

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
UNESP**

CLÁUDIA GONÇALVES DE LIMA

TESE DE DOUTORADO

**Influência do consumo de suco de laranja sobre
marcadores bioquímicos, imunológicos e de estresse
oxidativo em pacientes com hepatite C crônica**

ARARAQUARA - SP

2015

CLÁUDIA GONÇALVES DE LIMA

**Influência do consumo de suco de laranja sobre
marcadores bioquímicos, imunológicos e de estresse
oxidativo em pacientes com hepatite C crônica**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como exigência para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Thais Borges César

ARARAQUARA - SP

2015

Ficha Catalográfica

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

L732i Lima, Cláudia Gonçalves de
Influência do consumo de suco de laranja sobre marcadores bioquímicos, imunológicos e de estresse oxidativo em pacientes com hepatite C crônica / Cláudia Gonçalves de Lima – Araraquara, 2015
76 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição
Orientador: Thais Borges César

1. Suco de laranja. 2. Hepatite C crônica. 3. Estresse oxidativo. 4. Inflamação. I. César, Thais Borges, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

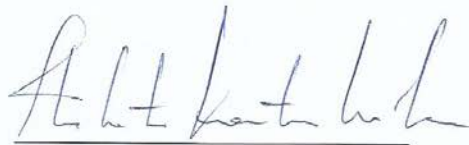
COMISSÃO EXAMINADORA



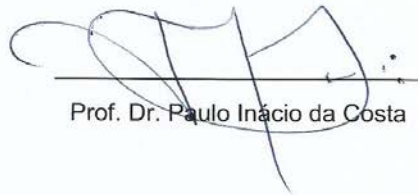
Prof. Dr. Thais Borges Cesar (Orientador)



Prof. Dr. Livia Gussoni Basile



Prof. Dr. Thabata Koester Weber



Prof. Dr. Paulo Inacio da Costa



Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro

DEDICO ESTE TRABALHO:

À Deus

A busca de Deus é a busca da alegria. O encontro com Deus é a própria alegria
(Santo agostinho).

Ao meu querido esposo Donizeti pelo apoio incondicional em todo os momentos.

Sem você, nenhuma conquista valeria a pena.

Aos meus amados filhos, José Luiz e Amanda pelo incentivo e paciência.

Sem quais eu não poderia ter realizado esse sonho.

Aos meus pais, Antônio, Maria de Lourdes e D. Nenê,

Pelo apoio, amor e orações.

À amiga Lívia, pelo amor e carinho sempre dedicados.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha querida orientadora Profa. Dra. Thais Borges César, pela orientação, dedicação, competência e amizade.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

Aos professores integrantes da comissão examinadora pelas valiosas sugestões ao trabalho.

A todos os voluntários da pesquisa, pela colaboração e empenho, sem os quais nada seria possível

À Danielle Raquel Gonçalves e Paula Souza Ferreira pela amizade, dedicação e ajuda na fase experimental.

À amiga Lívia pela amizade e amor dedicado nesse período.

Às amigas do laboratório de Nutrição, em especial a Jacqueline, pelo convívio alegre que tivemos.

À Ana Lucia pela atenção e auxílio dedicados durante e após a pesquisa.

Aos enfermeiros do SESA pelo apoio e auxílio na fase experimental.

Às equipes dos Laboratórios de Urgência/Emergência - CACH-NAC/FCFAR e de Imunologia Clínica e Biologia Molecular – CACH – NAC/FCFAR pelo apoio na realização dos exames bioquímicos, em especial ao Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara pelo apoio e disponibilidade concedidos.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, pelo ensino e dedicação.

Aos funcionários da biblioteca da UNESP de Araraquara pela atenção e auxílio.

Ao Donizeti, José Luiz e Amanda, pelo amor incondicional e por compreenderem a minha ausência e me ajudarem a enfrentar essa jornada com tanto amor.

Aos meus queridos pais, irmãos, sobrinhos e amigos que apesar da distância nunca deixaram de torcer por mim e entenderem a minha ausência.

Empresa Citrosuco S/A, pelo apoio a pesquisa.

À Capes pelo suporte financeiro.

O sonho

Sonhe com aquilo que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida
e nela só se tem uma chance
de fazer aquilo que quer.

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não tem as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades
que aparecem em seus caminhos.

A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem
a importância das pessoas que passaram por suas vidas.

Clarice Lispector

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do consumo regular do suco de laranja nos parâmetros nutricionais, hemodinâmicos e bioquímicos de pacientes com hepatite C crônica. Participaram do estudo 66 indivíduos adultos de ambos os sexos, divididos em quatro grupos: Grupo com tratamento medicamentoso e com suco de laranja (MedSuco), Grupo sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja (Suco), Grupo com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja (Med) e Grupo sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja (Controle). Os participantes dos grupos Suco e MedSuco receberam 500 mL/dia de suco de laranja pasteurizado durante 8 semanas. As variáveis antropométricas utilizadas foram: peso, altura, dobras cutâneas do tríceps, bíceps, subescapular e supra ilíaca e circunferência da cintura. Para a avaliação hemodinâmica foram verificadas a pressão arterial sistólica e a diastólica, e para a avaliação dietética foi utilizado o registro alimentar, durante três dias alternados. Para a avaliação bioquímica foram realizadas dosagens de colesterol total, colesterol de HDL, triglicérides, glicemia de jejum, insulina, proteína C reativa, peroxidação lipídica, capacidade antioxidante, TNF- α , interleucinas 6 e 10 e carga viral. Todas as avaliações foram realizadas antes e após o consumo do suco de laranja. Os resultados mostraram que após o consumo do suco de laranja, os pacientes do grupo Suco tiveram redução significativa do LDL-C (-9,9%), pressão arterial sistólica (-4,5%), insulina (-26,5%), índice HOMA (-32,0%), peroxidação lipídica (-68,5%), proteína C reativa (-48,8%) e TNF- α (-11,7%), e aumento da capacidade antioxidante (1,2%); e os pacientes do grupo MedSuco tiveram redução significativa do LDL-C (-13,7%), pressão arterial sistólica (5,1%), HDL-C (-12,2%), peroxidação lipídica (-39,1%), proteína C reativa (-74,9%), TNF- α (-8,8%) e carga viral (26,5%), e aumento da capacidade antioxidante (2,5%). Não houve diminuição significativa das variáveis antropométricas. O consumo do suco de laranja aumentou em 334,0% a ingestão de vitamina C e 63,6% a ingestão de folato dos participantes do grupo Suco, e 239,5% de vitamina C e 53,0% de folato dos participantes do grupo MedSuco. A ingestão regular de suco de laranja pode ter sido responsável pela redução do estresse oxidativo e inflamação, normalmente presentes em pacientes portadores de hepatite C crônica.

Palavras Chave: suco de laranja, hepatite C crônica, estresse oxidativo, inflamação.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of regular orange juice consumption on nutritional parameters, hemodynamics and biochemicals of patients with chronic hepatitis C. The study included thirty-six adults of both sexes, divided into four groups: Group with drug treatment and orange juice (MedJuice), Group without drug treatment and with orange juice (Juice), Group with drug treatment and no orange juice (Med) and Group without drug treatment and no orange juice (Control). The participants of groups Juice and MedJuice received 500 mL / day of pasteurized orange juice for 8 weeks. The anthropometric variables were studied: weight, height, skin folds of the triceps, biceps, subscapular and suprailiac and waist circumference. For hemodynamic evaluation were found systolic and diastolic blood pressure, and for dietary assessment was used food records for three alternate days. For the biochemical evaluation were performed in total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, fasting glucose, insulin, C-reactive protein, lipid peroxidation, antioxidant capacity, TNF- α , interleukins 6 and 10 and viral load. All evaluations were performed before and after consumption of orange juice. The results showed that after the consumption of orange juice, patients of Juice group had significant reduction in LDL-C (-9.9%), systolic blood pressure (-4.5%), insulin (-26.5%), HOMA index (-32.0%), lipid peroxidation (-68.5%), C-reactive protein (-48.8%) and TNF- α (-11.7%) and increase in antioxidant capacity (1.2%); and patients of MedJuice group had significant reduction in LDL-C (-13.7%), systolic blood pressure (5.1%), HDL-C (-12.2%), lipid peroxidation (-39.1%), C-reactive protein (-74.9%), TNF- α (-8.8%) and viral load (26.5%) and increase in antioxidant capacity (2.5%). There was no significant decrease in anthropometric variables. Consumption of orange juice increased by 334.0% to intake of vitamin C and 63.6% folate intake of participants in the Juice group, and 239.5% of vitamin C and 53.0% folate of participants in the MedJuice group. Regular intake of orange juice may have been responsible for the reduction of oxidative stress and inflammation, usually present in patients with chronic hepatitis C.

Keywords: orange juice, chronic hepatitis C, oxidative stress, inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- | | |
|---|----|
| 1. Casos confirmados de Hepatite C segundo região de residência.
Brasil, 1999-2011 | 22 |
| 2. História natural da hepatite C | 26 |

LISTA DE QUADROS

1. Tratamento medicamentoso recomendado de acordo com genótipo da hepatite C crônica, até o ano de 2013	30
2. Composição nutricional do suco de laranja integral pasteurizado	31

LISTA DE TABELAS

1. Propriedades físico-químicas e capacidade antioxidante do suco de laranja pasteurizado	53
2. Características clínicas iniciais dos indivíduos com hepatite C, comparando todos os grupos	53
3. Variáveis antropométricas e dietéticas dos indivíduos com hepatite C, após 8 semanas do período experimental	54
4. Variáveis bioquímicas e Pressão Arterial Sistêmica dos indivíduos com hepatite C, após 8 semanas do período experimental	55
5. Variáveis do estresse oxidativo, inflamação e carga viral dos indivíduos com hepatite C, após 8 semanas do período experimental	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µg/mL	Micrograma por mililitro
µM	Micrômetro
µmol	Micromol
ABTS	Radical 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
ACAT 2	Acil colesterol-acil transferase 2
CC	Circunferência da cintura
CD81	Cluster of Differentiation 81
cm	Centímetro
CT	Colesterol total
CV	Carga viral
dL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DST	Doença sexualmente transmissível
E2	Proteína de envelope 2
g	Gramma
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-C	Colesterol de HDL
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HMGCoA	Hidroxi-metil-glutaril Coenzima A
IFN	Interferon
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea
Kcal	Quilocaloria
kg	Quilograma
kg/m²	Quilogramas por metro quadrado
L	Litro
LDL	Lipoproteína de Densidade Baixa
LDL-C	Colesterol de LDL
LDL-R	Receptor da lipoproteína de baixa densidade

Log	Logaritmo
LXRα	Liver X receptor alpha
m	Metro
m³	Metro cúbico
MDA	Malondialdeído
Med	Medicamento
MedSuco	Medicamento e Suco
mg	Miligrama
mg/dL	Miligrama por decilitro
miRNAs	MicroRNAs
mL	Mililitros
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de mercúrio
mmol	Milimol
MTP	Proteína de transferência de triglicerídeo microsomal
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido
NF-κB	Fator de transcrição nuclear fator de κ B
nm	Nanômetro
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NS5A	Proteína não estrutural 5A
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C reativa
PEG-IFN	Interferon peguilado
pg /mL	Picograma por mililitro
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
PKB	Proteína quinase B
RA	Registro alimentar
RBV	Ribavirina
RNA_m	Ácido Ribonucleico Mensageiro
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SESA	Serviço Especial de Saúde de Araraquara

SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SR – BI	Scavenger receptor class B type 1
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicérides
TGF-β	Fator de crescimento tumoral
TLR-4	Toll-Like Receptor 4
TNF-α	Fator de necrose tumoral
UI/mL	Unidades Internacionais por mililitro
VHC	Vírus da hepatite C
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2. Objetivos específicos	20
CAPÍTULO I - Revisão de literatura	22
1.1 Epidemiologia da hepatite C crônica	22
1.2 Transmissão, fatores de risco e vulnerabilidade da hepatite C	23
1.3 História natural da hepatite C	24
1.4 Mecanismo de infecção do vírus da hepatite C	28
1.5 Prevenção e tratamento da hepatite C	29
1.6 Suco de laranja	30
1.7 Suco de laranja e hepatite C	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

CAPÍTULO II – Artigo: Efeitos da ingestão regular do suco de laranja sobre marcadores metabólicos, inflamação e estresse oxidativo em pacientes com hepatite C crônica	41
APÊNDICES	71
ANEXOS	75

1 INTRODUÇÃO GERAL

A hepatite C é uma das maiores causas de doença hepática crônica e se configura como um sério problema de saúde pública mundial devido a sua capacidade de promover o surgimento de cirrose e hepatocarcinoma (STRAUSS, 2001; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013a), configurando como a maior causa de transplante hepático (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PORTADORES DE HEPATITE, 2014).

Estima-se que aproximadamente 180 milhões de pessoas ou cerca de 3% da população mundial são portadoras do vírus da hepatite C (VHC) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013b) e todos os anos mais de 350 mil pessoas morrem de doenças hepáticas relacionadas a essa infecção (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013a). Um estudo epidemiológico com representatividade nacional, realizado entre os anos de 2005 e 2009, em 26 capitais do Brasil e no Distrito Federal, com indivíduos entre 10 e 69 anos, mostrou positividade sorológica indicativa da infecção por esse vírus em 1,38% da população, o que indica baixa endemicidade, entretanto, o país apresenta um grande número total de infectados (BRASIL, 2012; PEREIRA, 2013).

Os estudos realizados com indivíduos portadores da hepatite C demonstram que os mesmos possuem falhas no sistema antioxidante endógeno, com aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (BANDARA *et al.*, 2005). Além disso, possuem níveis plasmáticos elevados de citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF- α), e fator de crescimento tumoral (TGF- β) quando comparados com indivíduos não infectados (FUKUDA *et al.*, 1996; OSNA, 1997; SHIRAI, 1994; STRAUSS, 2001; TILG, 1992).

Estudos têm sido realizados para verificar a relação entre alguns componentes antioxidantes e a hepatite C crônica, mostrando inibição eficaz da replicação do VHC *in vitro*, via inibição do estresse oxidativo / nitrosativo e modulação posterior do metabolismo lipídico pela quercetina (PISONERO-VAQUERO *et al.*, 2014), redução das citocinas pró-inflamatórias e proteína C reativa (PCR) em células hepáticas infectadas pelo VHC e incubadas com naringenina (NAHMIAS *et al.*, 2008), e associação negativa entre os níveis plasmáticos de vitamina C e inflamação hepática (BANDARA *et al.*, 2005).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do consumo regular do suco de laranja nos parâmetros nutricionais, hemodinâmicos, imunológicos, virais e do estresse oxidativo de pacientes com hepatite C crônica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do consumo regular do suco de laranja sobre os marcadores oxidativos, imunológicos, virais, nutricionais e hemodinâmicos em pacientes com hepatite C crônica.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar antes e após a intervenção dietética com suco de laranja os seguintes parâmetros:

1) Estresse Oxidativo

- a. Peroxidação lipídica (TBARS);
- b. Capacidade antioxidante não enzimática (ABTS).

2) Imunológicos

- a. Interleucinas 6 e 10 (IL-6, IL-10);
- b. Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

3) Carga viral (CV).

4) Nutricionais

- a. Antropometria (peso corporal, estatura, % gordura corporal, circunferência da cintura);
- b. Dietético (Registro Alimentar);

c. Bioquímico (colesterol total, colesterol de HDL, triglicérides, glicose, insulina e Proteína C reativa).

4) Hemodinâmicos: pressão arterial sistólica e diastólica.

CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Epidemiologia da hepatite C crônica

De acordo com o Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais de 2012, o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) registrou 82.041 casos confirmados de hepatite C no Brasil, entre os anos de 1999 e 2011, sendo a maior parte nas regiões Sudeste (67,3%) e Sul (22,3%), conforme a Figura 1. No ano de 2010 foram notificados 10.321 casos de hepatite C no Brasil, sendo também a maioria nas regiões Sudeste (63,2%) e Sul (24,8%) (BRASIL, 2012).

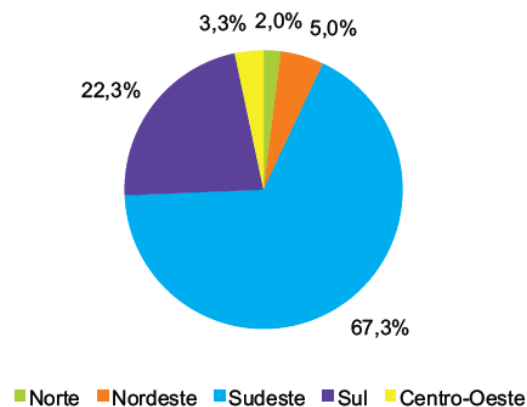


Figura 1. Casos confirmados de Hepatite C segundo região de residência. Brasil, 1999-2011 (BRASIL, 2012).

A prevalência de hepatite C é maior no gênero masculino, do que no feminino. O SINAN no mesmo período de 1999 a 2011 registrou 49.291 (60,1%) casos entre homens e 32.734 (39,9%) entre mulheres. Em 2010, a faixa etária entre 55 e 59 anos (15,8) foi a que apresentou a maior taxa de detecção por 100.000 habitantes, seguida pelas de 50 a 54 anos (15,3), de 45 a 49 anos (13,9), de 40 a 44 anos (10,4) e de mais de 60 anos (9,2), totalizando 7.749 casos entre pessoas com mais de 40 anos, o que

representa 75,1% dos casos para esse ano. A taxa de detecção é maior entre os homens do que entre as mulheres de 40 a 59 anos de idade, entretanto, é maior em mulheres depois dos 60 anos de idade (BRASIL, 2012).

1.2 Transmissão, fatores de risco e vulnerabilidade da hepatite C

As formas de transmissão mais comuns são por compartilhamento de material para uso de drogas como, seringas, agulhas e cachimbos; material de higiene pessoal como, lâminas de barbear e depilar, escova de dente, alicate de unha ou outros objetos perfuro cortantes; ou para confecção de tatuagens e colocação de *piercings*. Também pode ocorrer transmissão perinatal e por transfusão de sangue contaminado (BRASIL, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013a).

A população considerada de maior risco para infecção pelo VHC é composta por: usuários de drogas injetáveis, inclusive aqueles que injetaram apenas uma vez, há muitos anos; beneficiários de transfusões de sangue ou transplantes de órgãos antes de julho de 1992; pacientes em hemodiálise por longo período; profissionais da saúde expostos a sangue contaminado; receptores de sangue ou órgãos de um doador VHC-positivo; pessoas que fizeram tatuagem ou colocaram *piercing* com equipamentos não esterilizados; pessoas que compartilham equipamentos não esterilizados ao frequentar pedicures, manicures e podólogos; pacientes que realizam procedimentos cirúrgicos, odontológicos e de acupuntura sem as adequadas normas de biossegurança; pessoas com infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e crianças nascidas de mães VHC-positivas (BRASIL, 2011; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2012; MAYO CLINIC, 2013).

A transmissão do VHC por exposição a fluidos corporais e mucosas ocorre com menor frequência, entretanto, pessoas com múltiplos parceiros sexuais e práticas sexuais desprotegidas estão mais susceptíveis. A coexistência de alguma doença sexualmente transmissível (DST), incluindo o HIV, constitui relevante facilitador para a transmissão (BRASIL, 2011).

São considerados fatores de vulnerabilidade individual e social a privação de liberdade; o viver em situação de rua; transtornos mentais graves; pessoas que usam álcool e outras drogas; e a falta de acesso à informação e aos insumos de prevenção como preservativos, cachimbos, seringas e agulhas descartáveis (BRASIL, 2011).

1.3 História natural da hepatite C

O VHC é um vírus da família *Flaviviridae* (CHOO *et al.*, 1989). O processo de replicação do VHC ocorre no citoplasma do hepatócito e não é diretamente citopático. Sua taxa de replicação pode ser bastante elevada, variando entre 10^{10} a 10^{12} vírions por dia, com meia-vida viral estimada de 2 a 3 horas (NEUMANN *et al.*, 1998).

O VHC é classificado em seis principais genótipos (designados de 1 a 6), diversos subtipos e aproximadamente 100 diferentes cepas, com base na heterogeneidade da sequência genômica (BUKH; MILLER; PURCELL, 1995). Os genótipos 1, 2 e 3 têm distribuição mundial: entre eles, os genótipos 1a e 1b são os mais comuns, representando 60% das infecções no mundo (NOORALI *et al.*, 2011). No Brasil, são encontrados, principalmente, os genótipos 1a, 1b, 2a, 2b e 3, com predominância do genótipo 1 sobre genótipos não-1, com distribuição de 60% e 40%, respectivamente (CAMPIOTTO *et al.*, 2005; FOCACCIA *et al.*, 2004). Entre os portadores diagnosticados no Brasil que apresentam o genótipo 1, aproximadamente

em 25% é observado o genótipo 3 e 5% o genótipo 2 (MARTINS *et al.*, 2006).

As frequentes mutações do VHC e os numerosos subtipos virais são alguns dos obstáculos para o desenvolvimento de uma vacina eficaz (BUKH; MILLER; PURCELL, 1995).

A infecção aguda pelo VHC é assintomática em 80 a 90% dos casos, porém, quando presentes, os sintomas ocorrem de 6 a 12 semanas da infecção, sendo os mais comuns, icterícia, astenia, mal-estar, dor abdominal, fraqueza e anorexia (THIMME *et al.*, 2001). Nesse estágio a hepatite fulminante é muito rara (FARCI; PURCELL, 1996). Os sintomas mais comuns na infecção pelo VHC sem cirrose são: fadiga, presente em 80% dos pacientes com sintomas; disfunção cognitiva; febre baixa; desconforto abdominal; distúrbios de apetite; dor abdominal; distúrbios digestivos; mialgia; artralgia; depressão; ansiedade; entre outros (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

Existe uma dificuldade em se construir a história natural da hepatite C devido ao problema em identificar a data de transmissão, pela ausência de informações prospectivas, associações com outros fatores que alteram o curso da doença e pela falta de sintomas na maioria dos casos (AUGUSTO; LOBATO, 2004; STRAUSS, 2001). Geralmente os sintomas são detectados quando o quadro clínico é mais grave, pois o paciente já apresenta cirrose, cerca de 20 a 30 anos após a infecção. Por ser uma doença que se desenvolve lentamente, possui um grande número de indivíduos portadores do vírus e ampla distribuição mundial (POYNARD; AFDHAL, 1997). A história natural da hepatite C é dividida em duas fases, fase aguda e fase crônica (Figura 2).

Dos casos de hepatite C aguda, de 60 a 85% evoluem para hepatite C crônica e de 15 a 40% para cura espontânea. Dos casos de hepatite C crônica, de 10 a 15%

evoluem para cirrose e de 85 a 90% para estágio lento fibrosante. Dos casos de cirrose, 25% evoluem para falência hepática e 75% se tornam estáveis. Dos casos de falência hepática, de 2 a 4% são devido ao carcinoma (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

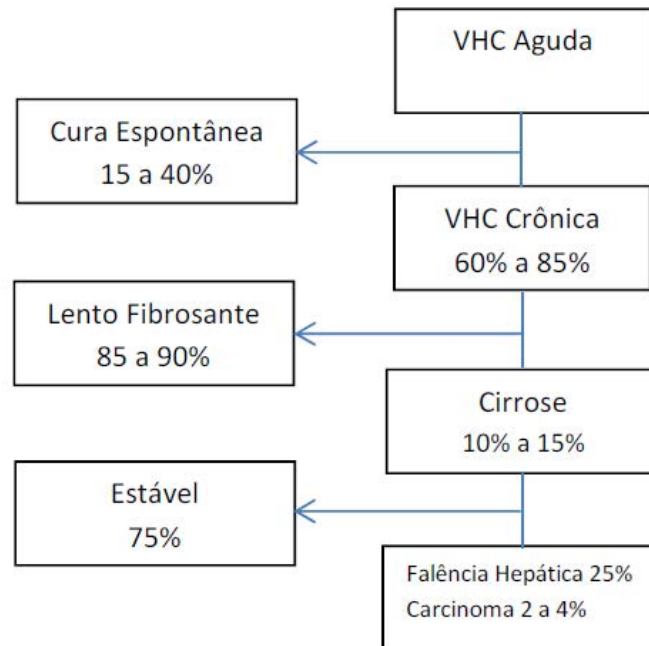


Figura 2. História natural da hepatite C (Adaptado do NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

Alguns fatores influenciam na progressão da fibrose, dentre eles o gênero masculino, idade superior a 40 anos no momento da infecção, coinfeção com o vírus do HIV e/ou hepatite B, uso de álcool, imunossupressão, esteatose hepática, resistência à insulina e atividade necro-inflamatória na primeira biópsia hepática (DONATO; BOFFETTA; PUOTI, 1998). O risco de evolução para cirrose, descompensação e carcinoma hepático é também influenciado por esses fatores (INTERNATIONAL INTERFERON- α HEPATOCELLULAR CARCINOMA STUDY GROUP, 1998).

A evolução para óbito é decorrente de complicações da hepatopatia crônica, como por exemplo insuficiência hepatocelular, complicações referentes ao desenvolvimento de hipertensão portal (varizes esofágicas, hemorragia digestiva alta, ascite e encefalopatia hepática), trombocitopenia e carcinoma hepático (BRASIL, 2011).

Os indivíduos com hepatite C crônica podem apresentar manifestações extra-hepáticas ou síndromes consideradas de origem imunológica, como sintomas reumatóides, ceratoconjuntivite seca, glomerulonefrite, linfoma, crioglobulinemia mista e líquen plano. A hepatite C crônica também está relacionada com porfiria cutânea tardia. Distúrbios psicológicos, incluindo depressão têm sido associados com a infecção pelo VHC em até 20 a 30% dos casos (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002). Outras manifestações que podem ocorrer são tireoidite autoimune, certos tipos de úlceras de córnea, fibrose pulmonar idiopática, poliarterite nodosa e anemia aplástica (LUNEL; CACOUB, 1999).

Os danos causados pelos produtos virais do VHC ao sistema imunológico são decorrentes da citotoxicidade direta, indução ao estresse oxidativo, dano mitocondrial, acúmulo de ferro no fígado, resposta inflamatória através de reação imunológica e ação direta das proteínas virais (ALBERTI; BENVIGNÚ, 2003).

Pacientes com hepatite C crônica possuem níveis plasmáticos elevados de citocinas, TNF- α , e TGF- β quando comparados com indivíduos não infectados (FUKUDA *et al.*, 1996; OSNA, 1997; SHIRAI, 1994; STRAUSS, 2001; TILG, 1992). Segundo De Waal Malefyt (1998) a resposta à terapia antiviral na infecção pelo VHC e a persistência do vírus podem ser influenciadas pela produção de níveis inadequados de algumas citocinas.

1.4 Mecanismo de infecção do vírus da hepatite C

O mecanismo pelo qual o VHC se liga e entra nas células parece ser complexo (FAVRE, 2005). O Receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL-R) tem sido proposto como o receptor envolvido na replicação do VHC (PETIT, 2007) e vários estudos relataram a interação entre o metabolismo de lipoproteínas e o ciclo de vida do VHC (FAVRE, 2005; PETIT, 2007). Tem sido sugerido que as partículas de VHC associadas a lipoproteínas representam a espécie com mais alta infecciosidade, enquanto que partículas virais livres de lipoproteínas são menos infecciosas (PETIT, 2007). Com base em estudos *in vitro*, um dos parâmetros cruciais para a entrada do vírus nas células hepáticas seria por meio dos receptores de Lipoproteína de Densidade Baixa (LDL) na superfície das células dos hepatócitos, onde o vírus da hepatite C se complexa com a Lipoproteína de Densidade Muito Baixa (VLDL) ou LDL, entrando na célula hepática através dos receptores de LDL (AGNELLO, 1999; PETIT, 2007).

Alguns estudos relataram uma maior prevalência de hipocolesterolemia em pacientes com VHC. Essa hipocolesterolemia pode modificar a regulação da expressão do LDL-R, e como efeito, a expressão de LDL-R na superfície celular dos hepatócitos é inversamente relacionada com a concentração de colesterol LDL (PETIT, 2007). Os receptores de LDL podem ser os principais, mas não exclusivos meios de entrada desse vírus nas células (AGNELLO, 1999). O VHC explora a atividade fisiológica de Scavenger receptor class B type 1 (SR – BI), uma proteína que funciona como receptor da lipoproteína de alta densidade (HDL), para promover a sua entrada nas células alvo, conseqüentemente, também protege o vírus contra anticorpos neutralizantes (VOISSET, 2006).

Outro mecanismo de infecção do VHC ocorre por meio da proteína CD81, também conhecida como tetraespanina 28, que está localizada na superfície do hepatócito e funciona como um receptor para a proteína de envelope 2 (E2) do VHC (ZEISEL, 2007).

1.5 Prevenção e tratamento da hepatite C

Não existe vacina para a hepatite C e o risco de infecção pode ser reduzido evitando injeções desnecessárias e inseguras, produtos contaminados com sangue, uso de drogas ilícitas, partilha de material perfuro cortantes, sexo desprotegido, tatuagens, *piercings* e acupunturas com material contaminado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013a; 2012).

Para as pessoas infectadas com o vírus da hepatite C, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o aconselhamento sobre as opções para o cuidado e tratamento, imunização com a vacina da hepatite A e B para evitar a coinfeção de vírus da hepatite, início precoce do tratamento médico adequado com terapia antiviral se for o caso, e acompanhamento regular para o diagnóstico precoce de doença hepática crônica (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013a).

O tratamento medicamentoso recomendado no Brasil, pelo Ministério da Saúde, de acordo com os genótipos do VHC, até o ano de 2013, é demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1. Tratamento medicamentoso recomendado de acordo com genótipo da hepatite C crônica, até o ano de 2013 (BRASIL, 2011).

Genótipos	Tratamento medicamentoso recomendado
1	Associação de interferon peguilado (PEG-IFN) e ribavirina (RBV), durante 48 a 72 semanas.
2 e 3	Associação de interferon (IFN) convencional e RBV, durante 24 semanas. No caso de má resposta ao tratamento com INF convencional os pacientes devem receber tratamento com PEG-IFN.
4 e 5	Associação de PEG-IFN alfa e RBV, durante 48 a 72 semanas.

O tratamento medicamentoso pode ocasionar diversos efeitos adversos e alterações laboratoriais, possivelmente reversíveis entre 12 a 24 semanas após seu término. Dentre os efeitos adversos reconhecidos da terapia com IFN convencional e PEG-IFN pode-se destacar: alopecia, anemia, distúrbios autoimunes (tireoidite, fibrose pulmonar, neuropatia periférica), depressão ou transtornos do humor, diarreia, sintomas semelhantes aos da gripe, dor ou eritema no local da injeção, retinopatia, transtornos do sono, trombocitopenia e neutropenia, disfunção da tireoide e perda de peso. E dentre os efeitos adversos reconhecidos da terapia com RBV pode-se citar: anemia hemolítica, tosse, dispneia, gota, náusea, erupções cutâneas e teratogenicidade. O apoio multiprofissional com estratégias de motivação é muito importante para a redução do risco de abandono inicial do tratamento (BRASIL, 2011).

1.6 Suco de laranja

O suco de laranja contém nutrientes e compostos bioativos como os flavonoides (hesperidina e naringenina), carotenoides, vitamina C e folato, que possuem ação antioxidante e outros efeitos benéficos para o ser humano (FRANKE *et al.*, 2005).

A composição nutricional do suco de laranja integral pasteurizado está descrita no Quadro 2 (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2010).

Quadro 2. Composição nutricional do suco de laranja integral pasteurizado.

Composição nutricional	500 mL
Energia	240 kcal
Carboidratos	58 g
Potássio	886 mg
Vitamina C	168 mg
Folato	94 µg
B-caroteno	40 µg

Fonte: UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2010.

Segundo Silveira e colaboradores (2014), o suco de laranja pasteurizado contém em média 154,6 µg/mL de hesperidina, 36,5 µg/mL de narirutina e 0,45 µg/mL de polimetoxiflavonas.

1.7 Suco de laranja e hepatite C

Dos nutrientes presentes no suco de laranja, a vitamina C merece destaque devido à sua característica antioxidante capaz de exercer diversas atividades no metabolismo humano. Ela participa como cofator na biossíntese do colágeno, da carnitina e de neurotransmissores, e é um importante antioxidante hidrossolúvel nos fluidos biológicos, capaz de remover espécies de nitrogênio e oxigênio reativas, protegendo as células contra danos oxidativos. Também está associada à redução do risco de doenças como câncer e doença cardiovascular (SILALAH, 2002; SIQUEIRA, ABDALLA; FERREIRA, 2006).

A vitamina C age como moduladora da resposta imune na patogênese da hepatite C, pois contribui com a defesa imune do hospedeiro em várias etapas

(DUSTAN; RASHIDI, 2006). Desta maneira, essa vitamina pode ser utilizada como um auxiliar na redução da carga viral, à medida que a resposta imune do hospedeiro contra o VHC se torna ineficiente e a doença progride (DUSTAN; RASHIDI, 2006). Também é importante na proteção dos lipídeos plasmáticos contra o processo de peroxidação (FREI; STOCKER; AMES, 1988), atividade anti-apoptótica, dentre outras (TSAI *et al.*, 1997).

Pacientes com hepatite C crônica apresentam níveis baixos de vitamina C no plasma quando comparados com indivíduos saudáveis, pois os níveis de vitamina C tendem a diminuir durante o estresse oxidativo, devido ao aumento da atividade das transaminases (JAIN *et al.*, 2002; YAGY, 1998). Segundo Bandara e outros (2005) existe uma correlação negativa entre vitamina C, atividade inflamatória e o estágio de fibrose através de biopsia hepática. Desta maneira, essa vitamina pode ser utilizada como indicador inicial de estresse oxidativo devido sua oxidação imediata mediante a estimulação desencadeada por leucócitos ativados, que estão envolvidos no processo inflamatório (FREI; STOCKER; AMES, 1988).

Estudo realizado com indivíduos que consumiram suco de laranja sanguínea ou bebida suplementada com a mesma quantidade de vitamina C do suco verificou que o efeito protetor ao dano oxidativo no ácido desoxirribonucleico (DNA) não foi atribuído apenas à vitamina C, mas à sinergia entre a mesma e os compostos fitoquímicos também existentes no suco (GUARNIERI; RISO; PORRINI, 2007).

As flavanonas cítricas, hesperidina e naringina, são fitoquímicos encontrados exclusivamente no suco de laranja e têm sido associadas à ação antioxidante, hipolipidêmica e anti-inflamatória (ERDMAN *et al.*, 2007).

Os flavonoides podem sofrer reações de conjugação como glicuronidação e metilação na parede intestinal. Os conjugados exercem ações funcionais como

atividade antioxidante, prevenção do estresse oxidativo e de doenças crônicas, após serem excretados pela bile ou serem levados aos tecidos periféricos pelo sistema sanguíneo (LIU, 2004).

Nahmias e outros (2008) verificaram uma relação entre a hepatite C e os flavonoides, especificamente a naringenina presente na *grapefruit*, e demonstraram que o VHC foi secretado por células infectadas através de mecanismo Golgi-dependente enquanto ligado à lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL). A naringenina, que previamente foi mostrada por inibir a secreção de VLDL *in vivo* e *in vitro*, inibiu também a transcrição da Hidroxi-metil-glutaril Coenzima A (HMGCoA) redutase e Acil colesterol-acil transferase 2 (ACAT 2) nas células infectadas. De acordo com os autores, a estimulação com a naringenina reduziu em 80% a secreção de VHC em células infectadas.

Estudo realizado com portadores de hepatite C crônica observou que o consumo de suco de laranja pasteurizado durante sessenta dias reduziu as concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol, insulina de jejum, PCR e peroxidação lipídica, e por outro lado aumentou a capacidade antioxidante, sugerindo uma melhora no perfil lipídico, sensibilidade à insulina, redução do estresse oxidativo e do estado inflamatório decorrentes da infecção crônica com o VHC. Os efeitos verificados são atribuídos provavelmente à ação antioxidante da vitamina C e das flavanonas do suco de laranja e poderiam promover proteção contra o desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas (MANJATE, 2011).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PORTADORES DE HEPATITE. **Tipos de hepatite**. Disponível em: < <http://www.abphepatite.org.br/hepatite/tipos-de-hepatite>>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2014.

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.

ALBERTI, A.; BENVENIGNO, L. Management of hepatitis C. **J. Hepatol.**, v. 38, p. 104-118, 2003.

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

BRASIL. Ministério da saúde. **Hepatite C**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/hepatite-c>>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Hepatites virais. **Boletim epidemiológico**, Brasília, ano III, n. 1, p. 1-172, 2012.

BRASIL. 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**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/hepatite-c>>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2014.

BITTERS, W.P. Physical characters and chemical composition as affected by scions and rootstocks. In: SINCLAIR, W.B. (Ed.). **The orange: its biochemistry and physiology**. Riverside: The University of California, 1961. p. 56-95.

BUKH, J.; MILLER, R. H.; PURCELL, R. H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. **Semin. Liver Dis.**, v. 15, n. 1, p. 41-63, 1995.

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

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations for the Identification of Chronic Hepatitis C Virus Infection Among Persons Born During 1945–1965. **Recommendations and Reports**, v. 61, n. 4, 2012. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/hcvfaq.htm>>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2014.

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.

DE WAAL MALEFYT, R. **Interleukin-10**. In: MIRE-SLUIJ, A. R. & THORPE, R. Cytokines. San Diego : Academic Press, p.151-67, 1998.

DONATO, F.; BOFFETTA, P.; PUOTI, M. A meta-analysis of epidemiological studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma. **Int. J. Cancer.**, v. 75, n. 3, p. 347-54, 1998.

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

ERDMAN, J. W., *et al.* Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC. **J. Nutr.**, v. 137, n. 3, p. 718S-37S, 2007. Supplement 1.

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

FAVRE, D.; MUELLHAUPT, B., 2005. Potential cellular receptors involved in hepatitis C virus entry into Cells. **Lipids in Health Disease**, v. 4, n. 9, 2005.

FOCACCIA, R. *et al.* Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 8, n. 5, p. 348-355, 2004.

FRANKE, A. A. *et al.* Bioavailability and antioxidant effects of orange juice components in humans. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, n. 13, p. 5170-78, 2005.

FREI, B.; STOCKER, R.; AMES, B. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, v. 85, n. 24, p. 9748-9752, 1988.

FUKUDA, R.; ISHIMURA, N.; ISHIHARA, S. et al. Intrahepatic expression of pro-inflammatory cytokine mRNAs and interferon efficacy in chronic hepatitis C. **Liver**, v.16, n. 6, p. 390-399, 1996.

GUARNIERI, S.; RISO, P.; PORRINI, M. Orange juice vs vitamin C: effect on hydrogen peroxide-induced DNA damage in mononuclear blood cells. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 639–643, 2007.

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.

INTERNATIONAL INTERFERON- α HEPATOCELLULAR CARCINOMA STUDY GROUP. Effect of interferon-alpha on progression of cirrhosis to hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. **Lancet.**, v. 351, n. 9115, p. 1535-9, 1998.

JAIN, S. K. *et al.* Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. **J. Hepatol.** v. 36, p. 805-11, 2002.

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.

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

LUNEL, F.; CACOUB, P. Treatment of autoimmune and extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. **J. Hepatol.**, v. 31, Suppl. 1, p. 210-6, 1999.

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.

MARTINS, R. M. B. *et al.* Distribution of hepatitis C virus genotypes among blood donors from mid-west region of Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.**, v. 48, n. 1, p. 53-55, 2006.

MAYO CLINIC. **Hepatitis C**: risk factors. 2013. Disponível em: <<http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/hepatitis-c/basics/risk-factors/con-20030618>>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2014.

MEREDITH, F.I.; YOUNG, R.H. Effect of temperature on pigment development in red blush grapefruit and ruby blood oranges. In: PROCEEDINGS OF THE FIRST INTERNATIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1., Riverside, 1969. **Proceedings...** Riverside: University of California, 1969. p. 271-276.

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

NAPOLITANO, M. *et al.* Effects of lycopene on the induction of foam cell formation by modified LDL. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 293, p. E1820–E1827, 2007.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Consensus Conference Statement. **Management of hepatitis C**. 2002. Disponível em: <<http://consensus.nih.gov/2002/2002hepatitisc2002116html.htm>>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2014.

NEUMANN, A. U. *et al.* Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. **Science**, v. 282, n. 5386, p. 103-7, 1998.

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. 001-17, 2011.

OSNA, N. *et al.* Chronic hepatitis C: Thelper1/T-helper2 imbalance could cause virus persistence in peripheral blood. **Scand J. Clin Lab. Invest.**, v. 57, n. 8, p. 703-710, 1997.

PADAYATTY, S. J. *et al.* Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 22, n. 1, p. 18–35, 2003.

PEREIRA, L. M. M. B. *et al.* Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 60, 2013.

PETIT, J. M. *et al.* Cell surface expression of LDL receptor in chronic hepatitis C: correlation with viral load. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 243, p. 416-20, 2007.

POYNARD, T.; AFDHAL, N. H. Perspectives on fibrosis progression in hepatitis C: an à la carte approach to risk factors and staging of fibrosis. **Antivir. Ther.**, v. 15, n. 3, p. 281-91, 2010.

REMICK, D. G.; VILLARETE, L. Regulation of cytokine gene expression by reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 59, p. 471-5, 1996.

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; 2008.

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.

SILVEIRA, J. Q.; *et al.* Pharmacokinetics of Flavanone Glycosides after Ingestion of Single Doses of Fresh-Squeezed Orange Juice versus Commercially Processed Orange Juice in Healthy Humans. **J. Agric. Food Chem**, v. 62, p. 12576 – 84, 2014.

SHIRAI, Y. *et al.* Plasma transforming growth factor-beta 1 in patients with hepatocellular carcinoma. Comparison with chronic liver diseases. **Cancer**, v. 73, n. 9, p. 2275-2279, 1994.

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

SIQUEIRA, A. F. A.; ABDALLA, D. S. P.; FERREIRA, S. R. G. LDL: da síndrome metabólica à instabilização da placa aterosclerótica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 20-35, 2006.

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

THIMME, R. *et al.* Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. **J. Exp. Med.**, v. 194, n. 10, p. 1395-406, 2001.

TILG, H. *et al.* Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. **Gastroenterology**, v. 103, p. 264-74, 1992.

TSAI, S. *et al.* Detection of type 2-like T helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. **Hepatology**, Saint Louis, v. 25, n. 2, p. 449-458, 1997.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **National Nutrient Database for Standard Reference**. Release 23, 2010.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatite C**. 2013a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>>. Acesso em: 27 de janeiro de 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global policy report on the prevention and control of viral hepatitis**. Geneva: World Health Organization, 2013b. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85397/1/9789241564632_eng.pdf?ua=1>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Prevention & control of viral hepatitis infection: framework for global action**. Geneva: World Health Organization, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/GHP_framework.pdf>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2014.

YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma.
Methods Mol Biol. v. 108, p. 101-106, 1998.

ZEISEL, M. B. *et al.* Scavenger Receptor Class B Type I Is a Key Host Factor for Hepatitis C Virus Infection Required for an Entry Step Closely Linked to CD8.
Hepatology, v. 46, n. 6, p. 1722-31, 2007.

CAPÍTULO II

EFEITOS DA INGESTÃO REGULAR DO SUCO DE LARANJA SOBRE MARCADORES METABÓLICOS, INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

Cláudia Gonçalves de Lima; Thais Borges César

Resumo

Objetivo: Investigar o efeito da ingestão regular do suco de laranja sobre o estresse oxidativo, inflamação e estado nutricional de pacientes com hepatite C crônica. **Métodos:** Participaram do estudo 66 indivíduos adultos de ambos os sexos, divididos em 4 grupos: Grupo com tratamento medicamentoso e com suco de laranja (MedSuco), Grupo sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja (Suco), Grupo com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja (Med) e Grupo sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja (Controle). Os participantes dos grupos Suco e MedSuco receberam 500 mL/dia de suco de laranja pasteurizado durante 8 semanas. O protocolo experimental incluiu avaliação nutricional, da pressão arterial sistêmica, determinação do perfil lipídico, glicemia de jejum e insulina, e marcadores da resposta inflamatória e do estresse oxidativo. **Resultados:** No grupo Suco, a ingestão do suco de laranja reduziu os níveis de LDL-C (-9,9%), insulina (-26.5%), peroxidação lipídica (-68.5%), PCR (-48.8%) e TNF- α (-11.7%), e a pressão arterial sistólica (-4.5%), e aumentou a capacidade antioxidante (1.2%). No grupo MedSuco foi observada redução no LDL-C (-13.7%), peroxidação lipídica (-39.1%), PCR (-74.9%) e TNF- α (-8.8%), e na pressão arterial sistólica (5.1%), mas houve aumento da capacidade antioxidante (2.5%). **Conclusões:** O consumo do suco de laranja por oito semanas foi associado à diminuição dos marcadores de inflamação (PCR e TNF- α) e da peroxidação lipídica (TBARS), enquanto ao aumento da capacidade antioxidante (ABTS) em indivíduos com hepatite C crônica.

Palavras Chave: suco de laranja, hepatite C crônica, antioxidante, peroxidação lipídica, inflamação.

Introdução

A hepatite C é uma doença infecciosa que afeta cerca de 184 milhões de pessoas no mundo. Devido a sua natureza em grande parte assintomática, a hepatite C é uma epidemia silenciosa, pois a maioria das pessoas não têm conhecimento da sua infecção. Se a doença crônica não for tratada, pode resultar em cirrose e câncer de fígado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013). O Brasil é considerado um país de endemicidade intermediária para hepatite C, com prevalência da infecção situada entre 2,5 e 10% (BRASIL, 2011).

Vários estudos têm relatado que a inflamação intra-hepática, é um importante determinante da progressão da fibrose (CHAN, 2014; CZAJA, 2014; URBACZEK *et al.*, 2014). A causa da patologia endotelial não é muito bem conhecida, mas algumas hipóteses sugerem que vários fatores podem contribuir para o processo inflamatório, como a produção excessiva de óxido nítrico, que potencializa a lesão inflamatória no tecido e aumenta a expressão de quimiocinas, citocinas e moléculas de adesão endotelial, amplificando assim a cascata de inflamação (REMICK; VILLARETE, 1996; WALD *et al.*, 2007). Estudos demonstram que os portadores de hepatite C possuem falhas no sistema antioxidante endógeno, com aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (BANDARA *et al.*, 2005). O vírus da hepatite C (VHC) pode favorecer condições pró-aterogênicas, como por exemplo, resistência à insulina e diabetes tipo 2, que são distúrbios metabólicos, fazendo com que ele seja considerado um vírus metabólico (ADINOLFI *et al.*, 2014).

O suco de laranja é conhecido pela expressiva quantidade de vitamina C, além de outros nutrientes como, folato e potássio. Os flavonoides cítricos, especialmente hesperidina e naringenina, que possuem propriedades antioxidantes, também são

encontrados no suco de laranja (O'NEIL *et al.*, 2012). Estudos têm sido realizados para verificar a relação entre alguns componentes antioxidantes e a hepatite C crônica, mostrando associação negativa entre os níveis plasmáticos de vitamina C e inflamação hepática (BANDARA *et al.*, 2005), redução das citocinas pró-inflamatórias e proteína C reativa (PCR) em células hepáticas infectadas pelo VHC e incubadas com naringenina (NAHMIAS *et al.*, 2008), e inibição eficaz da replicação do VHC *in vitro*, via inibição do estresse oxidativo / nitrosativo e modulação posterior do metabolismo lipídico pela quercetina (PISONERO-VAQUERO *et al.*, 2014).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do consumo regular do suco de laranja no estresse oxidativo, parâmetros imunológicos, virais, nutricionais, pressão arterial sistêmica e em alterações metabólicas de portadores de hepatite C crônica.

Sujeitos e Métodos

Sujeitos

Foram convidados para participar do estudo 100 indivíduos portadores de hepatite C crônica, dos quais 75 foram incluídos como uma amostra de conveniência devido à sua disponibilidade e concordância em seguir o protocolo de pesquisa. Os critérios de exclusão utilizados foram: portadores de infecções sistêmicas associadas, como coinfeção com HIV ou outro tipo de hepatite, hepatopatia descompensada, outras doenças hepáticas, doenças renais, cardiopatias, doença da tireoide, diabetes, convulsões, deficiência mental, alcoolismo crônico, intolerância ao suco de laranja, utilização de suplementos alimentares, gestantes ou pacientes que estavam participando de outros estudos. Durante o experimento, 9 indivíduos desistiram devido

a razões pessoais ou profissionais, e conseqüentemente foram excluídos da análise dos dados, e 66 indivíduos, de ambos os gêneros e idade média de 51.0 ± 10.4 anos, concluíram o experimento.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNESP-FCFAR, sob o protocolo CEP/FCF/CAr nº 20/2011. Todos os sujeitos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido após o conhecimento dos objetivos e dos riscos envolvidos no estudo.

Desenho Experimental

Este ensaio clínico, randomizado e aberto foi conduzido pelo Laboratório de Nutrição, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil. Os voluntários foram divididos de acordo com o uso de medicamento para hepatite C crônica e aleatoriamente designados para Grupo com tratamento medicamentoso e com suco de laranja (MedSuco, n=26), Grupo sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja (Suco, n=20), Grupo com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja (Med, n=10) e Grupo sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja (Controle, n=10). Os grupos receberam 500 mL de suco de laranja por dia, fracionado em duas vezes. Foi utilizado o suco de laranja integral pasteurizado, produzido industrialmente pela Citrosuco S.A. de Matão, SP. Os grupos sob tratamento medicamentoso, estavam utilizando interferon peguilado associado à ribavirina, de acordo com a recomendação médica e conforme critérios de inclusão da Portaria nº 34 de 28 de Setembro de 2007, do Ministério da Saúde, Brasil. O estudo teve duração de oito semanas. O protocolo experimental foi aplicado no início (semana 0) e após oito semanas (semana 8) de

suplementação com o suco de laranja, sendo realizada avaliação antropométrica, avaliação dietética, avaliação hemodinâmica, e colheita de sangue para as avaliações bioquímica, do estresse oxidativo, estado imunológico e da carga viral.

Análises do suco de laranja

Para caracterização do suco de laranja foram realizadas análises de ácido ascórbico, sólidos solúveis (° Brix), pH e acidez titulável, em triplicata, de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (2005). Foi calculado o ratio através da relação entre sólidos solúveis (°Brix)/ácido titulável. A análise do ácido ascórbico foi realizada pelo Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCFar-UNESP.

Os compostos fenólicos totais foram extraídos de acordo com Singleton e Rossi (1965). Alíquotas de suco de laranja pasteurizado foram agitadas com metanol:água (30:70, v/v), e misturadas por ultrassom. Os extratos foram centrifugados e os compostos fenólicos totais foram determinados no sobrenadante utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. A absorbância foi medida a 760 nm em espectrofotômetro Beckman (DU@640). Os resultados expressos em $\text{mg}/100 \text{ mL}^{-1}$ de suco foram calculados através da curva de calibração de soluções aquosas de ácido ferúlico (20 a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e ácido gálico (20 a 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A capacidade antioxidante foi avaliada no suco de laranja utilizando-se o método ABTS. O princípio do método é baseado na captura do radical 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação química com persulfato de potássio, detectado em espectrofotômetro a 734

nm (JANASZEWSKA; BARTOSZ, 2002). Os resultados foram expressos como μmol de Trolox/ mL^{-1} . As análises foram realizadas em triplicata para todas as amostras.

Avaliação nutricional

O estado nutricional dos pacientes foi avaliado por meio das medidas antropométricas que incluíram: peso corporal (kg), estatura (m), dobras cutâneas do tríceps, bíceps, subescapular e supra ilíaca (mm) e circunferência da cintura (cm), de acordo com os métodos estabelecidos por Lohman e col (1991). O Índice de Massa Corpórea (IMC) foi calculado por meio da relação peso/altura². As dobras cutâneas foram determinadas com a finalidade de estimar a porcentagem da gordura corporal. A somatória das 4 dobras cutâneas foi utilizada em equações previamente estabelecidas por Durnin e Womersley (1974), para se obter a densidade corporal (kg/m^3), por gênero e faixa etária. A seguir, foi calculada a porcentagem da gordura corporal total com a fórmula de Siri (1956).

A avaliação dietética foi realizada por registro alimentar (RA), realizado pelo próprio paciente, que registrou em formulário específico fornecido pelo pesquisador, todos os alimentos, as preparações e as quantidades consumidas em dia da semana, durante três dias alternados (dois durante a semana e um no final de semana). A análise dos dados da ingestão de energia, macronutrientes e micronutrientes foi realizada utilizando o *software* “NutWin”, versão 3.1, 2005, da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, São Paulo, Brasil.

Avaliação bioquímica

Uma amostra de 30 mL de sangue de cada paciente foi colhida em jejum de 12 horas no período da manhã por técnicos treinados do laboratório do Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA), sendo em seguida as amostras encaminhadas aos laboratórios, onde foram analisadas.

Foram mensuradas, de cada um dos pacientes, as seguintes variáveis bioquímicas: triglicérides (TG), colesterol total (CT), colesterol de HDL (HDL-C), glicemia de jejum, insulina e proteína C reativa. As análises, com exceção da insulina, foram realizadas por Kits comerciais Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brasil), no aparelho Labmax 240® (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil), por meio de reações em sistema fotométrico, no Laboratório de Urgência/Emergência - CACH-NAC/FCFAR. A análise de insulina foi realizada no Laboratório Álvaro, por meio da técnica de eletroquimioluminescência, em 1 ml de amostra de soro. O valor do LDL-C foi obtido a partir dos resultados das dosagens de CT, TG e HDL-C, pela fórmula de Friedwald e outros (1972). A resistência à insulina foi avaliada através do cálculo do índice HOMA-IR por meio da equação $HOMA-IR = \text{glicemia (mmol/l)} \times \text{insulinemia (\mu U/ml)} / 22,5$ (MATTHEWS, 2005), e o ponto de corte do índice HOMA-IR considerado para a população brasileira foi $> 2,71$ (GELONESE, 2006).

A avaliação do estresse oxidativo (peroxidação lipídica e capacidade antioxidante) foi realizada no Laboratório de Nutrição do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCFar-UNESP. A peroxidação lipídica foi avaliada por meio da reação de substâncias presentes no soro que reagem com o ácido tiobarbitúrico produzindo derivados lipoperóxidos (TBARS), destacando-se o malondialdeído (MDA), produzindo uma base de Schiff de coloração rosácea (VALKO *et al.*, 2006), detectada

em espectrofotômetro a 532 nm (NASSER *et al.*, 2011; YAGI, 1998). As análises foram realizadas em triplicatas, utilizando-se a média como o resultado final. A capacidade antioxidante foi avaliada no soro dos indivíduos utilizando-se o método ABTS. O princípio do método é baseado na captura do radical 3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação química com persulfato de potássio, detectado em espectrofotômetro a 734 nm (JANASZEWSKA; BARTOSZ, 2002).

As análises das interleucinas 6 e 10 e do TNF- α foram realizadas no Laboratório Gênese, São Paulo, utilizando o kit Cat Hcytomag-60K, Miliplex, por meio da tecnologia Luminex xMAP (Multiple Analyte Profiling, x = variável).

A avaliação da carga viral do VHC foi realizada no Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular – CACH – NAC/FCFAR. A quantificação do RNAm-VHC foi realizada pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase quantitativo em Tempo Real (qRT-PCR) utilizando o kit RealTime-HCV (Abbott Molecular Inc.) conforme especificações do fabricante.

Avaliação hemodinâmica

Os procedimentos para as medidas seguiram o protocolo recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Nefrologia (2010). As medidas foram obtidas com o indivíduo em posição sentada, no braço não dominante, após pelo menos cinco minutos de repouso em ambiente calmo. Foram realizadas duas medidas, com intervalo de pelo menos dois minutos entre elas, sendo que a média foi considerada a pressão arterial do indivíduo. O equipamento utilizado para a aferição da pressão arterial foi o aparelho digital da

marca Reli On, modelo HEM – 741 CREL (Omron, Japão), previamente calibrado. A pesquisadora foi treinada por um profissional qualificado e capacitado.

Análise estatística

Para as comparações dos grupos foi utilizado o modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos). Este procedimento foi realizado através do software SAS® 9.0, utilizando a PROC MIXED. Para as comparações foi utilizado o pós-teste por contrastes ortogonais. Os dados foram expressos em médias \pm desvio padrão, e o nível de significância utilizado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

As propriedades físico-químicas e atividade antioxidante do suco de laranja pasteurizado estão descritas na Tabela 1. O suco de laranja pasteurizado possui em média 10.0° Brix, 1.5 g de ácido cítrico por 100 mL⁻¹ (acidez titulável), Ratio de 6.7, pH de 3.7, 29.3 mg de ácido ascórbico por 100 mL⁻¹, 56.8 mg de ácido gálico por 100 mL⁻¹ (compostos fenólicos totais) e 3.6 µmol de Trolox por 100 mL⁻¹ (capacidade antioxidante total).

As características clínicas basais dos quatros grupos de voluntários deste estudo estão descritas na Tabela 2. Os indivíduos do grupo MedSuco apresentaram IMC menor do que os indivíduos dos demais grupos e apenas os voluntários do grupo Suco tinham o IMC acima do normal (24,99 kg/m²). A porcentagem de gordura corporal também era maior nos indivíduos do grupo MedSuco. A circunferência da cintura (CC) foi maior nos participantes do grupo Suco, em comparação com os demais.

O HDL-C plasmático foi maior nos participantes do grupo Suco. Os voluntários do grupo Suco tinham colesterol total plasmático maior do que os dos grupos Controle e MedSuco, e os voluntários do grupo MedSuco tinham LDL-C plasmático menor do que os dos grupos Suco e Med. Todos os voluntários apresentaram colesterol total e LDL-C plasmáticos dentro dos valores de normalidade (200 mg/dL e 100 mg/dL, respectivamente). Os triglicerídeos plasmáticos foram menores nos participantes do grupo Suco do que nos do grupo Med. Apenas os indivíduos do grupo Med não apresentavam triglicerídeos plasmáticos dentro do valor de normalidade (150 mg/dL) (Tabela 2).

Os indivíduos do grupo Suco e MedSuco apresentaram valores médios de glicemia de jejum abaixo do limite (100 mg/dL), porém, bem próximo do mesmo. A média da glicemia dos participantes dos grupos Controle e Med estava acima desse valor. Os indivíduos do grupo Suco apresentaram insulina plasmática menor do que os do grupo Controle, e os do grupo MedSuco menor do que os dos grupos Med e Controle. Todos os voluntários apresentaram insulina sanguínea dentro dos valores de normalidade (2,6 a 24,9 μ UI/mL).

O índice HOMA foi menor nos indivíduos do grupo MedSuco do que nos do grupo Controle. Os participantes dos grupos Suco e MedSuco apresentaram o índice HOMA abaixo do ponto de corte (2,71) (Tabela 2).

Não houve diferença significativa entre as variáveis antropométricas dos indivíduos dos grupos estudados após o período experimental. Na semana 8, os indivíduos do grupo MedSuco apresentavam o IMC menor do que os dos outros grupos, e os dos grupos MedSuco e Med apresentavam a CC menor do que os do grupo Suco. Os indivíduos do grupo Controle tiveram maior ingestão de energia e carboidratos do que os demais (Tabela 3).

A ingestão de vitamina C e folato aumentou significativamente nos participantes dos grupos Suco (334.0% e 63.6%, respectivamente) e MedSuco (239.5% e 53.0%, respectivamente), após o experimento, e esses indivíduos tiveram na semana 8 maior ingestão desses dois nutrientes. O consumo de sódio também foi menor nos participantes do grupo MedSuco do que nos dos grupos Controle e Med (Tabela 3).

As variáveis bioquímicas e da pressão arterial sistêmica estão apresentadas na Tabela 4. Após o período experimental houve redução significativa do LDL-C nos participantes dos grupos Suco (-9,9%) e MedSuco (-3.7%), do colesterol total e HDL-C apenas nos do grupo MedSuco (-12.0% e -12.2%, respectivamente). Na semana 8

o colesterol total e LDL-C foram menores nos voluntários do grupo MedSuco do que nos dos grupos Suco e Med. O HDL-C era maior nos voluntários do grupo Suco do que nos demais. Os indivíduos do grupo Suco tiveram triglicérides menores do que os do grupo Med (Tabela 4).

Houve redução significativa da insulina e HOMA apenas nos participantes do grupo Suco (-26.5% e -32.0%, respectivamente) após o período experimental. Na semana 8, os participantes dos grupos que tomaram suco de laranja tiveram insulina e HOMA menores do que aqueles dos que não tomaram (Tabela 4).

A pressão arterial sistólica (PAS) reduziu significativamente após o período experimental nos participantes dos grupos Suco (-4.5%) e MedSuco (-5.1%). A PAS foi menor nos participantes do grupo MedSuco do que nos dos outros grupos na semana 8 (Tabela 4).

Após a ingestão do suco, houve redução significativa da peroxidação lipídica nos indivíduos do grupo Suco (-68.5%) e MedSuco (-39.1%). Em ambos os grupos houve aumento significativo da capacidade antioxidante (1.2% e 2.5%, respectivamente). Na semana 8, os participantes do grupo Suco tinham a peroxidação lipídica menor do que os demais e os participantes dos grupos que tomaram suco tinham a capacidade antioxidante menor do que os que não tomaram (Tabela 5).

Em relação aos marcadores de inflamação, houve redução significativa do TNF- α e da PCR nos indivíduos do grupo Suco (-11.7% e -48.8%, respectivamente) e MedSuco (-8.8% e -74.9%, respectivamente) após a ingestão do suco de laranja. Na semana 8, o TNF- α foi menor nos indivíduos do grupo Suco do que nos dos grupos Controle e MedSuco. A PCR foi maior nos indivíduos do grupo Suco do que nos dos grupos Controle e Med. Também houve redução significativa da carga viral (26.5%) nos indivíduos do grupo MedSuco (Tabela 5).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas e atividade antioxidante do suco de laranja pasteurizado.

Variáveis	Suco de Laranja
Sólidos solúveis totais (°Brix)	10.0 ± 0.00
Ácido titulável (g ácido cítricox100 mL ⁻¹)	1.5 ± 0.00
Ratio (sólidos solúveis/ácido titulável)	6.7 ± 0.00
pH	3.7 ± 0.01
Ácido ascórbico (mgx100 mL ⁻¹)*	29.3 ± 0.50
Compostos fenólicos totais (mg ácido gálicox100 mL ⁻¹)	56.8 ± 0.50
Capacidade antioxidante total (µmol Trolox x100mL ⁻¹)	3.6 ± 0.35

Valores expressos como média ± desvio padrão.

*Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCFar/UNESP.

Tabela 2. Características clínicas iniciais (semana zero) dos pacientes com hepatite C

Variável	Grupos			
	Controle	Suco	Med	MedSuco
N	10	20	10	26
Idade (anos)	49.7 ± 13.8	46.6 ± 10.5	48.1 ± 10.2	51.3 ± 10.4
IMC (kg/m ²)	24.4 ± 4.0 ^a	26.2 ± 5.2 ^{a,b}	24.8 ± 3.4 ^b	22.9 ± 3.8 ^{a,b}
Circ. Cintura (cm)	90.8 ± 10.5 ^a	96.7 ± 15.2 ^{a,b,c}	88.5 ± 10.8 ^b	90.4 ± 12.5 ^c
Gordura Corporal (%)	27.8 ± 7.1 ^a	33.2 ± 6.8 ^c	28.9 ± 7.1 ^b	35.1 ± 13,1 ^{a,b,c}
Colesterol Total (mg/dL)	134 ± 25 ^a	162 ± 29 ^{a,b}	164 ± 58	142 ± 33 ^b
LDL-C (mg/dL)	80 ± 21	91 ± 28 ^b	98 ± 47 ^a	73 ± 30 ^{a,b}
HDL-C (mg/dL)	32 ± 8 ^a	49 ± 13 ^{a,b,c}	33 ± 6 ^b	41 ± 11 ^c
Triglicerídeos (mg/dL)	111 ± 56	109 ± 45 ^a	169 ± 76 ^a	143 ± 91
Glicose (mg/dL)	103 ± 12	96 ± 18	101 ± 36	98 ± 20
Insulina (µUI/mL)	15.4 ± 10.0 ^{a,b}	10.2 ± 4.9 ^a	12.8 ± 6.8 ^c	8.1 ± 4.7 ^{b,c}
HOMA-IR	4.0 ± 2.7 ^a	2.5 ± 1.5	3.4 ± 2.7	2.0 ± 1.4 ^a

Sem letra sobrescrita, indica sem diferença estatística entre grupos (Ex. A idade não foi diferente entre os grupos)

Letras iguais representam diferenças entre os grupos (p<0,05)

Letras diferentes não indicam diferenças entre os grupos (p>0.05)

Grupo Controle: sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo Suco: sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja; Grupo Med: com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo MedSuco: com tratamento medicamentoso e com suco de laranja.

Tabela 3. Variáveis antropométricas e dietéticas dos indivíduos com hepatite C, entre as semanas 0 e 8 do período experimental.

Variáveis	Grupos			
	Controle	Suco	Med	MedSuco
N	10	20	10	26
Antropometria				
IMC (kg/m²)				
Semana 0	24.4 ± 4.0	26.2 ± 5.2	24.8 ± 3.4	22.9 ± 3.8
Semana 8	24.9 ± 4.1 ^a	26.4 ± 5.3 ^{a,b}	24.4 ± 3.2 ^{b,c}	22.6 ± 3.4 ^{a,c}
Circunferência da cintura (cm)				
Semana 0	90.8 ± 10.5	96.7 ± 15.2	88.5 ± 10.8	90.4 ± 12.5
Semana 8	91.7 ± 9.9	96.2 ± 14.5 ^{a,b}	88.2 ± 10.9 ^a	89.9 ± 12.6 ^b
Gordura Corporal (%)				
Semana 0	27.8 ± 7.1	33.2 ± 6.8	28.9 ± 7.1	35.1 ± 13.1
Semana 8	28.9 ± 6.9	33.6 ± 7.6	29.1 ± 7.2	31.7 ± 9.7
Dieta				
Energia (kcal)				
Semana 0	2789 ± 1019	1848 ± 797	2061 ± 440	1572 ± 616
Semana 8	2850 ± 959 ^{a,b,c}	1840 ± 709 ^b	2109 ± 425 ^a	1664 ± 686 ^c
Proteínas (g)				
Semana 0	113 ± 46	71 ± 24	94 ± 33	68 ± 34
Semana 8	117 ± 48 ^a	85 ± 25	92 ± 34	80 ± 57 ^a
Lipídeos (g)				
Semana 0	95 ± 38	71 ± 48	75 ± 52	45 ± 24
Semana 8	91 ± 43 ^a	64 ± 33	79 ± 51	54 ± 41 ^a
Carboidratos (g)				
Semana 0	372 ± 160	231 ± 83	252 ± 75	218 ± 102
Semana 8	382 ± 154 ^{a,b,c}	239 ± 91 ^b	258 ± 74 ^a	227 ± 82 ^c
Cálcio (mg)				
Semana 0	924 ± 372	541 ± 248	612 ± 339	392 ± 238
Semana 8	931 ± 367 ^{a,b}	524 ± 267 ^a	588 ± 268	462 ± 436 ^b
Ferro (mg)				
Semana 0	17.0 ± 6.7	10.6 ± 4.9	12.2 ± 2.4	10.4 ± 3.6
Semana 8	17.7 ± 6.5 ^{a,b,c}	12.3 ± 4.9 ^b	11.9 ± 2.4 ^a	12.8 ± 4.9 ^c
Vitamina C (mg)				
Semana 0	98 ± 163	61 ± 36*	153 ± 203	81 ± 54*
Semana 8	103 ± 160 ^{a,b}	265 ± 75 ^{a,c}	145 ± 206 ^{c,d}	275 ± 101 ^{b,d}
Folato (µg)				
Semana 0	121 ± 97	129 ± 53*	73 ± 42	183 ± 194*
Semana 8	128 ± 99 ^{a,b}	211 ± 84 ^{a,c}	65 ± 32 ^{c,d}	280 ± 148 ^{b,d}
Sódio (g)				
Semana 0	2.75 ± 0.67	2.25 ± 0.57	2.78 ± 0.91	2.11 ± 0.56
Semana 8	2.77 ± 0.62 ^a	2.17 ± 0.71	2.76 ± 0.88 ^b	1.98 ± 0.71 ^{a,b}

* representa diferença entre semana 0 e semana 8 de um mesmo grupo (p<0,05).

Sem letra sobrescrita, indica sem diferença estatística entre grupos na semana 8.

Letras iguais representam diferenças entre os grupos (p<0,05).

Letras diferentes não indicam diferenças entre os grupos (p>0.05).

Grupo Controle: sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo Suco: sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja; Grupo Med: com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo MedSuco: com tratamento medicamentoso e com suco de laranja.

Tabela 4. Variáveis bioquímicas e Pressão Arterial Sistêmica dos indivíduos com hepatite C, entre as semanas 0 e 8 do período experimental.

Variáveis	Grupos			
	Controle	Suco	Med	MedSuco
N	10	20	10	26
Colesterol total (mg/dL)				
Semana 0	134 ± 25	162 ± 29	164 ± 58	142 ± 33*
Semana 8	133 ± 26	152 ± 27 ^b	161 ± 61 ^a	125 ± 29 ^{a,b}
LDL-C (mg/dL)				
Semana 0	80 ± 21	91 ± 28*	98 ± 47	73 ± 30*
Semana 8	80 ± 21	82 ± 24 ^b	97 ± 45 ^a	63 ± 25 ^{a,b}
HDL-C (mg/dL)				
Semana 0	32 ± 8	49 ± 13	33 ± 6	41 ± 11*
Semana 8	32 ± 8 ^a	49 ± 15 ^{a,b,c}	32 ± 5 ^b	36 ± 9 ^c
Triglicérides (mg/dL)				
Semana 0	111 ± 56	109 ± 45	169 ± 76	143 ± 91
Semana 8	104 ± 41	106 ± 60 ^a	154 ± 79 ^a	132 ± 67
Glicose (mg/dL)				
Semana 0	103 ± 12	96 ± 18	101 ± 36	98 ± 20
Semana 8	102 ± 14	92 ± 11	99 ± 36	94 ± 13
Insulina (μUI/mL)				
Semana 0	15.4 ± 10.0	10.2 ± 4.9*	12.8 ± 6.8	8.1 ± 4.7
Semana 8	14.8 ± 10.5 ^{a,b}	7.5 ± 4.3 ^{a,c}	12.9 ± 6.6 ^{c,d}	7.5 ± 4.5 ^{b,d}
HOMA-IR				
Semana 0	4.0 ± 2.7	2.5 ± 1.5*	3.4 ± 2.7	2.0 ± 1.4
Semana 8	3.8 ± 2.8 ^{a,b}	1.7 ± 1.0 ^{a,c}	3.4 ± 2.6 ^{c,d}	1.9 ± 1.5 ^{b,d}
PAS (mmHg)				
Semana 0	125 ± 12	132 ± 14*	132 ± 14	118 ± 13*
Semana 8	125 ± 12 ^a	126 ± 17 ^c	128 ± 14 ^b	112 ± 13 ^{a,b,c}
PAD (mmHg)				
Semana 0	79 ± 10	84 ± 9	85 ± 10	77 ± 11
Semana 8	79 ± 10	81 ± 12	82 ± 10	73 ± 8

* representa diferença entre semana 0 e semana 8 de um mesmo grupo ($p < 0,05$).

Sem letra sobrescrita, indica sem diferença estatística entre grupos na semana 8.

Letras iguais representam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Letras diferentes não indicam diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

Grupo Controle: sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo Suco: sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja; Grupo Med: com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo MedSuco: com tratamento medicamentoso e com suco de laranja.

Tabela 5. Variáveis do estresse oxidativo, inflamação e carga viral dos indivíduos com hepatite C, entre as semanas 0 e 8 do período experimental.

Variáveis	Grupos			
	Controle	Suco	Med	MedSuco
N	10	20	10	26
TBARS (µM)				
Semana 0	2.96 ± 0.88	4.13 ± 3.60 *	3.45 ± 1.37	4.04 ± 2.34 *
Semana 8	2.96 ± 0.88 ^a	1.30 ± 0.41 ^{a,b,c}	3.45 ± 1.37 ^b	2.46 ± 0.69 ^c
ABTS (mM)				
Semana 0	1.70 ± 0.01	1.61 ± 0.02 *	1.69 ± 0.03	1.59 ± 0.04 *
Semana 8	1.68 ± 0.01 ^{a,b}	1.63 ± 0.02 ^{a,c}	1.67 ± 0.03 ^{c,d}	1.63 ± 0.03 ^{b,d}
IL-10 (pg /mL)				
Semana 0	10.7 ± 7.2	4.2 ± 2.1	5.0 ± 3.4	4.4 ± 1.8
Semana 8	9.6 ± 6.2 ^{a,b,c}	3.1 ± 1.3 ^b	4.4 ± 2.6 ^a	3.3 ± 1.6 ^c
IL-6 (pg /mL)				
Semana 0	2.14 ± 0.31	2.40 ± 1.55	2.17 ± 0.83	1.22 ± 0.45
Semana 8	2.19 ± 0.33	2.50 ± 2.28	2.23 ± 1.17	1.26 ± 0.84
TNF-α (pg /mL)				
Semana 0	26.0 ± 4.6	16.2 ± 4.4 *	17.4 ± 2.6	22.6 ± 3.8 *
Semana 8	25.5 ± 4.0 ^a	14.3 ± 3.8 ^{a,b}	16.7 ± 2.6	20.6 ± 4.4 ^b
PCR (mg/dL)				
Semana 0	0.09 ± 0.03	4.44 ± 1.02 *	0.23 ± 0.19	3.34 ± 1.67 *
Semana 8	0.15 ± 0.06 ^a	2.27 ± 0.59 ^{a,b}	0.19 ± 0.04 ^b	0.84 ± 0.45
Carga viral, Log (UI/mL)				
Semana 0	5.88 ± 0.94	5.04 ± 1.89	2.11 ± 1.20	3.28 ± 1.98 *
Semana 8	5.79 ± 1.00	5.12 ± 1.91	1.87 ± 1.19	2.41 ± 2.09

* representa diferença entre semana 0 e semana 8 de um mesmo grupo ($p < 0,05$).

Sem letra sobrescrita, indica sem diferença estatística entre grupos na semana 8.

Letras iguais representam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Letras diferentes não indicam diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

Grupo Controle: sem tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo Suco: sem tratamento medicamentoso e com suco de laranja; Grupo Med: com tratamento medicamentoso e sem suco de laranja; Grupo MedSuco: com tratamento medicamentoso e com suco de laranja.

TBARS expresso em equivalentes de MDA. ABTS expresso em equivalentes de Trolox.

Discussão

Neste estudo foi verificado que a suplementação dietética com o suco de laranja foi relacionada ao aumento da capacidade antioxidante e redução da peroxidação lipídica e de biomarcadores de inflamação (PCR e TNF- α). Além disso, foi também observado redução dos níveis de colesterol total, LDL-C, insulina, índice HOMA e da pressão arterial sistólica, sugerindo uma influência positiva da ingestão do suco de laranja sobre estes parâmetros bioquímicos.

Assim como no presente estudo, outros autores também observaram que o consumo de suco de laranja aumentou a ingestão de folato e vitamina C (APTEKMANN; CESAR, 2010; APTEKMANN; CESAR, 2013; BASILE *et al.*, 2010). A sinergia entre esses nutrientes e os flavonoides presentes no suco, poderiam ser os responsáveis pelo efeito hipolipidêmico (DEVARAJ; AUTRET; JIALAL, 2006; GARCIA *et al.*, 2008; KUROWSKA *et al.*, 2000; KUROWSKA; MANTHEY, 2004; ROZA; XIAN-LIU; GUTHRIE, 2007), hipotensor (BLOCK *et al.*, 2001; MOST, 2004; RESHEF *et al.*, 2005), antioxidante (SILALAH, 2002; TAPIERO *et al.*, 2002) e anti-inflamatório (LEAKE, 2001; WHITMAN *et al.*, 2005) observado neste estudo.

Os participantes do grupo que utilizavam medicamento e ingeriram o suco de laranja tiveram menor ingestão de sódio do que os participantes dos demais grupos, tanto na semana 0, quanto na semana 8 do período experimental, e consequentemente tiveram os menores valores de pressão arterial sistólica e diastólica nos dois períodos do estudo. É importante observar que independente da ingestão de sódio, todos os participantes que tomaram o suco de laranja tiveram redução da pressão arterial sistólica após o período experimental.

Estudo anterior havia mostrado que a suplementação com 750 mL/dia de suco de laranja reconstituído do concentrado, durante 8 semanas, reduziu o LDL-C de adultos hipercolesterolêmicos, entretanto não teve efeito sobre o HDL-C e triglicérides (CESAR *et al.*, 2010). Também, foi observada redução significativa de colesterol total, LDL-C e HDL-C em adultos com síndrome metabólica após consumo de bebida cítrica (MULERO *et al.*, 2012). Foi observado ainda que o consumo de suco de laranja pasteurizado reduziu o colesterol total e o LDL-C de adultos saudáveis (BASILE *et al.*, 2010). Consumidores de suco de laranja integral tinham níveis de colesterol total e LDL-C significativamente menores do que os não consumidores (O'NEIL *et al.*, 2012). Por outro lado, outro estudo observou que o consumo de suco de laranja fresco não teve impacto nos triglicérides, colesterol total, LDL-C e HDL-C em indivíduos adultos (FOROUDI *et al.*, 2014).

O suco de laranja é fonte de flavanonas, especialmente a hesperidina e naringenina, que seriam responsáveis pela redução moderada do colesterol sérico, pois possuem capacidade de reduzir o colesterol hepático e sua esterificação, além de aumentar a atividade dos receptores de LDL, que são responsáveis pela captação das lipoproteínas ricas em colesterol (remanescentes de quilomícrons e LDL) do plasma (BORRADAILE *et al.*, 2002). Segundo Silveira e colaboradores (2014), o suco de laranja pasteurizado obtido do mesmo produtor que foi utilizado neste estudo, porém de lotes diferentes, contém em média 154,6 µg/mL de hesperidina e 36,5 µg/mL de narirutina.

Foi sugerido pelo presente estudo que a ingestão do suco de laranja melhorou a suscetibilidade dos tecidos à ação da insulina, entretanto, não foi observado melhora do perfil glicêmico. Outros estudos verificaram que indivíduos que ingeriram suco de laranja fresco (FOROUDI *et al.*, 2014; O'NEIL *et al.*, 2012) ou suco reconstituído ou

bebida controle com hesperidina isolada (MORAND *et al.*, 2011) não apresentaram redução da insulina plasmática e do índice HOMA. Mais estudos são necessários para comprovar o efeito do suco de laranja sobre a insulinemia de adultos, bem como os mecanismos envolvidos nesse processo.

Vale ressaltar que o VHC pode ser considerado um vírus metabólico, pois está associado a alguns distúrbios metabólicos, especialmente resistência à insulina e diabetes tipo 2, que são condições pró-aterogênicas (ADINOLFI *et al.*, 2014), o que poderia justificar o fato de que os participantes da pesquisa possuem glicemia de jejum bem próxima do limite ou acima do valor de normalidade.

Alguns estudos também verificaram que o consumo de suco de laranja foi capaz de reduzir a pressão arterial de indivíduos adultos. Asgary e Keshvari (2013) observaram que o consumo de 500 mL/dia de suco de laranja comercial durante quatro semanas possibilitou a redução da pressão arterial diastólica e sistólica de adultos saudáveis. Entretanto, o consumo de suco de laranja fresco não teve efeito significativo nem na pressão arterial diastólica e nem na sistólica. O conteúdo maior de flavonoides, pectina e óleos essenciais do suco comercial comparado com o suco fresco pode ter sido responsável por esse achado.

Morand e colaboradores (2011) notaram que homens saudáveis e com sobrepeso que consumiram 500 mL/dia de suco de laranja reconstituído ou de bebida controle com hesperidina durante quatro semanas tiveram redução da pressão arterial diastólica comparando-se com aqueles que consumiram apenas a bebida controle. Outros estudos verificaram que o consumo de suco de laranja pasteurizado reduziu a pressão arterial diastólica de indivíduos saudáveis (BASILE *et al.*, 2010), e o consumo de suco de laranja vermelha pasteurizado reduziu a pressão arterial sistólica em

indivíduos eutróficos e a diastólica em indivíduos com excesso de peso (LIMA *et al.*, 2012).

Diferentemente, um estudo mostrou que o consumo de suco de laranja natural por adultos com hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia não foi capaz de promover redução da pressão arterial (FOROUDI *et al.*, 2014). O'Neil e colaboradores (2012) concluíram que consumidores adultos de suco de laranja integral não tinham pressão arterial diastólica e sistólica significativamente menores que os não consumidores. Os prováveis mecanismos pelos quais essas bebidas fontes de flavonoides diminuem a pressão arterial podem envolver um aumento crônico na produção de óxido nítrico pelo endotélio vascular, ou a inibição do efeito da enzima conversora de angiotensina (MORAND *et al.*, 2011).

Um estudo que analisou o efeito de suco cítrico sobre os biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com síndrome metabólica, concluiu que o consumo de 300 mL/dia de suco cítrico por um período de seis meses melhorou esses biomarcadores (BERNABÉ *et al.*, 2013). Outro estudo realizado com adultos hipercolesterolêmicos verificou que o consumo de suco de laranja fresco durante noventa dias aumentou significativamente a capacidade antioxidante total no plasma e reduziu a peroxidação lipídica (FOROUDI *et al.*, 2014). Ghanim e colaboradores (2010) observaram que a ingestão de suco de laranja pasteurizado (300 kcal) com uma refeição hiperlipídica e hiperglicídica (900 kcal) preveniu o estresse oxidativo e inflamatório induzidos por essa refeição. Também foi verificado que os compostos fenólicos presentes em 591 mL de suco de laranja fresco contribuíram diretamente para a proteção contra o estresse oxidativo pós-prandial no soro de jovens adultos saudáveis após o consumo de um café da manhã hiperglicídico (SNYDER *et al.*, 2011).

Diferentemente, outros estudos verificaram que o suco de laranja não aumentou a capacidade antioxidante total no plasma e nem reduziu biomarcadores de estresse oxidativo em adultos (BUSCEMI *et al.*, 2012; MORAND *et al.*, 2011). O teor de nutrientes do suco de laranja provavelmente contribui para o efeito observado em melhorar a capacidade antioxidante e suprimir a peroxidação lipídica (FOROUDI *et al.*, 2014). Antioxidantes inibem a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres). Outros mecanismos potenciais incluem a modulação da transcrição de genes antioxidantes pela indução do sistema Nrf2 (BUSCEMI *et al.*, 2012).

Foi demonstrado que a quercetina, que também é um flavonoide, reduziu a expressão da p47phox, uma subunidade do fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (NADPH) oxidase, regulando a produção de superóxido. Ghanim e colaboradores (2010), verificaram que o suco de laranja preveniu o estresse oxidativo e inflamação via inibição da geração de ROS, da expressão p47phox, do fator de transcrição nuclear NF- κ B, e da expressão do Toll-Like Receptor 4 (TLR-4). Também foi descrito que alimentos com compostos antioxidantes foram capazes de inibir os danos oxidativos em proteínas de plaquetas humanas, e que esse efeito poderia ser atribuído ao aumento dos níveis de glutathione e modulação de enzimas antioxidantes, incluindo a glutathione peroxidase (BERNABÉ *et al.*, 2013).

A presença do estresse oxidativo na doença hepática crônica e os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio nos hepatócitos, têm justificado o uso de antioxidantes como terapia protetora complementar, e estudos em modelos animais, linhas de células e em seres humanos com diversas doenças hepáticas têm esclarecido essa função. A vitamina E é um antioxidante que têm sido apontada como protetora contra lesão hepática em animais e por evitar a fibrose hepática em modelos animais e humanos com lesões agudas e crônicas no fígado. Ela reduz a produção

de TGF- β , que por sua vez, prejudica a ativação das células estreladas. Já foi demonstrado que ela é capaz de melhorar ou estabilizar a fibrose hepática na doença hepática gordurosa não alcoólica (CZAJA, 2014). O folato e a vitamina C são outros antioxidantes, que estão presentes no suco e que poderiam exercer um efeito semelhante ao da vitamina E.

Os marcadores plasmáticos pró-inflamatórios, PCR e TNF- α , dos participantes do presente estudo, foram reduzidos após o consumo do suco de laranja, o que também foi observado por outros estudos. O consumo de 300 mL/dia de bebida cítrica durante seis meses por adultos com síndrome metabólica (MULERO *et al.*, 2012) e o consumo de 500 mL de suco de laranja durante quatro semanas por indivíduos saudáveis (ASGARY *et al.*, 2014) promoveu a redução da PCR. Buscemi e colaboradores (2012) observaram que o consumo de 500 mL de suco de laranja vermelha por sete dias reduziu o TNF- α plasmático de adultos com risco cardiovascular aumentado.

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda, sensível como marcador de inflamação geral. A PCR induz a produção de outras células inflamatórias e diminui a expressão da síntese de óxido nítrico (RIDKER *et al.*, 2003). Um mecanismo possível para o efeito anti-inflamatório do suco de laranja seria a diminuição da carga pró-inflamatória do fígado (DEVARAJ; AUTRET; JIALAL, 2006). A síntese de PCR e outras proteínas de fase aguda pelos hepatócitos é estimulada por citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-1 e TNF- α , as quais tem a expressão regulada pela ativação da transcrição pró-inflamatória do NF- κ B, que é mediada pelo estresse oxidativo. O suco de laranja contém antioxidantes que atuam como sequestrantes de ROS, um efeito que por sua vez, pode potencialmente interferir na transcrição de fatores como o NF- κ B (ASGARY *et al.*, 2014; BUSCEMI *et al.*, 2012).

O efeito do suco de laranja em diminuir a produção de ROS e inflamação poderia prevenir disfunções endoteliais e aterosclerose (GHANIM *et al.*, 2010), que poderiam ocorrer em pacientes com hepatite C crônica devido ao aumento do estresse oxidativo, inflamação e resistência à insulina, ocasionados pelo VHC. Adinolfi e colaboradores (2012) relacionaram a infecção com o VHC como fator de risco para ocorrência precoce de aterosclerose via carga viral e esteatose, os quais modulam fatores aterogênicos como a inflamação.

Os estudos sobre efeitos do consumo de suco de laranja na diminuição da carga viral em indivíduos portadores de hepatite C crônica são escassos. Nahmias e colaboradores (2008) verificaram que a naringenina reduziu em 80% a secreção do VHC em células infectadas. Foi sugerido que isso se deve em parte à inibição da proteína de transferência de triglicerídeo microsomal (MTP), bem como a inibição da transcrição da HMGCoA redutase e ACAT2. No presente estudo, os indivíduos do grupo MedSuco também tiveram redução da carga viral após o período experimental.

Um outro estudo conduzido por Pisonero-Vaquero e colaboradores (2014) verificou que a quercetina foi um inibidor eficaz da replicação do VHC, via inibição do estresse oxidativo / nitrosativo e modulação posterior do metabolismo lipídico através da redução de fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) mediada pela proteína quinase B (PKB) e expressão da LXR α e acumulação de lipídeos, associada com o desenvolvimento da esteatose e progressão da hepatite C. A quercetina poderia exercer um efeito inibidor sobre a expressão da LXR α e acumulação de lipídeos não apenas através da modulação da via PI3K, mas também expressão de um grande número de microRNAs (miRNAs) envolvidos em sinalização celular e metabolismo. Também foi verificado que a quercetina reduziu a expressão da proteína não estrutural 5A (NS5A), que é essencial para a replicação do VHC.

Com base nos resultados apresentados, este estudo sugere que o consumo de suco de laranja por portadores de hepatite C crônica reduziu os níveis plasmáticos de colesterol de LDL, pressão arterial sistólica, peroxidação lipídica, PCR e TNF- α , e aumentou a capacidade antioxidante. Os voluntários do grupo MedSuco tiveram redução da carga viral. Desta maneira, o consumo de suco de laranja pode estar relacionado com a redução do estresse oxidativo e inflamação, normalmente presentes em pacientes portadores de hepatite C crônica.

Referências

ADINOLFI, L. E.; ZAMPINO, R.; RESTIVO, L.; LONARDO, A.; GUERRERA, B.; MARRONE, A.; NASCIMBENI, F.; FLORIO, A.; LORIA, P. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: Clinical impact and mechanisms. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 13, p. 3410-17, 2014.

ADINOLFI, L. E.; RESTIVO, L.; ZAMPINO, R.; GUERRERA, B.; LONARDO, A.; RUGGIERO, L.; RIELLO, F.; LORIA, P.; FLORIO, A. Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCV-related steatosis. **Atherosclerosis**, v. 221, p. 496-502, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 18th ed. Washington, CC: AOAC, 2005.

APTEKMANN, N. P.; CESAR, T. B. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, p. 119-28, 2013.

APTEKMANN, N. P.; CESAR, T. B. Orange juice improved lipid profile and blood lactate of overweight middle-aged women subjected to aerobic training. **Maturitas**, v. 67, p. 343–347, 2010.

ASGARY, S.; KESHVARI, M. Effects of citrus sinensis juice on blood pressure. **ARYA Atheroscler**, v. 9, n. 1, p. 98-101, 2013.

ASGARY, S.; KESHVARI, M.; AFSHANI, M. R.; AMIRI, M.; LAHER, I.; JAVANMARD, S. H. Effect of Fresh Orange Juice Intake on Physiological Characteristics in Healthy Volunteers. **ISRN Nutrition**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

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.

BASILE, L. G.; LIMA, C. G.; CÉSAR, T. B. Daily intake of pasteurized Orange juice decrease serum cholesterol, fasting glucose and diastolic blood pressure in adults. **Proc. Florida State Hort Soc**, v. 123, p. 228-233, 2010.

BERNABÉ, J.; MULERO, J.; CERDÁ, B.; GARCÍA-VIGUERA, C.; MORENO, D. A.; PARRA, S.; AVILÉS, F.; GIL-IZQUIERDO, A.; ABELLÁN, J.; ZAFRILLA, P. Effects of a citrus based juice on biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome patients. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1031-38, 2013.

BLOCK, G.; MANGELS, A. R.; NORKUS, E. P.; PATTERSON, B. H. LEVANDER, O. A.; TAYLOR, P. R. Ascorbic acid status and subsequent diastolic blood pressure. **Hypertension**, v. 37, p. 261-67, 2001.

BORRADAILE, N. M.; DREU, L. E.; BARRET, P. H. R.; HUFF, M. W. Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin: enhanced rapid intracellular degradation independent of reduced microsomal cholesteryl esters. **J Lipid Res**, v. 43, p. 1544-1554, 2002.

BRASIL. 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**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/hepatite-c>>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2014.

BUSCEMI, S.; ROSAFIO, G.; ARCOLEO, G.; MATTINA, A.; CANINO, B.; MONTANA, M.; VERGA, S.; RINI, G. Effects of red orange juice intake on endothelial function and inflammatory markers in adult subjects with increased cardiovascular risk. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 95, p. 1089-95, 2012.

CESAR, T. B.; APTEKMANN, N. P.; ARAUJO, M. P.; VINAGRE, C. C.; MARANHÃO, R. C. Orange juice decreases low-density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic subjects and improves lipid transfer to high-density lipoprotein in normal and hypercholesterolemic subjects. **Nutrition Research**, v. 30, p. 689-694, 2010.

CHAN, S. W. Establishment of chronic hepatitis C virus infection: Translational evasion of oxidative defence. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 11, p. 2785-2800, 2014.

CZAJA; A. J. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 10, p. 2515-32, 2014.

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. 756-61, 2006.

DURNIN, J. V. G. A.; WOMERSLEY, J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurement on 381 men and women aged 16 to 72 years. **Br J Nutr.** v. 32, p. 77-92, 1974.

FOROUDI, S.; POTTER, A. S.; STAMATIKOS, A.; PATIL, B. S.; DEYHIM, F. Drinking Orange Juice Increases Total Antioxidant Status and Decreases Lipid Peroxidation in Adults. **J. Med. Food,** v. 17, n. 5, p. 612-17, 2014.

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

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

GELONESE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arq. Bras. End. Metab.,** p. 208-215, 2006.

GHANIN, H.; SIA, C. L.; UPADHYAY, M.; KORZENIEWSKI, K.; VISWANATHAN, P.; ABUAYSHEH, S.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. **Am. J. Clin. Nutr.,** v. 91, p. 940-9, 2010.

JANASZEWSKA, A; BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. **Scand J Clin Lab Invest.** v. 62, p. 231–236, 2002.

KUROWSKA, E. M.; BORRADAILE, N. M.; SPENCE, J. D.; CARROLL, K. K. Hypocholesterolemic effects of dietary citrus juices in rabbits. **Nutr. Res.,** v. 20, n. 1, p. 121-29, 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.

LEAKE, D. S. Flavonoids and the oxidation of low-density lipoprotein. **Nutr.,** v. 17, n. 1, p. 63-66, 2001.

LIMA, C. G., BASILE, L. G.; SILVEIRA, J. Q., CESAR, T. B. Ingestão regular do suco de laranja vermelha reduz pressão arterial de adultos. **J. Health Sci. Inst.**, v. 30, n. 1, p. 59-63, 2012.

LOHMAN *et al* **Anthropometric standardization reference manual**. Abridged ed. Champaign, IL: Human Kinetics Books, 1991.

MATTHEWS, D. *et al.*, Homeostasis model assessment: Insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in mam. **Diabet.**, v. 23, p. 412-419, 1985.

MORAND, C.; DUBRAY, C.; MILENKOVIC, D.; LIOGER, D.; MARTIN, J. F.; SCALBERT, A.; MAZUR, A. 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.

MOST, M. M. Estimated phytochemical content of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet is higher than in the control study diet. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 104, n. 11, p. 1725-27, 2004.

MULERO, J.; BERNABÉ, J.; CERDÁ, B.; GARCÍA-VIGUERA, C.; MORENO, D. A.; ALBALADEJO, M. D.; AVILÉS, F.; PARRA, S.; ABELLÁN, J.; ZAFRILLA, P. Variations on cardiovascular risk factors in metabolic syndrome after consume of a citrus-based juice. **Clinical Nutrition**, v. 31, p. 372-77, 2012.

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

NASSER, A.L.M. *et al.* Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 32, n. 2, p. 275-279, 2011.

O'NEIL, C. E.; NICKLAS, T. A.; RAMPERSAUD, G. C.; FULGONI III, V. L. 100% Orange juice consumption is associated with better diet quality, improved nutrient adequacy, decreased risk for obesity, and improved biomarkers of health in adults: National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2006. **Nutr. J.**, v. 11, n. 107, p. 1-10, 2012.

PISONERO-VAQUERO, S.; GARCÍA-MEDIAVILLA, M. V.; JORQUERA, F.; MAJANO, P. L.; BENET, M.; JOVER, R.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; SÁNCHEZ-

CAMPOS, S. Modulation of PI3K-LXR α -dependent lipogenesis mediated by oxidative/nitrosative stress contributes to inhibition of HCV replication by quercetin. **Laboratory Investigation**, v. 94, p. 262–274, 2014.

RESHEF, N.; HAYARI, Y.; GOREN, C.; BOAZ, M.; MADAR, M.; KNOBLER, H. Antihypertensive effect of sweetie fruit in patients with stage I hypertension. **Am. J. Hyper.**, v. 18, p. 1360-63, 2005.

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

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.

SILALAHI, J. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. **Asia Pacific J. Clin. Nutr.**, v. 11, n. 1, p. 79-84, 2002.

SILVEIRA, J. Q.; *et al.* Pharmacokinetics of Flavanone Glycosides after Ingestion of Single Doses of Fresh-Squeezed Orange Juice versus Commercially Processed Orange Juice in Healthy Humans. **J. Agric. Food Chem**, v. 62, p. 12576 – 84, 2014.

SIRI, W. E. Gross composition of the body. In: Lawrence, J. H., Tobias, C. A. **Advances in Biological and Medical Physics**. New York: Academic Press, 1956.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colometry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 16, p. 144-153, 1965.

SNYDER S. M.; REBER, J. D.; FREEMAN, B. L.; ORGAD, K.; EGGETT, D. L.; PARKER, T. L. Controlling for sugar and ascorbic acid, a mixture of flavonoids matching navel oranges significantly increases human postprandial serum antioxidante capacity. **Nutrition Research**, v. 31, p. 519-26, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 95, n. 1. supl. 1, p. 1. 51, 2010.

TAPIERO, H.; TEW, K. D.; BA, G. N.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in

the prevention of human pathologies? **Biomed Pharmacother**, v. 56, p. 200-7, 2002.

URBACZEK, A. C.; RIBEIRO, L. C. A.; XIMENES, V. F.; AFONSO, A.; NOGUEIRA, C. T.; GENEROSO, W. C.; ALBERICE, J. V.; RUDNICKI, M.; FERRER, R.; FONSECA, L. M.; COSTA, P. I. Inflammatory response of endothelial cells to hepatitis C virus recombinant envelope glycoprotein 2 protein exposure. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 6, p. 748-56, 2014.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **National Nutrient Database for Standard Reference**. Release 23, 2010.

VALKO, M. *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-biological interactions**. v. 160, p. 1-40, 2006.

WALD, O.; WEISS, I. D.; GALUN, E.; PELED, A. Chemokines in hepatitis C virus infection: Pathogenesis, prognosis and therapeutics. **Cytokine**, v. 39, p. 50-62, 2007.

WHITMAN, S. C.; KUROWSKA, E. M.; MANTHEY, J. A.; DAUGHERTY, A. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages. **Atherosclerosis**, v. 178, p. 25-32, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatite C**. 2013a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>>. Acesso em: 27 de janeiro de 2014.

YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. **Methods Mol Biol**. v. 108, p. 101-106, 1998.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____, RG _____, Estado Civil _____, Idade _____ anos. Residente na _____, n° _____, 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 n° 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 deverei 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 2- REGISTRO ALIMENTAR

Refeição	Horário	Alimento / Preparação	Quantidade
Café da manhã			
Lanche da manhã			
Almoço			
Lanche da tarde			
Jantar			
Ceia			

ANEXOS



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