.; MATSUMOTO, K.; SAEKI, A.; YANAGI, K. Hepatic steatosis is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Cancer*; v. 97, n. , p. 3036-3043, 2003.

PASCERI, V.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. H. Direct proinflammatory effect of C reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, v. 102, n.3 , p. 2165-2168, 2000.

PETIT, J. M.; BENICHO, M.; JOOSTE, V.; BOUR, J. B.; MINELLO, A.; VERGES, B.; BRUN, J. M.; GAMBERT, P.; HILLON, P. Hepatitis C virus associated hypobetalipoproteinemia is correlated with plasma viral load, steatosis, and liver fibrosis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 98, n. 5, p.1150-1154, 2003.

PERONE, C.; MENDEZ, D.; PEREIRA G. L.; CARVALHO N. O.; JANUÁRIO J. TEIXEIRA R. Alta prevalência do genótipo 1 em portadores de hepatite C crônica em Belo. **Rev Soc. Bras. Med. Trop.** v. 41, n. 3, p. 238-242, 2008.

GOTTSCHALL, C. B.; ANDREATTA, M. R.; CAMARGO, A. C. R.; BURTETT, R. M.; SILVEIRA, T. R. Avaliação Nutricional de Pacientes com Cirrose pelo Vírus da Hepatite C: a aplicação da calorimetria indireta **Arq. Gastroenterol. vol.41 no.4 São Paulo Oct./Dec. 2004**

RIDKER, P. M.; BURING, J. E.; COOK, N. R.; RIFAI, N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow up of 14 719 initially healthy american women. **Circulation**, v. 107, n. , p. 391-397, 2003.

RITTER, L.; GAZZOLA, J. Avaliação nutricional no paciente cirrótico: uma abordagem objetiva, subjetiva ou multicompartmental? **Arq Gastroenterol** , v. 43, n.4, 2006 .

SHEPHERD, R. W. Management of chronic liver disease. In: KELLY, D.A. (Ed.) *Diseases of the liver and biliary system in children*. Oxford: Blackwell, p. 259 - 281, 2004.

SIAGRIS, D.; CHRISTOFIDOU, M.; THEOCHARIS, G. J.; PAGONI, N.; PAPADIMITRIOU, C.; LEKKOU, A.; THOMOPOULOS, K.; STARAKIS, I.; TSAMANDAS, A C.; LABROPOULOU, K. C. Serum lipid pattern in chronic hepatitis

C: histological and virological correlations. **J. Viral Hepat.** , v.13, n.1, p. 56-61, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretrizes de prevenção da aterosclerose. **Arq. Brs. Cardiol.**, v. 88, p.1-19, 2007.

SKINNIDER, B.; MAK, T. W. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*, v. 99, n.12, p. 4283-4297, 2002.

SU, A. I.; PEZACKI, J. P.; WODICKA, L.; BRIDEAU, A. D.; SUPERKOVA, L.; THIMME, R. ; WIELAND, S.; BUKH, J.; PURCELL, R. H.; SCHULTZ, P. G.; CHISARI, F. V. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. **Proc. Natl .Acad. Sci. USA** , v.99, p. 156, 2002.

THOMPSON, F. E.; BYERS, T. Dietary assessment resource manual. *J. Nutr.*, v.124, p.2245-2317, 1994.

VON, H. T; LINDENBACH, B. D; BOULLIER, A.; QUEHENBERGER, O.; PAULSON, M. RICE, C. M, et al. Oxidized low-density lipoprotein inhibits hepatitis C virus cell entry in human hepatoma cells. **Hepatology.** , v. 43 , p.932–942, 2006.

YAMAGUCHI, A.; TAZUMA, S. ; NIHIOKA, T.; OHISHI, W ; HYOGO, H.; NOMURA S. Hepatitis C virus core protein modulates fatty acid metabolism and thereby causes lipid accumulation in the **Liver.Dig Dis Sci.** , v. 50, p. 1361-1371, 2005.

WARIS, G.; SIDDIQUI, A. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: role of prostaglandin E2 in RNA replication. **J. Virol.**, v. 79, n.15, p. 9725-9734, 2005.

Capítulo III

**INTERVENÇÃO DIETÉTICA COM SUCO DE LARANJA SOBRE O ESTADO
OXIDATIVO DE PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA**

INTERVENÇÃO DIETÉTICA COM SUCO DE LARANJA SOBRE O ESTADO OXIDATIVO DE PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

RESUMO

Estudos tem demonstrado que a infecção pelo VHC se caracteriza pela presença do estresse oxidativo sistemático resultado da combinação da inflamação crônica, dano hepático e codificação de proteínas virais. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e redução de defesas antioxidantes promove o desenvolvimento e progressão da hepatite C. O estudo teve como objetivo avaliar biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com hepatite c crônica. Participaram do estudo 23 pacientes, dentre eles 13 homens e 10 mulheres, com hepatite C crônica diagnosticados e acompanhados pelo SESA. Foram realizadas avaliações dietéticas, antropométricas e de biomarcadores do estresse oxidativo antes e após 8 semanas de ingestão regular de 500 mL/dia de suco de laranja. Os resultados mostraram que após o período de suplementação com suco de laranja houve redução significativa nos níveis de TBARS e aumento significativo na capacidade antioxidante do soro dos pacientes. Concluindo que o aumento das reservas de flavanonas e de vitamina C no soro, decorrente da ingestão regular de suco de laranja, melhorou expressivamente a capacidade antioxidante no sangue e apresentou efeito protetor sobre a peroxidação lipídica.

Palavras-chave: Hepatite C, suco de laranja, vitamina C, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Hepatitis C virus (VHC) is a major cause of viral hepatitis that can progress to hepatic fibrosis, hepatic steatosis, hepatocellular carcinoma, and liver failure. VHC infection is characterized by a systemic oxidative stress that is most likely caused by a combination of chronic inflammation, liver damage, and proteins encoded by VHC. The increased generation of reactive oxygen species, with the decreased antioxidant defense, promotes the development and progression of hepatic complications of VHC infection. In this research we discuss some of the mechanisms of HCV induced oxidative stress and its role in VHC pathogenesis. The aim of this study was to evaluate oxidative status of patients with chronic hepatitis before and after the orange juice consumption for 8 weeks. Twenty patients (ten women and thirteen men) with chronic hepatitis C were included in the study, and they were evaluated for dietary parameters, anthropometric and biomarkers of oxidative stress before and after the dietary intake of 500 mL/d for 8 weeks of pasteurized orange juice. The results

showed no change in the anthropometrics variables after the orange juice treatment, but it was verified a significant decrease of TBARS and increase of antioxidant capacity in the serum of patients (DPPH). In conclusion, the intake of orange juice increase the availability of flavonones and vitamin C in the body and expressively improved the antioxidant capacity and significant effect on the lipid peroxidation.

Keywords: hepatitis C, orange juice, vitamin C, oxidative stress

1. Introdução

O vírus da hepatite C (VHC) é o principal agente causador da hepatite crônica. O mecanismo pelo qual o vírus causa danos nas células do parênquima hepático ainda não está bem elucidado. Diversas linhas de pesquisa indicam que a patogênese da hepatite C crônica está associada ao estresse oxidativo severo (EO) distúrbio imunológico, citotoxicidade mediada por diferentes produtos virais que podem induzir a progressão para fibrose, cirrose, insuficiência hepática e eventualmente para carcinoma hepatocelular num período de 20-30 anos. (LOGUERCIO e FEDERICO, 2003; MACHIDA et al. 2006).

O EO na infecção pelo VHC pode estar relacionado ao processo inflamatório crônico e a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelos macrófagos e células do sistema imune, devido à ativação do complexo enzimático associado à membrana plasmática denominado NADPH oxidase (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006). Tem sido reportado que a proteína não estrutural NS3 do VHC ativa a proteína Nox 2 ("Nonphagocytic NADPH Oxidase") localizada nas membranas dos fagócitos células de Kupffer e polimorfonucleares do parênquima hepático a desencadear a apoptose, causar disfunção dos linfócitos T (LT) e natural killer (NK),

levando ao aumento de produção de EROs e outras espécies reativas que podem causar EO.

Vários estudos têm sugerido que a suplementação vitamínica, terapias antioxidantes e imunoestimuladoras podem reduzir o desbalanço redox, melhorar o estado oxidativo total e ter efeito benéfico. Estudos em alguns animais experimentais nos quais se fez suplementação com vitaminas C e E, associou-se a redução do EO ao decréscimo na ativação da NADPH oxidase e o aumento da atividade da superóxido dismutase (SOD) (WASSMANN et al, 2004, LAVI et al, 2007, KLEIN et al, 2003). O EO causa danos às moléculas de DNA, lipídios, proteínas e carboidratos (EVANS et al, 2004). No entanto, os lipídios, proteínas e carboidratos podem ser removidos via degradação, o mesmo não ocorre com o DNA. O acúmulo de lesões nesta molécula tem consequências para a célula, relacionadas à mutagênese e carcinogênese (MOREL et al. 2001; LOGUERCIO e FEDERICO, 2003; MACHIDA et al. 2006).

Marcadores do estresse oxidativo na hepatite C

A presença de estresse oxidativo na hepatite C tem sido sugerida e evidenciada através de resultados da análise de marcadores do estresse oxidativo, apresentados a seguir:

- a) Níveis aumentados dos produtos de peroxidação lipídica (malonaldeído - MDA) no soro e fígado dos pacientes quando comparados aos controles, e uma correlação significativa entre os níveis de MDA com a severidade da doença (YADAV et al. 2002; KOIKE E MIYOSHI, 2006): a
- b) s membranas celulares são particularmente vulneráveis ao ataque oxidativo das EROs e como consequência podem perder a fluidez e aumentar a permeabilidade iônica. Por outro lado, enzimas e receptores ligados à membrana

celular podem ser inativados pelas reações de peroxidação lipídica (THOMAS et al. 2003).

- c) Níveis hepáticos elevados das proteínas carboniladas (produto do dano oxidativo das proteínas). O ataque dos EROs às proteínas resulta em múltiplas modificações, como a oxidação dos grupos das cadeias laterais de aminoácidos, fragmentação e modificações na hidrofobicidade. Este processo pode resultar também na perda da estrutura ou atividade enzimática (COSTA et al. 2001; EVANS & COOKE, 2004).
- d) Níveis elevados de 8-OH-deoxiguanosina, resultante da oxidação da guanina, base nitrogenada do DNA nos indivíduos infectados (EVANS & COOKE, 2004). As lesões podem ocorrer devido à oxidação direta dos ácidos nucleicos ou, muitas vezes, podem levar à formação de quebras em uma ou nas duas cadeias de DNA (quebras simples – SSB *single strand break*; quebras duplas – DSB *double strand break*, e alterações na incorporação de bases, especialmente pelo radical hidroxil (EVANS e COOKE, 2004).
- e) Redução nos níveis sistêmicos e hepáticos de antioxidantes enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx), e antioxidantes não enzimáticos como a glutatona (GSH), nos pacientes com VHC em relação aos controles, correlacionam-se com a carga viral, grau de inflamação hepática e presença de EO (YADAV et al. 2002).

Defesas Antioxidantes

Vários mecanismos antioxidantes de prevenção, reparo e defesa são acionados para evitar os danos causados pela presença constante de moléculas pró-oxidantes (EROs). As defesas antioxidantes protegem os tecidos e líquidos corpóreos da lesão causada por EROs produzidos no metabolismo normal, pela resposta à inflamação e às doenças, ou provenientes de fontes externas (VALKO et al. 2006). As defesas antioxidantes podem ser classificadas como enzimáticas ou não-enzimáticas. O sistema enzimático é formado por diversas enzimas, sendo destacadas a SOD, a CAT e a GPx.

A enzima SOD desempenha importante papel catalisando a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. Possui meia vida inferior a 10 minutos. Podem ocorrer de três formas da enzima dependendo do metal associado: Cu e Zn no citoplasma de eucariontes, Mn na matriz mitocondrial e Fe em bactérias.

A CAT participa da conversão do H_2O_2 em água e oxigênio molecular com alta taxa de *turnover* (uma molécula de catalase pode converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio por minuto). Está localizada nos peroxissomos, tendo por isso ação diminuta em órgãos como o coração e o cérebro, pois eles possuem relativamente poucos peroxissomos (DRÖGE, 2002).

A GPx, está localizada no citosol e na matriz mitocondrial, age em conjunto com a glutathione, desempenhando um dos mais importantes mecanismos de defesa antioxidante, catalisa a redução do peróxido de hidrogênio e peróxidos orgânicos para seus correspondentes alcoóis através da oxidação da glutathione (VALKO et al. 2006).

No sistema não enzimático da defesa antioxidante destacam-se alguns minerais (manganês, zinco, selênio), vitaminas (ácido ascórbico, vitamina E), carotenóides (beta-caroteno, licopeno e luteína, entre outros), glutatona e flavonóides (genisteína, quercetina, hesperidina, naringina, etc) (LEITE e SARNI, 2003; VALKO et al. 2007). Outros compostos de baixo peso molecular que possuem importante ação antioxidante são o ácido úrico, bilirrubina, albumina, estradiol e coenzima Q ou ubiquinol. Devido à sua característica lipossolúvel considera-se a vitamina E como sendo o principal antioxidante que age contra o processo de peroxidação lipídica (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006).

Vitamina C

A vitamina C ou ácido ascórbico é essencial na dieta, pois os seres humanos não a sintetizam. Sua ingestão diária deve ser igual à quantidade excretada ou consumida pela oxidação (FRIEDMAN e ZELDEL, 1999; JACOB et al. 2008). De acordo com as recomendações nutricionais do *Recommended Dietary Allowances* (RDA), a ingestão diária para indivíduos adultos saudáveis e não tabagistas (20 a 60 anos) deve ser 75 mg para mulheres e 90 mg para homens, e o limite de tolerância (UL) de 2 g. Esta dose limite foi aumentada nos últimos anos em reconhecimento do seu papel antioxidante (NRC, 2000).

Considerada o principal antioxidante hidrossolúvel, a vitamina C atua na fase aquosa sobre as EROs protegendo as proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucléicos de danos oxidativos, e também estimula a produção do interferon e citocinas antiinflamatórias, proliferação dos linfócitos T, aumento da atividade anti-apoptótica (LEITE & SARNI, 2003; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006). Além disso, participa como cofator na biossíntese do colágeno, da carnitina e de

neurotransmissores e está associada à redução do risco de doenças como câncer e doença cardiovascular (SILALAH, 2002).

Suco de Laranja

Uma das principais fontes de vitamina C na dieta humana são as frutas cítricas, e em especial o suco de laranja, pelo seu alto conteúdo de vitamina C folato, potássio e flavanonas, principalmente hesperidina e naringina, que conferem ação funcional ao alimento (DUSTAN et al. 2006; USDA, 2009). Os principais componentes nutricionais presentes no suco de laranja integral pasteurizado são mostrados na Tabela 1.

Segundo Bandara et al (2005) e Barbosa et al (2009) existe uma correlação negativa entre vitamina C, atividade inflamatória e o estágio de fibrose hepática. Na patogênese da hepatite C, a ação da vitamina C colabora na defesa imune do hospedeiro em várias etapas, sendo por isso considerada um modulador da resposta imune e pode, portanto, ser administrada como um auxiliar na redução da carga viral.

Estudos reportam que o suplemento de vitamina C auxilia na manutenção do estado nutricional de pacientes infectados pelo VHC, que apresentam desnutrição. A desnutrição pode surgir devido aos efeitos colaterais do tratamento medicamentoso, baixa ingestão alimentar, má-digestão e absorção de nutrientes, alteração na síntese hepática de nutrientes (MONTEIRO et al. 2007). Sendo assim torna-se fundamental a avaliação nutricional sistemática dos indivíduos infectados pelo VHC com a finalidade de vigilância nutricional sobre os quadros de desnutrição, na manutenção do peso corporal em indivíduos eutróficos e controle do peso em obesos (MONTEIRO et al. 2007).

Tabela 1. Principais componentes do suco de laranja integral pasteurizado.

Informação Nutricional	
Composição Nutricional	250mL
Água (g)	217
Energia (kcal)	120
Carboidratos (g)	29
Açúcares totais (g)	21
Fibra dietética total (g)	0,7
Cálcio (mg)	179
Magnésio (mg)	27
Potássio (mg)	443
Vitamina A (mg)	7
Vitamina C (mg)	84
Folato (µg)	47
Hesperidina [#] (mg)	13,8
Naringenina [#] (mg)	3,9

Fonte: USDA 2010, [#]2007

2. Casuística e métodos

2.1. População de estudo

Participaram do estudo 23 pacientes voluntários, 13 homens e 10 mulheres, de 24 a 64 anos, com hepatite C crônica acompanhados regularmente pelo setor de infectologia do Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA). A seleção dos participantes foi realizada por entrevista individual, explicando-se os objetivos e procedimentos do protocolo de pesquisa, de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, documento: CEP/FCF/CAr nº 20/2010. Após a aceitação e assinatura do termo de consentimento foram realizadas as avaliações do estado nutricional e colheita de sangue dos pacientes.

2.2. Avaliação Dietética

Foram aplicados dois recordatórios dietéticos de 24 horas (no início e no final do período experimental) e um questionário de frequência alimentar no início do estudo, de acordo com o “Dietary Assessment Resource” (THOMPSON e BYERS, 1994). A análise da ingestão de energia, macronutrientes e micronutrientes foi realizada através do programa NutWin versão 3.1, 2005, da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, SP, Brasil.

2.3. Avaliação Antropométrica

Foram tomadas medidas como: estatura (cm), peso corporal (kg), circunferência da cintura (cm), circunferência do abdômen (cm), circunferência do quadril (cm), gordura corporal (%) segundo Lohman et al, (1991). As medidas foram tomadas no início do estudo e no final do estudo e classificadas de acordo com a proposta da Organização Mundial da Saúde (2004), Janssen et al. (2002) e Rexrode et al. (1998). A percentagem de gordura corporal foi tomada pelo exame de bioimpedância elétrica no aparelho Biodynamics, Modelo 310, da Biodynamics Corp, EUA.

2.4. Avaliação do Estresse Oxidativo

Colheita de sangue

Foram colhidos 40 mL de sangue de cada pacientes em jejum de 12 horas em duas ocasiões, uma no início do estudo e outra após 8 semanas. Em seguida foram transportados em caixas de isopor com gelo para o Laboratório de urgência e Imunologia Clínica e Biologia Molecular da CACH/NAC da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP onde foram processadas, armazenadas e analisadas.

Avaliação da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi avaliada no soro dos pacientes, antes e após a ingestão de 500 mL/dia de suco de laranja durante 8 semanas, pela quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo a metodologia de Yagi (1998). O nível de peroxidação lipídica normal no soro humano varia de 1,86 a 3,94 μM , expressos em termos de malonaldeído (MDA). Os lipoperóxidos são hidrolisados em meio ácido e o MDA formado reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) produzindo o aduto MDA-TBA. O MDA forma um aduto de proporção 1:2 com o TBA, conforme apresentado na Figura 1. O ensaio foi realizado em duplicata e a absorbância medida em espectrofotômetro a 540 nm.

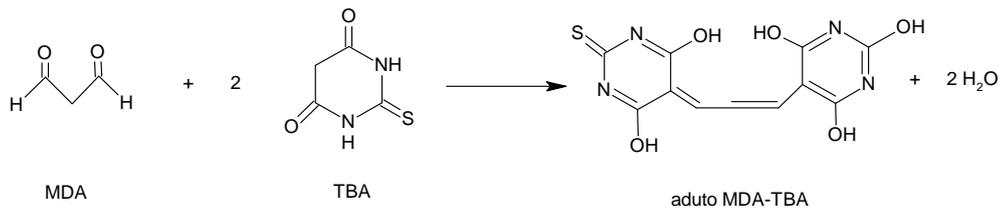


Figura 1. Reação entre o MDA e o TBA.

Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada no soro dos pacientes, antes e após a ingestão de 500 mL/dia de suco de laranja durante 8 semanas, medindo-se a capacidade antioxidante segundo o método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) descrito por Chrzczanowicz (2008) modificado. O princípio do método é baseado na captura do radical DPPH por antioxidantes do soro, produzindo um decréscimo da absorbância a 517nm. O soro de cada paciente foi desproteinado com acetonitrila e o sobrenadante misturado com solução de DPPH 0,004% em metanol. Após 30 minutos de reação, a solução foi medida a 517nm.

A **Figura 2** apresenta a reação do DPPH com o antioxidante. O elétron no radical livre DPPH ganha uma absorção máxima a 517 nm e uma coloração violeta. A coloração violeta muda para amarela quando a absortividade molar do radical DPPH reduz de 9660 para 1640, que corresponde ao elétron radical livre DPPH pareado com um hidrogênio do antioxidante, levando a forma reduzida (DPPH-H). A descoloração resultante é estequiométrica com o número de elétrons capturados (Molyneux, 2004).

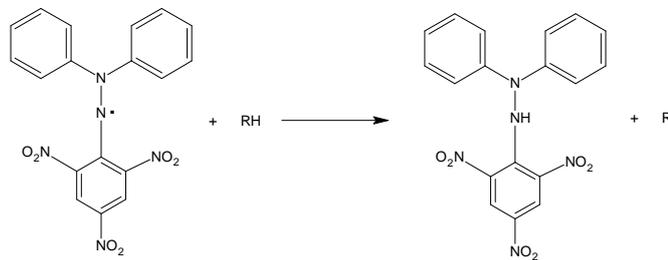


Figura 2. Reação entre o radical DPPH e o antioxidante.

Análise Estatística

A análise dos resultados foi realizada pelo software Sigma Stat, versão 3.11, 2004, San Jose, CA, EUA, através do teste t pareado que comparou os resultados do período antes e após intervenção com suco de laranja. O nível de significância estatística foi de 5% ($p < 0.05$) em todas as comparações efetuadas.

3. Resultados

3.1. População do estudo

Participaram deste estudo 23 pacientes, sendo 13 do gênero masculino e 10 do gênero feminino, com 48 ± 11 anos de idade diagnosticados e acompanhados pelo SESA, residentes em Araraquara e micro-região. A análise da distribuição dos genótipos do VHC entre os pacientes voluntários mostrou que a maioria deles (82,6%) apresentava infecção pelo genótipo 1, enquanto 4,3% estavam infectados com o genótipo 2 e 13% com o genótipo 3. Os dados sobre a genotipagem foram fornecidos pelo SESA.

3.2. Variáveis antropométricas e do Estresse oxidativo

As características antropométricas e de marcadores do estresse oxidativo basais dos voluntários são apresentadas separadamente de acordo com o IMC e o gênero (Tabela 2). A distribuição das variáveis basais, de acordo com o IMC, apontou variação do estado nutricional. Doze indivíduos apresentaram estado nutricional normal, cinco abaixo do peso e seis pré-obesos. Foi verificado que o IMC aumentava com a idade, e que a circunferência da cintura e a gordura corporal aumentavam com o IMC e idade tanto em homens como em mulheres (Tabela 2).

Na Tabela 2 estão também apresentados os valores dos marcadores do estresse oxidativo obtidos no soro dos pacientes em jejum no início do estudo. Foi observado que os níveis peroxidação lipídica avaliados através da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS), encontravam-se acima do padrão da normalidade ($1,86$ a $3,94 \mu\text{M}$) em todos os pacientes sendo mais elevados nas mulheres com estado nutricional abaixo do peso ($9,1 \mu\text{M}$).

A capacidade antioxidante total medida no soro dos pacientes através de DPPH apresentou-se reduzida em todos os pacientes sendo mais reduzida nas mulheres com estado nutricional abaixo do peso. É interessante notar que entre todos os pacientes, as mulheres com estado nutricional abaixo do peso apresentaram valores maiores de TBARS e valores mais baixos da capacidade antioxidante. Estes resultados mostram que os pacientes infectados pelo vírus da hepatite C estão sob influência de estresse oxidativo e apresentam níveis baixos de enzimas antioxidantes presumivelmente pela infecção por VHC, processo inflamatório ou pelo tratamento medicamentoso, e que este quadro se agrava na vigência de baixo peso.

Após a intervenção durante 8 semanas com 500 mL/dia de suco de laranja não foi verificada modificação do estado nutricional dos pacientes abaixo do peso, normais e pré-obesos em ambos os gêneros. Da mesma forma não foram observadas alterações nas medidas antropométricas (gordura corporal, circunferência da cintura e circunferência do quadril), mostradas nas Tabelas 3. Portanto, a análise do conjunto de dados antropométricos permite afirmar que o consumo de 500 mL/dia de suco de laranja por dia durante 8 semanas não induziu modificações significativas das medidas corporais nestes pacientes.

Foi observada uma redução altamente significativa de TBARS nos pacientes com estado nutricional normal. Nos outros grupos verificou-se redução, embora não significativa. Estes resultados demonstram que a vitamina C e os flavonóides presentes no suco de laranja podem ter efeitos benéficos na redução do estresse oxidativo como consequência da resposta inflamatória por infecção pelo VHC.

Tabela 2. Características clínicas basais de homens e mulheres com hepatite C crônica classificados de acordo com o IMC e gênero e marcadores do estresse oxidativo.

Variáveis	Abaixo do Peso^a		Normal^b		Pré-Obeso^c	
	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres
N	3	2	7	5	3	3
Antropométricas						
Idade, anos	40,7 ± 5,5	43,5 ± 27,6	45,7 ± 11,6	48,0 ± 9,0	58,0 ± 3,6	52,7 ± 9,3
IMC, kg/m ²	16,6 ± 0,4	16,8 ± 1,4	22,4 ± 1,6	21,7 ± 1,8	25,6 ± 0,6	26,5 ± 1,3
Gordura Corpor, %	19,2 ± 6,4	35,0 ± 5,2	34,9 ± 12,0	40,6 ± 9,1	44,6 ± 2,7	47,9 ± 5,5
Circ. Cintura, cm	75 ± 4,5	68 ± 2,1	94 ± 7,2	85 ± 11	106 ± 1,3	108 ± 6,4
Cir. Quadril ,cm	89 ± 2,6	96 ± 2,1	102 ± 4,9	104 ± 4,9	109 ± 3,5	112 ± 0,7
Marcadores do estresse oxidativo						
TBARS	5,9 ± 2,3	9,1 ± 5,7	5,0 ± 0,8	5,5 ± 2,2	5,3 ± 0,7	5,5 ± 0,7
DPPH	13,0 ± 13,0	1,1 ± 1,6	17,5 ± 13,2	9,3 ± 6,7	15,9 ± 7,0	4,6 ± 6,4

Valores expressos como média ± dp; ^a IMC < 18,5; ^b 18,5 < IMC < 24,9; ^c 25 < IMC < 29,9 kg/m²

Os resultados da análise das variáveis antropométricas e de marcadores do estresse oxidativo dos pacientes com hepatite C crônica antes e após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Variáveis antropométricas e do estresse oxidativo de homens e mulheres com hepatite C crônica antes e após a suplementação com o suco de laranja por 8 semanas classificados de acordo com o IMC.

Variáveis	Abaixo do Peso ^a (n=5)		Normal ^b (n=12)		Pré-Obeso ^c (n=6)	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
Antropometria						
IMC, kg/m ²	16,6 ± 0,9	16,9 ± 1	22,4 ± 2	22,4 ± 1,9	26,5 ± 1	26,2 ± 1
Gordura Corporal, %	25,6 ± 10	25,2 ± 8	38,0 ± 10	34,8 ± 7	44,10	45 ± 10
Circunf. Cintura, cm	72,2 ± 5	72,4 ± 5	91,9 ± 10	93,3 ± 11	109 ± 4	108 ± 4
Circunf. Quadril, cm	91,6 ± 4	91,8 ± 4	103 ± 5	102 ± 4	111 ± 3	109 ± 2
Marcadores do Estresse oxidativo						
TBARS	7,1 ± 3,7	3,3 ± 1,7	5,1 ± 1,4	2,2 ± 1,4**	5,4 ± 0,5	4,6 ± 2,9
DPPH	8,2 ± 11,2	20,2 ± 10	14 ± 11	19 ± 9,0	10 ± 8,5	21,3 ± 4,7

Valores expressos como médias ± dp; ^a IMC < 18,5; ^b 18,5 < IMC < 24,9; ^c 25 < IMC < 29,9 kg/m² * p < 0,05; teste t pareado entre grupos de IMC

A Figura 3 ilustra o resultado da análise da capacidade antioxidante e TBARS de todos os pacientes voluntários do estudo no período antes e após a ingestão de 500 mL/dia de suco de laranja. Os resultados clínicos basais no soro dos pacientes indicaram uma média de 11,6% de capacidade oxidante e de 5,6 µM para TBARS. Após a ingestão regular de 500 mL/dia do suco de laranja observou-se um aumento significativo da capacidade antioxidante (média 19,5%) ($p > 0,05$) e uma redução significativa de peroxidação lipídica (média 2,0 µM) ($p > 0,05$) no soro dos pacientes.

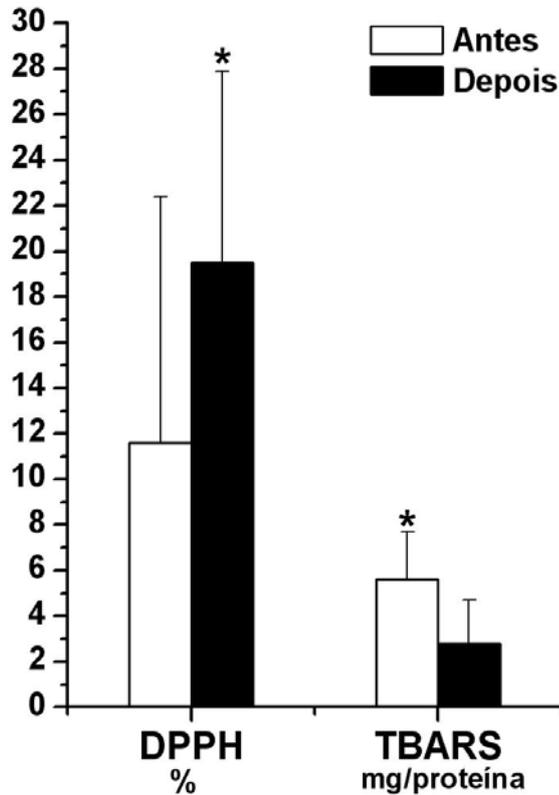


Figura 1. Concentrações séricas de DPPH e TBARS antes e após o período de ingestão do suco de laranja.

4. Discussão

Estudos mostram que a patogênese da hepatite C crônica está associada ao estresse oxidativo e distúrbios imunológicos que podem induzir a progressão para fibrose, cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular. Contudo, várias pesquisas sugerem que a terapia antioxidante e imunoestimulante podem ter efeitos benéficos em pacientes com esta enfermidade.

No início deste estudo os resultados mostraram níveis séricos significativamente elevados de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no soro dos com hepatite C crônica comparando ao período após a intervenção dietética com suco de laranja que reduziu a peroxidação lipídica no sangue. Portanto, é

razoável sugerir que os compostos antioxidantes fornecidos pelo suco de laranja, modificaram os níveis de TBARS.

Estes resultados concordam com estudo realizado por Gomez et al (2007) em que participaram 60 pacientes com hepatite C crônica, sendo avaliado o efeito do suplemento nutricional baseado em vitaminas e minerais "Viusid" sobre o estresse oxidativo e parâmetros imunológicos. Os pacientes infectados com o genótipo 1 eram não respondedores ao tratamento combinado antiviral com interferon peguilado e ribavirina. Os resultados mostraram que o suplemento reduziu os altos níveis do estresse oxidativo, produziu efeito imunomodulador na secreção de citocinas através de aumento da produção de IFN- γ e IL-10 e estabilizou a secreção de TNF- α . Os autores concluíram que o tratamento com o suplemento nutricional "Viusid" reduz o estresse oxidativo e melhora os parâmetros imunológicos de pacientes com hepatite C crônica.

Groenbaek et al (2006) estudaram 23 pacientes com hepatite C crônica fazendo suplementação diária com de vitamina C (500 mg), vitamina E (945 UI) e selênio (200 μ g) para avaliar o efeito antioxidante destes compostos sobre parâmetros do estresse oxidativo durante 6 meses. Concluíram que a suplementação com vitamina C, E e selênio aumentou a capacidade antioxidante e diminuiu os marcadores do estresse oxidativo, mas não teve efeitos sobre as transaminases e carga viral.

Gabbay et al. (2007), em seu estudo com pacientes com hepatite C crônica em tratamento, após suplementação oral com uma combinação de sete diferentes antioxidantes incluindo cápsulas de ascorbato (2000 mg/d) e vitamina E (800 IU/d), concluíram que a terapia antioxidante tem efeito na resposta inflamatória de pacientes que não respondiam ao tratamento com interferon e que a combinação de

tratamento antiviral e tratamento antioxidante tem efeito benéfico para estes pacientes.

Segundo Sanchez et al (2003), a ingestão de 500 mL/dia de suco de laranja contendo 250 mg de vitamina C durante 14 dias aumenta significativamente níveis plasmáticos de vitamina C e reduz concentrações de proteína C em 40% (de 0,25 para 0,15 mg/L) e 56% (de 0,23% para 0,10mg/L) em homens e mulheres respectivamente. Rizo et al (2005), avaliaram o consumo crônico de 600 mL/dia de suco de laranja sanguínea, uma variedade da laranja *Citrus sinensis* não observaram alterações nos níveis de TBARS.

Pieniz et al (2009) e Rao & Rao (2007) observaram existência de um amplo potencial antioxidante de algumas frutas e hortaliças sobre a peroxidação lipídica em fígado de ratos. Destacou-se entre as hortaliças com maior potencial antioxidante o espinafre, o tomate e a cebola e dentre as frutas cruas com ferro que apresentaram redução estatisticamente significativa foram a laranja, o mamão, a maçã, a uva e o morango. Concluíram ainda que pelo fato das frutas e hortaliças constituírem uma fonte importante de carotenóides da dieta humana, estas pró-vitaminas auxiliam na prevenção de doenças crônicas, como as doenças cardiovasculares e o câncer.

Murakami et al (2007) avaliaram o efeito da suplementação diária de antioxidantes (150mg de zinco, 600mg de vitamina C e 300mg de vitamina E) durante 48 semanas em pacientes com hepatite C crônica em tratamento. Eles observaram uma redução de TBARS no plasma sanguíneo, redução das transaminases e sugeriram que a suplementação com antioxidantes teve efeito na redução de danos no parênquima hepático durante o tratamento.

Melhem et al, 2005 avaliaram a eficácia de uma combinação de antioxidantes em 50 pacientes com hepatite C crônica em tratamento (*glycyrrhizin*,

schisandra, silimarina, ácido ascórbico, ácido lipóico, L-glutathiona, e vitamina E), duas vezes por semana durante 20 semanas, observaram que a combinação de antioxidantes induziam a uma resposta favorável em 48%. A normalização de enzimas ocorreu em 44% dos pacientes que tinham níveis elevados de transaminases, redução da carga viral em 25% dos pacientes, melhora no dano do parênquima hepático em 36,1%. Os autores sugeriram que a combinação de antivirais e antioxidantes é bem tolerado e presumivelmente oferecem benefícios na resposta ao tratamento dos pacientes.

Em relação aos níveis de TBARS, verificou-se que podem constituir um melhor marcador de dano oxidativo em pacientes com VHC. Por outro lado, a suplementação antioxidante, utilizando 168 mg de vitamina C conferiu uma proteção redutora nos pacientes com hepatite C crônica presumivelmente por se tratar de uma vitamina hidrossolúvel e poder atuar na primeira linha de defesa do organismo inativando os radicais livres e protegendo os constituintes celulares contra possíveis danos. A suplementação também estimulou a produção do interferon, citocinas antiinflamatórias e a proliferação dos linfócitos T (LEITE e SARNI, 2003; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2006). Esta suplementação permitiu diminuir os processos de oxidação às membranas plasmáticas.

A suplementação de antioxidantes nutricionais presentes no suco de laranja mostraram-se eficientes no sentido de atenuar o quadro de estresse oxidativo perpetuando à hepatite C crônica. Os resultados mostraram diferença significativa ($p < 0,001$) entre as médias dos períodos pré e pós a ingestão do suco de laranja, com redução do DPPH no soro dos indivíduos. Tal fato mostra um aumento na capacidade antioxidante do soro dos voluntários, devido presumivelmente à ingestão

regular do suco de laranja que pode contribuir para a prevenção ou redução do desenvolvimento de patologias associadas ao estresse oxidativo.

Este resultado concorda com Chrzczanowicz et al (2008), que mostrou um aumento na decomposição do radical DPPH após a ingestão de frutas e hortaliças, caracterizando um aumento de compostos antioxidantes no soro de consumidores.

5. Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que a ingestão regular de 500 mL/dia de suco de laranja induziu ao aumento da capacidade antioxidante e da redução da peroxidação lipídica no soro dos pacientes com hepatite C crônica devido presumivelmente à ação da antioxidante da vitamina C e das flavononas do suco de laranja.

6. Referências

- ACEIJAS, C.; RHODES, T. Global estimates of prevalence of HCV infection among injecting drug users. **Inter. J Drug Policy**, v.18, n.5, p. 352-358, 2007.
- ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. **World J. Gastroenterol.** v.13, n.17, p. 2436-2441, 2007.
- ALVES, A. V.; AZEVEDO, A. P. C.; PERIN, C.; RAMOS, G. Z; BRANDÃO, A .B. M.; MATTOS, A. A ; ALMEIDA, P. R. L. Tratamento de pacientes com hepatite crônica pelo vírus com interferon- α e ribavirina: a experiência da Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul. **Arq. Gastroenterol.**, v. 40, n. 4, p. 227-232, 2003.
- BANDARA, P. ; GEORGE, J.; MCCAUGHAN, G. Antioxidant levels in peripheral blood, disease activity and fibrotic stage in chronic hepatitis C. **Liver Int.**, v. 25, n.4, p. 518-526, 2005.
- BARBOSA, E. R. D.; FAINTUCH, J.; MOREIRA, E. A. M. Supplementation of vitamin E, C and zinc attenuates oxidative stress in burned children: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. **J. Burn Care & Res.**, 2009.
- BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Quim.Nova.**, v. 29, n. 6, p.1340-1344, 2006.
- CHRZCZANOWICZ, J.; GAWRON, A.; ZWOLINSKA, A.; GRAFT J. Simple method for determining human serum 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity – possible application in clinical studies on dietary antioxidants. **Clin.Chem. Lab. Med.**, v. 46, n. 3, p. 342–349, 2008.
- COCQUEREL, L.; VOISSET, C. ; DUBUISSON, J. Hepatitis C virus entry: potential receptors and their biological functions. **J. Gen. Virol.**, v. 87, n. , p. 1075-1084, 2006.
- COSTA, V., FERREIRA, P.M. Oxidative stress and signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae*: insights into ageing, apoptosis and diseases. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 22, p. 217-246, 2001.
- DOLGANIUC, A.; CHANG, S.; KODYS, K.; MANDREKAR, P.; BAKIS, G.; CORMIER, M. Hepatitis C virus (HCV) core protein-induced, monocyte-mediated mechanisms of reduced IFN- α and plasmacytoid dendritic cell loss in chronic HCV infection. **J. Immunol.**, v.177, n., p. 6758-6768, 2006.
- DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, v. 82, n., p.47–95, 2002.

DUBUISSON, J. Hepatitis C virus proteins. **World J. Gastroenterol.** ,v.3, p. 406 - 2415, 2007.

DUSTAN, J.; RASHIDI, M.R.; Associations between antioxidant status, markers of oxidative stress and immune responses in allergic adults. **Clin.Exp. Allergy**, v. 36, p. 993-1000, 2006.

EVANS, M. D.; COOKE, M. S. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. **Bioassays**, v. 26, p. 533-542, 2004.

EZRA , G.; ZIGMOND, E.; PAPPO, O.; HEMED, N.; ROWE, M.; ZABRECKY, G.; COHEN, R. YARON, I. Antioxidant therapy for chronic hepatitis C after failure of interferon: Results of phase II randomized, double-blind placebo controlled clinical trial **World J. Gastroenterol.**; v. 13, n. 40, p. 5317-5323, 2007.

GIANNINI, E. G.; TESTA, R.; SAVARINO, V. Liver Enzyme alteration: a guide for clinicians. **Can. Med. Assoc. Licensors**, v.3, p. 172, 2005.

GOTTO, J.; DUSHEIKO, G. Hepatitis C and treatment with pegylated interferon and ribavirin. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 36, p. 1874-77, 2004.

GRIENDLING, K. K.; FITZGERALD, G. A. Oxidative stress and cardiovascular injury, Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. **Circulation.**, v. 108, n. , p. 1912-1916, 2003.

GROENBAEK, K.; FRIIS, H.; HANSEN, M. RING, H.; KRARUP, H. B. The effect of antioxidant supplementation on hepatitis C viral load, transaminases and oxidative status: a randomized trial among chronic hepatitis C virus-infected patients. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.** , v. 18, n. 9, p. 985-999, 2006.

GUTCHER, I.; ECHER, B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. **J.Clin.Inves.**, v. 117, n. , p., 1119-1127, 2007.

JACOB, K.; PERIAGO, M. J.; BÖHM, V. Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation. **Br. J. Nutr.** , v. 99, p. 137-146, 2008.

JANSSEN, I. Overweight and obesity in Canadian adolescents and their associations with dietary habits and physical activity patterns. **J. Adolescent Health**, v. 35, n. 5, p. 360-367, 2004.

JEROME, K. R.; GRETCH, D. R. Laboratory approaches to the diagnosis of hepatitis C virus infection. **Minerva Gastroenterol. Dietol.**, v. 50, n. 1, p. 9-20, 2004.

KOIKE, K.; MIYOSHI, H. Oxidative stress and hepatitis C viral infection. **Hepatol.Res.**, v. 34, p. 65-73, 2006.

LOGUERCIO, C. ; FEDERICO, A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. **Free Rad. Biol and Med.**, v. 34, n. , p. 1-10, 2003.

MACHIDA, K.; CHENG, K. T. H.; LAI, C. K. Hepatitis C virus triggers mitochondrial permeability transition with production of reactive oxygen species, leading to DNA damage and STAT-3 activation. **J. Virol.**, v. 80, n.14, p.7199-7207, 2006.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarín. **J. Sci. Technol.**, v.26, n.2, p.211-219, 2004.

MOREL, I.; ABALEA, V.; CILLARD, P. Repair of oxidized DNA by flavonoid myricetin. **Methods Enzymol.**, v. 335, n., p. 308-316, 2001.

SILALAHÍ, J. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. **Asia Pacific J. Clin. Nutr.**, v.11, n. , p.179-84, 2002.

STRADER, D. B. ; WRIGHT, T.; THOMAS, D.L.; SEEFF, L.B. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. **Hepatology**, v. 39, p.1147-1171, 2004.

THOMAS, D. L.; ASTEMBORSKI, J.; RAI, R. M., ANANIA, F.A.; SCHAEFFER, M.; GALAI, N.; NOLT, K.; NELSON, K. E.; STRATHDEE, S. A.; JOHNSON, L.; LAEYENDECKER, O.; BOITNOTT, J.; WILSON, L. E.; VLAHOV, D. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. **The J. Am. Med. Assoc.**, v. 284, p. 450-456, 2000.

THOMAS, J. A. Estresse oxidativo e defesa contra antioxidantes. 9.ed. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença. 9 ed. Faltal Local: Editora, 2003. p.801-812.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem-Biol Inter.**, v.160, p.1-40, 2006.

YADAV, D. Serum and liver micronutrient antioxidants and serum oxidative stress in patients with chronic hepatitis C. **Am J. Gastroenterol.**, v.97, 2002.

ANEXOS

Anexo 1. Apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara



Protocolo CEP/FCF/CAr nº 27/2009

Interessado: Profa. Dra. THAIS BORGES CESAR

Projeto: Efeito da suplementação regular de suco de laranja no estado oxidativo e imunológico de pacientes com hepatite C crônica

Parecer nº 20/2010 – Comitê de Ética em Pesquisa

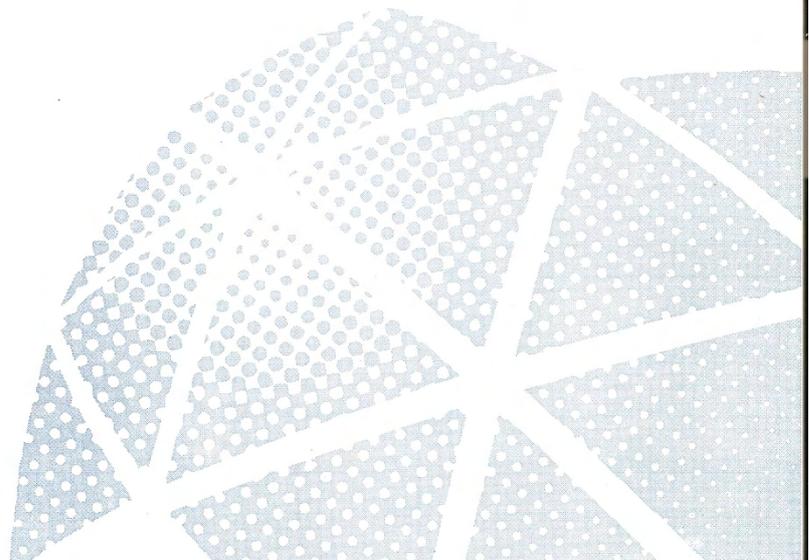
O projeto "Efeito da suplementação regular de suco de laranja no estado oxidativo e imunológico de pacientes com hepatite C crônica", encontra-se adequado em conformidade com as orientações constantes da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Por essa razão, o Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade, considerou o referido projeto estruturado dentro de padrões éticos manifestando-se FAVORAVELMENTE à sua execução.

O relatório final do projeto de pesquisa deverá ser entregue em junho de 2011, no qual deverá constar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido dos sujeitos da pesquisa.

Araraquara, 24 de junho de 2010.


Profa. Dra. AURELUCE DEMONTE
Coordenadora do CEP/FCF/CAr.



APÊNDICES

Apêndice 1. Questionário de frequência e padrão alimentar

Nome:		No.			
Idade: Data nasc.: / /		Peso:		Altura:	
Sexo: () Fem () Masc		C. Cintura:		C. Quadril:	
Raça:		Bio:		C. Punho:	
PA:		Prega Cutânea Tricipital:			
1. Que tipo de atividade física você pratica?		Com que frequência?			
			h/dia	Vezes semana	
		() regular			
		() irregular			
		() raramente			
		() não pratica			
2. Qual desses laticínios você costuma consumir?					
LEITE	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	CA=copo americano
Leite integral					CR = requeijão
Leite desengordurado					X = xícara
logurte					Cn = caneca
QUEIJOS	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês		FF= fatia fina
Branco					FM=média
Mussarela					FG=grande
Outro					
COMPLEMENTOS	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês		CS= colher sopa
Requeijão					SB= colh. sobrem.
Manteiga					Cf= colher café
Margarina					PF=ponta de faca
Outro					
3. Qual dessas fontes protéicas você costuma consumir?					
CARNES	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
Boi					PP= porção peq.
Frango					PM=média
Porco					PG=grande
Bacon					U= unidade
Peixe					
Ovos					

4. Cite quatro frutas que você mais consome.					
FRUTAS	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
1)					UP=unid. pequena.
2)					UM=média
3)					UG=grande
4)					FF/FM/FG = fatia
5. Quais destes cereais você consome?					
Cereias	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
Arroz					E = escumadeira
Macarrão					CS = colher sopa
Pão					U = unidade
Cereal Matinal					X = xícara
Milho					FF = fatia fina
Biscoitos: salg/ doce					FM = média
Bolo Comum					FG = grande
6. Quais destas leguminosas você consome?					
Leguminosas	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
Feijão					C = concha(P,M,G)
Soja					CS = colher sopa
Ervilha					
Lentilha					
Grão de bico					
7. Cite quatro hortaliças (folhas) que você mais consome.					
Hortaliças	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
1)					U=unidade
2)					P=pires
3)					CS=colher sopa
4)					
8. Cite quatro legumes que você mais consome					
Legumes	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
1)					U=unidade
2)					P=pires
3)					CS=colher sopa
4)					
9. Cite quatro tubérculos que você mais consome					
Tubérculos	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
1)					U=unidade
2)					P=pires
3)					CS=colher sopa

4)					
10. Cite três embutidos que você mais consome.					
Embutidos	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
1)					U=unidade
2)					F=fatias
3)					
4)					
11. Quais dos adoçantes abaixo você geralmente consome?					
Adoçantes	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	G = gota
Açúcar					CS= colher sopa
Mel					SB= colh. sobrem
Adoçante Artificial					Cf = colher café
Outro					PC= pacotinho
12. Quais das bebidas abaixo você geralmente consome?					
Bebidas	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
Café					CA = copo americ
Chá					CR = requieirão
Refrigerantes					X = xícara
Refrigerante light					Cn = caneca
Suco natural					Tç = taça
Suco artificial					Ds = dose
Cerveja					Lg = longuinete
Bebidas "Ice"					Lt = lata
Vinho					
Destilados					
13. Quais "snacks" ou "lanchinhos" você consome entre as refeições?					
Snacks	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	
Balas					PP= porção peq.
Chicletes					PM=média
Chocolates					PG=grande
Biscoitos recheados					
Biscoitos salgados					U= unidade
Coxinha					UP = pequena
Empadinha					UM = média
Esfirra					UG = grande
Pão de queijo					
Batata Chips					P5= pacote 50g
Salgadinhos (extrusado)					P100= pac. 100g
Outros					
14. Você costuma comer doces? Cite os três mais consumidos.					

Doces	vez/dia	vez/semana	1-2x/mês	Qtd/vez	FF/ FM / FG = fatia
1)					PP= porção peq.
2)					PM=média
3)					PG=grande
					U= unidade
14. Se você faz suas refeições em casa durante a semana, qual é o consumo mensal de					
	Qtd	N ^o de pessoas na casa:		Consumo per/capita	
Sal (kg)					
Açúcar (kg)					
Óleo (latas)					
17. Qual é o seu padrão de refeição durante a semana?					
Café da Manhã horário:					
Lanche da Manhã horário:					
Almoço horário:					
Lanche da Tarde horário:					
Jantar horário:					
Ceia horário:					
18. Que modificações ocorrem no seu padrão alimentar nos finais de semana?					
Horário das refeições:					
Pular refeições:					
Preparações diferentes:					
Locais diferentes dos usuais:					

Apêndice 2. Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Eu,.....,.....

 RG....., estado civil
 idade
residente.....

 rua.....
 bairro
cidade.....
 telefones de contato,
 declaro ter sido orientado e esclarecido sobre o protocolo de pesquisa a seguir:

Neste estudo será avaliado se a ingestão diária de suco de laranja ajudará a fortalecer o sistema de defesa do meu corpo, a reduzir os efeitos da Hepatite C crônica e a melhorar a minha nutrição.

Que serei submetido à avaliação física, médica e nutricional, em duas ocasiões, no início e final do estudo e responderei perguntas relativas à saúde pessoal e à dieta consumida por mim com relativa frequência através de questões.

Que poderei quando necessário esclarecer minhas dúvidas em relação à pesquisa e receberei a orientação dietética adequada.

Que deverei tomar meio litro de suco de laranja (500 mL) diariamente durante 60 dias, que será cedido sem qualquer ônus para mim.

Que terei de doar 30 mL de sangue em duas ocasiões (total de 60 mL), uma no início e outra no final do tratamento para exames bioquímicos e imunológicos. O local da coleta será o Laboratório do SESA localizada na Rua Itália nº 1617, Centro - Araraquara, SP.

Que a pesquisa terá a duração de 60 dias e minha participação será voluntária e livre de qualquer ônus, inclusive receberei

ressarcimento do deslocamento referente a transportes para os 2 dias de consultas agendadas e coleta de sangue.

Que durante a pesquisa eu estarei sob tratamento medicamentoso com Interferon Peguilado associado à Ribaverina, e se interromper a medicação informarei imediatamente aos pesquisadores sobre esta nova condição de saúde.

Que não corro nenhum risco ao participar desta pesquisa, apenas terei o desconforto das coletas de sangue, e que todos os materiais utilizados serão descartáveis.

Que concordo em retornar ao laboratório toda vez que for solicitado pelos pesquisadores, com eventuais ressarcimentos de despesas com transporte.

Que os procedimentos que estou sendo submetido não acarretarão qualquer dano físico ou financeiro e por isso não haverá necessidade de ser indenizado por parte da equipe ou instituição responsável por essa pesquisa (FCF/UNESP).

Que meu nome será mantido em sigilo, assegurando, assim, minha privacidade e se desejar, receberei informações sobre o resultado da pesquisa.

Que poderei desistir da pesquisa em qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou penalização, mas que avisarei os pesquisadores se isto ocorrer.

Que a notificação de qualquer situação de anormalidade relacionada à pesquisa, eu deverei entrar em contato com a equipe científica pelo telefone (16) 3301-6927 ou como o Comitê de Ética em Pesquisa da FCFAR-UNESP pelo telefone (16) 3301-6897 (falar com Delfina).

Pelo presente esclarecimento, concordo em participar do estudo: **“Efeito da suplementação regular de suco de laranja no estado oxidativo e imunológico de pacientes com hepatite C crônica”**, sob responsabilidade da Profa. Dra. Thais Borges César.

Assinatura do paciente voluntário: _____

