

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, São Paulo, Brasil
Departamento de Alimentos e Nutrição

**CONSUMO REGULAR DE SUCO DE LARANJA VERMELHA
EM PORTADORES DE HEPATITE C CRÔNICA**

DANIELLE RAQUEL GONÇALVES

Nutricionista

Araraquara – SP

2013

DANIELLE RAQUEL GONÇALVES

**CONSUMO REGULAR DE SUCO DE LARANJA VERMELHA
EM PORTADORES DE HEPATITE C CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientadora: Prof. Dra. Thais Borges César

Araraquara – SP

2013

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Gonçalves, Danielle Raquel

G635c Consumo regular de suco de laranja vermelha em portadores de hepatite
C crônica / Danielle Raquel Gonçalves. – Araraquara, 2013
66 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós
Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Thais Borges César

1. Hepatite C crônica. 2. Suco de laranja vermelha. 3. Flavonoides
cítricos. 4. Vitamina C. 5. Licopeno I. César, Thais Borges, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Thais Borges César
Orientadora

Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa

Prof. Dra. Fernanda Lopes Kinouchi

DEDICATÓRIA

À Deus, por me proporcionar força e perseverança durante a trajetória do caminho que escolhi. Pela fé, sua palavra e conforto que me conduziram até aqui.

Aos meus queridos pais, José Humberto e Aparecida, que apesar da distância, nunca me desamparam, sempre estiveram presentes em longas conversas de apoio, incentivo, carinho e amor. De vocês recebi sábios ensinamentos de humildade e caráter humano. Sem estes conhecimentos, de nada vale a formação de um profissional. Admiro vocês pelo grande exemplo de vida que são.

Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Dra. Thais Borges César, pela competência, paciência e carinho com que compartilhou seus conhecimentos comigo, me conduzindo a uma ampla aprendizagem.

Aos professores da banca examinadora, por compartilharem seus conhecimentos e exporem suas críticas para o crescimento deste trabalho.

A todos os professores e funcionários da UNESP, que de várias maneiras contribuíram para meu conhecimento e execução deste trabalho.

Às secretárias da pós-graduação, pela paciência e competência em todos os momentos em que suas funções se fizeram necessárias.

A todo o corpo de colaboradores do NAC-FCF/FUNDECIF, em especial à Sônia, Júlio de Paula, Milton Marques (in memoriam), Maria Inês, Jordana Simonaio, Paula Munhoz e Hernani, pelo carinho e atenção que dispensaram durante a execução deste trabalho.

A todo o corpo de colaboradores do SESA, em especial à Ângela Costa, Neusa Eli, Silvana Lupatelli, Fabrícia Silva, Palmira Temponi, Maria Inês, Ana Lúcia e Maísa, pelo incentivo e colaboração, os quais possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os voluntários desta pesquisa, os quais me receberam com carinho e de braços abertos para o desenvolvimento desta proposta. Sem a colaboração deles, nada teria se concretizado.

À empresa Citrosuco S/A, pelo fornecimento do suco, e em especial ao Helton Leão e a Tatiana Mendes, pelo grande incentivo à pesquisa.

À Aline Cardoso e ao Augusto Antônio, por acreditarem em mim, e me incentivarem a dar passos cada vez maiores, em direção a caminhos mais promissores.

A todos os meus colegas da pós-graduação, por compartilharem seus conhecimentos, experiências e pela amizade.

À Ana Lúcia Nasser, pelo apoio, colaboração e paciência nos exames laboratoriais, análise estatística e durante o desenvolvimento da pesquisa.

À Cláudia Lima, por seu companheirismo, segurança e conselhos valiosos, que levarei pelo resto da vida.

À Paula Souza, pelo companheirismo, carinho e incentivo com que sempre me acompanhou em cada etapa desta pesquisa. Com o seu apoio, o trabalho se tornou mais leve e tranquilo. Muito obrigada por tudo!

À Jacqueline Silveira, por ter contribuído não só com meu crescimento e incentivo a acreditar mais em mim, mas também por ter sido minha “irmã mais velha”. Muito obrigada pelo carinho!

À Grace Dourado, por estar sempre ao meu lado, compartilhando seu conhecimento e companhia me fizeram amadurecer muito, e o mais importante, seu apoio e incentivo em cada momento de fraqueza ou tristeza. Foi muito importante sua amizade e carinho!

Ao meu irmão, Lucas, e a toda minha família, pelo incentivo e força, os quais me ajudaram a suportar a distância.

À Raquel, ao Paulo e a toda sua família, pelo carinho e apoio que sempre me dispensaram. Sou muito grata pelas palavras de incentivo e perseverança com que me ampararam. Vocês se tornaram a minha família também!

Ao João Paulo, pelo seu amor, carinho e incentivo constantes. Seu companheirismo, otimismo e grandiosa capacidade de encarar os obstáculos da vida, tornaram o caminho menos duro e mais alegre. Obrigada por acreditar em mim e nunca me deixar desanimar!

"Nenhuma luta haverá jamais de me embrutecer,
nenhum cotidiano será tão pesado a ponto de me esmagar,
nenhuma carga me fará baixar a cabeça.

Quero ser diferente. Eu sou.

E se não for, me farei!"

(Caio Fernandes Abreu)

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAT2: Acilcolesterol Aciltransferase 2
ALT (ou TGP): Alanina Aminotransferase
ApoB: Apolipoproteína B
AST (ou TGO): Aspartato Aminotransferase
DRI (Dietary Reference Intake): Ingestão Dietética de Referência
EER (Estimated Energy Requirement): Necessidade Energética Estimada
EROs: Espécies Reativas de Oxigênio
FAL: Fosfatase alcalina
HDL-C: Lipoproteína de Colesterol de Alta Densidade
HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana HVB
HMG-CoA: 3-metilglutaril Coenzima A
HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment
HVB: Vírus da Hepatite B
IMC: Índice de Massa Corpórea
IFN- α : Interferon Alfa Peguilado
IL-6: Interleucina 6
IR: Resistência a Insulina
LDL-C: Lipoproteína de Colesterol de Baixa Densidade
LDL-r: Receptores de LDL
MTP: Proteína Transferidora de Triglicérides Microssomal
NF κ B: Fator de transcrição NF κ B
NF κ BIB: Citocina Inibidora do Fator de Transcrição NF κ B
NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
PCR: Reação em Cadeia de Polimerase
PC-R: Proteína C Reativa
QFA: Questionário de Frequência Alimentar
RBV: Ribavirina
RNA: Acido Ribonucleico
SR-BI: Receptor Scavenger classe B tipo I
TG: Triglicérides
TNF- α : Fator de Necrose Tumoral alfa

VHC: Vírus da Hepatite C

VLDL: Lipoproteína de Densidade Muito Baixa

γ -GT: Gama Glutamil Transferase

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Laranja de polpa vermelha.....pg. 20

Figura 2. Distribuição epidemiológica da hepatite C.....pg. 24

Figura 3. Estrutura genômica do vírus da hepatite C.....pg. 25

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Table 1. Anthropometrical data and blood pressure in patients with chronic hepatitis C, with and without use of antiviral medication before and after supplementation of red orange juice.....pg. 53

Table 2. Dietary data from patients with chronic hepatitis C, with and without use of antiviral medication before and after supplementation of red orange juice.....pg. 54

Table 3. Biochemical data of patients with chronic hepatitis C, with and without use of antiviral medication before and after supplementation of red orange juice.....pg. 55

Table 4. Measurement of liver enzymes in patients with chronic hepatitis C with normal levels and increased before and after supplementation of red orange juice.....pg. 56

SUMÁRIO

RESUMO	14
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO.....	16
OBJETIVOS.....	18
Geral.....	18
Específicos	18
<i>CAPÍTULO I</i>	<i>19</i>
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
Variedades de laranjas.....	20
Suco de laranja	21
Hepatite C crônica.....	23
O Vírus da hepatite C.....	25
Variabilidade gênica do vírus da hepatite C.....	26
Tratamento antiviral	26
Hepatite C e o mecanismo de infecção	27
Hepatite C e suas implicações clínicas.....	278
Hepatite C e o suco de laranja vermelha.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
<i>CAPÍTULO II</i>	<i>36</i>
ARTIGO CIENTÍFICO	36
FUNCTIONAL EFFECT OF RED ORANGE JUICE ON THE LIPID AND LIVER METABOLISM OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C	37
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
INTRODUCTION	39
MATERIALS AND METHODS.....	41

Participants	41
Experimental protocol	41
Assessment of anthropometric data and arterial pressure	41
Assessment of energy and nutrient intake.....	42
Biochemical assessment	42
Statistical analysis	42
RESULTS	42
Study population	42
Assessment of anthropometric data and blood pressure	43
Assessment of energy and nutrient intake.....	43
Biochemical assessment.....	43
DISCUSSION	44
Acknowledgment	47
REFERENCES	47
ANEXO	57
Anexo A – Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa.....	58
APÊNDICES	59
Apêndice A - Questionário Socioeconômico.....	60
Apêndice B - Termo de Cconsentimento Livre e Esclarecido.....	61
Apêndice C - Registro Alimentar de 24 Horas	63
Apêndice D - Questionário de Frequência Alimentar	64

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite C é um problema de saúde pública, por atingir cerca de 3% da população mundial, e evoluir para a cronicidade em 80% dos casos. A hepatite C crônica é uma doença inflamatória do fígado que desencadeia complicações hepáticas, podendo desenvolver o carcinoma hepatocelular, interfere também no metabolismo de lipídeos, aumenta o risco de desenvolvimento de resistência à insulina e estímulo de diversos processos inflamatórios. Por isso, tem sido sugerida a utilização de compostos com propriedades hipolipidêmicas, antioxidantes e anti-inflamatórias em portadores crônicos de hepatite C crônica, a fim de reduzir os efeitos deletérios causados pela doença. O suco de laranja de polpa vermelha é fonte de compostos bioativos como a vitamina C, o licopeno e as flavanonas cítricas, naringina e hesperidina, os quais são protetores das membranas lipídicas e da ação dos radicais livres. Diante da presença de compostos hipolipidêmicos, antioxidantes e anti-inflamatórios no suco de laranja vermelha, este poderia ser um alimento de consumo regular por indivíduos com hepatite C crônica.

Palavras-chave: hepatite C crônica, suco de laranja vermelha, flavonoides cítricos, vitamina C, licopeno.

ABSTRACT

Infection by the hepatitis C virus is a public health problem, by attain around 3% of the world population, and evolve to chronicity in 80% of cases. Chronic hepatitis C is an inflammatory disease of the liver that triggers hepatic complications that may develop a hepatocellular carcinoma, also interferes in the metabolism of lipids increases the risk of developing insulin resistance and stimulation of various inflammatory processes. Therefore, it has been suggested to use compounds with hypolipidemic, antioxidants and anti-inflammatory properties in chronic carriers of hepatitis C, in order to reduce the deleterious effects caused by the disease. Orange juice of red pulp is a source of bioactive compounds like vitamin C, lycopene and citrus flavanones, hesperidin and naringin, which are protectors of lipid membranes and the action of free radicals. In the presence of hypolipidemic compounds, antioxidants and anti-inflammatory in red orange juice, this could be a regular food consumption by individuals with chronic HCV infection.

Keywords: hepatitis C, red orange juice, citrus flavonoids, vitamin C, lycopene.

INTRODUÇÃO

A hepatite C crônica é caracterizada por um estado inflamatório no fígado, decorrente de infecção viral causada pelo vírus da hepatite C (VHC). Estima-se que 180 milhões de pessoas em todo o mundo sejam portadoras do VHC. O intervalo de tempo entre a infecção e o surgimento de complicações associadas à doença é bastante prolongado, sugerindo que a incidência de doenças relacionadas com o VHC deva aumentar nos próximos 20 anos (ROSEN, 2011). No processo infeccioso, o VHC desencadeia complicações como cirrose, fibrose hepática e carcinoma hepato celular em portadores crônicos da infecção viral (JAIN et al, 2002). A hepatite C crônica também interfere no metabolismo de lipídeos, podendo ocasionar o desenvolvimento de dislipidemias e influenciar significativamente na concentração de alguns de seus componentes metabólicos, levando à esteatose hepática (ARENDRT et al, 2009).

Além disso, os indivíduos portadores do VHC apresentam maior risco de desenvolver resistência à insulina e, conseqüentemente, diabetes mellitus tipo 2, pois a presença de doenças associadas podem contribuir para exacerbar esta patologia, como a síndrome metabólica, processos inflamatórios crônicos, as desordens do metabolismo lipídico e a esteatose hepática (SERFATY; CAPEAU, 2009). Os compostos do vírus da hepatite C também podem aumentar a atividade das transaminases hepáticas no sangue, devido às injúrias causadas nos hepatócitos, decorrentes do tratamento antiviral (MURAKAMI et al, 2007), e com isso, reduzir a produção das enzimas antioxidantes endógenas (SEREN et al, 2008). Estudos prévios têm sugerido que a utilização de suplementos antioxidantes, como a vitamina C e o zinco poderiam minimizar os efeitos deletérios do VHC (MURAKAMI te al, 2006 e PRASAD, 2009). Neste sentido, alimentos ricos em compostos antioxidantes, poderiam ser utilizados como coadjuvantes no tratamento de indivíduos acometidos pela infecção crônica do VHC (BANDARA et al, 2005).

O suco de laranja, fresco ou pasteurizado, é um alimento que apresenta nutrientes e compostos bioativos com propriedades terapêuticas provenientes da ação da vitamina C, de carotenoides lipossolúveis e de flavonoides cítricos (flavanonas), que podem auxiliar na prevenção das doenças crônico-degenerativas (FENECH et al, 2005). Entre os diversos tipos de laranjas, existe a variedade das laranjas de polpa vermelha, ou falsas-sanguíneas, que possuem coloração alaranjada na polpa e no suco, devido à presença dos carotenoides em maiores concentrações do que nas laranjas de polpa clara (amarela), com destaque para o licopeno, encontrado nas variedades falsa-sanguíneas (FANCIULLINO et al., 2006). O

licopeno tem sido associado à prevenção da oxidação lipídica, proteção das células contra radicais livres, diminuição da aterogênese (SHAMI; MOREIRA, 2004), e também com o menor risco de desenvolvimento de alguns tipos de câncer (KRINSKY; JOHNSON, 2005). Outros compostos de ação antioxidante encontrados exclusivamente nos sucos cítricos, e expressivamente no suco de laranja, são as flavanonas cítricas, hesperidina e naringina, que também atuam como agentes hipolipidêmicos e anti-inflamatórios (MILENKOVIC et al, 2011; MORAND et al, 2011).

A hipótese deste trabalho se baseia na possibilidade de que as propriedades antioxidantes, hipolipidêmicas e anti-inflamatórias associadas ao suco de laranja vermelha possam contribuir para reduzir as desordens do metabolismo lipídico, das enzimas hepáticas e do perfil inflamatório em pacientes com hepatite C crônica.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar o efeito do consumo regular de suco de laranja vermelha integral pasteurizado sobre o estado nutricional e parâmetros bioquímicos em portadores de hepatite C crônica.

Específicos

- Investigar os efeitos do consumo regular do suco de laranja vermelha sobre os parâmetros antropométricos e dietéticos, e sobre a pressão arterial em indivíduos com hepatite C crônica.

- Avaliar o efeito da ingestão diária do suco de laranja vermelha sobre as alterações metabólicas em indivíduos com hepatite C crônica, relacionadas aos parâmetros bioquímicos, enzimas hepáticas e a um marcador inflamatório.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Variedades de laranjas

São conhecidas diversas variedades de laranjas, entretanto, elas são classificadas em dois grupos, de acordo com a coloração que apresentam na polpa: claras (ou amarelas) e sanguíneas. Estas variações na coloração são decorrentes da diferença na quantidade e tipo de carotenoides presentes nas laranjas, estágio de maturação dos frutos, clima ou região de cultivo dos frutos, efeitos dos tratamentos pós-colheita e do processamento. O grupo das laranjas claras apresenta a coloração laranja/amarela na polpa e no suco, e são representadas pelas principais variedades comerciais cultivadas no mundo (Baía, Navel, Pêra, Valência, Natal, Lima, Serra d'água). Já o grupo das laranjas sanguíneas apresenta coloração vermelho-intensa (violácea) na polpa e no suco, devido à presença das antocianinas (MOURA, 2010).

Existe ainda um outro grupo de laranjas não tão difundido, que é representado pelas laranjas de polpa vermelha, ou falsas-sanguíneas (Figura 1), as quais apresentam coloração laranja intenso na polpa e no suco, devido à presença de maiores quantidades de carotenoides (β -carotenos e licopeno) em comparação com as laranjas claras, mas não produzem antocianinas. As principais variedades representantes deste grupo são as laranjas Sanguínea-de-Mombuca, Valência Puka e Baía Cara-cara (LATADO et al, 2008).



Figura 1. Laranja de polpa vermelha.

Latado e col. (2008) em uma análise físico-química de laranjas vermelhas (variedade Mombuca), verificaram em média 11 mg/L de carotenoides totais, 9% de β -caroteno e 1,7 mg/kg de licopeno nesta variedade. Esta composição de carotenoides encontrada na laranja de polpa vermelha foi comparada com a laranja de polpa amarela (variedade Pera), onde foi encontrado cerca de 50% de carotenoides, 310% de β -caroteno e 313% de licopeno a mais do que na composição físico-química da laranja amarela.

O licopeno é um carotenoide encontrado nos vegetais de coloração avermelhada, e entre as variedades de laranjas, é encontrado somente nas de polpa vermelha (FANCIULLINO et al, 2006). Ele possui maior poder antioxidante, quando comparado com a vitamina E; maior prevenção da oxidação lipídica; proteção das células contra radicais livres; e diminuição da aterogênese (HU et al, 2008; LIU et al, 2004; SERRA; CAMPOS, 2006; SHAMI; MOREIRA, 2004). O betacaroteno, além de ser considerado como uma provitamina A, também exerce papel antioxidante em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas (SHAMI; MOREIRA, 2004). Os carotenoides são pigmentos alimentares naturais e a partir de uma análise de diversos estudos, realizada por Krinsky e Johnson (2005), eles verificaram que dietas ricas em carotenoides estão associadas a menor incidência de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e câncer.

Suco de laranja

O suco de laranja representa 35% de preferência entre os principais sabores de sucos consumidos no mundo (laranja, maçã, pêssego, uva, abacaxi, manga e cranberry), apresentando no Brasil, na safra 2009/10, o consumo per capita de 12,3 litros do suco (NEVES et al, 2010). O suco de laranja é uma bebida que possui nutrientes e compostos bioativos (Quadro 1) com propriedades terapêuticas contra doenças crônico-degenerativas, provenientes da ação da vitamina C, dos carotenoides lipossolúveis e dos flavonoides cítricos (JOHNSTON; DANCHO; STRONG, 2003). O aumento do consumo de frutas e sucos de frutas cítricas tem sido associado com a redução do desenvolvimento de doenças coronarianas e hipertensão arterial (MORAND et al, 2011), melhora do perfil lipídico, redução dos níveis de colesterol de LDL e agregação plaquetária (SÁNCHEZ-MORENO, 2003), aumento dos níveis de colesterol de HDL (KUROWSKA et al, 2000), redução dos marcadores pró-inflamatórios e do dano oxidativo ao DNA (MILENKOVIC et al, 2011).

No organismo, a vitamina C atua como um importante antioxidante dietético, por ter a capacidade de tamponar os processos de oxidação e redução, proteger os lipídeos plasmáticos contra o processo de peroxidação, e os ácidos nucléicos contra possíveis danos oxidativos, presentes em muitas doenças crônicas (LEITE; SARNI, 2003; SOUZA et al, 2008). Outros compostos de ação antioxidante encontrados nas frutas e sucos cítricos são os flavonoides cítricos (FRANKE et al, 2005). Entre estes, as flavanonas hesperidina e naringina são encontradas exclusivamente nas espécies de *Citrus* (BELAJOV; SUHAJ, 2004), as quais têm sido fortemente associadas também como agentes hipolipidêmicos e anti-inflamatórios, em

decorrência da propriedade antioxidante que possuem (DEVARAJ; AUTRET; JIALAL, 2006; KUROWSKA; MANTHEY, 2004; ROZA et al, 2007).

Quadro 1. Composição nutricional do suco de laranja integral pasteurizado.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Composição	250 mL	500 mL
Água (g)	217	434
Energia (kcal)	120	240
Carboidratos (g)	29	58
Açúcares totais (g)	21	42
Fibra dietética total (g)	0,7	1.4
Cálcio (mg)	179	358
Magnésio (mg)	27	54
Potássio (mg)	443	886
Vitamina A (mg)	7	14
Vitamina C (mg)	84	168
Folato (µg)	47	94
Hesperidina [#] (mg)	13,8	27,6
Naringina [#] (mg)	3,9	7,8

*Fonte: USDA 2010, [#]2007.

O mecanismo de ação hipolipidêmico destas flavanonas provém da redução na expressão seletiva da enzima ACAT2 (colesterol aciltransferase), responsável pela síntese e acúmulo de ésteres de colesterol no lúmen do retículo endoplasmático para montagem e secreção da apolipoproteína B (apoB), a qual fornece estrutura para a formação da VLDL (BORRADAILE et al, 1999). Outro sítio de ação das flavanonas cítricas provém da inibição

da atividade da proteína transferidora de triglicérides microsossomal (MTP), responsável pelo suprimento de triglicérides à secreção da apoB. Por estar interligado ao ciclo de formação das apolipoproteínas, este mecanismo de ação diminui a formação da VLDL, e conseqüentemente, os níveis de LDL-C circulantes; além de aumentar a atividade dos receptores hepáticos de LDL, aumentando a captação do LDL-C circulante e reduzindo seus níveis séricos (WILCOX, et al, 2001).

Apesar de grande parte dos estudos prévios evidenciarem efeitos positivos com a ingestão do suco de laranja amarela, ou de seus compostos bioativos isolados (vitamina C, carotenoides e flavonoides), poucos estudos têm investigado os efeitos do suco de laranja vermelha, que além de conter os principais nutrientes do suco da laranja amarela, possui um poderoso antioxidante dietético, o licopeno (LATADO et al, 2008). Lima (2010) verificou que a ingestão diária de 750 mL de suco de laranja vermelha durante oito semanas promoveu a redução nos níveis séricos de colesterol total, de LDL-C e apolipoproteína B em indivíduos saudáveis. Silveira (2011) verificou que a ingestão regular de suco de laranja vermelha reduziu os níveis séricos de colesterol total e de LDL-C, mas também levou à redução de marcadores do estresse oxidativo, com aumento da capacidade antioxidante; além de melhorar as concentrações de insulina em jejum, e os parâmetros hemodinâmicos em indivíduos normais e com sobrepeso. Portanto, o consumo regular de alimentos ricos em compostos antioxidantes e anti-inflamatórios como o suco de laranja vermelha poderia auxiliar na prevenção ou tratamento de doenças crônicas.

Hepatite C crônica

A hepatite C crônica é caracterizada por um estado inflamatório no fígado decorrente de infecção viral causada pelo vírus da hepatite C (VHC). Estima-se que 180 milhões de pessoas em todo o mundo sejam portadoras do VHC (ROSEN, 2011). Esta enfermidade constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial, pelo fato de ser uma doença silenciosa, com conseqüências graves, e de proporção elevada para cronicidade (80% dos casos). É também uma das causas mais frequentes de transplante hepático, com potencial evolutivo para cirrose, hepato carcinoma, baixa efetividade no tratamento (40-50%) e ausência de uma vacina preventiva (STRAUSS et al. 2001). A figura 2 mostra a distribuição epidemiológica mundial da infecção pelo vírus da hepatite C.

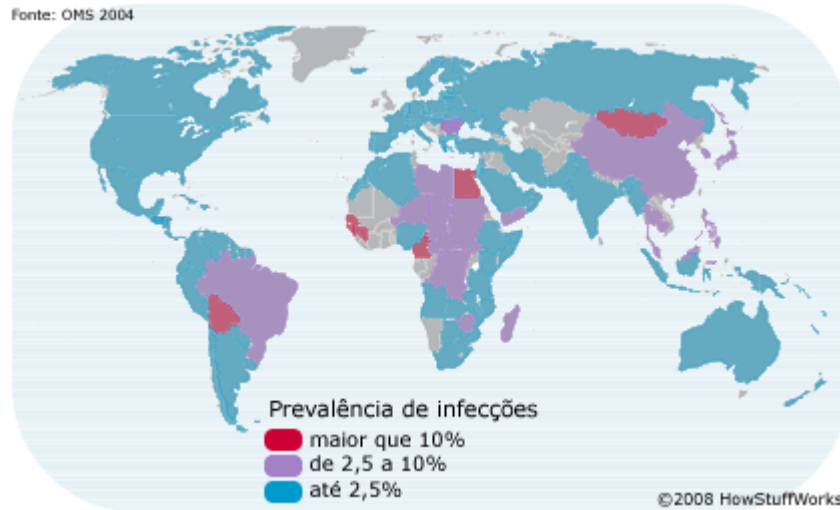


Figura 2. Distribuição epidemiológica da hepatite C (Fonte: Google imagens, 2012).

A biópsia hepática é uma avaliação histológica utilizada a fim de determinar a intensidade do processo inflamatório, o estágio de fibrose e se há presença de cirrose no tecido hepático (Quadro 2). É um exame de custo elevado e invasivo, requer profissionais especializados e está associado a riscos e complicações ao paciente (FREEMAN et al, 2001; PAWLITSKY et al, 2007).

Quadro 2. Classificação histológica hepática segundo METAVIR*.

Classificação Histológica da Biópsia Hepática			
Atividade inflamatória (A)		Fibrose hepática (F)	
A0	Ausente	F0	Ausente
A1	Atividade leve	F1	Fibrose portal sem septos
A2	Atividade moderada	F2	Fibrose portal com raros septos
A3	Atividade intensa	F3	Numerosos septos sem cirrose
*Fonte: Ministério da Saúde, 2011.		F4	Cirrose

O intervalo de tempo entre a infecção e o surgimento de complicações associadas à doença é bastante prolongado, levando a pressuposição de que a incidência de doenças relacionadas com o VHC possa aumentar significativamente nos próximos 20 anos (ROSEN, 2011). Os principais fatores de risco para infecção por este vírus consistem no uso de drogas

ilícitas injetáveis, ou utensílios cortantes não esterilizados, transmissão iatrogênica e transfusões sanguíneas anteriores ao ano de 1992 (ABPH, 2012).

O Vírus da hepatite C

O vírus da hepatite C é um membro da família *Flaviviridae*, cujo genoma é formado por uma fita simples de RNA com polaridade positiva contendo cerca de 9.600 nucleotídeos. A molécula de RNA (Figura 3) é flanqueada nas regiões 5'URT e 3'UTR (Figura 3). A sequência nucleotídica localizada na extremidade 5' UTR é altamente estruturada para a ação de ribossomos, enquanto que a sequência da extremidade 3'UTR é essencial para a replicação. O VHC é traduzido em uma poli proteína, clivada pelas células do hospedeiro em três proteínas estruturais (*core*, E1 e E2), localizadas na extremidade 5' UTR, e sete proteínas não estruturais (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B), localizadas na extremidade 3'UTR (CHOO et al. 1989 e COLLIER et al, 2012).

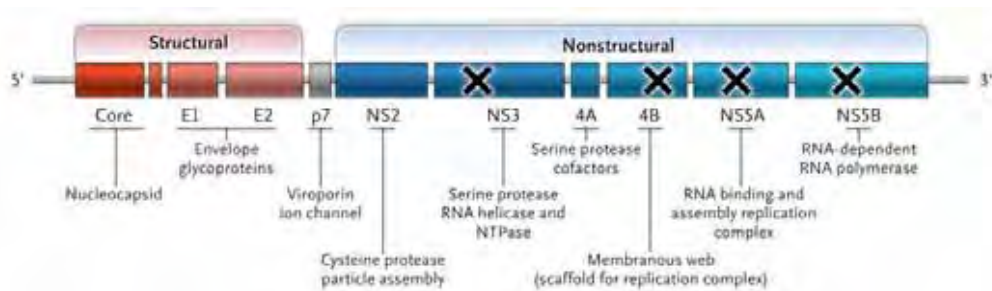


Figura 3. Estrutura genômica do vírus da hepatite C (ROSEN, 2011).

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 (MacPARLAND et al, 2009). As glicoproteínas E1 e E2 do envelope são essenciais para a entrada do vírus na célula hospedeira e no ciclo replicativo. A proteína p7, localizada entre as proteínas estruturais e não estruturais regula a permeabilidade dos íons na membrana e apresenta um importante papel na maturação e liberação da partícula viral (PAVLOVIC et al, 2003). As proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e

NS5B), na extremidade amino da poli proteína possuem ações de helicase, protease e RNA polimerase (COCQUEREL et al. 2006; DUBUISSON, 2007; WARIS; SIDDIQUI, 2005).

Variabilidade gênica do vírus da hepatite C

O VHC é classificado em seis principais genótipos, designados de 1 a 6, entre os quais alguns possuem subtipos (a, b e c). O teste de genotipagem é o método utilizado para determinar o genótipo presente no hospedeiro, e é útil para auxiliar na determinação e monitoramento da terapia antiviral. Os genótipos de VHC apresentam diferenças em sua distribuição global e prevalência, sendo os genótipos 1, 2 e 3 amplamente distribuídos nos EUA, Europa, Austrália e Ásia Oriental (Japão, Taiwan, Tailândia e China), enquanto que a distribuição geográfica do genótipo 4 é largamente confinado ao Oriente Médio, Egito e África Central. Os genótipos 5 e 6 são encontrados predominantemente na África do Sul e no Sudeste Asiático, respectivamente (NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011).

No Brasil, são encontrados, principalmente, os genótipos 1 (1a e 1b), 2 (2a e 2b) e 3, com predominância de 60% do genótipo 1 e de 40% dos outros dois genótipos. As frequentes mutações do VHC e os numerosos subtipos virais são alguns dos obstáculos para o desenvolvimento de uma vacina para a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Tratamento antiviral

O objetivo do tratamento antiviral na hepatite C crônica consiste na erradicação da infecção mediante a extinção da viremia, com a finalidade de prevenir as complicações da infecção pelo vírus (AUGUSTO; LOBATO, 2004). No entanto, a terapia acarreta custos elevados, requer monitorização em longo prazo e está associada a vários efeitos colaterais de difícil tolerância por parte de alguns pacientes (DUTRA; BASSO, 2006). O tratamento disponível atualmente 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 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

O fármaco IFN- α é uma proteína (citocina) sintética idêntica à produzida pelo nosso organismo, 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. A ribavirina é um análogo sintético da guanosina, com atividade direta contra o VHC por mecanismo de inibição da RNA polimerase vírus dependente. Ela é administrada oralmente, tem vida média longa e apresenta excreção renal (FRIED et al, 2002).

Este 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).

Hepatite C e o mecanismo de infecção

Diversos estudos tem relatado uma forte interação entre o ciclo de vida das lipoproteínas e as vias de acesso do VHC às células hepáticas. De acordo com estes estudos, as partículas do VHC, quando associadas com as lipoproteínas, apresentam um alto grau de infecção ao hospedeiro, enquanto que partículas livres, não ligadas às lipoproteínas, são pobremente infecciosas (PETIT et al, 2007). Um dos parâmetros essenciais para a entrada do vírus nas células hepáticas seria através dos receptores de LDL (LDL-r) na superfície celular dos hepatócitos, mecanismo pelo qual o vírus da hepatite C se complexa às moléculas de LDL, e em seguida se ligam aos receptores de LDL, entrando na célula hepática (AGNELLO et al, 1999). Os receptores de LDL são responsáveis pela ligação e absorção das apolipoproteínas B e E, e ao se controlar o metabolismo lipídico, o número de receptores hepáticos regulam as concentrações plasmáticas de LDL-C, ou seja, a expressão dos receptores de LDL na superfície celular dos hepatócitos é inversamente relacionada com a concentração plasmática de LDL-C (PETIT et al, 2007).

Outra via de acesso do VHC no hepatócito seria por meio das tetraespaninas CD81, uma proteína localizada na superfície do hepatócito, à qual a proteína estrutural E2 do vírus se liga (KOUTSOUDAKIS et al, 2007), e entra para o citoplasma hepático. Acredita-se também que o VHC entre no hepatócito por meio dos receptores *scavenger* tipo B classe I (SR-BI), uma proteína celular, a qual a lipoproteína de alta densidade (HDL) se liga para entrar no fígado. Nesta via de acesso, o VHC estaria utilizando a atividade fisiológica do SR-BI para promover sua entrada nas células hepáticas, o que, conseqüentemente, o protege contra a neutralização por anticorpos (VOISSET et al, 2003).

Hepatite C e suas implicações clínicas

No hospedeiro, o vírus da hepatite C (VHC) estimula uma produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio, desencadeando complicações como cirrose, fibrose hepática e carcinoma hepato celular, além de algumas manifestações extra-hepáticas e autoimunes (JAIN et al, 2002). Os portadores crônicos da infecção viral podem apresentar elevados níveis séricos de transferrina e ferritina, levando ao acúmulo de ferro no fígado. A sobrecarga de ferro hepático pode estimular a produção de radicais livres, que por sua vez alteram o mecanismo mitocondrial de respiração celular, tornando-se um fator determinante na evolução da fibrose hepática e do carcinoma hepato celular (SEREN et al, 2008).

A terapia antiviral é outro fator que estimula o estresse oxidativo na hepatite C crônica, devido à depleção de vitaminas do complexo B e folato, e aumento da peroxidação lipídica e produção de radicais livres. Os compostos virais reduzem a disponibilidade da vitamina C, e a atividade das enzimas antioxidantes endógenas (LIN; YIN, 2009), além de aumentarem a atividade das transaminases hepáticas (MURAKAMI, 2007).

Os portadores de hepatite C crônica também apresentam maior risco de desenvolver resistência à insulina e, conseqüentemente, diabetes mellitus tipo 2 (SOUZA et al, 2011), devido a mobilização de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α) durante a infecção crônica, ou ainda pela ação das proteínas do *core*. Ambos podem inibir a sinalização da insulina aos hepatócitos, aumentando as chances de ocorrência da resistência à insulina e também o desenvolvimento de esteatose hepática (EL-ZAYADI; ANIS, 2012). Nestes pacientes, a presença de outros mecanismos patogênicos como a síndrome metabólica pode contribuir ainda mais para a ocorrência da resistência à insulina (SERFATY; CAPEAU, 2009).

Alguns estudos reportam concentrações lipídicas adequadas em portadores do VHC. Este fato pode ser atribuído a uma ação das partículas virais, que estariam utilizando os lipídeos do hospedeiro para a sua replicação, e interrompendo a síntese de colesterol, reduzindo assim os lipídeos circulantes (EHAB et al, 2010). O efeito deste mecanismo é a diminuição do colesterol disponível para os processos fisiológicos intracelulares e para produção da VLDL, resultando finalmente na diminuição dos níveis séricos de colesterol. A diminuição da disponibilidade do colesterol intracelular pode também levar a um aumento da expressão de receptores de LDL, o qual também aumenta a captação de LDL-C circulante (DUBUISSON et al, 2002). A presença do vírus da hepatite C no organismo interfere no metabolismo de lipídeos, podendo ocasionar o desenvolvimento de dislipidemias e influenciar

significativamente em alguns componentes metabólicos, esta alteração também pode levar à ocorrência da esteatose hepática (ARENDDT et al, 2009).

Outra alteração observada em pacientes portadores de hepatite C crônica são os altos níveis séricos de proteína C reativa (PC-R), que podem estar associados com as alterações no metabolismo lipídico dos portadores do VCH (AFZAL et al, 2011; HUANG et al, 2010). A PC-R é um importante marcador inflamatório produzido pelo fígado, e sua produção pode ser exacerbada em casos de inflamação, onde há grande liberação de radicais livres. Ela também é considerada um marcador independente para risco de doenças cardiovasculares, se mostrando bastante alterada na presença de aterosclerose, na qual há oxidação excessiva de LDL-C (SANTOS et al, 2003).

Hepatite C e o suco de laranja vermelha

Várias pesquisas apontam que o ciclo de infecção e replicação do VHC é dependente das concentrações plasmáticas de colesterol no hospedeiro, devido ao fato das vias de entrada do vírus da hepatite C nas células hepáticas estarem interligadas ao ciclo metabólico dos lipídios (KAPADIA et al, 2007, KOUTSOUDAKIS et al, 2007; WUNSCHMANN et al, 2007). A partir desta interação, estudos prévios vêm sugerindo a possibilidade de se utilizar compostos hipolipidêmicos como agentes redutores da carga viral em pacientes portadores do VHC (GOLDWASSER et al, 2011). Alguns destes estudos apontam uma eficácia na utilização da naringinina (forma glicosilada da naringina) contra a proliferação viral (HAMPTON, 2008), através da ação de redução ou inibição dos mecanismos de síntese das moléculas apolipoproteicas que esta flavanona cítrica possui (SHULMAN et al, 2011).

Nahmias e col. (2008) demonstraram que o uso de 200 μ M de naringinina reduziu significativamente a secreção de VHC em 80% e o grau de infecciosidade em 79%, enquanto a transcrição do RNA viral permaneceu inalterada. Estes resultados foram relacionados com a inibição de atividade da MTP (58%), além da inibição da transcrição da enzima HMG-CoA redutase e ACAT2, o que levou à redução da secreção hepática de apolipoproteína B e de VLDL, e consequentemente, à redução da secreção viral.

O licopeno é outro composto bioativo sugerido como agente atenuador da progressão da hepatite C. Os estudos realizados em pacientes portadores do VHC apontam que esta população apresenta falhas no sistema antioxidante endógeno (BANDARA et al, 2005), com exacerbção na produção de espécies reativas de oxigênio; e o licopeno, poderia reduzir os danos hepáticos provenientes da infecção viral e o surgimento de carcinoma hepatocelular,

além de melhorar a resposta às terapias indicadas a estes pacientes (SEREN et al, 2008) através do seu alto poder de prevenção da oxidação lipídica (HU et al, 2008, SERRA; CAMPOS, 2006, SHAMI; MOREIRA, 2004).

Neste sentido, alimentos ricos em compostos hipolipidêmicos e antioxidantes poderiam ser utilizados como coadjuvantes no tratamento de indivíduos acometidos pela infecção crônica do VHC (PAL et al, 2011). Manjate (2011) verificou que pacientes portadores de hepatite C crônica, após intervenção dietética com suco de laranja de polpa amarela (*Citrus sinenses*), apresentaram redução significativa na concentração de colesterol total (7,8%), LDL-colesterol (11,4%), além de melhora do perfil inflamatório ($P < 0,05$), avaliada pela análise da proteína C reativa (CRP). Milenkovic e col. (2011) demonstraram que o consumo regular de suco de laranja, durante quatro semanas alterou a expressão gênica de leucócitos para um perfil antiaterogênico e anti-inflamatório, e atribuíram este efeito ao conteúdo de hesperidina presente no suco.

O suco da laranja vermelha é uma bebida que contem as flavanonas cítricas, naringina e hesperidina, e o licopeno, os quais apresentam propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (BORRADEILE et al, 1999; WILCOX et al, 2001; SHAMI; MOREIRA, 2004) que, associados num só alimento, poderiam reduzir as desordens do metabolismo lipídico, das enzimas hepáticas e do estresse oxidativo em portadores do VHC, e assim reduzir os efeitos deletérios à saúde dos pacientes com hepatite C crônica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPH. **Associação Brasileira dos Portadores de Hepatite**. < <http://www.hepatite.org.br/> >. Acesso em 29, ago; 2012.
- AFZAL, N. et al. Effect of Hepatitis C Virus on C-Reactive Protein and Interleukin-6 in Hemodialysis Patients. **Iranian Journal of Kidney Diseases**. v. 5, n. 3, p. 182-186; 2011.
- AGNELLO, V. et al. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. **PNAS**, v. 96, n. 22, p. 12766–12771; 1999.
- ARENDT, B. M. et al. Hepatic fatty acid composition differs between chronic hepatitis c patients with and without steatosis. **The Journal of Nutrition**, v. 139, p. 691-695; 2009.
- AUGUSTO, F.; LOBATO, C., Hepatites C: casuística da consulta de hepatologia de um hospital distrital dos Hospitais Distritais. **Núcleo Gastroenterol**. p. 22-30; 2004.
- BANDARA, P. et al. Antioxidant levels in peripheral blood, disease activity and fibrotic stage in chronic hepatitis C. **Liver International**, v.25, p.518-526; 2005
- BELAJOV, E.; SUHAJ, M. Determination of phenolic constituents in citrus juices: Method of high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 86, p. 339-343; 2004.
- BORRADAILE, N. M.; CARROLL, K. K.; KUROWSKA, E. M. Regulation of HepG2 Cell Apolipoprotein B Metabolism by the Citrus Flavanones Hesperetin and Naringenin. **Lipids**, v. 34, n. 6, p. 591-598; 1999.
- CHOO, Q.; KUO G.; WEINER W. Isolation of a cDNA clone derived from a bloodborne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v.244, p. 359-362; 1989.
- COCQUEREL, L.; VOISSET, C.; DUBUISSON, J. Hepatitis C virus entry: potential receptors and their biological functions. **J. Gen. Virol**. v. 87, p. 1075-1084; 2006.
- COLLER, K. E. Molecular Determinants and Dynamics of Hepatitis C Virus Secretion. **PlosPathogens**, v. 8, n. 1, p. 1-17; 2011.
- DEVARAJ, S.; AUTRET, B. C.; JIALAL, I. Reduced-calorie orange juice beverage with plant sterols lowers C-reactive protein concentrations and improves the lipid profile in human volunteers. **Am J Clin Nutr**, v. 84, p. 756–761; 2006.
- DUBUISSON J; PENIN F; MORADPOUR D. Interaction of hepatitis C virus proteins with host cell membranes and lipids. **Trends Cell Biol**. v.12, p. 517-523; 2002.
- DUBUISSON, J. Hepatitis C virus proteins. **World J. Gastroenterol**. v. 3, p. 406-415; 2007.
- DUTRA, C. N. N.; BASSO, C. Alterações nutricionais em portadores de hepatite C. **Disc. Scientia – Série: Ciências da Saúde**. v. 7, n. 1, p. 109-120; 2006.

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; 2010.

EL-ZAYADI, A.; ANIS, M. Hepatitis C virus induced insulin resistance impairs response to antiviral therapy. **World J Gastroenterol.** v. 18, n. 3, p. 212-224; 2012.

FANCIULLINO, A. et al. Carotenoid diversity in cultivated citrus Is highly influenced by genetic factors. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 4397-4406; 2006.

FRANKE, A. A. et al. Bioavailability and antioxidant effects of orange juice components in humans. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 5170-5178; 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.

GOLDWASSER, J. Naringenin inhibits the assembly and long-term production of infectious hepatitis C virus particles through a PPAR-mediated mechanism. **J. Hepatol.** v. 55, n. 5, p. 963-971; 2011.

GOTTO, J.; DUSHEIKO, G. Hepatitis C and treatment with pegylated interferon and ribavirin. **Int. J. Biochem. Cell Biol.** v. 36, p. 1874-1877; 2004.

HAMPTON, T. Grapefruit Compound Battles Hepatitis C. **J. American Medical Association**, V. 299, n. 13; 2008.

HU, M. Y. et al. Comparison of lycopene and fluvastatin effects on atherosclerosis induced by a high-fat diet in rabbits. **Nutrition**, v. 24, n. 10, p. 1030-1038; 2008.

HUANG, C. et al. Serum hs-CRP was correlated with treatment response to pegylated interferon and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. **Hepatol Int.** v. 4, p. 621-627; 2010.

JAIN, S. K. et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. **J. Hepatol.** v. 36, p. 805-811; 2002.

JOHNSTON, C. S.; DANCHO, C. L.; STRONG, G. M. Orange juice ingestion and supplemental vitamin C are equally effective at reducing plasma lipid peroxidation in healthy adult women. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 22, no. 6, p. 519-523; 2003.

KAPADIA, S. B. et al. Initiation of Hepatitis C Virus Infection Is Dependent on Cholesterol and Cooperativity between CD81 and Scavenger Receptor B Type I. **Journal of Virology**, v. 81, n. 1. p. 374-383; 2007.

KOUTSOUDAKIS, G. et al. The level of CD81 cell surface expression is a key determinant for productive entry of hepatitis c virus into host cells. **Journal of Virology**, v. 81, n. 2, p. 588-598; 2007.

KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 459–516; 2005.

KUROWSKA, E. M. et al. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 72, p. 1095-100; 2000.

KUROWSKA, E. M.; MANTHEY, J. A. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 2879-2886; 2004.

LATADO, R.R. et al. Laranjas de polpa vermelha. Caracterização de frutos e do suco dos frutos. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture.** Vitória/ES, 12-17 de out; 2008.

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

LIMA, C. G. **Atividade protetora cardiovascular do suco de laranja vermelha em indivíduos adultos.** 78f. 2010. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição – Ciências Nutricionais) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara; 2010.

LIN C. C.; YIN, M. C. Vitamins B depletion, lower iron status and decreased antioxidative defense in patients with chronic hepatitis C treated by pegylated interferon alfa and ribavirin. **Clin Nutr.**, v. 28, n. 1, p. 34-38; 2009.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J. Nutr.**, v, 134, n.12, p. 3479S-85S; 2004.

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.

MANJATE, D. A. **Intervenção dietética com suco de laranja sobre o Estado nutricional e oxidativo em pacientes com hepatite c crônica.** 85f. 2011. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição – Ciências Nutricionais) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara; 2011.

MILENKOVIC, D. et al. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. **PLoS ONE**, v. 6, n. 11, p. 1-9; 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções.** 101 p; 2011.

MORAND, C. et al. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. **Am J Clin Nutr**; v. 93, p. 73-80; 2011.

MOURA, L. M. **Compostos bioativos em frutas cítricas: quantificação, avaliação da atividade antioxidante, parâmetros de cor e efeito da pasteurização.** 142f. 2010. Dissertação (Doutorado em Alimentos e Nutrição – Ciências Nutricionais) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara; 2010.

MURAKAMI, Y. Zinc supplementation prevents the increase of transaminase in chronic hepatitis C patients during combination therapy with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. **J Nutr Sci Vitaminol**, v. 53, n. 3, p. 213-218; 2007.

NAHMIA, Y. et al. Apolipoprotein b–dependent hepatitis c virus secretion is inhibited by the grapefruit flavonoid naringenin. **Hepatology**, v. 47, p. 1437-1445; 2008.

NEVES, M. F. et al. O retrato da citricultura brasileira. **Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégia – FEA /USP Ribeirão Preto**; 2010.

NOORALI, S.; PACE, D. G.; BAGASRA, O. Of lives and livers: emerging responses to the hepatitis C virus. **J Infect Dev Ctries**. v. 5, n. 1, p. 001-017; 2011.

PAL, S. et al. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 25, p. 627-634; 2010.

PAVLOVIC, D. et al. 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.

PETIT, J. M. et al. Hepatitis C: correlation with viral load cell surface expression of LDL receptor in chronic. **J Gen Virol**, v. 90, n. 5, p. 1055-1070; 2009.

ROSEN, H. R. Chronic hepatitis C infection. **New England and Journal of Medicine**, v. 364, p. 2429-2438; 2011.

ROZA, J. M.; XIAN-LIU, Z.; GUTHRIE, N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects. **Alternative Therapies**, v. 13, n. 6, p. 44-48; 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 78, p. 454–60; 2003.

SANTOS, W. B. et al. Proteína-C-Reativa e Doença Cardiovascular. As Bases da Evidência Científica. **Arq Bras Cardiol**. v. 80, n. 4, p. 452-456; 2003.

SEREN, S. et al. Potential role of lycopene in the treatment of hepatitis C and prevention of hepatocellular carcinoma. **Nutr. Cancer.**, v. 60, n. 6, p. 729-735; 200.

SERFATY, L.; CAPEAU, J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data. **Liver International**, v. 29, p. 13–25; 2009.

SERRA, S. R.; CAMPOS, R. G. Efeito protetor do licopeno. **Rev Bras Nutr Clin**, v. 21, n. 4, p. 326-32; 2006.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 2, p. 227-236; 2004.

SHULMAN, M. et al. Enhancement of naringenin bioavailability by complexation with hydroxypropoyl-b-cyclodextrin. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, p. 1-8; 2011.

SILVEIRA, J. Q. **Ingestão habitual do suco de laranja vermelha e fatores de risco para a síndrome metabólica**. 79f. 2011. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição – Ciências Nutricionais) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara; 2011.

SOUZA, A. F. M. Insulin resistance in non-diabetic patients with chronic hepatitis C: what does it mean? **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 55, n. 6, p. 412 - 418; 2011.

SOUZA, L. M. et al. L-ascorbic acid, b-carotene and lycopene content in papaya fruits (*carica papaya*) with or without physiological skin freckles. **Sci. Agric.**, v. 65, n. 3, p. 246-250; 2008.

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

VOISSET, C. et al. High-density lipoproteins reduce the neutralizing effect of hepatitis C virus (HCV)-infected patient antibodies by promoting HCV entry. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 2577–2581; 2006.

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

WILCOX, L. J. et al. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **Journal of Lipid**, v. 42, p. 725-734; 2001.

WUNSCHMANN, S. et al. In Vitro Interaction between Hepatitis C Virus (HCV) Envelope Glycoprotein E2 and Serum Lipoproteins (LPs) Results in Enhanced Cellular Binding of Both HCV E2 and LPs. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 194, p. 1058-1067; 2006.

CAPÍTULO II

ARTIGO CIENTÍFICO

**FUNCTIONAL EFFECT OF RED ORANGE JUICE ON THE LIPID AND LIVER
METABOLISM OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C**

Danielle Gonçalves¹; Cláudia de Lima¹; Walter Figueiredo²; Ângela Costa²; Paulo Inácio da Costa¹; Thais César¹.

¹School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (Universidade Estadual Paulista – UNESP)

²Special Health Service of Araraquara (Serviço Especial de Saúde de Araraquara - SESA) of the Faculty of Public Health of the University of São Paulo (Universidade de São Paulo - USP)

Short title: Red orange juice in chronic hepatitis C

RESUMO

A infecção crônica do vírus da hepatite C (VHC) provoca inflamação no fígado e altera o metabolismo hepático levando a desordens no estado nutricional e perfil bioquímico. Foi sugerido que a suplementação com antioxidantes, como vitaminas, minerais e flavonoides, minimizam os efeitos da doença e ajudam na proteção hepática. Este estudo avaliou se o consumo de suco de laranja vermelha, um alimento rico em vitamina C, carotenoides e flavonoides cítricos, pode auxiliar no tratamento de portadores da hepatite C crônica. Foram mensurados dados antropométricos, hemodinâmicos, dietéticos, bioquímicos, proteína C reativa e enzimas hepáticas de 23 pacientes adultos de ambos os sexos com hepatite C crônica. Após o período de suplementação com o suco de laranja vermelha não foram detectadas alterações no peso e no percentual de gordura corporal dos pacientes, mas foi detectada redução significativa da circunferência da cintura. Houve redução da concentração de colesterol total, LDL-C, triglicérides e da proteína C reativa em todos os pacientes, e nos níveis das enzimas hepáticas ALT, AST e γ -GT nos pacientes com níveis alterados antes da suplementação. Em conclusão, o consumo de suco de laranja vermelha parece minimizar algumas alterações metabólicas causadas pelo VHC, provavelmente por ação dos compostos bioativos deste alimento, apresentando potencial para ser utilizado como um coadjuvante no tratamento de pacientes com hepatite C crônica.

Palavras-chave: hepatite C crônica, suco de laranja vermelha, estado nutricional, perfil bioquímico.

ABSTRACT

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection causes liver inflammation and alterations in liver metabolism, resulting in nutritional and biochemical disorders. Supplementation with antioxidants, such as vitamins, minerals, and flavonoids, has been suggested to minimize the effects of chronic hepatitis C and contribute to liver protection. The present study assessed whether red orange juice, which is rich in vitamin C, carotenoids, and citrus flavonoids, may contribute to the treatment of patients with chronic hepatitis C. Anthropometric, hemodynamic, dietary, and biochemical parameters, including C-reactive protein (CRP) and liver enzymes, were measured in 23 adult patients of both genders who were diagnosed with chronic hepatitis C. Following regular use of red orange juice as a dietary supplement, no alterations were found in the patients' body weight or body fat percentage, but waist circumference exhibited a significant reduction. The serum levels of total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), triglycerides, and CRP decreased in all of the patients; furthermore, the levels of the liver enzymes alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), and gamma-glutamyl transpeptidase (γ -GT) decreased in those patients who had altered levels before the intervention. To conclude, the intake of red orange juice, most likely as a function of the juice's bioactive components, seems to minimize some of the metabolic alterations caused by HCV and thus might potentially serve as an adjuvant in the treatment of patients with chronic hepatitis C.

Keywords: chronic hepatitis C, red orange juice, nutritional status, biochemical profile.

INTRODUCTION

Chronic hepatitis C is characterized by liver inflammation arising from infection by the hepatitis C virus (HCV); the infection is associated with complications that include inflammation, cirrhosis, liver fibrosis, and hepatocellular carcinoma. The presence of HCV in the cells alters the mechanism of mitochondrial respiration, resulting in oxidative stress, which leads to a reduction in antioxidant enzymes and increased activity of the liver enzymes aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) in the blood¹. HCV carriers also exhibit a higher risk of developing insulin resistance as a function of the mobilization of proinflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α), or due to the action of viral proteins, which inhibit insulin signaling in the hepatocytes and thus increase insulin resistance and liver steatosis².

Patients with chronic hepatitis C also exhibit high serum levels of C-reactive protein (CRP), which is a marker of inflammation. Huang et al.³ suggested a possible correlation

between increased CRP levels and lipid metabolism disorders in patients with chronic hepatitis C. Several studies have shown that HCV uses lipid production and secretion mechanisms to survive in the host and increase the HCV viral load. Following HCV's entry into cells, the virus combines with very-low density lipoproteins (VLDL) synthesized in the endoplasmic reticulum, replicates, and is secreted into the bloodstream in association with VLDL. Under such conditions, HVC exhibits a high degree of host infection, and conversely, the infection effectiveness of the non-bound, free viral proteins is low⁴.

Antiviral therapy administered to HCV carriers aims to reduce viral replication and delay disease progression. However, this therapy is associated with side effects, including nausea and anemia, which cause nutritional depletion and increase oxidative stress. Some studies have consistently suggested that antioxidant supplements might minimize the deleterious effects of both the virus and pharmacological treatment⁵.

Freshly squeezed or pasteurized orange juice includes nutrients and bioactive compounds the therapeutic properties of which are associated with the action of vitamin C, lipid-soluble carotenoids, and citrus flavanones⁶. Red orange (*Citrus sinensis*) is a variety of orange (*Citrus sinensis*) with crimson-colored pulp and juice due to its high levels of carotenoids, including lycopene, which occurs exclusively in this variety⁷. Lycopene has been associated with lipid oxidation prevention, protection against free radicals, and lower risk of certain types of cancer⁸. Citrus juices also contain the citrus flavonoids hesperidin and naringin, which exhibit antioxidant, hypolipidemic, and anti-inflammatory properties. Those substances have been shown to reduce the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A (HMG-CoA) reductase, acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2 (ACAT2), and mitochondrial trifunctional protein (MTP), which are the enzymes that control the synthesis of cholesterol and triglycerides that compose lipoproteins⁹. *In vitro* studies point to the efficacy of naringenin against HCV production by reducing or inhibiting these enzymes¹⁰.

Although countless studies suggest that citrus antioxidants might exert a prophylactic effect against HCV infection, there are no studies on the effect of citrus fruit or juice supplements on already-infected patients. Thus, the aim of the present study was to show that red orange juice, which contains bioactive compounds bearing anti-inflammatory, antioxidative, and hypolipidemic properties, might play an adjuvant role in chronic hepatitis C treatment. For that purpose, the effect of regular intake of 100%, whole, pasteurized red orange juice over eight weeks by patients with chronic hepatitis C under antiviral treatment or by untreated patients was tested and assessed by measuring patients' nutritional status, biochemical parameters, and inflammatory profiles.

MATERIALS AND METHODS

Participants

A total of 23 adult patients (both male and female) with chronic hepatitis C who were receiving services at the Special Health Service of Araraquara (Serviço Especial de Saúde de Araraquara - SESA) of the Faculty of Public Health of the University of São Paulo (Universidade de São Paulo - USP) participated in the present study. The participants were allocated into two groups: with medication comprised 10 patients who were being treated with pegylated interferon combined with ribavirin, according to the Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines for Viral Hepatitis C and Co-infections of the Brazilian Health Ministry¹¹; and without medication comprised 13 patients who were not using medication for hepatitis C. The average age of the treated group was 51.7 ± 11.6 years old, and the average age of the untreated group was 49.7 ± 9.1 years old. The criterion for inclusion was the detection of HCV in the serum by means of a molecular technique (polymerase chain reaction). The exclusion criteria were as follows: co-infection with other viruses (human immunodeficiency virus – HIV; hepatitis B virus – HBV); and presence of diabetes mellitus or ascites. The study was approved by the Ethics Committee of the School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (Universidade Estadual Paulista – UNESP) (Appendix A).

Experimental protocol

Every 14 days, each participant was given 7.5 L of 100%, whole, pasteurized red orange juice from the Sanguínea de Mombuca variety produced by Grupo Fischer[®]. The juice was distributed in 1.5-L bottles, and the participants were instructed to drink 500 mL per day in two daily intakes over eight consecutive weeks. The patients were asked not to change their usual lifestyle, diet, or physical activity. Assessment of anthropometric data, dietary intake, and blood pressure, as well as blood sample collection, was performed on the first and last day of the experiment.

Assessment of anthropometric data and arterial pressure

The participants' weight, height, and circumferences were measured, and body mass index (BMI-WHO) was calculated. The biceps, triceps, subscapular, and suprailiac skinfolds were measured using a Lange Skinfold Caliper[®], and the patients' body density¹² and percentage of total body fat were calculated¹³. Waist and arm circumferences were measured according to Lohman, Roche, and Martorell's protocol¹⁴. Blood pressure was assessed on the

left arm using the digital automatic device ReliOn[®], model HEM-741 CREL, following a 30-minute rest period. Blood pressure was measured three times, and the average value was considered for analysis.

Assessment of energy and nutrient intake

Three-day dietary records (two weekdays and one weekend day) were performed before and after the intervention. The software “NutWin” version 3.1, São Paulo School of Medicine – Federal University of São Paulo (Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP) was used to convert the food record data into energy and nutrient data.

Biochemical assessment

A 32-mL blood sample was collected for biochemical assessment following a 12-hour fast in the morning at the beginning and the end of the experiment. The tests were performed at the Emergency Laboratory of the Diagnostic Referral Center - CACH-NAC/FCF-UNESP of the Américo Brasiliense State Hospital. The serum concentrations of total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), triglycerides, glucose, insulin, CRP, AST, ALT, gamma-glutamyl transpeptidase (γ -GT), and alkaline phosphatase (ALP) were assessed at the laboratory of CACH-NAC/FCF-UNESP using Labtest[®] kits (Lagoa Santa, MG, Brazil) by means of reactions in a photometric system using the Labmax 240[®] device (Labtest[®], Lagoa Santa, MG, Brazil). Insulin was assessed by means of electrochemiluminescence, and LDL was calculated according to Friedwald et al. (1972). Insulin resistance was calculated using the homeostasis model assessment (HOMA) index¹⁶, and >2.71 was used as the cutoff point for the Brazilian population¹⁷.

Statistical analysis

The data distributions were tested for normality, and subsequently, a paired t-test or Wilcoxon test was applied using Sigma Stat version 3.11 (Systat Software Inc., USA). The level of statistical significance was established at 5% ($p < 0.05$).

RESULTS

Study population

All 23 participants consistently adhered to the dietary treatment with red orange juice, as well as to the schedule of physical, dietary, and biochemical assessments. The clinical data collected from the patients' clinical records at SESA showed a predominance of chronic

infection by HCV genotype 1 (65.5%), followed by genotypes 3 (26%) and 2 (4.5%). The patients' liver disorders were quite heterogeneous; the greatest number of A2-F1 samples was exhibited by the group with medication, whereas grade A2-F3 was most frequent in the group without medication.

Assessment of anthropometric data and blood pressure

The weight, BMI, and fat percentage did not change in the investigated patients (Table 1) before and after the intervention. Nevertheless, patients in both groups exhibited a reduction in waist circumference following the intervention; the medication group demonstrated a 3% reduction, and the group without medication showed a 2% reduction. The group with medication also exhibited a 3.5% reduction in arm circumference. Blood pressure levels did not exhibit differences before and after the intervention. The systolic and diastolic blood pressure measurements are shown in Table 1.

Assessment of energy and nutrient intake

In the post-intervention assessment, increases in energy (14.5%), carbohydrate (25%), and folate (55%) intake were found in the group under medication (Table 2). Following red orange juice intake, there was an increased intake of proteins and a significant increase in vitamin C intake in both experimental groups. In the group with medication, protein intake exhibited an 11.3% increase, and vitamin C exhibited a 232% increase. In the group without medication, protein intake exhibited a 27.4% increase, and vitamin C exhibited a 189% increase. Vitamin E intake exhibited a 21% reduction in the group without medication. Data on food intake before and after the intervention are shown in Table 3.

Biochemical assessment

Following the intervention with red orange juice, the serum concentrations of total cholesterol, LDL, and triglycerides decreased in the group with medication (by 11.3%, 14.5%, and 30.9%, respectively), as well as in the group without medication (by 12.6%, 14.8%, and 22%, respectively) (Table 3). No changes were found in the HDL concentrations in either group between the beginning and the end of the study. Regular intake of red orange juice did not induce significant changes in the insulin resistance in the investigated sample. Assessment of the inflammatory profile showed that the serum levels of CRP decreased by 57% in the group with medication and by 56% in the group without medication, and thus reached the

normal range for this inflammatory marker. The effect of a 500-mL/day intake of red orange juice over eight weeks on biochemical variables is shown in Table 3.

The levels of the liver enzymes AST, ALT, and γ -GT did not exhibit changes following the intervention, but the ALP levels exhibited a significant reduction in the group without medication (Table 3). A reassessment of the liver metabolic enzymes, independently from the use of antiviral therapy, found reductions in the serum levels of ALT, AST, and γ -GT in the patients who exhibited levels above the normal threshold before the intervention (Table 4). The serum levels of ALP decreased in the patients with normal levels but did not decrease in those with high ALP concentrations.

DISCUSSION

The present study showed that red orange juice supplementation of patients with chronic hepatitis C improved the patients' lipid profile and reduced their inflammatory status, as well as serum levels of liver metabolism enzymes. These enzymes promoted diet adequacy by increasing protein and vitamin C intake without changing body weight and body fat. Conversely, waist circumference decreased, and the patients' nutritional status was conserved. All of these effects point to a possible adjuvant role of red orange juice in chronic C hepatitis treatment, given the juice's lack of toxicity and increased supply of essential nutrients.

Patients undergoing pharmacological treatment frequently exhibited anorexia, nausea, and vomiting as a result of the medication employed. Regular intake of red orange juice promoted improvements in the patients' diet quality (Table 2). Although some authors have suggested that orange juice intake might result in weight gain due to the sugar and calorie content¹⁸, in our study, a daily, 500-mL red orange juice intake promoted stability in body weight and fat percentage and thus represented a positive contribution to the maintenance of the patients' nutritional status.

Carreira and Pereira¹⁹ observed that HCV carriers who were undergoing antiviral treatment exhibited overweight, whereas untreated, infected individuals exhibited high fat percentage and BMI. In our study, although the individuals in the group without medication exhibited overweight and the patients in the group with medication exhibited normal BMI, the full sample exhibited fat percentages above the recommended values. Both groups exhibited a reduction in waist circumference, which also potentially reduces the risk of coronary heart disease associated with obesity, arterial hypertension, hypercholesterolemia, and metabolic syndrome²⁰. However, the reduction in arm circumference in the group with medication denotes a reduction in lean mass, which was possibly due to the medication. There are no

methods currently available that are specific for the nutritional assessment of individuals with liver diseases, and thus, the combined use of the available treatments is recommended²¹.

The effects of chronic hepatitis C on patients' nutritional status might be reduced by paying more attention to the dietary features of their clinical condition, whereby accurate knowledge of energy consumption has paramount importance²². The energy, carbohydrate, and protein intake of the group under medication was below the levels recommended by the Dietary Reference Intakes (DRI)¹⁵ before the intervention, whereas the lipid intake was within the recommended range. Following the intervention with red orange juice, the energy intake rose to 93% of the recommended values, and the macronutrient intake was appropriate (Table 2). In the group without medication, the energy and lipid intake were above the recommended levels, and the protein intake was below the recommended levels before the intervention. Following the intervention with red orange juice, the total dietary energy, lipids, and protein were within an adequate range (Table 2). Intakes of iron, vitamin C, and vitamin E were within the recommended range both before and after the intervention, but the calcium and folate levels remained low across the full period of the study, thereby indicating that the patients were at risk of developing poor blood clotting and anemia¹⁵. Patients who are undergoing antiviral treatment against hepatitis C often exhibit reductions in blood cells (erythrocytes, leukocytes, and platelets) and thus need folic acid and vitamin B complex supplements to counterbalance the effects of interferon and ribavirin¹¹. To date, there are no recommended values available for the dietary use of bioactive compounds in food, such as lycopene and citrus flavonoids. Nevertheless, some studies have already reported on the hypolipidemic, antioxidant, and anti-inflammatory effects of such compounds²³.

The regular intake of 500 mL/day of red orange juice has been shown to increase intakes of vitamin C, lycopene, naringin, and hesperidin^{7,24}. These compounds might have contributed to the remarkable improvement in the patients' biochemical profiles in the present study. Before the intervention, the LDL levels of the group without medication, and the triglyceride levels of the group with medication were above the acceptable concentrations. Following the use of red orange juice, both markers of lipid metabolism exhibited significant reductions, and acceptable levels were attained in both groups without concomitant alterations in HDL concentrations. Other studies found appropriate serum levels of total cholesterol in patients with chronic hepatitis C compared with non-infected individuals, possibly because the viral proteins could be diverting liver cholesterol for viral replication. LDL receptor expression increases with reductions in intracellular cholesterol, thus resulting in greater uptake of the circulating LDL, with a consequent reduction in LDL serum levels²⁵.

In addition to this action of the viral proteins, the bioactive compounds in red orange juice, i.e., naringin and hesperidin, might reduce the availability of liver cholesterol by inhibiting the ACAT2 enzyme and reduce the availability of triglycerides by decreasing MTP⁹, thus reducing the synthesis and secretion of these liver lipids. Inhibition of this important metabolic step in the production of VLDL stimulates LDL receptor expression, with a consequent reduction in serum LDL²⁶. Studies examining regular orange juice intake by healthy individuals have also found reductions in serum lipid levels; this reduction has been associated not only with the citrus flavanones' action but also with the vitamin C present in orange juice²⁷. The reduction in serum lipid levels might also be related to the lycopene present in red orange juice. The hypolipidemic action of lycopene was shown by Hu et al.²⁸ in a study using an animal model. These authors compared the effects of lycopene and fluvastatin and observed that the former was as efficacious as the latter. Although the total serum cholesterol levels of both groups studied were within the recommended range, achieving control of lipid metabolism markers is essential in patients with chronic hepatitis C because the HCV replication cycle is fully dependent on the production and secretion pathway of cholesterol and its fractions¹⁰.

Oxidative stress is also an expressive feature in individuals with chronic hepatitis C, independent of the degree of liver involvement²⁹. This oxidation-reduction imbalance might also increase the levels of CRP³⁰. CRP levels are higher among HCV-infected individuals compared to non-infected individuals, whereas comparisons between treated and untreated individuals show that CRP levels are lower in the former³. These findings agree with the results of the present study, as the patients in the group with medication had a lower inflammation threshold (1.02 mg/L) compared to the group without medication (2.5 mg/L). Before the intervention, the CRP levels were above the recommended concentrations (< 1.0 mg/L) in both groups; however, the levels of this marker decreased to within normal values following the intervention (Table 3). Similar results were also obtained by Devaraj et al.³¹ in a study conducted with healthy individuals, in which orange juice intake was associated with reduced CRP and serum cholesterol levels. Consequently, those authors suggested including orange juice as a daily part of the diet.

AST, ALT, γ -GT, and ALP are the main enzyme indicators of the histological liver profile. These enzymes might indicate the liver's inflammatory activity, as well as the progression of disease relative to therapeutic interventions³⁷. Some studies suggest using dietary antioxidants to reduce liver enzyme levels in HCV-infected individuals³⁸. In the present study, the use of red orange juice, presumably due to the juice's citrus flavonoids, was

associated with a reduction in serum levels of ALT, AST, and γ -GT enzymes in patients who exhibited increased levels before the intervention. Kaur et al.³⁹ reported that the administration of hesperidin induced a significant reduction in serum AST, ALT, and ALP levels, in addition to reducing oxidative stress in rats with lipopolysaccharide (LPS)-induced hepatotoxicity, thus suggesting that this flavanone might protect against liver damage. Upaganlawar et al.⁴⁰ found that the use of vitamin E alone, or in combination with lycopene, reduced the serum ALT and AST levels, and attenuated oxidative imbalance in an animal model.

To conclude, we suggest that red orange juice intake should be encouraged in patients with chronic hepatitis, regardless of whether they are undergoing antiviral therapy; this recommendation is based on the positive effects of this food product on serum lipids, liver enzymes, and nutritional status maintenance.

Acknowledgment

Citrosuco Paulista SA company belonging to Grupo Fischer (Matão-SP) by the grant of red orange juice.

Urgency of the Laboratory of Diagnostic Reference Center - CACH-NAC/FCF-UNESP for providing their space and equipment to perform the analyzes.

REFERENCES

1. Seren S, Mutchnick M, Hutchinson D et al. Potential role of lycopene in the treatment of hepatitis C and prevention of hepatocellular carcinoma. *Nutrition and Cancer* 2008; published online July 14. DOI: 10.1080/01635580802419772.
2. El-Zayadi AR, Anis M. Hepatitis C virus induced insulin resistance impairs response to anti viral therapy. *World J Gastroenterol* 2012; published online January 21. DOI:10.3748/wjg.v18.i3.212.
3. Huang CF, Hsieh MY, Yang JF et al. Serum hs-CRP was correlated with treatment response to pegylated interferon and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Int* 2010; published online August 2. DOI 10.1007/s12072-010-9200-8.

4. Bartenschlager R, Cosset FL, Lohmann V. Hepatitis C virus replication cycle. *Journal of Hepatology* 2010; 53: 583-585.
5. Lin CC, Yin MC. Vitamins B depletion, lower iron status and decreased antioxidative defense in patients with chronic hepatitis C treated by pegylated interferon alfa and ribavirin. *Clinical Nutrition* 2009: published online. DOI:10.1016/j.clnu.2008.09.003.
6. Fenech M, Baghurst P, Luderer W et al. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, b-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability-results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis* 2005: published online February 10. DOI:10.1093/carcin/bgi042.
7. Fanciullino AN, Dhuique-mMyer C, LURO F et al. Carotenoid diversity in cultivated citrus is highly influenced by genetic factors. *J. Agric. Food Chem.* 2006: published online May 20. DOI: 10.1021/jf0526644.
8. Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine* 2005: published online. DOI: 10.1016/j.mam.2005.10.001.
9. Borradaile NM, Dreu LE, Barrett PHR, Huff MW. Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin: enhanced rapid intracellular degradation independent of reduced microsomal cholesteryl esters. *J. Lipid Res.* 2002: published online. DOI 10.1194/jlr.M200115-JLR200.
10. Nahmias Y, Goldwasser J, Casali M et al. Apolipoprotein B-dependent hepatitis C virus secretion is inhibited by the grapefruit flavonoid naringenin. *Hepatology* 2008: published online. DOI: 10.1002/hep.22197.
11. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções. Brasil, Ministério da Saúde, 2011. (Acesso 28 de julho, 2011, em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pcdt_hepatite_c_2011_retificado.pdf).

12. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurement on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *British Journal of Nutrition* 1974; 32: 77-97.
13. Siri WE. Body composition from fluid analysis and density: analysis of methods. In: Brozek J, Henschel A (eds). *Techniques for measuring body composition*. Washington: National Research Council 1961.
14. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standardization reference manual*. Abridged, 1991.
15. DRI. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*. National Academy of Sciences 2009.
16. Matthews D, Hosker JP, Rudenski AS et al. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 1985; 23: 412-419.
17. Gelonese, B.; Tambascia, M.A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. *Arquivos Brasileiros End Metab.* 2006; 208-215.
18. Panchal S, Poudyal H, Iyer A et al. High Carbohydrate-High Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome and Cardiovascular Remodeling in Rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2011: published online January. DOI: 10.1097/FJC.0b013e3181feb90a.
19. Carreira CM, Pereira PCM. Nutritional and dietetic profile of individuals with hepatitis C. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 2011: published online. DOI: 10.5433/1679-0367.2011v32n2p143.
20. IDF. International Diabetes Federation. Alberti, KG, 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.

21. Nunes FF, Fernandes SA, Bertolini CM et al. Nutritional evaluation of cirrhotic patients: comparison between several methods. *Scientia Medica* 2012; 22: 12-17.
22. Dutra CNN, Basso C. Nutricional alterations in carriers of hepatitis C. *Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde* 2006; 7: 109-120.
23. Buscemi S, Rosafio G, Arcoleo G. Effects of red orange juice intake on endothelial function and inflammatory markers in adult subjects with increased cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr.* 2012: published online April 4. DOI: 10.3945/ajcn.111.031088.
24. Belajov E, Suhaj M. Determination of phenolic constituents in citrus juices: method of high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 2004: published online. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.09.037.
25. Nashaat EH. Lipid profile among chronic hepatitis C Egyptian patients and its levels pre and post treatment. *Nature and Science* 2010; 8: 83-89.
26. Wilcox LJ, Borradaile NM, Dreu LE, Huff MW. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. *Lipid Res.* 2001; 42: 725-734.
27. Cesar TB, Rodrigues LU, Araujo MSP, Preising NA. Cholesterol-lowering effect of orange juice in normolipidemic subjects. *Rev. Nutr.* 2010; 23: 779-789.
28. Hu MY, Li LY, Jiang CH et al. Comparison of lycopene and fluvastatin effects on atherosclerosis induced by a high-fat diet in rabbits. *Nutrition* 2008: published online May 5. DOI:10.1016/j.nut.2008.05.006.
29. Jain SK, Pemberton PW, Smith A et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *Journal of Hepatology* 2002; 36:805-811.
30. Hishikawa K, Nakaki T, Fujita T. Oral flavonoid supplementation attenuates atherosclerosis development in apolipoprotein E -deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005: published online October 21. DOI: 10.1161/01.ATV.0000148404.24271.fc.

31. Devaraj S, Autret BC, Jialal I. Reduced-calorie orange juice beverage with plant sterols lowers C-reactive protein concentrations and improves the lipid profile in human volunteers. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 756-761.
32. Milenkovic D, Deval C, Dubray C, Mazur A, Morand C. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. *PLoS ONE* 2011: published online November 16. DOI:10.1371/journal.pone.0026669.
33. Bastos DHM, Rogero MM, Arêas JAG. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009; 53: 646-656.
34. Serfaty L, Capeau J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data. *Liver International* 2009. DOI:10.1111/j.1478-3231.2008.01952.x.
35. Sherman DL, Keaney JF Jr, Biegelsen ES et al. Pharmacological concentrations of ascorbic acid are required for the beneficial effect on endothelial vasomotor function in hypertension. *Hypertension*, 2000; 35: 936-41.
36. Souza AFM, Pace FHL, Chebli JMF, Ferreira LEVVC. Insulin resistance in non-diabetic patients with chronic hepatitis C: what does it mean? *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2011; 55: 412-418.
37. Morais CNL, Carvalho BM, Melo WG et al. Correlation of biological serum markers with the degree of hepatic fibrosis and necroinflammatory activity in hepatitis C and schistosomiasis patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2010; 105: 460-466.
38. Murakami Y, Koyabu T, Kawashima A et al. Zinc supplementation prevents the increase of transaminase in chronic hepatitis C patients during combination therapy with pegylated interferon α -2 and ribavirin. *J Nutr Sci Vitaminol* 2007; 53: 213-218.

39. Kaur G, Tirkey N, Chopra K. Beneficial effect of hesperidin on lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity. *Toxicology* 2006: published online July 07. DOI:10.1016/j.tox.2006.06.018.

40. Upaganlawar A, Gandhi H, Balaraman R. Effect of vitamin E alone and in combination with lycopene on biochemical and histopathological alterations in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J Pharmacol Pharmacother* 2010: published online. DOI: 10.4103/0976-500X.64532

Table 1. Anthropometrical data and blood pressure in patients with chronic hepatitis C, with and without use of antiviral medication before and after supplementation of red orange juice.

	<u>With medication</u> ^a		<u>Without medication</u> ^b	
	n = 10		n = 13	
Anthropometrics	Before	After	Before	After
Weight (Kg)	70.0 ± 13.6	68.4 ± 12,4	82.7 ± 13.2	83.5 ± 13.5
BMI (Kg/m ²)	24.3 ± 4.0	23.7 ± 3.5	28.6 ± 4.2	28.8 ± 4.2
Arm circumference (cm)	30.0 ± 3.5	29.0 ± 3.5*	33.5 ± 5.5	33.5 ± 6.0
Waist circumference (cm)	88.0 ± 10.0	85.0 ± 9.0*	102 ± 12	100 ± 11*
Body fat (%)	28.0 ± 7.5	27.0 ± 7.5	32.0 ± 6.0	32.0 ± 6.0
Arterial pressure	Before	After	Before	After
Systolic (mmHg)	117 ± 13	114 ± 12	133 ± 14	129 ± 16
Diastolic (mmHg)	76 ± 11	73 ± 8	83 ± 9	81 ± 12

Mean values ± SD.

^a group of patients with chronic hepatitis C on antiviral therapy (interferon and ribavirin).

^b group of patients with chronic hepatitis C without use of antiviral therapy.

* P ≤ 0.05: differences detected by paired t test before and after ingestion 500mL/day of red orange juice for 8 weeks.

Table 2. Dietary data from patients with chronic hepatitis C, with and without use of antiviral medication before and after supplementation of red orange juice.

Nutrients	<u>With medication</u> ^a		<u>Without medication</u> ^b	
	n = 10		n = 13	
	Before	After	Before	After
Energy (kcal)	1701 ± 502	1948 ± 535*	2416 ± 534	2322 ± 490
Carbohydrates (g)	215 ± 68	268 ± 61*	285 ± 51	296 ± 71
Lipids (g)	61.5 ± 23.2	65.0 ± 24.5	107 ± 30	88.0 ± 18.4
Proteins (g)	65.0 ± 23.5	73.0 ± 24.0*	78.5 ± 21.0	100 ± 17*
Calcium (mg)	513 ± 281	430 ± 144	645 ± 249	646 ± 271
Iron (mg)	10.0 ± 2.4	12.0 ± 3.8	13.0 ± 4.8	14.5 ± 4.3
Vitamin C (mg)	73.0 ± 37.0	242 ± 76*	87.0 ± 65.0	251 ± 74*
Vitamin E (mg)	22.0 ± 12.0	27.0 ± 5.0	50.0 ± 17.0	40.0 ± 10.0*
Folate (mcg)	112 ± 62.0	174 ± 38*	147 ± 53	174 ± 40

Mean values ± SD.

^a group of patients with chronic hepatitis C on antiviral therapy (interferon and ribavirin).

^b group of patients with chronic hepatitis C without use of antiviral therapy.

* $P \leq 0.05$: differences detected by paired t test before and after ingestion 500mL/day of red orange juice for 8 weeks.

Table 3. Biochemical data of patients with chronic hepatitis C, with and without use of antiviral medication before and after supplementation of red orange juice.

Biochemicals	<u>With medication</u> ^a		<u>Without medication</u> ^b	
	n = 10		n = 13	
	Before	After	Before	After
Total cholesterol (mg/dL)	155 ± 26	137 ± 18*	173 ± 27	151 ± 19*
LDL-C (mg/dL)	91 ± 18	78 ± 13*	104 ± 24	89 ± 22*
HDL-C (mg/dL)	34,5 ± 9	32,5 ± 8,7	46 ± 12	47 ± 15
Triglycerides (mg/dL)	178 ± 106	123 ± 49*	118 ± 41,5	92 ± 26*
Glucose (mg/dL)	93 ± 19	91 ± 13	97 ± 22	94 ± 13
Insulin (mg/dL)	15,1 ± 17,0	13,5 ± 11,3	14,1 ± 11,8	11,9 ± 7,9
HOMA-IR	3,8 ± 5,1	3,2 ± 3,1	3,4 ± 2,8	2,9 ± 2,3
CRP (mg/L)	1,02 ± 0,6	0,44 ± 0,5*	2,5 ± 0,9	1,1 ± 0,9*
AST (U/L)	62 ± 35	50 ± 21	79 ± 52	77 ± 60
ALT (U/L)	67 ± 31	58 ± 35	80 ± 53	74 ± 59
γ-GT (U/L)	119 ± 222	114 ± 236	122 ± 139	102 ± 90
ALP (U/L)	86 ± 49	86 ± 50	92 ± 46	77 ± 39*

Mean values ± SD.

CRP, C-reactive protein; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; γ -GT, gamma-glutamyl transpeptidase; ALP, alkaline phosphatase.

^a group of patients with chronic hepatitis C on antiviral therapy (interferon and ribavirin).

^b group of patients with chronic hepatitis C without use of antiviral therapy.

* P ≤ 0.05: differences detected by paired t test before and after ingestion 500mL/day of red orange juice for 8 weeks.

Table 4. Measurement of liver enzymes in patients with chronic hepatitis C with normal levels and increased before and after supplementation of red orange juice.

Liver Enzymes	Normal levels ^a		Increased levels ^b	
	Before	After	Before	After
ALT (U/L)	11 – 45 (n = 6)		> 46 (n = 17)	
	27,0 ± 11,8	25,5 ± 13,2	81,7 ± 30,9	66,8 ± 21,9*
AST (U/L)	11 – 39 (n = 6)		> 40 (n = 17)	
	30,8 ± 6,8	31,7 ± 8,0	81,2 ± 25,2	65,8 ± 21,7*
γ-GT (U/L)	7 – 58 (n = 12)		> 59 (n = 11)	
	34,7 ± 13,4	34,4 ± 15,5	182 ± 132	135 ± 87*
ALP (U/L)	27 – 100 (n = 18)		> 100 (n = 5)	
	69,6 ± 18,9	63,9 ± 22,5*	159 ± 48	142 ± 48

Mean values ± SD.

AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; γ -GT, gamma-glutamyl transpeptidase; ALP, alkaline phosphatase.

^a group of patients with chronic hepatitis C with normal levels liver enzymes.

^b group of patients with chronic hepatitis C with increased levels liver enzymes.

* P ≤ 0.05: differences detected by paired t test before and after ingestion 500mL/day of red orange juice for 8 weeks.

ANEXO

Anexo A – Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa



Protocolo CEP/FCF/CAr nº 20/2011

Interessado: THAIS BORGES CÉSAR

Projeto: Influência do suco de laranja vermelha nos marcadores inflamatórios, imunológicos e no estado nutricional de pacientes com hepatite C crônica


Parecer nº 46/2011 – Comitê de Ética em Pesquisa

O projeto "Influência do suco de laranja vermelha nos marcadores inflamatórios, imunológicos e no estado nutricional 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 e os Termos de Consentimento Livre Esclarecido dos sujeitos da pesquisa (originais e assinados em todas as folhas) deverão ser entregues em dezembro de 2012.

Araraquara, 19 de dezembro de 2011.



Prof. Dr. HENRIQUE FERREIRA
Coordenador do CEP

APÊNDICES

Apêndice A - Questionário Socioeconômico

RG: _____

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone (residencial): _____ (celular): _____

Estado civil: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Escolaridade: _____ Data de Nascimento: ____/____/____

Tempo que contraiu a doença: _____

Tempo que utiliza o medicamento: _____

Genótipo do VHC: _____

Outras doenças: _____

Faz uso de outros medicamentos: () sim () não

Quais: _____

Tabagista: () sim () não

Alcoolismo: () sim () não

Faz algum tipo de controle alimentar: _____

Qual: _____

Apêndice B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu _____,
 RG _____, Estado Civil _____, Idade _____ anos. Residente
 na _____, nº _____, Bairro
 _____, Cidade _____, Telefone _____.

Declaro ter sido esclarecido sobre os seguintes pontos:

1. O trabalho tem por finalidade avaliar se a ingestão diária de suco de laranja vermelha ajudará a fortalecer o sistema de defesa do meu corpo, reduzir os efeitos da hepatite C crônica e melhorar minha nutrição;
2. Doarei para a realização dessa pesquisa, 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, que será utilizado exclusivamente para essa pesquisa, não podendo ser reutilizado em pesquisa posterior. O local da coleta será o Laboratório do SESA localizada na Rua Itália nº 1617, Centro - Araraquara, SP;
3. A minha participação como voluntário terá a duração de 8 semanas;
4. Ao participar dessa pesquisa não corro nenhum risco, apenas terei o desconforto das coletas de sangue, e que todos os materiais utilizados serão descartáveis;
5. Todas as vezes que houver necessidade de retorno, voltarei ao laboratório, com eventuais ressarcimentos de despesas com transporte;
6. Não terei nenhuma despesa ao participar desse estudo;
7. Meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim a minha privacidade e se desejar, serei informado sobre os resultados dessa pesquisa;
8. Estou ciente de que o material a ser doado será utilizado exclusivamente nesta pesquisa, não podendo ser armazenado para uso posterior sem o meu consentimento;
9. Poderei me recusar a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização dessa pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização (isto é, sem interrupção do meu tratamento, quando for o caso);
10. Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos poderei entrar em contato com a equipe científica do projeto pelo telefone (0XX16) 3301-4692 (falar com Cláudia ou Danielle);

11. Para notificação de qualquer situação, relacionada com a ética, que não puder ser resolvida pelos pesquisadores deve entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP, pelo telefone (0XX16) 3301-6897.

Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar, como voluntária(o), do estudo “Influência do suco de laranja vermelha nos marcadores inflamatórios, imunológicos e no estado nutricional de pacientes com hepatite C crônica”.

Araraquara, (Data).

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador

Apêndice C - Registro Alimentar de 24 Horas

Recordatório 24 horas – Dia da semana:	
Café da Manhã horário:	
Lanche da Manhã horário:	
Almoço horário:	
Lanche da Tarde horário:	
Jantar horário:	
Ceia horário:	

Apêndice D - Questionário de Frequência Alimentar

Nome:		No.			
Idade:	Data nasc.: / /	Peso:		Estatura:	
Sexo: () Fem () Masc		C. Cintura:		C. Quadril:	
Raça:	Bio:	C. Punho:		C. Braço:	
PA:		Prega Cutânea Tricipital:			
1) Que tipo de atividade física você pratica?		1 ^b) Com que frequência			
		Regular () Irregular () Não pratica ()			
2. Qual desses laticínios você costuma consumir?					
Leite	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
Leite integral					CR = requeijão
Leite desengordurado					X = xícara
logurte					Cn = caneca
Queijos	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	FF= fatia fina
Branco					FM=média
Mussarela					FG=grande
outros					
Complementos	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	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	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
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	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	UP=unid. peque.
1)					UM=média
2)					UG=grande
3)					FF/FM/FG = fatia
5. Quais destes cereais você consome?					
Cereais	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
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	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
Feijão					C= concha(P,M,G)
Soja					CS = colher sopa
Ervilha/Lentilha/Grão bico					
7. Cite quatro hortaliças (folhas) que você mais consome.					
Hortaliças	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
1)					U=unidade
2)					P=pires
3)					CS=colher sopa
8. Cite quatro legumes que você mais consome					
Legumes	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
1)					U=unidade
2)					P=pires
3)					CS=colher sopa
9. Cite quatro tubérculos que você mais consome					
Tubérculos	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
1)					U=unidade
2)					P=pires
3)					CS=colher sopa
10. Cite três embutidos que você mais consome.					
Embutidos	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
1)					U=unidade
2)					F=fatias
3)					
11. Quais dos adoçantes abaixo você geralmente consome?					
Adoçantes	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
Açúcar					G = gota
Mel					CS= colher sopa
Adoçante Artificial					SB= colh. sobrem
Outro					Cf = colher café
					PC= pacotinho
12. Quais das bebidas abaixo você geralmente consome?					
Bebidas	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
Café					CA = copo americ
Chá					CR = requeijão
Refrigerantes					X = xícara
Refrigerante light					Cn = caneca
Suco natural					Tç = taça
Suco artificial					Ds = dose
Cerveja					Lg = longuinete
Vinho					Lt = lata
Destilados					
13. Quais "snacks" ou "lanchinhos" você consome entre as refeições?					
Lanchinhos	vez/dia	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
Balas/Chicletes					PP= porção peq.
Chocolates					PM=média

Biscoitos recheados					PG=grande
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	Qtd/vez	vez/sem	1-2x/mês	
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					
	Quantidade	No de pessoas na casa	Consumo per capita		
Sal (kg)					
Açúcar (kg)					
Óleo (latas)					