

**Livia Pavan Barboza Nunes**

**Avaliação do estresse oxidativo e do estado nutricional de pacientes  
com hepatite C crônica suplementados com suco de laranja**

Araraquara  
2011

**Livia Pavan Barboza Nunes**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Campus de Araraquara**

**Avaliação do estresse oxidativo e do estado nutricional de pacientes com hepatite C crônica suplementados com suco de laranja**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de Farmacêutico-Bioquímico.**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Thaís Borges César**

Araraquara  
2011

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais e à minha irmã pelo apoio, companheirismo e dedicação durante todos os anos da minha vida.

Às minhas amigas de Araraquara por estarem presentes nos momentos felizes e difíceis durante o período de estudos na Faculdade.

Ao meu namorado pelo incentivo, carinho e respeito.

Gostaria de agradecer à minha orientadora pela dedicação, apoio e pela ótima orientação.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	9
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivo geral .....	12
2.2. Objetivos específicos .....	12
3. DESENVOLVIMENTO .....	13
3.1. Casuística.....	13
4. MÉTODOS.....	14
4.1. Desenho Experimental .....	14
4.2. Avaliação antropométrica .....	14
4.3. Bioimpedância elétrica .....	15
4.4. Avaliação dietética.....	15
4.5. Colheita de sangue .....	15
4.6. Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS) .....	16
4.7. Avaliação da atividade antioxidante (DPPH) .....	16
4.8. Análise Estatística.....	17
5. RESULTADOS.....	18
5.1. População do estudo .....	18
5.2. Variáveis antropométricas .....	18
5.3. Ingestão dietética de energia e nutrientes .....	19
5.4. Avaliação da Peroxidação Lipídica (TBARS) e atividade antioxidante (DPPH).....	21
6. DISCUSSÃO.....	23
7. CONCLUSÃO .....	26
8. BIBLIOGRAFIA.....	27

## RESUMO

A patogênese da hepatite C crônica esta relacionada à presença de danos hepáticos, imunológicos e citotóxicos mediados por diferentes produtos virais e resultantes do estresse oxidativo. Assim, pacientes com hepatite C crônica, mesmo sob tratamento medicamentoso, apresentam níveis elevados de marcadores do estresse oxidativo no sangue e tecidos corpóreos. A suplementação com compostos antioxidantes, como zinco, selênio e vitaminas C e E tem sido sugerida como parte do tratamento para reduzir o estresse oxidativo nestes pacientes. O objetivo deste projeto foi avaliar o estado nutricional e o estresse oxidativo de pacientes com hepatite C crônica após a suplementação regular e contínua com suco de laranja, baseado no alto teor de substâncias antioxidantes deste alimento. A avaliação nutricional constou de medidas antropométricas e de ingestão dietética, e o estresse oxidativo foi avaliado por marcadores séricos da lipoperoxidação (níveis de TBARS) e do teor de substâncias antioxidantes (DPPH), antes e após a suplementação com o suco de laranja. Os resultados indicaram que não foram notadas diferenças significativas nos valores de IMC, percentual de gordura corporal e circunferência da cintura antes e após o período de suplementação com suco de laranja, tanto para homens quanto para mulheres. Após o período de suplementação com o alimento, observou-se um aumento significativo de 19% e 27% na ingestão média de energia em homens e mulheres, respectivamente. Entretanto, não foi observado diferença significativa no consumo de macronutrientes antes e após a suplementação. Em relação aos micronutrientes, foi detectado um aumento significativo de vitamina C de 211% para mulheres e 190% para os homens e o folato aumentou significativamente em 53% para as mulheres e 52% para os homens. Após o período de suplementação com suco de laranja, observou-se um aumento significativo da capacidade antioxidante para 19,5% e uma redução altamente significativa da peroxidação lipídica para 2,88

$\mu\text{M}$  de MDA no soro dos pacientes. Portanto, a adição do suco de laranja melhorou a ingestão energética e a qualidade nutricional da dieta dos pacientes com hepatite C crônica, sem contudo alterar significativamente suas medidas corporais. Além disso, os compostos antioxidantes (vitamina C e flavonóides) presentes no alimento mostraram efeitos benéficos na redução do estresse oxidativo.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

Figura 1: Reação entre o MDA e o TBA .....	16
Figura 2: Reação entre o radical DPPH e o antioxidante .....	17
Figura 3: Concentrações séricas de DPPH e TBARS antes e após o período de suplementação com suco de laranja .....	22

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Variáveis antropométricas de mulheres e homens com hepatite C crônica antes e após a suplementação diária por 8 semanas com o suco de laranja .....	18
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 .....	20
Tabela 3: Marcadores do estresse oxidativo dos pacientes (n=23) com hepatite C crônica antes e após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja .....	22



## **LISTA DE SIGLAS**

CAT: Catalase

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

DNA: Ácido desoxirribonucléico

DPPH: 2,2-difenil-1-picril hidrazil

GPx: Glutathione peroxidase

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

MDA: Malonaldeído

RNA: Acido ribonucléico

SOD: Superóxido Dismutase

TBARS: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

VHC: Vírus da Hepatite C

## 1. INTRODUÇÃO

Uma fonte alimentar presente na dieta humana muito rica em antioxidantes é o suco de laranja que contém alto teor de vitamina C, folato, potássio e flavanonas, que conferem ação funcional ao alimento<sup>1</sup>. Estudos demonstram que o suco de laranja pode reduzir a hipertensão, e o colesterol total e LDL-colesterol, caracterizando uma atividade hipocolesterolêmica, e que está associado à prevenção do estresse oxidativo, atividade anti-inflamatória e redução da resistência à insulina<sup>1,2</sup>. Além disso, o consumo regular de suco de laranja pode estar associado a menor prevalência de obesidade e sobrepeso<sup>3</sup>. As frutas cítricas, incluindo o suco de laranja, são fontes dos flavonóides hesperidina e naringina que protegem contra o câncer, aterosclerose, além de possuir ação cardioprotetora indireta<sup>4</sup>. Estudos indicam que uma dieta com frutas cítricas em abundância reduz o risco de desenvolvimento de doenças crônicas, previne o câncer e doenças cardiovasculares<sup>1</sup>.

A hepatite C é uma doença infecciosa transmitida pelo sangue, causada pelo vírus VHC e considerada como a grande pandemia do século XXI. Representa um problema importante à saúde pública, com grande impacto sócio-econômico, devido a sua larga distribuição geográfica e ao enorme número de indivíduos infectados pelo mundo, cerca de 170 milhões segundo a Organização Mundial de Saúde<sup>5</sup>. Além disso, é a principal causa de doença crônica de fígado, estando relacionada ao aparecimento de graves afecções hepáticas, morbidez e diminuição da qualidade de vida das pessoas infectadas<sup>5,6,7</sup>.

O vírus VHC é um vírus esférico, envelopado, com diâmetro de aproximadamente 55 a 65 nm, pertencente ao gênero *Hepacivirus*, família *Flaviviridae*, e que apresenta RNA simples com polaridade positiva<sup>8,9,10</sup>. O VHC é classificado em seis genótipos (tipos 1 a 6), enquanto que cada um destes é constituído por vários subtipos<sup>8</sup>. A exposição primária ao vírus VHC, leva a uma

infecção aguda que geralmente é assintomática. Estima-se que somente 20 a 30% das pessoas com hepatite C aguda desenvolvem manifestações clínicas que incluem mal-estar, náuseas, dor abdominal, icterícia e urina escura<sup>11</sup>.

Estudos prospectivos indicam que a infecção se resolve de forma espontânea em aproximadamente 15 a 30% dos indivíduos e que eventualmente pode estar associada à hepatite fulminante. Entretanto, 70 a 80% dos pacientes com hepatite C aguda desenvolvem uma viremia persistente, caracterizando a hepatite C crônica. A maioria dos pacientes portadores de hepatite C crônica são assintomáticos, apesar de uma grande porcentagem destes apresentarem evidências bioquímicas e histológicas de uma doença progressiva<sup>12</sup>.

A hepatite C crônica está associada ao desenvolvimento de diversas doenças hepáticas como inflamação e dano tecidual, esteatose, fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular, além de poder desencadear sérias manifestações extrahepáticas, como vasculite, distúrbios linfoproliferativos, resistência à insulina, diabetes tipo 2, depressão, artrite reumatóide e produção de autoanticorpos<sup>7</sup>.

Alguns dos principais mecanismos envolvidos na patogenicidade da hepatite C são: (a) a resposta imune do hospedeiro, uma das principais causas de dano tecidual hepático<sup>13</sup>, (b) alterações celulares e interferência no sistema imune do hospedeiro, ocasionadas por produtos da expressão gênica do VHC e (c) estresse oxidativo, induzido diretamente pelo vírus ou indiretamente através da ativação da resposta inflamatória<sup>14</sup>.

O estresse oxidativo pode ocasionar conseqüências graves às biomoléculas do organismo como quebra de DNA e RNA, o que pode induzir um processo mutagênico e desencadear oncogênese, perda e/ou alteração de atividade enzimática<sup>15</sup>, peroxidação lipídica, a qual está associada à alteração da estrutura e ruptura de membranas celulares, formação de produtos citotóxicos, morte celular e aterosclerose<sup>16</sup>. O excesso de radicais livres no organismo é

neutralizado por antioxidantes produzidos pelo corpo ou adquiridos através da dieta. Os primeiros podem agir enzimaticamente (CAT, SOD, GPx) ou não enzimaticamente (glutathiona, peptídeos de histidina) e os últimos são representados principalmente pela vitaminas A, E e C e compostos fenólicos como flavonóides e poliflavonóides<sup>15</sup>.

Doenças hepáticas crônicas ocasionam alterações metabólicas de macronutrientes e resultam em grande impacto nutricional, sendo a presença de desnutrição elevada nessas doenças<sup>17</sup>. Aceita-se que o principal agente causador de desnutrição é a diminuição da ingestão alimentar, entretanto há contribuição também da má absorção e digestão de nutrientes e dos efeitos colaterais do tratamento medicamentoso<sup>17,18</sup>. Portanto, avaliações nutricionais e intervenções dietéticas podem auxiliar no controle do estado nutricional em pacientes com doença hepática crônica, reduzir complicações, hospitalizações, custos e melhorar a qualidade de vida, além de contribuírem para vigilância e reversão dos quadros de desnutrição, controle do peso corporal em indivíduos eutróficos e redução do peso em obesos<sup>17,19</sup>.

A hipótese deste trabalho se fundamenta nas propriedades nutricionais e funcionais do suco de laranja que apresenta efeito benéfico aos consumidores regulares deste alimento. Sendo assim, pretendeu-se avaliar o estado nutricional e os marcadores antioxidantes de pacientes crônicos VHC, objetivando visualizar se a intervenção dietética com o suco de laranja melhora o estado nutricional reduzindo os quadros de desnutrição, o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica no sangue destes indivíduos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o estado oxidativo e nutricional de pacientes com hepatite C crônica antes e após a intervenção dietética com 500mL/dia de suco de laranja.

### **2.2. Objetivos específicos**

Avaliação dos parâmetros nutricionais e do estresse oxidativo, antes e após a intervenção dietética, especificados a seguir:

#### **Avaliação da ingestão dietética**

- Aplicação do Recordatório Alimentar de 24 horas no início e ao final do experimento.

#### **Avaliação antropométrica**

- Peso (kg), altura (cm), Índice de Massa Corporal (IMC).
- Bioimpedância elétrica (massa magra).
- Circunferência da cintura (risco cardiovascular).

#### **Avaliação de variáveis do estresse oxidativo no sangue**

- Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS).
- Avaliação da atividade antioxidante (DPPH).

### **3. DESENVOLVIMENTO**

#### **3.1. Casuística**

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.

## **4. MÉTODOS**

### **4.1. Desenho Experimental**

Os pacientes selecionados foram entrevistados para a avaliação dietética antes do início do consumo de suco de laranja (semana zero). Nesta ocasião, também foi feita a avaliação antropométrica, Bioimpedância Elétrica e houve a primeira colheita de sangue para a avaliação dos marcadores do estresse oxidativo. Nas 8 semanas seguintes, os participantes ingeriram 500mL de suco de laranja diariamente, incluindo finais de semana, distribuídos durante as principais refeições do dia. Na 9<sup>o</sup> semana, após o período de intervenção dietética com suco de laranja, os indivíduos foram submetidos aos mesmos procedimentos realizados na semana 0.

O suco de laranja pasteurizado foi distribuído semanalmente entre os participantes, sem qualquer custo, e foi mantido sob refrigeração (4°C) até o consumo.

### **4.2. Avaliação antropométrica**

As medidas antropométricas do peso, estatura e circunferência da cintura foram realizadas na semana anterior ao início do consumo do suco de laranja (semana zero) e imediatamente após o período de consumo do alimento (9<sup>o</sup> semana). A pesagem foi realizada com o indivíduo imóvel, sem sapatos e com roupas leves, em balança digital, com capacidade de 150 kg e divisão de 100g. A altura foi registrada em metros e obtida a partir da fixação de uma fita inelástica em uma parede a 100 cm do chão, onde os participantes estavam em pé, descalços, com os calcanhares juntos, costas retas e os braços estendidos ao lado do corpo.

A medida da circunferência abdominal foi realizada com o indivíduo em pé, utilizando-se uma fita métrica não extensível, circulando a linha natural da cintura, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. A medida foi feita no momento da expiração.

#### **4.3. Bioimpedância elétrica**

A bioimpedância elétrica foi realizada com indivíduo deitado, em repouso, e após 12 horas de jejum. Dois eletrodos plestimógrafos, um distal e outro proximal, conectados ao equipamento de bioimpedância (Biodynamics Modelo 450, II, EUA), foram colocados em locais específicos da mão e do pé no lado dominante do indivíduo. Em seguida foi aplicada uma corrente de baixa intensidade (800  $\mu$ A a 50 khz) obtendo-se valores de resistência e reactância à passagem da corrente elétrica pelo corpo.

#### **4.4. Avaliação dietética**

Para a avaliação dietética foi utilizado o Recordatório Alimentar de 24 horas, já validado em experimentos anteriores<sup>20</sup>, que foi aplicado na semana zero e na 9<sup>o</sup> semana do experimento. A análise dos dados da ingestão de energia, de macronutrientes e micronutrientes foi realizada utilizando o programa “Nut Win”, versão 3.1 da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP.

#### **4.5. Colheita de sangue**

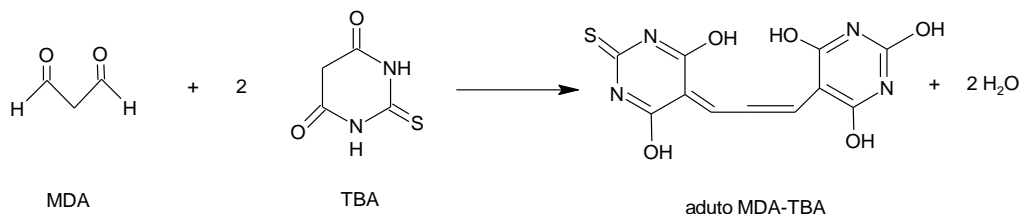
Uma amostra de 20 mL de sangue de cada voluntário foi colhida em jejum de 12 horas no período da manhã. Cada indivíduo compareceu em duas ocasiões para a colheita de sangue: na semana zero e na 9<sup>o</sup> semana do experimento. O soro, obtido por centrifugação das amostras de



sangue (10 mL por indivíduo), foi armazenado em tubos e posteriormente utilizado nas análises dos marcadores do estresse oxidativo.

#### 4.6. Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS)

A peroxidação lipídica foi avaliada no soro dos pacientes, antes e após o tratamento com suco de laranja, pela quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo a metodologia de Yagi (1998)<sup>21</sup>. O sangue obtido de cada paciente foi centrifugado para obtenção do soro. O nível de peroxidação lipídica normal no soro humano varia de 1,86 a 3,94  $\mu\text{M}$ , expressos em termos de malondialdeído ou 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 absorvância medida em espectrofotômetro a 535nm.



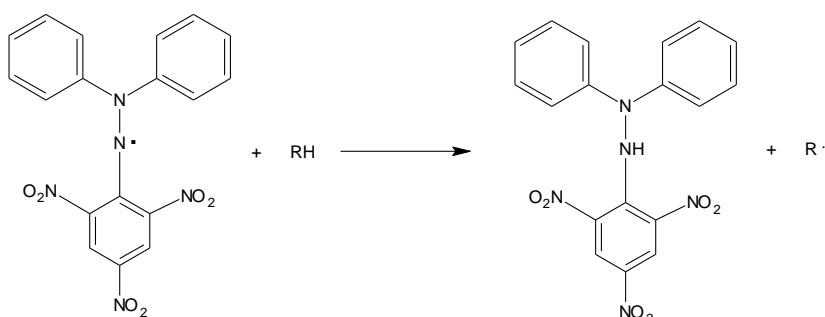
**Figura 1: Reação entre o MDA e o TBA**

#### 4.7. Avaliação da atividade antioxidante (DPPH)

A atividade antioxidante foi avaliada no soro dos pacientes, antes e após o tratamento com o suco de laranja, medindo-se a capacidade antioxidante segundo o método DPPH·descrito por Chrzczanowicz (2008)<sup>22</sup>. O princípio do método é baseado na captura do radical DPPH· por antioxidantes do soro, produzindo um decréscimo da absorvância 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 517nm e uma coloração violeta. A coloração violeta muda para amarela quando a absorvidade 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<sup>23</sup>.



**Figura 2: Reação entre o radical DPPH e o antioxidante**

#### 4.8. Análise Estatística

A análise dos resultados foi realizada com 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.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. População do estudo

Todos os voluntários relacionados no início deste estudo e residentes de Araraquara e arredores finalizaram o experimento, totalizando 23 pacientes, 13 do sexo masculino e 10 do sexo feminino, com idade de  $48 \pm 11$  anos, diagnosticados e acompanhados pelo SESA.

### 5.2. Variáveis antropométricas

As características antropométricas dos voluntários de acordo com o gênero, antes e após a suplementação com suco de laranja, estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Variáveis antropométricas de mulheres e homens com hepatite C crônica antes e após a suplementação diária por 8 semanas com o suco de laranja.

<i>Variáveis Antropométricas</i>	<b>Mulheres (n=10)</b>		<b>Homens (n=13)</b>	
	<b>Antes</b>	<b>Após</b>	<b>Antes</b>	<b>Após</b>
IMC, kg/m <sup>2</sup>	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
Circunferência da Cintura, cm	88,5 ± 17,3	88,6 ± 17,0	92,3 ± 12,2	92,7 ± 12,7

*Valores expressos como médias ± d.p.*

A distribuição do IMC apontou que doze indivíduos (homens e mulheres) apresentavam estado nutricional normal ( $18,5 < \text{IMC} < 24,9 \text{ kg/m}^2$ ), cinco indivíduos apresentavam baixo peso ( $\text{IMC} < 18 \text{ kg/m}^2$ ) e seis pacientes apresentavam pré-obesidade ( $25 < \text{IMC} < 29,9 \text{ kg/m}^2$ ). Não foram

notadas diferenças significativas dos valores de IMC antes e após a suplementação com o suco de laranja tanto para homens como para mulheres.

A média do percentual da gordura corporal das mulheres e homens, antes e após o período de suplementação com suco de laranja, estava acima dos valores de referência<sup>24</sup> (23% para mulheres e 15% para homens) para a faixa etária em ambos os sexos. Também não houve modificações significativas neste parâmetro com a ingestão de suco de laranja durante o período experimental.

As determinações da circunferência da cintura de homens e mulheres também não mostraram modificações significativas ao longo do período experimental, sendo que os valores médios apresentavam-se acima dos valores de referência<sup>25</sup> (80cm para mulheres e 90cm para homens), mostrando aumento de risco para doenças associadas à obesidade abdominal.

### **5.3. Ingestão dietética de energia e nutrientes**

Os resultados obtidos referentes à ingestão dietética de energia e nutrientes, antes e após o período de suplementação com suco de laranja, estão descritos na Tabela 2. Após o período de suplementação observou-se um aumento significativo de 19% e 27% na ingestão média de energia em homens e mulheres, respectivamente. Não foi observado, entretanto, diferença significativa no consumo de macronutrientes antes e após a suplementação, embora tenha sido observado um aumento absoluto na quantidade ingerida de carboidratos, proteínas e lipídeos, o que resultou no aumento observada de energia. A não significância desta alteração se deveu provavelmente a distribuição parcial em todos os macronutrientes.

Em relação aos micronutrientes, foi detectado um aumento significativo de vitamina C de 211% para mulheres e 190% para os homens e o folato aumentou significativamente em 53% para as mulheres e 52% para os homens (Tabela 2).

**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)

#### **5.4. Avaliação da Peroxidação Lipídica (TBARS) e atividade antioxidante (DPPH)**

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados dos marcadores do estresse oxidativo dos pacientes, antes e após a suplementação com suco de laranja. No período anterior à suplementação com o suco de laranja os níveis de peroxidação lipídica no soro dos pacientes, avaliados pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS), mostrou-se acima do padrão da normalidade (1,86 a 3,94  $\mu\text{M}$ )<sup>1</sup>, verificando um estado elevado de lipoperoxidação. Opostamente, a capacidade antioxidante total, medida no soro dos pacientes por meio do teste de DPPH, estava significativamente reduzida antes da suplementação com o suco de laranja, indicando uma capacidade reduzida de combate aos radicais livres.

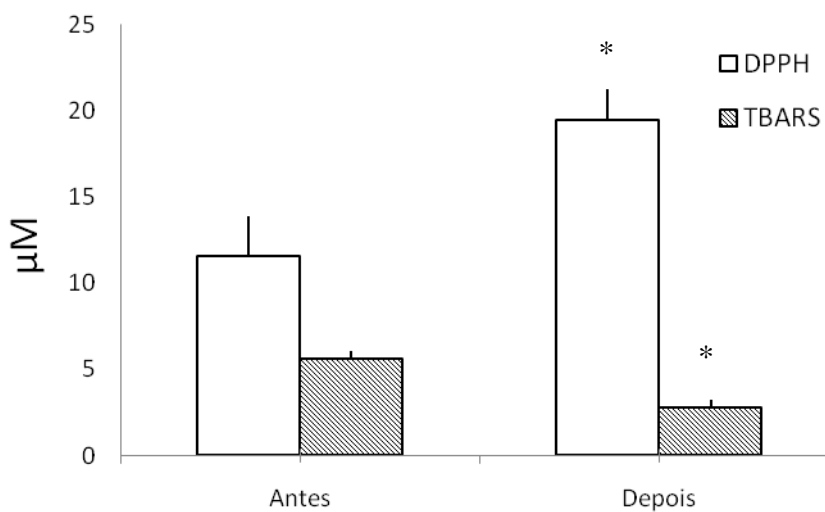
Os resultados clínicos basais no soro dos pacientes indicaram uma média de 5,7  $\mu\text{M}$  da peroxidação lipídica e de 12,1% de capacidade antioxidante, anteriormente ao período de ingestão regular de 500 mL/dia de suco de laranja. Após o período de suplementação com o alimento, observou-se um aumento significativo da capacidade antioxidante para 19,5% ( $p < 0,05$ ) e uma redução altamente significativa da peroxidação lipídica para 2,88  $\mu\text{M}$  de MDA ( $p < 0,01$ ) no soro dos pacientes.

**Tabela 3.** Marcadores do estresse oxidativo dos pacientes (n=23) com hepatite C crônica antes e após a suplementação por 8 semanas com o suco de laranja.

Marcadores do Estresse Oxidativo	Antes	Após
DPPH	12,08 ± 10,75	19,5 ± 8.49*
TBARS	5,66 ± 2,14	2,88 ± 1.94**

*Valores expressos como médias ± d.p.*

*\*p<0,05 e \*\*p<0,01*



**Figura 3:** Concentrações séricas de DPPH e TBARS antes e após o período de suplementação com suco de laranja. Valores são média e desvio padrão da média.

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo, a avaliação antropométrica dos pacientes no período anterior à suplementação com suco de laranja apontou que 52,1% dos pacientes apresentavam estado nutricional normal, 21,7% dos pacientes apresentavam baixo peso e 26% dos pacientes apresentavam pré-obesidade. Após o período de suplementação não foi observada alteração no estado nutricional dos pacientes e nem nas medidas de gordura corporal e circunferência da cintura, apesar do teor de energia ter aumentado significativamente na dieta dos pacientes. Uma explicação seria que os pacientes substituíram outros alimentos consumidos anteriormente pelo suco de laranja resultando num consumo equiparado de calorias, por exemplo, com a redução de lanches entre as refeições e alimentos extras, como chocolates e doces (dados de frequência alimentar não exibidos).

Embora tenha sido observado que a ingestão regular de suco de laranja aumentou o consumo energético, este se refletiu parcialmente em incrementos não significativos na ingestão de todas as classes de macronutrientes. É sabido que o uso crônico de medicamentos para o controle da infecção pelo VHC causa inúmeros sinais e sintomas, entre eles a anorexia que leva a deficiência de energia e nutrientes e ao baixo peso. Desta forma, estes pequenos incrementos no consumo significaram certamente para os indivíduos com baixo peso, uma melhoria na ingestão de nutrientes essenciais e energia, o que a longo prazo pode levar a um melhor estado nutricional. Porém, para a grande maioria dos indivíduos, eutróficos e alguns com sobrepeso, a suplementação com suco de laranja trouxe o benefício do consumo aumentado de vitaminas e sais minerais, que não se refletiu no aumento de peso corporal.

Em geral, estes resultados concordam com estudos anteriores onde foi mostrado que indivíduos eutróficos e com sobrepeso, submetidos à suplementação crônica de 500 a 750mL de



suco de laranja, não modificou as variáveis antropométricas ao final de um período crônico de suplementação<sup>20,26</sup>.

Em relação à ingestão de micronutrientes foi observado aumento significativo do consumo médio de vitamina C e folato em homens e mulheres. Esses resultados se devem provavelmente à inclusão do suco de laranja na dieta dos pacientes que é um alimento fonte nestes nutrientes. Portanto, o suco de laranja elevou a qualidade nutricional da dieta dos pacientes, podendo ser utilizado rotineiramente como um suplemento alimentar de baixo custo.

Os resultados do estresse oxidativo avaliados neste estudo mostraram que os pacientes infectados com o VHC apresentavam antes da suplementação com o suco de laranja, elevados níveis de peroxidação lipídica e baixa capacidade antioxidante, compatível com a hipótese de que a infecção crônica provoca um esgotamento das reservas antioxidantes do organismo. Neste sentido, o suco de laranja, apresentou-se como uma alternativa alimentar para suprir compostos com propriedades antioxidantes.

Após o período de oito semanas com a suplementação de suco de laranja foi observada uma melhoria significativa na capacidade antioxidante e redução da peroxidação lipídica sérica dos pacientes com hepatite C crônica. Provavelmente esta melhora no estado de estresse oxidativo se deveu em parte ao aporte elevado de vitamina C (168mg/500mL/dia)<sup>27</sup> fornecido pelo suco de laranja.

Evidências epidemiológicas demonstram que a ingestão de quantidades elevadas de vitamina C podem ajudar a reduzir o risco de doenças associadas ao estresse oxidativo<sup>29</sup>. Esta vitamina, encontrada nos compartimentos aquosos dos tecidos orgânicos, é conhecida pela sua potente capacidade antioxidante, com a habilidade de doar elétrons, provocando a redução de substâncias oxidantes e de radicais livres, o que protege o organismo dos danos oxidativos ocasionados por essas espécies<sup>15,28</sup>.

Adicionalmente, os flavonóides cítricos, constituintes do suco de laranja (54,6mg de hesperitina e 10,6mg de naringenina em 500mL), conhecidos por suas propriedades antioxidantes foram também coadjuvantes no efeito protetor contra o estresse oxidativo<sup>29,30</sup>.

Trabalhos anteriores tem mostrado que a naringenina atua no metabolismo dos hepatócitos infectados com VHC, inibindo a secreção viral do VHC-core e VHC-RNA para a circulação e com isso reduz o ciclo de vida do vírus e a infecção<sup>31</sup>.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que os compostos antioxidantes (vitamina C e flavonóides) presentes no suco de laranja mostraram efeitos benéficos na redução da lipoperoxidação lipídica e aumento da capacidade antioxidante frente ao estresse oxidativo resultante da resposta inflamatória decorrente da infecção pelo VHC. Também, a adição do suco de laranja melhorou a ingestão energética, com um pequeno, mas significativo aumento do consumo energético e um aumento significativo no consumo de vitamina C e folato, sem contudo alterar significativamente as medidas corporais dos pacientes com hepatite C crônica.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. NASSER, A.L.M., Dourado, G.K.1; Manjate, D.A.1; Carlos, I.Z.2; Cesar, T.B. Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, 32(2):00-00. 2011.
2. GHANIM, H., SIA, C.L., UPADHYAY, M., KORZENIEWSKI, K., VISWANATHAN, P., ABUAYSHEH, S., MOHANTY, P., DANDONA, P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. **Am. J. Clin. Nutr.**, 91(4):940-9. 2010.
3. BONIFÁCIO, N.P., CÉSAR, T.B. Influência da ingestão crônica do suco de laranja na pressão arterial e na composição corporal. **Ver. Brás. Hipertens.**, 16(2):76-81, 2009.
4. CÉSAR, T.B., RODRIGUES, L.U., ARAÚJO, M. S. P., APTEKMANN, N. P. Suco de laranja reduz o colesterol em indivíduos normolipidêmicos. **Rev. Nutr.**, 23(5):779-789. 2010.
5. PASSOS, A.D.C. Aspectos epidemiológicos das hepatites virais. *Medicina*, Ribeirão Preto. 2003; 36: 30-36.
6. ALBERTI, A., BENVENIGNU, L. Management of hepatitis C. **Journal of Hepatology**, 38: 104–118. 2003.
7. JACOBSON, I.M., CACOUB, P., DAL MASO, L., HARRISON, SA., YOUNOSSI, Z.M. Manifestations of Chronic Hepatitis C Virus Infection Beyond the Liver. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.**, 8(12):1017-29. 2010.
8. Medscape Reference. Hepatitis C. Disponível em <http://emedicine.medscape.com/article/177792-overview#a0199>. Acesso em 15/07/2011.
9. FIELDS, B.N., HOWLEY, P.M., GRIFFIN, D.E., et al. **Fields Virology**. 5ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2007. v.1. p.1254,1255.

10. BARTENSCHLAGER, R., BÜHLER, S. Hepatitis C Vírus. **Encyclopedia of Virology**, Suppl 3:367-374. 2008.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Hepatitis C Information for Healthy Professionals. Disponível em <http://www.cdc.gov/hepatitis/HCV/HCVfaq.htm#b7>. Acesso em 15/07/2011.
12. FIELDS, B.N., HOWLEY, P.M., GRIFFIN, D.E., et al. **Fields Virology**. 5ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2007. v.1. p.1284-1287.
13. LOGUERCIO, C., FEDERICO, A. Oxidative Stress in Viral and Alcoholic Hepatitis. **Free Radical Biology & Medicine**, v.34, n.1, p.1–10, 2003.
14. BOYER, N., MARCELLIN, C. Pathogenesis, Diagnosis and Management of Hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v.32(1): 98-112. 2000.
15. BARREIROS, A.L.B.S., DAVID, J.M. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.
16. FERREIRA, A.L.A., MATSURUBA, L.S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.43, n.1, 1997.
17. MAIO, R., DICHI, J.B., BURINI, R.C. Conseqüências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. **Arq. Gastroenterol.**, v.37, n.1, p.52-57, 2000.
18. MONTEIRO, J. P. Consumo alimentar visualizando porções. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
19. MANJATE, D.A. Intervenção dietética com suco de laranja sobre o estado nutricional e oxidativo em pacientes com hepatite C crônica. 2011. 99f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara. 2011.

20. GARCIA, A.C., BONIFÁCIO N.P., VENDRAMINE, R.C., CÉSAR, T.B. Influência do suco de laranja nos lípides sanguíneos e na composição corporal de homens normais e com dislipidemia. **Nutrire**, v.33, p.01-11, 2008.
21. YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. **Methods Mol. Biol.**, 108:101-6. 1998.
22. CHRZCZANOWICZ, J., GAWRON, A., ZWOLINSKA, A., GRAFT-JOHNSON, J., KRAJEWSKI, W., KROL, M., MARKOWSKI, J., KOSTKA, T., NOWAK, D. 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.**, 46(3):342–9. 2008.
23. MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **J. Sci. Technol.**, 26(2):211-9. 2004.
24. LOHMAN, T.G., ROCHE, A.F, MARTORELL, R. Anthropometric standardization reference manual. Abridged, 1991.
25. IDF. International Diabetes Federation. Alberti, K.G., Zimmet, P., Shaw, J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. **Diabet. Med.**, p. 469-480, 2006.
26. KUROWSKA EM, MANTHEY JA. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. **J. Agric. Food Chem.**, 52(10):2879-86. 2004.
27. USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23, 2010. Disponível em [http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list\\_nut\\_edit.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl). Acesso em 03/08/2011.

28. OGUNTIBEJU, O.O. The biochemical, physiological and therapeutic roles of ascorbic acid. **Afr. J. Biotechnol.**, v.7(25), p.4700-4705, 2008.
29. HOLT, E.M., STEFFEN, L.M., MORAN, A., BASU, S., STEINBERGER, J., ROSS, J.A., HONG, C.P., SINAIKO, A.R. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. **J. Am. Diet. Assoc.**,109(3):414-21. 2009.
30. CALDER, P.C., ALBERS, R., ANTOINE, J.M., BLUM, S., BOURDET-SICARD, R., et al. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. **Br. J. Nutr.**, 101 Suppl 1:S1-45. 2009.
31. NAHMIAS, Y., GOLDWASSER, J., CASALI, M., VAN POLL, D., WAKITA, T., CHUNG, R.T., YARMUSH, M.L. Apolipoprotein B-dependent hepatitis C virus secretion is inhibited by the grapefruit flavonoid naringenin. **Hepatology**, 47(6):2141-2. 2008.