

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEPATOLOGIA**

Kalinca da Silva Oliveira

**Associação do consumo da cafeína e
dos níveis séricos de vitamina D com o
grau de fibrose hepática em pacientes
com hepatite C crônica**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2013**

Kalinca da Silva Oliveira

**Associação do consumo da cafeína e
dos níveis séricos de vitamina D com o
grau de fibrose hepática em pacientes
com hepatite C crônica**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Hepatologia da
Fundação Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre como
requisito para a obtenção do grau de
Mestre

Orientadora: Cristiane Valle Tovo

**Porto Alegre
2013**

Catálogo na Publicação

Oliveira, Kalinca da Silva

Associação do consumo da cafeína e os níveis séricos de vitamina D com o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica / Kalinca da Silva Oliveira. -- 2013.

86 p. : il., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, 2013.

Orientador(a) : Cristiane Valle Tovo.

1. Hepatite C crônica. 2. Cafeína. 3. Vitamina D. 4. Fibrose. 5. Cirrose. I. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico àqueles que sempre foram a minha base, meu porto-seguro, meu incentivo e meu exemplo: meus pais Beatriz e Luiz Roberto. Dizer obrigada por tudo seria pouco, então, digo que todo o meu esforço foi por e para vocês!

AGRADECIMENTOS

Descobri ao longo desta pesquisa que minha fé é forte e não move montanhas, mas mostrou que eu tenho força e capacidade para realizar os meus objetivos. Obrigada, Deus!

À Prof. Dra. Cristiane Valle Tovo, minha orientadora, gostaria de agradecer pela dedicação, disponibilidade, paciência, compreensão e carinho. És meu exemplo de profissional!

À minha amada mãe Beatriz, que é um exemplo de mulher guerreira e batalhadora, sempre se doando as pessoas que ama e dando o seu melhor para educar, dar atenção e amor as suas filhas. Obrigada, mãe, pela paciência e compreensão nos meus momentos mais difíceis. Obrigada pelo carinho e por todo empenho, saiba que foi meu incentivo e apoio. O meu orgulho é enxergar o seu exemplo pela pessoa que me tornei!

Ao meu pai Luiz Roberto, por ser um pai amoroso, atencioso, carinhoso e dedicado. Obrigada por estares ao meu lado em todos os momentos!

Às minhas irmãs de alma, de sangue e de vida, Katiussa e Priscila, que estiveram e estão sempre comigo, nas horas boas e ruins. Agradeço pelos conselhos, por me escutarem inúmeras vezes, me darem aqueles puxões de orelha quando necessário e, principalmente, por me darem a tranquilidade de saber que sempre teremos umas às outras. Eu amo vocês!

Às minhas amigas inseparáveis, Maiani, Daniela, Inaê e Suélen, e ao meu grande amigo Bruno, que estiveram comigo sempre, me ajudando a superar as dificuldades e tornando o dia a dia mais prazeroso e cheio de alegria.

Aos Professores do Programa de Pós Graduação em Hepatologia, pela excelência no ensino e exemplo a ser seguido.

A todos os pacientes que contribuíram para a realização deste trabalho, obrigada por dispensarem um tempo de suas vidas para me auxiliar na conclusão da pesquisa.

Obrigada de coração!

RESUMO

Introdução - O vírus da hepatite C (HCV) é um importante problema mundial de saúde pública e a principal causa de hepatite C crônica, cirrose, carcinoma hepatocelular e transplante hepático. Recentemente, o consumo de cafeína e os níveis séricos de vitamina D têm sido relacionados à diminuição dos níveis de enzimas hepáticas e menor risco de fibrose, em pacientes portadores de HCV.

Objetivos - O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação do consumo da cafeína, bem como dos níveis séricos de vitamina D com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.

Métodos - Estudo transversal, constituído por pacientes com infecção crônica pelo HCV. Foram entrevistados 113 pacientes através de questionário referente ao consumo de cafeína e análise de dados antropométricos. Setenta e quatro pacientes realizaram a dosagem de vitamina D. A biópsia hepática foi realizada em um período de no máximo 36 meses antes da inclusão no estudo.

Resultados – Foram avaliados 113 pacientes, sendo 67 (59,3%) do sexo feminino, 48 (42,5%) apresentavam idade entre 52 e 62 anos, e 101 (89,4%) eram de cor branca. O consumo médio de cafeína foi $251,41 \pm 232,32$ mg/dia, sendo que 70 (62%) pacientes consumiam até 250 mg/dia de cafeína. Não houve associação entre o consumo de cafeína e a atividade inflamatória na biópsia hepática, o sexo, a cor da pele e o índice de massa corporal. Por outro lado, quando avaliada a associação entre o consumo de cafeína e fibrose hepática observou-se relação inversa, bem como quando analisado o consumo de cafeína e a idade. Quanto à vitamina D, foram avaliados 74 pacientes, sendo 45 (60,8%) do sexo feminino, com média de idade $57,03 \pm 9,24$ anos e 63 (85,1%) eram de cor branca. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os níveis séricos de vitamina D e o sexo, a idade, e a cor da pele. Da mesma forma, não houve associação entre a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática com os níveis séricos de vitamina D.

Conclusões – O consumo de cafeína abaixo de 250 mg/dia foi associado com fibrose hepática avançada. Não houve associação entre o consumo de cafeína e a atividade inflamatória. Da mesma forma, não houve associação entre os níveis séricos de vitamina D e atividade inflamatória, bem como com o grau de fibrose hepática.

PALAVRAS-CHAVE: Hepatite C crônica, Fibrose Hepática, Cirrose, Cafeína, Vitamina D.

ABSTRACT

Introduction – Hepatitis C virus (HCV) is an important world public health issue and the main cause for chronic hepatitis C, cirrhosis, hepatocellular carcinoma and liver transplant. Recently, caffeine consumption and vitamin D level has been related to decrease liver enzymes levels and to a low risk of fibrosis in patients with HCV.

Purposes - This study aims at assessing the association between caffeine consumption as well as the serum levels of vitamin D with the inflammatory activity and hepatic fibrosis grade in patients with chronic HCV infection. **Methods** -

Transversal study composed of patients with chronic HCV infection. Patients were surveyed regarding caffeine consumption and anthropometric data analysis, and also performed vitamin D dosages. Liver biopsy was made in a period of no more than 36

months prior to the inclusion in the study. **Results** – One hundred and thirteen patients evaluated caffeine consumption; 67 (59.3%) were females, 48 (42.5%) were aged between 52 and 62 years, and 101 (89.4%) were white. Mean caffeine consumption was 251.41 ± 232.32 mg/day, where 70 (62%) patients consumed up to 250 mg/day of caffeine. No association between caffeine consumption and

inflammatory activity in histopathology analysis, sex, skin color and body mass index was observed. On the other hand, there was an inverse association between caffeine intake and age. Regarding vitamin D, 74 patients were assessed, where 45 (60.8%)

were females, mean age was 57.03 ± 9.24 years and 63 (85.1%) were white. No statistically significant difference was found between serum levels of vitamin D and sex, age and skin color. Likewise, there was no association between vitamin D levels and the inflammatory activity or fibrosis grade. **Conclusions** - Caffeine consumption

below 250 mg/day was associated with advanced hepatic fibrosis. There was no

association between caffeine consumption and the inflammatory activity. Similarly, there was no association between the serum levels of vitamin D and the inflammatory activity and the hepatic fibrosis grade.

KEYWORDS: Chronic hepatitis C, Hepatic Fibrosis, Cirrhosis, Caffeine, Vitamin D.

LISTA DE FIGURAS

Artigo: **Associação do consumo de cafeína com o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.**

Figura 1 - Correlação entre o consumo de cafeína (mg/dia) e a idade.....50

Figura 2 - Correlação entre o consumo de cafeína (mg/dia) e o grau de fibrose hepática.....52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Indicadores de saúde para vários níveis séricos da 25(OH)D.....21

Artigo: **Associação do consumo de cafeína com o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.**

Tabela 1 – Caracterização da amostra de pacientes com Hepatite C crônica, avaliados mediante o consumo de cafeína.....49

Tabela 2 – Consumo de cafeína e alterações histopatológicas na biópsia hepática.....51

Artigo: **Existe associação entre vitamina D e fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica?**

Tabela I – Caracterização da amostra de pacientes com Hepatite C crônica, mediante os níveis séricos de vitamina D.....67

Tabela II – Níveis médios séricos de vitamina D e alterações histopatológicas na biópsia hepática.....68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALT = Alanino aminotransferase

AST = Aspartato aminotransferase

Anti-HCV = anticorpo contra o HCV

DBP = Proteína ligante da vitamina D

DHGNA = Doença hepática gordurosa não alcoólica

DP = Desvio padrão

ELISA = *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

GGT = Gamma glutamil transpeptidase

HBV = Vírus da hepatite B

HCC = Carcinoma hepatocelular

HCV = Vírus da hepatite C

HIV = Vírus da imunodeficiência humana

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC = Intervalo de confiança

IL= Interleucina

IMC = Índice de massa corporal

MEIA = Imunoensaio enzimático de micropartículas

MS = Ministério da Saúde

NASH = Esteato-hepatite não alcoólica

OR = *Odds Ratio*

P = Percentil

PCR = Reação em cadeia da polimerase

PTH = Hormônio da paratireoide

RFLP-PCR = Técnica de polimorfismo fragmentado de restrição

RVS = Resposta virológica sustentada

SPSS = *Statistical Package for the Social Sciences*

TCLE = Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGF- β = Fator de crescimento tumoral

TNF- α = Fator de necrose tumoral

TNFR = Receptor solúvel do TNF- α

UFCSPA = Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

VDR = Receptor da vitamina D

SUMÁRIO

1 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
1.1 Hepatite C crônica.....	13
1.2 Fibrose Hepática.....	14
1.3 Cirrose.....	15
1.4 Cafeína.....	16
1.4.1 Cafeína e Doença Hepática Crônica.....	17
1.4.2 Cafeína e Carcinoma Hepatocelular.....	18
1.5 Vitamina D.....	19
1.5.1 Vitamina D e Doença Hepática Crônica.....	22
1.5.2 Vitamina D e Carcinoma Hepatocelular.....	24
2 JUSTIFICATIVA.....	25
3 OBJETIVOS.....	26
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
5 ARTIGO CIENTÍFICO - Associação do consumo de cafeína com o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.....	41
6 ARTIGO CIENTÍFICO - Existe associação entre vitamina D e fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica?.....	60
7 CONCLUSÃO.....	74
8 ANEXOS.....	75

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Hepatite C crônica

O vírus da hepatite C (HCV) é um importante problema mundial de saúde pública e a principal causa de hepatite C crônica, cirrose, carcinoma hepatocelular (HCC) e transplante hepático ⁽¹⁾.

Cerca de 170 milhões de pessoas estão infectadas, correspondendo a cerca de 2,2 a 3% da população mundial ⁽²⁾, e é relevante o número de pessoas que desconhecem a própria infecção, pois o quadro clínico da doença é geralmente assintomático ⁽³⁾. Apenas 20 a 30% dos pacientes com infecção aguda recuperam-se espontaneamente da doença ⁽⁴⁾, e em torno de 70% progridem para a infecção crônica ^(5,6).

O inquérito epidemiológico das hepatites virais realizado pelo Ministério da Saúde (MS) nas capitais do Brasil observou prevalência global de 1,38%. Na região Sul a prevalência de anti-HCV foi 1,70% nos adultos entre 20 e 69 anos ⁽⁷⁾.

Em relação à história natural da hepatite crônica pelo HCV, há estudos prospectivos, retrospectivos e retroprospectivos, apontando taxas de progressão para cirrose que variam entre 0,4% e 46%, na dependência do tipo de estudo e do tempo de seguimento, desenvolvimento de carcinoma hepatocelular entre 11% e 19% ⁽⁸⁻¹⁷⁾, e morte por doença hepática entre 1,6% e 6% ⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Fatores que parecem acelerar a progressão da infecção pelo HCV em estudos individuais são: idade avançada no momento da infecção, sexo masculino, uso abusivo de álcool, co-infecção com vírus da hepatite B (HBV) e com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ^(18,19).

O genótipo e a carga viral do HCV não estão associados com a progressão da fibrose ⁽²⁰⁾.

1.2 Fibrose Hepática

Existem vários mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da fibrose hepática, como a ativação de células estreladas hepáticas e a produção de citocinas, tais como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), fator de crescimento tumoral- β (TGF- β) e IL-6^(21,22), sendo a IL-6 um elemento chave na regulação local da resposta fibrogênica^(23,24). Em estágios mais avançados, citocinas tais como TNF- α e TGF- β , bem como outros fatores de crescimento são produzidos em quantidades elevadas e estão envolvidos na progressão da fibrose⁽²⁵⁻²⁷⁾.

A avaliação da fibrose é ferramenta fundamental na determinação do prognóstico da doença hepática, na avaliação da necessidade de medidas terapêuticas específicas e para detecção de doença hepática grave, uma vez que muitas doenças hepáticas crônicas são assintomáticas e com pouca expressão clínica⁽²⁸⁾.

Diversos métodos por imagem são capazes de avaliar a fibrose hepática. Destacam-se a elastografia transitória por ultrassom (FibroScan) e a elastografia por ressonância magnética como os mais promissores. O último parece ter um maior potencial para estratificação da fibrose hepática⁽²⁹⁾. Marcadores sorológicos diretos e indiretos são propostos para avaliar a fibrose de forma não invasiva. Vários índices foram testados sendo capazes de identificar estágios avançados da fibrose⁽³⁰⁾. Entretanto, a biópsia hepática ainda é considerada o padrão-áureo para a avaliação de fibrose hepática, embora apresente várias limitações, particularmente erro de amostragem e variabilidade interobservadores⁽²⁸⁾.

A Infecção crônica pelo HCV está associada à inflamação intra-hepática e a várias citocinas inflamatórias, incluindo o TNF- α , um grupo complexo de ligantes e receptores que estão envolvidos na diferenciação, sobrevivência e morte celular. O TNF- α circulante e o receptor solúvel do TNF- α (TNFR) apresentam níveis elevados em pacientes com HCV crônica em relação aos controles, e os níveis séricos de TNFR se correlacionam com o grau de inflamação do fígado^(31,32). O TNF- α está fortemente ligado à resistência à insulina, e é sugerido que os níveis elevados desta citocina em pacientes portadores do HCV promovam o desenvolvimento da diabetes do tipo 2⁽³³⁾.

1.3 Cirrose

A cirrose se caracteriza por fibrose hepática difusa, onde ocorre transformação nodular e perda da arquitetura normal do órgão. Possui inúmeras causas, dentre elas a hepatite B e C crônicas e alcoolismo. É considerada irreversível em estágios finais, porém o tratamento específico de causas subjacentes da doença hepática pode melhorar e até reverter a cirrose ⁽³⁴⁾.

A cirrose está entre as dez principais causas de óbito em países desenvolvidos. Estima-se que seja responsável por 1,1% das mortes no mundo. Atualmente, registra-se um declínio das taxas de mortalidade da cirrose. Assim, na América do Norte a taxa anual caiu de 5% para 1,5% na última década, embora permaneça elevada na América Latina. Na Europa também tem sido observado um declínio das taxas de mortalidade por cirrose nas últimas décadas ⁽³⁴⁾. Nos Estados Unidos é a principal causa de óbito, ocorrendo cerca de 26.000 óbitos/ ano. Quando se considera as décadas mais produtivas de vida (entre 35- 54 anos), a cirrose apresenta uma mortalidade de 18 para cada 100.000 habitantes ⁽³⁵⁾. Segundo dados oficiais do MS, morreram no Brasil em 2009, 9.355 pacientes por cirrose hepática, sendo esta causa de mortalidade mais prevalente no sudeste e nordeste brasileiro ⁽³⁶⁾.

Entre os pacientes com cirrose, o carcinoma hepatocelular (HCC) se desenvolve em uma taxa de cerca de 1% a 4% ao ano. Vale ressaltar que o HCC pode desenvolver-se a partir de fibrose hepática intensa e não somente em cirróticos, como se supunha ⁽³⁷⁾.

O tratamento da cirrose inclui vários aspectos importantes e depende da etiologia. A nutrição do paciente cirrótico tem papel relevante e deve assegurar o aporte de uma dieta calórica e proteica adequada. A acentuada restrição de proteínas, na tentativa de prevenir a ocorrência de encefalopatia hepática, deve ser evitada, pois pode prejudicar o estado nutricional desta população de doentes. Cirróticos devem ser desencorajados ao uso de álcool, drogas e medicamentos alternativos que tenham potencial efeito hepatotóxico ⁽³⁸⁾.

A vacinação contra hepatites A e B deve ser recomendada, especialmente naqueles cirróticos com pouca reserva funcional onde o risco de descompensação é

elevado. O rastreamento do HCC com alfa-fetoproteína e ultrassom abdominal de 6 em 6 meses tem sido a estratégia mais frequentemente adotada. O tratamento das causas subjacentes deve ser empregado, pois pode desacelerar a progressão da doença e prevenir complicações. Cirróticos descompensados devem ser encaminhados para transplante hepático, uma vez que este é o tratamento definitivo da cirrose hepática ⁽³⁸⁾.

1.4 Cafeína

A cafeína é um alcaloide farmacologicamente ativo pertencente ao grupo das metilxantinas ^(39,40). É uma substância lipossolúvel absorvida de modo rápido e eficiente, através do trato gastrointestinal, com 100% de biodisponibilidade. Atinge um pico de concentração plasmática entre 30 e 120 minutos, e meia vida de 3 a 7 horas ⁽⁴¹⁾.

Está presente em diversos tipos de alimentos, como chocolates, refrigerantes, chás, bebidas energéticas e no café, sendo este último a principal fonte desta substância ^(42,43).

O consumo de café no Brasil é um dos mais elevados do mundo, mesmo quando comparado com o de países europeus. Os campeões de consumo, entretanto, são os países nórdicos – Finlândia, Noruega, Dinamarca – com um volume próximo de 13 kg/habitante/ano. Já o consumo per capita brasileiro é de 4,94 kg/habitante/ano. Pesquisa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), também indicou que o café é consumido diariamente por 78% da população acima de 10 anos de idade. Os brasileiros estão consumindo mais xícaras de café por dia e diversificando as formas da bebida, adicionando ao café filtrado, também o café expresso, cappuccino e outras combinações com leite ⁽⁴⁴⁾. A estimativa da dose ingerida de cafeína requer o conhecimento de suas quantidades nas diferentes fontes (alimentos, medicamentos etc.), o que torna difícil quantificar o seu consumo ⁽⁴²⁾.

A ingestão da cafeína pode causar tanto efeitos negativos como positivos, que dependem de cada organismo, da eventual existência de patologias (considerando que certas patologias podem ser agravadas pela presença da cafeína), da dose ingerida e da frequência de ingestão ^(43,45,46).

Sob o ponto de vista psiquiátrico, a cafeína pode exacerbar estados ansiosos e contribuir para distúrbios de sono, havendo relatos de intoxicação e tentativas de suicídio com seu uso ^(47,48). A intoxicação por cafeína pode cursar com vômitos, cólicas abdominais, convulsões e arritmias, havendo necessidade de cuidados intensivos ⁽⁴⁷⁾.

Entre as várias técnicas disponíveis para a análise de cafeína em alimentos, a cromatografia líquida de alta eficiência tem sido a escolhida ⁽⁴⁹⁻⁵⁷⁾. Entre as vantagens desta técnica estão a sensibilidade, especificidade, rapidez e a não necessidade de intensa manipulação da amostra ^(55,57,58).

1.4.1 Cafeína e Doença Hepática Crônica

O consumo de café tem sido associado com a redução do risco de ocorrência de várias doenças crônicas, incluindo a diabetes mellitus tipo 2, doença de Parkinson e doenças hepáticas ⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾.

Alguns autores demonstram associação inversa entre a ingestão de café e mortalidade relacionados a diversas doenças inflamatórias ⁽⁶²⁻⁶⁴⁾, e marcadores de inflamação (por exemplo: proteína C-reativa) ⁽⁶⁵⁾, embora nem todos os estudos sejam consistentes ⁽⁶⁶⁾.

Componentes do café, incluindo a cafeína, diterpenos ⁽⁶⁷⁾, e polifenóis ⁽⁶⁸⁾, têm sido relacionados a modificações favoráveis na atividade das enzimas hepáticas, tais como α -glutamyltransferase e aminotransferases ^(48,69-71).

Recentemente, o consumo de cafeína tem sido relacionado à diminuição dos níveis de enzimas hepáticas e menor risco de fibrose, em pacientes portadores de

HCV^(17,48,61,62,71-73).

Ruhl et al⁽⁷¹⁾, avaliaram 5.944 adultos nos EUA (1988-1994) portadores de HBV e HCV e demonstraram que o aumento da atividade de ALT está associada com o baixo consumo de cafeína.

Friedman et al⁽⁶²⁾, observaram que a ingestão de café pode agir reduzindo a inflamação, já que a resposta inflamatória à lesão hepática é decorrente de fibrose hepática e cirrose hepática.

Freedman et al⁽⁷²⁾, avaliaram 766 pacientes portadores do vírus C e concluíram que indivíduos com HCV e fibrose avançada ou cirrose, possuem uma associação inversa significativa entre o consumo regular de café e a progressão da doença hepática.

Modi et al⁽⁶¹⁾, avaliaram o papel protetor da cafeína sobre a fibrose, e depois de controlar outros fatores conhecidos por afetar a mesma (idade, raça, sexo, IMC, e consumo de álcool), o aparente efeito protetor da cafeína persistiu. De acordo com a redução da fibrose hepática na biópsia, os pacientes com maior consumo de cafeína também apresentaram menores valores médios de aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, bilirrubinas e aumento dos níveis de albumina. Juntos, esses dados sugerem que o maior consumo de cafeína está associado com a fibrose hepática menos avançada, e que o efeito benéfico requer o consumo de cafeína acima de um limite equivalente a cerca de 2 xícaras de café por dia (≥ 222 mg/dia).

1.4.2 Cafeína e Carcinoma Hepatocelular

O HCC é a quinta causa mais comum de câncer e a terceira principal causa de morte relacionada ao câncer em todo o mundo, sendo responsável por 85% a 90% dos casos de câncer primário de fígado⁽⁷⁴⁾. Nos países ocidentais, o HCC é mais frequentemente sobreposto à cirrose, o seu principal fator de risco⁽⁷⁵⁾.

Álcool, HBV e HCV são os principais agentes etiológicos de cirrose e de HCC no mundo. O vírus da hepatite B e C supostamente exercem um efeito cancerígeno, representando a alta prevalência de câncer de fígado entre os

pacientes infectados ^(76,77), porém o mesmo pode não ser verdade para o álcool ⁽⁷⁴⁾.

Os potenciais efeitos favoráveis do café sobre a função hepática e doenças do fígado, incluindo cirrose e HCC têm sido demonstrado ⁽⁷⁸⁾. Na metanálise realizada por Bravi et al, em 2007, foram avaliados 11 estudos do sul da Europa e do Japão, observando uma redução de 41% no risco de HCC para os consumidores de café em comparação com os que não consumiam. Um estudo de coorte demonstrou que o consumo de uma xícara de café por dia acarreta 50% menos chance de desenvolver o HCC ⁽⁷⁹⁾.

Da mesma forma, a análise conjunta de dois estudos de coorte japoneses, incluindo 22.404 e 38.703 indivíduos, seguidos por 9 e 6 anos, respectivamente, com um total de 117 casos de HCC, evidenciou que o consumo de mais de uma xícara de café por dia (>111 mg/dia), acarreta 58% menos chance de HCC, comparado com quem nunca consome ⁽⁸⁰⁾.

Um estudo prospectivo japonês com 90.452 pacientes acompanhados por 10 anos, incluindo 334 casos de HCC, revelou que os consumidores de ≥ 5 xícaras de café por dia, possuíam 24% menos chances de desenvolver HCC, com relação aos indivíduos que não consumiam o café ⁽⁸¹⁾.

Um estudo grego de caso-controle com 333 casos de HCC observou um risco de 0,7 vezes menor para os que ingeriam 20 xícaras de café ou mais por semana em comparação com aqueles que nunca consumiam café ⁽⁷⁸⁾.

1.5 Vitamina D

O equilíbrio nutricional é indispensável para manter todos os processos biológicos. O trato digestivo é a maior via de absorção de nutrientes, e não é surpresa encontrar anormalidades no metabolismo mineral e ósseo em pacientes com vários tipos de distúrbios digestivos que desestabilizam o complexo mecanismo de absorção, como doenças gastrintestinais disabsortivas, doenças hepatobiliares, doenças pancreáticas, doenças inflamatórias intestinais, gastrectomias e ressecções intestinais ^(82,83).

A vitamina D é conhecida pela sua função no desenvolvimento e na

manutenção do tecido ósseo, bem como pela manutenção da homeostase do cálcio e do fósforo. Evidências sugerem o envolvimento dessa vitamina em diversos processos celulares vitais, como diferenciação e proliferação celular, secreção hormonal (por exemplo: insulina), assim como no sistema imune e em diversas doenças crônicas ⁽⁸⁴⁻⁸⁸⁾.

Recentemente a vitamina D está sendo reconhecida também por possuir propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias e antifibróticas, sendo estas atividades relevantes na patogênese e no tratamento de muitas causas de doença hepática crônica ⁽⁸⁹⁾.

Na maioria dos indivíduos, a síntese cutânea é a principal fonte de vitamina D, sendo o restante obtido pela alimentação e pelo uso de suplementos ⁽⁸⁵⁾.

A vitamina D é sintetizada na pele a partir do colesterol, onde entra no sistema capilar e é transportada pelas proteínas ligantes da vitamina D (DBP). A vitamina D ligada à DBP é liberada para os tecidos periféricos. Uma pequena parte de vitamina D é armazenada no fígado, onde ocorre a primeira hidroxilação produzindo a 25(OH)D₃ (forma circulante predominante). A segunda hidroxilação é realizada pela enzima α -1-hidroxilase no rim, produzindo a 1,25(OH)₂D₃ (forma mais ativa). A atividade da α -1-hidroxilase é elevada pelo hormônio da paratireoide (PTH) na presença de baixas concentrações plasmáticas de cálcio, e como resultado há um aumento na produção de 1,25(OH)₂D₃. A atividade da enzima diminui quando as concentrações de 1,25(OH)₂D₃ são crescentes ⁽⁹⁰⁾.

A vitamina D da dieta é incorporada com outros lipídios nas micelas e absorvida no intestino por difusão passiva. Dentro das células absorptivas, a vitamina é incorporada nos quilomícrons, entra no sistema linfático e, subsequentemente, entra no plasma, onde é liberada para o fígado, pelos remanescentes de quilomícrons, ou pela DBP ou transcalferrina. A eficiência desse processo de absorção parece ser de aproximadamente 50% ⁽⁹⁰⁾.

Existem duas formas comuns de vitamina D: a vitamina D₂ e a vitamina D₃. Elas se originam de duas fontes distintas. A vitamina D₂ (ergocalciferol) é sintetizada a partir de levedura de ergosterol, e a vitamina D₃ (colecalciferol) é produzida a partir

de 7-desidrocolesterol (7-DHC) de lanolina ⁽⁹¹⁾.

A vitamina D2 também é conhecida como a vitamina da luz solar, pois a exposição à luz solar normalmente é suficiente para a maioria das pessoas produzirem a sua própria vitamina D usando a luz ultravioleta e o colesterol da pele. Como a vitamina pode ser produzida no organismo, possui órgãos-alvo específicos e não precisa ser fornecida pela dieta. A vitamina D preenche mais a definição de um hormônio do que a de uma vitamina e normalmente atua como um hormônio esteroide ⁽⁹⁰⁾.

Fontes naturais de vitamina D incluem peixes (salmão, arenque, atum e lambari), óleo de fígado de bacalhau e de certas espécies de cação, e encontra-se em pequenas quantidades e de forma altamente variável na manteiga, nata, gema de ovo e fígado de animais ⁽⁹⁰⁾.

Grant e Holick, em 2005 ⁽⁹²⁾, propuseram pontos de corte para a vitamina D. Os valores de 25(OH)D normalmente são expressos em nmol/L ou ng/mL (1 ng/mL corresponde a 2,496 nmol/L) (Tabela 1).

Tabela 1 – Indicadores de saúde para vários níveis séricos da 25(OH)D

25(OH)D (ng/mL)	25(OH)D (nmol/L)	Implicações para a saúde
<20	<50	Deficiência
20-32	50-80	Insuficiência
32-100	80-250	Suficiência
54-90	135-225	Normal em países ensolarados
>100	>250	Excesso
>150	>325	Intoxicação

Adaptado de Grant e Holick ⁽⁹²⁾.

Apesar da suposta maior exposição solar em nosso meio, concentrações séricas insuficientes de 25(OH)D são também reportadas. Saraiva et al.⁽⁹³⁾ e Genaro et al.⁽⁹⁴⁾, encontraram concentrações inadequadas em 42% dos idosos na cidade de São Paulo e em 24% de mulheres com osteoporose. Em adolescentes saudáveis e adultos jovens, a prevalência foi de 60% e 50%, respectivamente^(95,96).

A deficiência de vitamina D manifesta-se como raquitismo em crianças devido à mineralização prejudicada dos ossos durante esta fase. O raquitismo é resultado não apenas da privação da vitamina D como também das deficiências de cálcio e fósforo, sendo caracterizado por anormalidades estruturais de ossos que suportam o peso, e está associado a dor óssea e sensibilidade muscular⁽⁹⁰⁾.

Nos adultos manifesta-se como osteomalácia, devido a reduções generalizadas na densidade óssea e a presença de pseudofraturas, especialmente da coluna vertebral, fêmur e úmero. Os pacientes apresentam fraqueza muscular, sensibilidade óssea e maior risco de fraturas, particularmente do punho e da pelve⁽⁹⁰⁾.

1.5.1 Vitamina D e Doença Hepática Crônica

O fígado exerce papel fundamental no metabolismo da vitamina D. Nos pacientes com doença hepática crônica, a ocorrência de insuficiência de vitamina D (<75 nmol/L) é quase universal, e a deficiência (<50 nmol/L) ocorre em cerca de dois terços dos indivíduos. Mesmo na ausência de cirrose, a deficiência de vitamina D está presente na maioria dos pacientes com doença hepática crônica. Naqueles com cirrose, a prevalência de deficiência grave de vitamina D (<25 nmol/L) é maior conforme a gravidade da disfunção de síntese hepática^(97,98).

A deficiência de vitamina D ocorre independentemente da etiologia da doença hepática^(99,100). As propriedades anti-inflamatórias e moduladoras de vitamina D fornecem mecanismos plausíveis pelas quais a vitamina D pode ter impacto na progressão e graus mais elevados da doença, especialmente na hepatite C crônica⁽⁸⁹⁾. Além disso, os níveis séricos da DBP, que desempenham um papel fundamental no transporte e biodisponibilidade de vitamina D, estão moderadamente diminuídos na cirrose^(101,102).

A concentração sérica de vitamina D de 20ng/mL é suficiente para a maioria dos adultos saudáveis, mas uma concentração de 16ng/mL é insuficiente para cerca de 50% dos adultos saudáveis, o que sugere uma pequena margem de variação⁽¹⁰³⁾. Um painel da Sociedade Americana de Endocrinologia, concluiu que devem ser utilizados 32ng/mL como o limiar de suficiência de 25(OH)D⁽¹⁰⁴⁾.

Alguns têm defendido que os esforços de triagem devem ser focados em indivíduos de alto risco específico, no entanto, um estudo recente mostrou que 25% de um grupo de jovens médicos apresentaram níveis de 25(OH)D abaixo 20ng/mL, apesar de sua falta de fatores de risco estabelecidos⁽¹⁰⁵⁾. Seja qual for o custo efetividade do teste de vitamina D no público em geral, os benefícios para pacientes HCV-positivos tendem a ser maiores devido a sua susceptibilidade à doença óssea e ao aumento do risco de fratura óssea⁽¹⁰⁶⁻¹¹⁰⁾.

Alguns estudos examinaram a relação entre a vitamina D e a evolução da doença em pacientes com hepatite C crônica^(89,106,111). Um estudo recente mostrou que o HCV reduz a produção de 7-desidrocolesterol, o precursor da vitamina D endógena. A maioria dos pacientes apresentava níveis baixos de 25(OH)D, sugerindo que o HCV deprime os níveis de 25(OH)D e altera o metabolismo lipídico⁽¹¹²⁾.

Diferentes modelos experimentais mostram que a vitamina D, através da interação com o receptor de vitamina D (VDR), protege contra a ocorrência de estresse oxidativo⁽¹¹³⁾, reduzindo assim a atividade inflamatória e fibrogênica de células hepáticas esteladas^(114,115).

Estudos demonstram que os níveis de vitamina D estão relacionados inversamente com a fibrose hepática, havendo relação com os efeitos anti-inflamatórios da vitamina D^(106,116-119). Desta forma a deficiência de vitamina D pode contribuir para a fibrose hepática mais avançada e a suplementação de vitamina D pode ter efeitos anti-fibróticos em portadores do HCV⁽¹¹¹⁾.

Evidências recentes sugerem que a vitamina D pode ter impacto sobre os resultados clínicos e resposta ao tratamento de pacientes com hepatite C crônica^(116,120-122).

Avanços no tratamento da hepatite C crônica tem sido evidentes, e terapias não-tóxicas continuam a ser uma esperança para o futuro, havendo necessidade de intervenções que possam minimizar a progressão da doença e / ou melhorar as taxas da resposta virológica sustentada (RVS) no curto prazo. Como medida

provisória, suplementos de vitamina D têm sido propostos como um adjuvante de tratamento com interferon peguilado e ribavirina ⁽¹²³⁾. Um pequeno número de estudos mostrou o impacto da suplementação com vitamina D em resultado do tratamento de HCV-positivos. Um estudo retrospectivo de pacientes na Itália, que foram tratados com interferon e ribavirina para HCV recorrente pós-transplante descobriram que o tratamento concomitante com a vitamina D (para a doença óssea) resultou em taxas de RVS significativamente mais elevadas ⁽¹²⁴⁾. Além disso, ensaios clínicos randomizados avaliaram os efeitos da vitamina D3 (2000IU/dia) em conjunto com interferon convencional e ribavirina e demonstraram que a suplementação de vitamina D aumenta significativamente as taxas de RVS de pacientes infectados com HCV genótipo 1 ^(125,126).

Alguns autores recomendam a avaliação do status da vitamina D em todos os pacientes com doença hepática crônica e, se houver deficiência (<50nmol/L ou 20ng/mL), a suplementação com 1000-4000 UI / dia de vitamina D3 é recomendada ⁽⁸⁹⁾.

1.5.2 Vitamina D e Carcinoma Hepatocelular

Níveis mais elevados de vitamina D e cálcio podem proteger contra o câncer de cólon, e possivelmente contra outros tipos de câncer, incluindo o HCC ^(103,106).

A 1,25(OH)2D3 exerce efeitos anti-proliferativos, de pro-diferenciação e apoptose sobre muitas células cancerosas através da sua ligação ao VDR ⁽¹²⁷⁻¹²⁹⁾.

Foi observado que a 1,25(OH)2D3 pode inibir a proliferação das células endoteliais e, portanto, inibe a angiogênese ^(130,131), sugerindo que ela possa ter a capacidade de evitar o HCC através da inibição da formação de vasos sanguíneos ⁽¹³²⁻¹³⁴⁾. O efeito anti-proliferativo de 1,25(OH)2D3 no HCC é atribuído à parada do ciclo celular na fase G0/G1, levando a um aumento da fração de células na fase G0/G1 e diminuição da fração de células em fase S ⁽¹³⁵⁾.

Pourgholami et al. relataram que a 1,25(OH)2D3 pode inibir o crescimento das linhagem celulares de HCC ⁽¹³⁶⁾.

Um estudo investigou a potencial associação das citocinas IL-6, IL-17 e vitamina D, com a progressão da doença hepática em portadores crônicos do HCV

para determinar a utilidade como marcadores de prognóstico para o desenvolvimento de HCC. Os pacientes foram divididos em grupos de acordo com o grau de lesão hepática, ou seja, doentes com fibrose sem cirrose, com cirrose hepática, ou com HCC. O aumento dos níveis de IL-6 e IL-17 foi associado com a evolução para cirrose e, em seguida, para o HCC. A associação das duas citocinas com a progressão da doença hepática induzida pelo HCV foi ainda confirmada por correlações positivas entre a carga viral do HCV, IL-6 (0,85 p <0,05) e IL-17 (0,951, p <0,05), sendo considerado um biomarcador promissor para o prognóstico de HCC. Este estudo sugere a necessidade da utilização da IL-6, da IL-17, bem como da vitamina D para triagem de pacientes com cirrose por HCV, permitindo o uso de medidas que retardem o desenvolvimento de HCC ⁽¹³⁷⁾.

Dois análogos de vitamina D, EB 1089 e CB 1093, demonstraram possuir um efeito inibidor ao surgimento de HCC “in vitro” ⁽¹³⁸⁾. A indução de apoptose também foi encontrada em células de HCC quando expostas a EB 1089 ⁽¹³⁹⁾ indicando um novo mecanismo pelo qual os análogos da vitamina D poderiam inibir o crescimento celular de HCC. Outro análogo da vitamina D, 19-nor-2 α -(3-hidroxipropil)-1,25(OH)₂D (ou MART-10), possui cerca de 1000 vezes mais atividade do que 1,25(OH)₂D “in vitro” ^(128,140).

Dados sugerem que o MART-10 é um candidato promissor a ser mais estudado como um novo esquema terapêutico adjuvante contra o HCC. Além da utilização de análogos de vitamina D, verificou-se que, quando a 1,25(OH)₂D foi combinada com o óleo de peixe, o efeito anti-proliferativo de HCC foi aprimorado ⁽¹²⁹⁾.

2 JUSTIFICATIVA

Pacientes portadores de doenças hepáticas crônicas virais podem evoluir para cirrose e HCC, mesmo após o tratamento com antivirais. Considera-se que há uma necessidade de intervenções não invasivas que possam minimizar a evolução da doença em portadores de HCV e retardar a progressão da fibrose hepática. Desta forma são necessários estudos em nosso meio que avaliem o real papel da cafeína e da vitamina D na doença hepática crônica pelo HCV.

3 OBJETIVOS

- Verificar a ocorrência de associação do consumo da cafeína com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.
- Verificar a ocorrência de associação dos níveis séricos de vitamina D com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chen SL, Morgan RT. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci.* 2006; 3: 47-52.
2. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver. Int.* 2009; 29 Suppl 1:74–81.
3. World Health Organization. Health Topics: Hepatitis [Internet]. [acesso em 2006 mai 09]. Disponível em: <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/>
4. Chung RT. Acute hepatitis C virus infection. *Clin infect dis.* 2005; 41: 14-7.
5. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J Clin Pharmacol.* 2004; 44: 20–9.
6. Coppola N, Pisapia R, Tonziello G, Masiello A, Martini S, Pisaturo M, Messina V, Sagnelli C, Macera M, Signoriello G, Sagnelli E. Improvement in the aetiological diagnosis of acute hepatitis C: a diagnostic protocol based on the anti-HCV-IgM titre and IgG Avidity Index. *J Clin Virol.* 2009; 46:222–9.
7. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Aids, DST e Hepatites Virais. Boletim epidemiológico – Hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. 35 p.
8. Koretz RL, Abbey H, Coleman E, Gitnick G. Non-A, non-B post-transfusion hepatitis. Looking back in the second decade. *Ann Intern Med.* 1993; 229:220-5.
9. Mattson L, Sonnenborg A, Weiland O. Outcome of acute symptomatic non-A, non-B hepatitis: a 13 year follow-up study of hepatitis C virus markers. *Liver.* 1993; 13:274-8.
10. Tremolada F, Casarin C, Alberti A, Drago C, Tagger A, Ribero ML, Realdi G. Long term follow-up of non-A, non-B post-transfusion hepatitis. *J Hepatol.* 1992; 16:273-81.

11. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C single-source out-break in Germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology*. 2000; 32:91-6.
12. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, Anania FA, Schaeffer M, Galai N, Nolt K, Nelson KE, Strathdee SA, Johnson L, Laeyendecker O, Boitnott J, Wilson LE, Vlahov D. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral and environmental factors. *JAMA*. 2000; 284:450-6.
13. Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K, Shimamatsu K, Inoue O, Hashimoto E, Lefkowitz JH, Ludwig J, Okuda K. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996; 23:1334-40.
14. Rodger AJ, Roberts S, Lanigan A, Bowden S, Brown T, Crofts N. Assessment of long-term outcomes of community-acquired hepatitis C infection in a cohort with sera stored from 1971 to 1975. *Hepatology*. 2000; 32:582-7.
15. Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med*. 1999; 340:1228-33.
16. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet*. 1997; 349:825-32.
17. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Overbeck JV, Lloyd AR, Marinos G, Kaldor JM. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infections. *Hepatology*. 2001; 34:809-16.
18. Benhamou Y, Di Martino V, Bochet M, Colombet G, Thibault V, Liou A, Katlama C, Poynard T. Factors Affecting Liver Fibrosis in Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus–Coinfected Patients: Impact of Protease Inhibitor Therapy. *Hepatology*. 2001; 34: 283-7.
19. Minci M, Mincis R. Hepatite C: Como diagnosticar e tratar. *RBM*. 2009; 67:172-8.
20. Di Bisceglie AM. Natural history of hepatitis C. Its impact on clinical management. *Hepatology*. 2000; 31:1014-8.
21. Friedman SL. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010; 7:425-36.

22. Ramadori G, Moriconi F, Malik I, Dudas J. Physiology and pathophysiology of liver inflammation, damage and repair. *J Physiol Pharmacol.* 2008; 59(suppl.1): 107-17.
23. Tiggelman Anke MBC, Boers W, Linthorst C, Brand HS, Sala M, Chamuleau Robert AFM. Interleukin-6 production by human liver (myo) fibroblasts in culture. Evidence for a regulatory role of LPS, IL-1 β and TNFa. *J Hepatol.* 1995; 23:295-306.
24. Toda K, Kumagai N, Kaneko F, Tsunematsu S, Tsuchimoto K, Saito H, Hibi T. Pentoxifylline prevents pig sérum-induced rat liver fibrosis by inhibiting interleukin-6 production. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009; 24: 860-5.
25. Gressner AM, Gao CF, Gressner OA. Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver a short survey. *World J Gastroenterol.* 2009; 15:2433-40.
26. Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med.* 2006; 10: 76-99.
27. Peng XD, Dai LL, Huang CQ, He CM, Chen LJ. Correlation between anti-fibrotic effect of baicalin and serum cytokines in rat hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2009; 15: 4720-5.
28. Thampanitchawong P, Piratvisuth T. Liver biopsy: Complications and risk factors. *World J Gastroenterol.* 1999; 5: 301-4.
29. Cobbold JF, Morin S, Taylor-Robinson SD. Transient elastography for the assessment of chronic liver disease: ready for the clinic. *World J Gastroenterol.* 2007; 13: 4791-7.
30. Torok NJ. Recent advances in the pathogenesis and diagnosis of liver fibrosis. *J Gastroenterol.* 2008; 43:315-21.
31. Zylberberg H, Rimaniol AC, Pol S, Masson A, De Groote D, Berthelot P, Bach JF, Bréchet C, Zavala F. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. *J Hepatol.* 1999; 30:185–91.

32. Itoh Y, Okanoue T, Ohnishi N, Sakamoto M, Nishioji K, Nakagawa Y, Minami M, Murakami Y, Kashima K. Serum levels of soluble tumor necrosis factor receptors and effects of interferon therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94:1332–40.
33. Knobler H, Schattner A. TNF- α , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *QJM*. 2005; 98:1–6.
34. Kerr WC, Fillmore KM, Marvy P. Beverage-specific alcohol consumption and cirrhosis mortality in a group of English-speaking beer-drinking countries. 2000; 95:339-46.
35. Yoon YH, Yi H. Relatório de vigilância nº93: mortalidade por cirrose hepática nos Estados Unidos, 1970-2009. Instituto Nacional de Abuso de Álcool e Alcoolismo. 2012 [Internet]. [acesso em 2013 ago 26]. Disponível em: <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Surveillance93/Cirr09.htm>>
36. DATASUS - Base de Dados do Sistema Único de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2009 [Internet]. [acesso em 2011 set 16]. Disponível em: www.datasus.gov.br.
37. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, Everson GT, Lindsay KL, Lee WM, Bonkovsky HL, Dienstag JL, Ghany MG, Morishima C, Goodman ZD and HALT-C Trial Group. Incidence of Hepatocellular Carcinoma and Associated Risk Factors in Hepatitis C-Related Advanced Liver Disease. *Gastroenterology*. 2009; 136:138-48.
38. Skagen C, Lucey M, Said A. Liver transplantation: an. 2009. *Curr Opin Gastroenterol* 25:202-8.
39. Minatti E. Cafeína: a droga predileta. *Rev Eletr Depart Quím*. [Internet]. [acesso em 2012 set 19]. Disponível em: <http://cassioquimica.com.br/organica/cafeina.php>.
40. Tfouni SAV, Camargo MCR, Vitorino SHP, Menegário TF, Toledo MCF. Contribuição do guaraná em pó (*Paullinia cupana*) como fonte de cafeína na dieta. *Rev Nutr*. 2007; 20: 63-8.
41. Paluska SA. Caffeine and exercise. *Curr Sports Med Rep*. 2003; 2:213-9.

42. Camargo MCR, Toledo MCF. Teor de cafeína em cafés brasileiros. *Ciênc Tecnol Aliment*. 1998; 18: 421-4.
43. De Maria CAB, Moreira RFA. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Quím Nova*. 2007; 30: 586-92.
44. Associação Brasileira da Indústria de Café – ABIC. Indicadores da indústria de café no Brasil – 2012 [Internet]. [acesso em 2012 ago 28]. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=1910&sid=61&tpl=printerview#cons2012.1>
45. James JE. Critical review of dietary caffeine and blood pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosom Med*. 2004; 66: 63-71.
46. Smith A. Effects of caffeine on human behavior. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40: 1243-55.
47. Strain EC, Griffiths RR. Caffeine related disorders. *In*: Sadock, B.J.; Sadock, V.A. Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. Baltimore, Lippincott, 7th. 2000. p. 982-90.
48. La Vecchia C. Coffee, liver enzymes, cirrhosis and liver cancer. *J Hepatol*. 2005; 42:444-6.
49. Ashoor MJ, Seperich GJ, Woodow CM, Welty J. High performance liquid chromatographic determinations of caffeine in decaffeinated coffee, tea, and beverages products. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Arlington. 1983; 66: 606-9.
50. Blauch JL, Tarka SM. HPLC determination of caffeine and theobromine in coffee, tea, and hot cocoa mixes. *Journal of Food Science*, Chicago. 1983; 48: 745-50.
51. Duplatre A, Tisse C, Estienne J. Contribution au dosage de la caféine par chromatographie en phase liquide. *Analusis*, Paris. 1981; 9: 404-5.
52. Madison BL, Kozarek WJ, Damo CP. Highpressure liquid chromatography of caffeine in coffee. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Arlington. 1976; 59:1258-61.

53. Smyly DS, Woodward BB, Conrad EC. Determination of saccharin, sodium benzoate, and caffeine in beverages by reverse phase high-pressure liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Arlington. 1976; 59: 14-9.
54. Terada H, Sakabe Y. High-performance liquid chromatographic determination of theobromine, theophylline and caffeine in food products. *Chromatography*, New York. 1984; 16: 616-22.
55. Timbie DJ, Sechrist L, Keeney PG. Application of high-pressure liquid chromatography to the study of variables affecting the theobromine and caffeine concentrations in cocoa beans. *Journal of Food Science*, Chicago. 1978; 43: 560-5.
56. Trugo LC, Macrae R, Dick J. Determination of purine alkaloids and trigonelline in instant coffee and other beverages using high performance liquid chromatography. *Journal of Food Science of Food and Agriculture*, Oxford. 1983; 34:300-6.
57. Vergnes MF, Alary J. Dosage des xanthiques naturels par CLHP- Comparaison des methodes et applications. *Talanta*, London. 1986; 33: 997 – 1000.
58. Woodward BB, Heffelfinger GP, Ruggles DI. High-pressure liquid chromatographic determination of saccharin, sodium benzoate, and caffeine in soda beverages: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Arlington. 1979; 62: 1011-9.
59. Huxley R, Lee CM, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, Grobbee DE, Batty D, Woodward M. Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2009; 169:2053-63.
60. Sääksjäkvi K, Knekt P, Rissanen H, Laaksonen MA, Reunanen A, Männistö S. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's diseases. *Eur J Clin Nutr*. 2008; 62:908-15.
61. Modi AA, Feld JJ, Park Y, Kleiner DE, Everhart JE, Liang TJ, Hoofnagle JH. Increased Caffeine Consumption Is Associated with Reduced Hepatic Fibrosis. *Hepatology*. 2010; 51:201-9.

62. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008; 134:1655-69.
63. Andersen LF, Jacobs DR Jr, Carlsen MH, Blomhoff R. Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83:1039-46.
64. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Li TY, Rodriguez-Artalejo F, Hu FB. The relationship of coffee consumption with mortality. *Ann Intern Med*. 2008; 148:904-14.
65. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84:888-93.
66. Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoschoou C, Stefanadis C. Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy persons: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80: 862-7.
67. Cavin C, Holzhaeuser D, Scharf G, Constable A, Huber WW, Schilter B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40:1155-63.
68. Shapiro H, Bruck R. Coffee and tea consumption and chronic liver disease. *Gastroenterology*. 2006; 130:1931-2.
69. Honjo S, Kono S, Coleman MP, Shinchi K, Sakurai Y, Todoroki I, Umeda T, Wakabayashi K, Imanishi K, Nishikawa H, Ogawa S, Katsurada M, Nakagawa K, Yoshizawa N. Coffee consumption and serum aminotransferases in middle-aged Japanese men. *J Clin Epidemiol*. 2001; 54:823-9.
70. Nakanishi N, Nakamura K, Nakajima K, Suzuki K, Tatara K. Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyltransferase: a study of middle-aged Japanese men. *Eur J Epidemiol*. 2000; 16:419-23.
71. Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology*. 2005; 128:24-32.

72. Freedman ND, Everhart JE, Lindsay KL, Ghany MG, Curto TM, Shiffman ML, Lee WM, Lok AS, Di Bisceglie AM, Bonkovsky HL, Hoefs JC, Dienstag JL, Morishima C, Abnet CC, Sinha R and the HALT-C Trial Group. Coffee Intake Is Associated with Lower Rates of Liver Disease Progression in Chronic Hepatitis C. *Hepatology*. 2009; 50:1360-9.
73. Lai GY, Weinstein SJ, Albanes D, Taylor PR, McGlynn KA, Virtamo J, Sinha R, Freedman ND. The association of coffee intake with liver cancer incidence and chronic liver disease mortality in male smokers. *British Journal of Cancer*. 2013; 109:1344-51.
74. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007; 132:2557–76.
75. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, Everson GT, Lindsay KL, Lee WM, Bonkovsky HL, Dienstag JL, Ghany MG, Morishima C, Goodman ZD and HALT-C Trial Group. Incidence of Hepatocellular Carcinoma and Associated Risk Factors in Hepatitis C-Related Advanced Liver Disease. *Gastroenterology*. 2009; 136:138-48.
76. Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology*. 2004; 127:S5–S16.
77. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004; 127:S35–S50.
78. Kuper H, Tzonou A, Kaklamani E, Hsieh CC, Lagiou P, Adami HO, Trichopoulos D, Stuver SO. Tobacco smoking, alcohol consumption and their interaction in the causation of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 2000; 85:498-502.
79. Bravi F, Bosetti C, Tavani A, Bagnardi V, Gallus S, Negri E, Franceschi S, Carlo La Vecchia C. Coffee Drinking and Hepatocellular Carcinoma Risk: A Meta-Analysis. *Hepatology*. 2007; 46:430-5.
80. Shimazu T, Tsubono Y, Kuriyama S, Ohmori K, Koizumi Y, Nishino Y, Shibuya D, Tsuji I. Coffee consumption and the risk of primary liver cancer: pooled analysis of two prospective studies in Japan. *Int J Cancer*. 2005; 116:150-4.

81. Inoue M, Yoshimi I, Sobue T, Tsugane S. Influence of coffee drinking on subsequent risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study in Japan. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97: 293–300.
82. Gasbarrini G, Corazza GR. Intestinal malabsorption and related clinical syndromes. *Ann Ital Med Int* 7.1993; 185-8.
83. Levenson DL, Bockman RS. A review of calcium preparations. *Nutr Rev.* 1994; 52: 221-32.
84. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008; 29:726-76.
85. Heaney RP, Armas LAG, Shary JR, Bell NH, Binkley N, Hollis BW. 25-hydroxylation of vitamin D3: relation to circulating vitamin D3 under various input conditions. *Am J Clin Nut.* 2008; 87:1738-42.
86. Kimball S, Fuleihan Gel-H, Vieth R. Vitamin D: a growing perspective. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2008; 45:339-414.
87. James WP. 22nd Marabou Symposium: the changing faces of vitamin D. *Nut Rev.* 2008; 66:286-90.
88. Peterlick M, Cross HS. Vitamin D and calcium deficits predispose for multiple chronic diseases. *Eur J Clin Invest.* 2005; 35:290-304.
89. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: The importance of vitamin D status in chronic liver disease. *Journal of Hepatology.* 2012; 57:897-909.
90. Mahan LK, Escott- Stump S. Krause – Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2010. 74- 8.
91. Holick MF. Vitamin D: a millenium perspective. *J. Cell. Biochem.* 2003; 88:296–307.
92. Grant WB, Holick MF. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev.* 2005; 10:94-111.

93. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LMQ, Vieira JGH, Kunii I, Hayashi LF, Corrêa MP, Lazaretti-Castro M. Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of São Paulo (23 o 34'S), Brazil. *Osteoporos Int*. 2005; 16:1649-54.
94. Genaro PS, Pereira GAP, Pinheiro MM, Szejnfeld VL, Martini LA. Relationship between nutrient intake and vitamin D status in osteoporotic women. *Int J Vitam Nutr Res*. 2007; 77:376-81.
95. Peters BSE, Santos LC, Fisberg M, Wood RJ, Martini LA. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents. *Ann Nutr Metab*. 2009; 54:15-21.
96. Maeda SS, Kuni IS, Hayashi L, Lazaretti-Castro M. The effects of sun exposure on 25-hydroxyvitamin D concentrations in young healthy subjects living in the city of São Paulo, Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2007; 40:1653-9.
97. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 513-20.
98. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci*. 2010; 55: 2624-8.
99. Rode A, Furlanos S, Nicoll A. Oral vitamin D replacement is effective in chronic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol*. 2010; 34: 618–20.
100. Malham M, Jørgensen SP, Ott P, Agnholt J, Vilstrup H, Borre M, Dahlerup JF. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than Aetiology. *World J Gastroenterol*. 2011; 17: 922–5.
101. Masuda S, Okano T, Osawa K, Shinjo M, Suematsu T, Kobayashi T. Concentrations of vitamin D-binding protein and vitamin D metabolites in plasma of patients with liver cirrhosis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1989; 35: 225–34.
102. Schiødt FV. Gc-globulin in liver disease. *Dan Med Bull*. 2008; 55:131–46.

103. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. Dietary reference intakes for Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington (DC): National Academies Press (US) [abstract]. 2011.
104. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96:1911–30.
105. Growdon AS, Camargo CA, Clark S, Hannon M, Mansbach JM. Serum 25-hydroxyvitamin D levels among Boston trainee doctors in winter. *Nutrients*. 2012; 4:197–207.
106. Gutierrez JA, Parikh N, Branch AD. Classical and emerging roles of vitamin D in hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis*. 2011; 31:387–98.
107. Carey EJ, Balan V, Kremers WK, Hay JE. Osteopenia and osteoporosis in patients with end-stage liver disease caused by hepatitis C and alcoholic liver disease: not just a cholestatic problem. *Liver Transpl*. 2003; 9:1166–73.
108. Collin F, Duval X, Le Moing V, Piroth L, Al Kaied F, Massip P, Villes V, Chêne G, Raffi F. Ten-year incidence and risk factors of bone fractures in a cohort of treated HIV1-infected adults. *AIDS*. 2009; 23:1021–4.
109. Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Hosaka T, Kawamura Y, Yatsuji H, Hirakawa M, Ikeda K, Hsieh SD, Oomoto Y, Amakawa K, Kato H, Kazawa T, Tsuji H, Kobayashi T, Kumada H. Virus clearance reduces bone fracture in postmenopausal women with osteoporosis and chronic liver disease caused by hepatitis C virus. *J Med Virol*. 2010; 82:390–5.
110. Nanda KS, Ryan EJ, Murray BF, Brady JJ, McKenna MJ, Nolan N, O'Farrelly C, Hegarty JE. Effect of chronic hepatitis C virus infection on bone disease in postmenopausal women. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009; 7:894–9.
111. Cholongitas E, Theocharidou E, Goulis J, Tsochatzis E, Akriviadis E, Burroughs AK. Review article: the extra-skeletal effects of vitamin D in chronic hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 35:634–46.

112. Clark PJ, Thompson AJ, Vock DM, Kratz LE, Tolun AA, Muir AJ, McHutchison JG, Subramanian M, Millington DM, Kelley RI, Patel K. Hepatitis C virus selectively perturbs the distal cholesterol synthesis pathway in a genotype-specific manner. *Hepatology*. 2012; 56:49–56.
113. Veldman C, Cantorna M, DeLuca H. Expression of 1, 25 dihydroxyvitamin D3 receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys*. 2000; 374:334-8.
114. Cigolini M, Iagulli MP, Miconi V, Galiotto M, Lombardi S, Targher G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2006; 29:722-4.
115. Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(Suppl):1717S–1720S.
116. Petta S, Cammà C, Di Marco V, Alessi N, Cabibi D, Caldarella R, Licata A, Massenti F, Tarantino G, Marchesini G, Craxì A. Insulin resistance and diabetes increase fibrosis in the liver of patients with genotype 1 HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2008; 103:1136-44.
117. Petta S, Cammà C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, Cabibi D, Licata G, Porcasi R, Marchesini G, Craxì A. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2010; 51:1158–67.
118. Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, von Wagner M, Hassler A, Vermehren J, Herrmann E, Badenhop K, Zeuzem S, Sarrazin C. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy. *J Hepatol*. 2011; 54:887–93.
119. Terrier B, Carrat F, Geri G, Pol S, Piroth L, Halfon P, Poynard T, Souberbielle JC, Cacoub P. Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV–HCV co-infected patients with chronic hepatitis. *J Hepatol*. 2011; 55:756–61.
120. Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, Koren R, Erman A, Tur-Kaspa R, Zemel R. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology*. 2011; 54:1570–9.

121. Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, Tasaka-Fujita M, Murayama A, Masaki T, Wakita T, Imawari M. 25-Hydroxyvitamin D₃ suppresses hepatitis C virus production. *Hepatology*. 2012; 56: 1231-9.
122. Yano M, Ikeda M, Abe K, Dansako H, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Kato N. Comprehensive analysis of the effects of ordinary nutrients on hepatitis C virus RNA replication in cell culture. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51:2016–27.
123. Rahman AH, Branch AD. A vitamina D para os seus pacientes com hepatite C crônica? *Journal of Hepatology*. 2013; 58:184–9.
124. Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchovsky J, Zeina A-R, Assy N. Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naïve patients. *World J Gastroenterol*. 2011; 17:5184–90.
125. Nimer A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2–3 naïve patients. *World J Gastroenterol*. 2012; 18:800–5.
126. Urashima M, Segawa T, Okazaki M, Kurihara M, Wada Y, Ida H. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91:1255–60.
127. Chiang KC, Chen TC. Vitamin D for the prevention and treatment of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2009; 15: 3349–54.
128. Flanagan JN, Zheng S, Chiang KC, Kittaka A, Sakaki T, Nakabayashi S, Zhao X, Spanjaard RA, Persons KS, Mathieu JS, Holick MF, Chen TC. Evaluation of 19-nor-2alpha-(3-hydroxypropyl)-1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ as a therapeutic agent for androgen-dependent prostate cancer. *Anticancer Res*. 2009; 29: 3547–53.
129. Chiang KC, Persons KS, Istfan NW, Holick MF, Chen TC. Fish oil enhances the antiproliferative effect of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ on liver cancer cells. *Anticancer Res*. 2009; 29: 3591–6.
130. Chung I, Wong MK, Flynn G, Yu WD, Johnson CS, Trump DL. Differential antiproliferative effects of calcitriol on tumor-derived and matrigel-derived endothelial cells. *Cancer Res*. 2006; 66: 8565–73.

131. Iseki K, Tatsuta M, Uehara H, Iishi H, Yano H, Sakai N, Ishiguro S. Inhibition of angiogenesis as a mechanism for inhibition by 1 α -hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ of colon carcinogenesis induced by azoxymethane in Wistar rats. *Int. J. Cancer*. 1999; 81:730–3.
132. Ng IO, Poon RT, Lee JM, Fan ST, Ng M, Tso WK. Microvessel density, vascular endothelial growth factor and its receptors Flt-1 and Flk-1/KDR in hepatocellular carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001; 116: 838–45.
133. Jeng KS, Sheen IS, Wang YC, Gu SL, Chu CM, Shih SC, Wang PC, Chang WH, Wang HY. Prognostic significance of preoperative circulating vascular endothelial growth factor messenger RNA expression in resectable hepatocellular carcinoma: a prospective study. *World J. Gastroenterol.* 2004;10:643–8.
134. Poon RT, Lau C, Pang R, Ng KK, Yuen J, Fan ST. High serum vascular endothelial growth factor levels predict poor prognosis after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: importance of tumor biomarker in ablative therapies. *Ann. Surg. Oncol.* 2007; 14: 1835–45.
135. Caputo A, Pourgholami MH, Akhter J, Morris DL. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) induced cell cycle arrest in the human primary liver cancer cell line HepG2. *Hepatol. Res.* 2003; 26: 34–9.
136. Pourgholami MH, Akhter J, Lu Y, Morris DL. In vitro and in vivo inhibition of liver cancer cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Cancer Lett.* 2000; 151: 97–102.
137. Hammad LN, Abdelraouf SM, Hassanein FS, Mohamed WA, Schaaln MF. Circulating IL-6, IL-17 and vitamin D in hepatocellular carcinoma: Potential biomarkers for a more favorable prognosis? [abstract]. *Hepatology*. 2013.
138. Akhter J, Lu Y, Finlay I, Pourgholami MH, Morris DL. 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D₃ and its analogues, EB1089 and CB1093, profoundly inhibit the in vitro proliferation of the human hepatoblastoma cell line HepG2. *ANZ J. Surg.* 2001; 71: 414–7.
139. Luo WJ, Chen JY, Xu W, Zhao F, Chen YM, Shen XF. Effects of vitamin D analogue EB1089 on proliferation and apoptosis of hepatic carcinoma cells. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2004; 38: 415–8.

140. Chen TC, Persons KS, Zheng S, Mathieu J, Holick MF, Lee YF, Bao B, Arai MA, Kittaka A. Evaluation of C-2-substituted 19-nor-1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ analogs as therapeutic agents for prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2007; 103: 717–20.

5 ARTIGO CIENTÍFICO

ASSOCIAÇÃO DO CONSUMO DA CAFEÍNA COM O GRAU DE FIBROSE HEPÁTICA EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

Kalinca da Silva Oliveira¹, Cristiane Valle Tovo²

¹Mestranda do PPG: Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), ²Professora Adjunta-Doutora de Gastroenterologia da UFCSPA

Curso de PG-Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Formatado conforme as normas de publicação da Revista Arquivos de Gastroenterologia

Endereço para correspondência: Kalinca da Silva Oliveira

Múcio Teixeira, 156, ap 102. Bairro Menino Deus. Porto Alegre-RS

CEP 90050- 360

Telefone: (51) 9109.4629

e.mail: nutricionista@kalincaoliveira.com.br

RESUMO

Introdução - O consumo de cafeína tem sido relacionado à diminuição dos níveis de enzimas hepáticas e menor risco de fibrose, em pacientes portadores do vírus da hepatite C (HCV). **Objetivo** - O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação do consumo da cafeína com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica. **Métodos** - Estudo transversal, constituído por pacientes com infecção crônica pelo HCV atendidos no ambulatório de Gastroenterologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre- RS. Os pacientes foram entrevistados e avaliados individualmente quanto ao consumo de cafeína e antropometria. A biópsia hepática foi realizada em um período de no máximo 36 meses antes da inclusão no estudo. **Resultados** – Foram avaliados 113 pacientes, sendo 67 (59,3%) do sexo feminino, 48 (42,5%) apresentavam idade entre 52 e 62 anos, e 101 (89,4%) eram de cor branca. O consumo médio de cafeína foi de $251,41 \pm 232,32$ mg/dia, sendo que 70 (62%) pacientes consumiam até 250 mg/dia de cafeína. Não houve associação entre o consumo de cafeína e a atividade inflamatória na biópsia hepática. Por outro lado, quando avaliada a associação entre o consumo de cafeína e fibrose hepática observou-se relação inversa. **Conclusões** – o maior consumo de cafeína apresentou associação com menor grau de fibrose hepática em pacientes infectados pelo HCV. Não houve associação entre o consumo de cafeína e a atividade inflamatória.

PALAVRAS-CHAVE: Cafeína, Hepatite C crônica, Fibrose Hepática.

ABSTRACT

Introduction - Caffeine consumption has been linked to decrease levels of liver enzymes and lower risk of fibrosis in patients with hepatitis C virus (HCV). **Purpose** - This study aims to evaluate the association between caffeine consumption with inflammatory activity and degree of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. **Methods** - A cross-sectional study consisting of patients with chronic HCV infection treated in outpatient Gastroenterology Unit of Complex Hospital Santa Casa de Porto Alegre-RS. Patients were interviewed and assessed individually regarding the consumption of caffeine and performed anthropometric data. Liver biopsy was performed in a maximum period of 36 months before inclusion in the study. **Results** - There were 113 patients, 67 (59.3%) females, 48 (42.5%) were aged between 52 and 62 years, and 101 (89.4%) were white. The average caffeine consumption was 251.41 ± 232.32 mg/day, and 70 (62%) patients consumed up to 250 mg / day of caffeine. There was no association between caffeine consumption and inflammatory activity on liver biopsy. On the other hand, when evaluating the association between caffeine consumption and liver fibrosis was observed inverse relationship. **Conclusions** - The major consumption of caffeine was associated with minor liver fibrosis. There was no association between caffeine consumption and inflammatory activity.

KEYWORDS: Caffeine, Chronic Hepatitis C, Liver Fibrosis.

INTRODUÇÃO

A cafeína é um alcaloide farmacologicamente ativo pertencente ao grupo das metilxantinas ⁽³⁴⁾. É uma substância lipossolúvel absorvida de modo rápido e eficiente através do trato gastrointestinal, com 100% de biodisponibilidade ⁽²⁶⁾. Está presente em diversos tipos de alimentos, como chocolates, refrigerantes, chás, bebidas energéticas e no café, sendo este último a principal fonte desta substância ^(4,9). É considerada a substância psicoativa mais usada no mundo e cerca de 80% da população faz uso diário ⁽⁷⁾.

Alguns autores demonstraram associação inversa entre a ingestão de café e mortalidade relacionada a diversas doenças inflamatórias ^(1,12), bem como marcadores de inflamação ⁽²⁰⁾, embora nem todos os estudos sejam consistentes ⁽²¹⁾. O consumo de café tem sido associado também com a redução do risco de ocorrência de várias doenças crônicas, incluindo a diabetes mellitus tipo 2, doença de Parkinson e doenças hepáticas ^(16,22,30).

Componentes do café, incluindo a cafeína, diterpenos ⁽³³⁾, e polifenóis ⁽²⁹⁾, têm sido relacionados a modificações favoráveis na atividade das enzimas hepáticas, tais como α -glutamyltransferase e aminotransferases ^(6,11,19,32). Além disso tem sido atribuída uma ação lipolítica à cafeína, contribuindo para a redução da esteatose hepática em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) ⁽¹⁸⁾. Recentemente, o consumo de cafeína tem sido relacionado à diminuição dos níveis de enzimas hepáticas e menor risco de fibrose, em pacientes portadores do vírus da hepatite C (HCV) ^(15,22,25,31).

O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação do consumo da cafeína com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica em um hospital público de nível terciário do sul do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal, em que a amostra por conveniência foi constituída de pacientes portadores de hepatite C crônica, com ou sem cirrose, no período de julho de 2012 a maio de 2013, atendidos no ambulatório de Gastroenterologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre- RS.

Os pacientes foram incluídos de forma consecutiva, sendo considerados os maiores de 18 anos de idade e portadores de infecção crônica pelo vírus da hepatite C, com diagnóstico definido pelo resultado positivo do exame sorológico anti-HCV e confirmação da viremia através da verificação do RNA-HCV. Todos os pacientes realizaram a biópsia hepática em um período de no máximo 36 meses antes da inclusão no estudo.

Foram excluídos os pacientes com uso abusivo de álcool (80g/dia) ⁽²⁴⁾ presente ou passado, e os co-infectados pelos vírus da hepatite B e da imunodeficiência humana (HIV).

Os pacientes foram entrevistados e avaliados individualmente através de questionário referente ao consumo de cafeína (Anexo 1). Foi avaliada a quantidade diária ingerida de chocolate (barra grande, média ou pequena), achocolatado (quantidade em colheres), chimarrão (têrmicas de 1 litro), café e chá preto (xícaras de 100 e 200ml), refrigerantes e bebidas energéticas (copos 200ml). Foi considerado o consumo habitual de cafeína nos últimos 5 anos que antecederam a realização da biópsia hepática. O cálculo de cafeína ingerida foi realizado através do somatório do consumo diário dos pacientes, conforme descrito por Andrade JB e cols ⁽²⁾ e Fredholm BB e cols ⁽¹⁰⁾ (Anexo 2).

A idade dos pacientes foi analisada de acordo com percentis (p25/p50/p75). Foram analisados dados antropométricos tais como: peso, altura e índice de massa

corporal (IMC) calculado através da fórmula peso/altura² ⁽³⁷⁾. Os pacientes não se encontravam em acompanhamento nutricional.

Os anticorpos anti-HCV foram detectados através do teste ELISA III, de acordo com as instruções de fabricação (Abbott AxSYM System, N.Chicago/IL, EUA). Posteriormente, foi realizado *imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA)*, seguido de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real.

A biópsia hepática foi realizada como parte do protocolo para avaliação da indicação de tratamento do HCV, utilizando a classificação Metavir ⁽³⁾ para estadiamento. A presença de cirrose foi avaliada por métodos clínico-laboratoriais, exames de imagem e histopatológico, quando necessário.

Aspectos éticos

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital Santa Casa de Porto Alegre (Anexo 3) e apresenta risco mínimo para os pacientes. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 4) para participação no estudo.

Análise estatística

O primeiro passo da análise consistiu na verificação da distribuição e recodificação das variáveis. Para análise descritiva dos dados foram utilizados médias, desvios padrão, distribuição de frequências e percentuais. Análise bivariada para variável quantitativa (cálculo da média e comparação das médias ou Teste T) e variável qualitativa (teste do Qui-quadrado). Para comparar o consumo de cafeína entre o sexo e a cor da pele, o teste de *Mann-Whitney* foi utilizado.

A associação entre as variáveis contínuas e ordinais com o consumo de cafeína, foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman (r_s). No controle de

fatores de confusão para explicar o grau de fibrose hepática, a análise de regressão linear múltipla foi aplicado.

Para este estudo, foi adotado como estaticamente significativo $p < 0,05$. O processamento e tratamento dos dados foi realizado no programa SPSS, versão 18.0.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 113 pacientes portadores de HCV, sendo 67 (59,3%) do sexo feminino, 48 (42,5%) com idade entre 52 e 62 anos, e 101 (89,4%) eram de cor branca (Tabela 1).

O consumo médio de cafeína foi de $251,41 \pm 232,32$ mg/dia, sendo que 70 (62%) pacientes consumiam até 250 mg/dia de cafeína. Os pacientes relataram consumo regular da cafeína e sem modificações da ingestão nos últimos 5 anos.

Houve associação inversa significativa entre o consumo de cafeína e a idade ($r_s = -0,394$; $p < 0,001$) (Figura 1). Não houve associação significativa entre IMC e consumo de cafeína ($p = 0,891$).

Em relação à atividade inflamatória na biópsia hepática, 45 (40,2%) pacientes foram classificados como A2 no escore Metavir - moderada (Tabela 2). Não houve diferença estatisticamente significativa quando avaliado o consumo de cafeína estratificado de acordo com a atividade inflamatória ($p = 0,942$).

Quanto ao grau de fibrose hepática, 39 (34,5%) pacientes apresentavam cirrose (Tabela 2). Quando avaliado o consumo de cafeína segundo os diferentes

graus de fibrose hepática observou-se que quanto maior o consumo de cafeína, menor o grau de fibrose hepática. ($p=0,01$).

Estes dados se repetiram nas análises diretas de correlação, observando-se que não houve associação entre consumo da cafeína e atividade inflamatória ($r_s=-0,072$; $p=0,451$); e houve associação com a fibrose hepática ($r_s=-0,338$; $p<0,001$) (Figura 2).

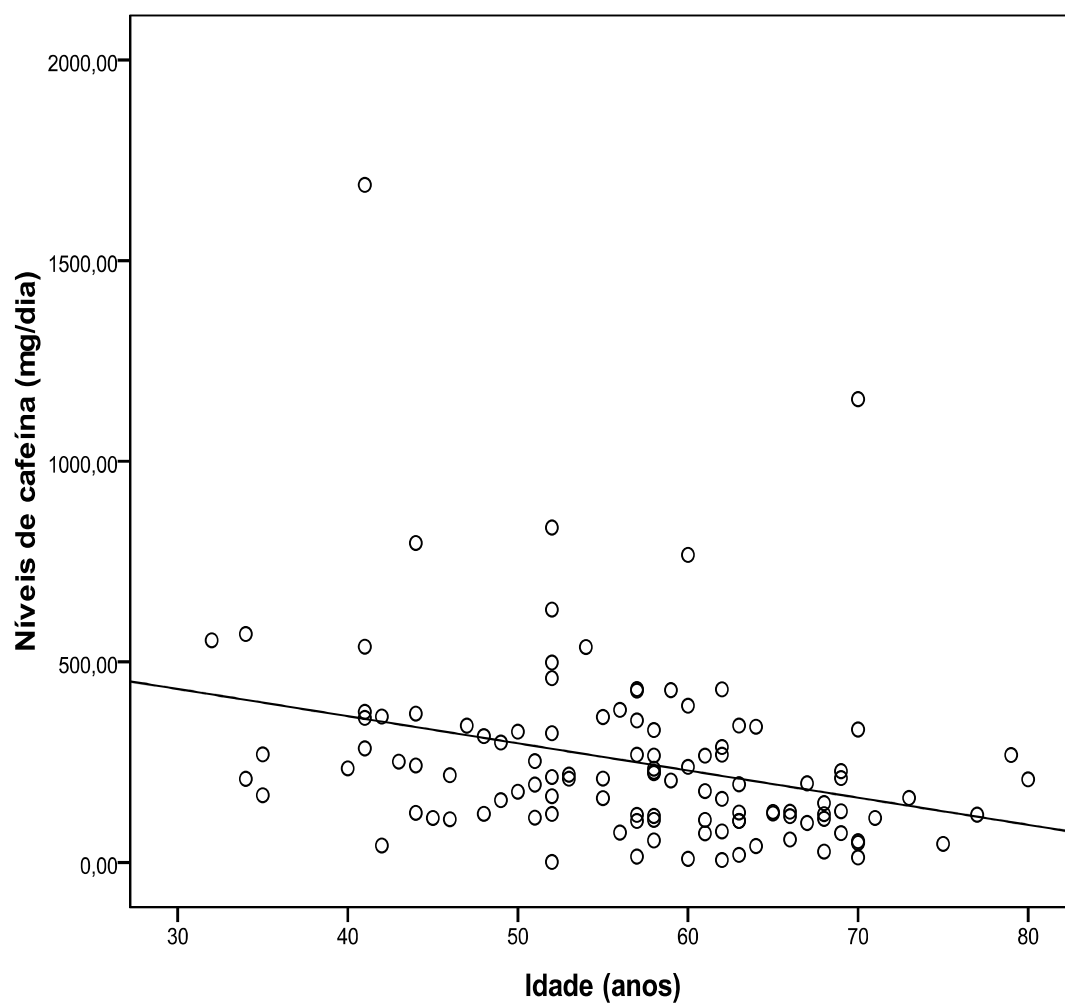
Após o ajuste pela análise de regressão linear múltipla considerando os fatores de idade, sexo, cor da pele e o consumo de cafeína para a explicação do grau de fibrose, a idade permaneceu um fator de risco associado ao grau de fibrose ($\beta=0,348$; $p<0,001$). Os níveis de cafeína foram limítrofes em relação ao grau de fibrose ($\beta=-0,153$; $p=0,106$).

Tabela 1. Caracterização da amostra de pacientes com hepatite C crônica, avaliados mediante o consumo de cafeína (N=113).

Variáveis	Total
Sexo, n (%)	
Masculino	46 (40,7)
Feminino	67 (59,3)
Idade em anos, n (%)	
≤51	31 (27,4)
52–62	48 (42,5)
63≥	34 (30,1)
Cor da pele, n (%)	
Branca	101 (89,4)
Não branca	12 (10,6)
IMC em kg/m ² , média (dp*)	26,7 (5,1)

* dp = desvio padrão

Figura 1. Correlação entre o consumo de cafeína (mg/dia) e a idade (N=113).



$P < 0,001$

$r_s = -0,394$

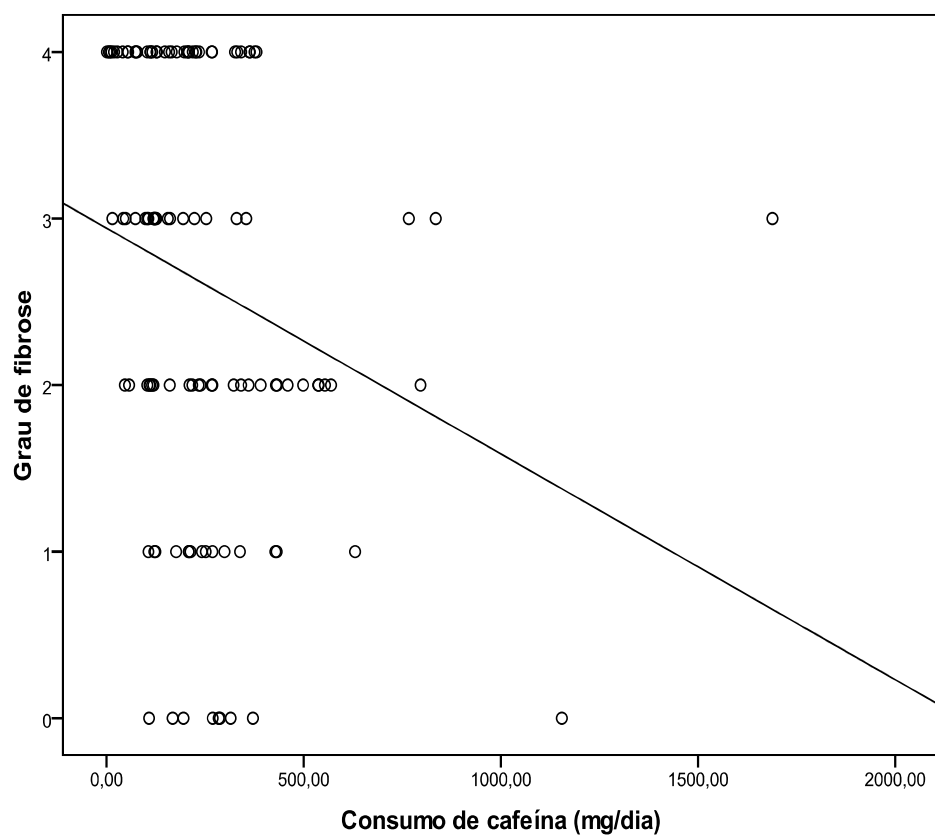
Tabela 2. Consumo de cafeína e alterações histopatológicas na biópsia hepática (N= 113).

Variáveis	Total	Consumo de cafeína (mg/dia)*		p-valor
		≤ 250	≥ 251	
Atividade inflamatória, n (%)**				0,942
0. Ausente	18 (16,1)	12 (66,7)	06 (33,3)	
1. Mínima	37 (33,0)	22 (59,5)	15 (40,5)	
2. Moderada	45 (40,2)	27 (60,0)	18 (40,0)	
3. Acentuada	12 (10,7)	08 (66,7)	04 (33,3)	
Grau de Fibrose, n (%)**				0,01
0. Ausência de fibrose	09 (8,0)	03 (33,3)	06 (66,7)	
1. Portal sem septos	15 (13,3)	08 (53,3)	07 (46,7)	
2. Portal com raros septos	27 (23,9)	12 (44,4)	15 (55,6)	
3. Portal com numerosos septos	23 (20,3)	17 (73,9)	06 (26,1)	
4. Cirrose	39 (34,5)	20 (76,9)	09 (23,1)	

*mg/dia: Miligramas dia.

** Escore Metavir

Figura 2. Correlação entre o consumo de cafeína (mg/dia) e o grau de fibrose hepática (N=113).



$P < 0,001$

$r_s = -0,338$

DISCUSSÃO

Os dados encontrados no presente estudo demonstraram uma relação inversa entre o consumo de cafeína e a fibrose hepática, mas não foi observada associação com a atividade inflamatória.

Diversos estudos na literatura têm sugerido o efeito benéfico do café entre os indivíduos portadores de doença hepática crônica ^(5,8,13,15,17,31,35), sendo observada associação inversa entre a atividade inflamatória, fibrose e consumo de cafeína ^(22,31). Até o momento, não se sabe ao certo se o café afeta a soroconversão espontânea do HCV ou a resposta à terapia do HCV entre os pacientes infectados cronicamente ⁽²⁸⁾.

Os efeitos metabólicos da cafeína responsáveis pela proteção hepática são incertos, sendo sugerido um efeito antioxidante que poderia ser benéfico ⁽¹⁵⁾.

No presente estudo, não houve associação entre a atividade inflamatória e o consumo de cafeína. Estes achados são corroborados pelo estudo de Modi et al ⁽²²⁾, onde também não foi observada associação entre a atividade inflamatória e o consumo de cafeína.

Quanto à progressão de fibrose, tem sido sugerido que o aumento na ingestão de café está relacionado a um menor risco de fibrose avançada ⁽²³⁾. Desta forma, sugere-se que o café possa ter algum mecanismo antifibrogênico que poderia impedir a progressão da doença.

Qualquer modalidade de tratamento que potencialmente possa impedir a progressão da fibrose na doença hepática crônica, especialmente quando confere poucos efeitos adversos, tem o potencial de melhorar a morbidade e mortalidade ⁽¹⁴⁾.

Neste sentido, um estudo Norueguês de base populacional demonstrou uma relação inversa entre o consumo de café e taxa de mortalidade em pacientes cirróticos ⁽³⁵⁾.

Freedman et al ⁽¹¹⁾, demonstraram em estudo prospectivo com 766 pacientes, que o maior consumo de cafeína está associado com menores graus de fibrose em pacientes com doença hepática crônica, especialmente aqueles com infecção crônica pelo HCV. Outros estudos ^(8,13) confirmaram estes resultados.

No presente estudo, os pacientes que consumiam maior quantidade de cafeína por dia apresentavam fibrose mais leve, e os que consumiam menor quantidade apresentavam fibrose mais avançada.

Freedman et al ⁽¹¹⁾ sugerem que o efeito benéfico requer o consumo de cafeína acima de um limite equivalente a cerca de duas xícaras de café por dia (≥ 222 mg de cafeína). No presente estudo, considerando o ponto de corte estabelecido, mais de um terço da amostra ingeria acima de 251 mg/dia, havendo associação entre o maior consumo de cafeína e fibrose mais leve. Além disso, observou-se associação inversa entre média de idade e o grau de fibrose hepática, sendo mais jovens aqueles com menos fibrose, provavelmente pelo menor tempo de evolução da doença.

É importante ressaltar que a progressão da fibrose depende de vários fatores, como idade acima de 40 anos na época da infecção, consumo de álcool superior a 80 g/dia e sexo masculino, dentre outros ⁽²⁷⁾. A análise destes fatores é relevante, pois o grau de fibrose poderia estar relacionado com alguns destes, e não ao consumo de cafeína. Neste estudo, observou-se que a cafeína ainda não pode ser considerada um fator estatisticamente independente para explicar o grau da fibrose.

Quanto à associação entre obesidade e fibrose, Westerterp-Plantenga et al ⁽³⁶⁾ estudaram indivíduos com sobrepeso e obesidade, onde observaram uma

associação positiva entre a ingestão de cafeína e a perda de peso. No presente estudo, o IMC foi avaliado, pois pacientes com sobrepeso poderiam apresentar maior progressão de fibrose. Entretanto, o IMC não interferiu, visto não haver diferença entre o IMC médio e o maior ou menor consumo de cafeína.

Apesar dos pacientes não terem relatado modificações nos padrões da ingestão de cafeína ao longo do tempo, estes dados podem não refletir com precisão o consumo durante o período de progressão da doença hepática, podendo este ser considerado uma limitação do estudo.

Em conclusão, o maior consumo de cafeína apresentou associação com menor grau de fibrose hepática em pacientes infectados pelo HCV. Não houve associação entre o consumo de cafeína e a atividade inflamatória.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andersen LF, Jacobs DR Jr, Carlsen MH, Blomhoff R. Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr.* Oslo, Norway. 2006;.83:1039-46.
2. Andrade JB, Pinheiro HLC, Lopes WA, Martins S, Amorim AMM, Brandão AM. Determinação de cafeína em bebidas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Química Nova.* Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas, SP, Brasil. 1995; 18: 379-81.
3. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology.* França.1996; 24:289-93.
4. Camargo MCR, Toledo MCF. Teor de cafeína em cafés brasileiros. *Ciênc Tecnol Aliment.* Campinas, SP. 1998; 18: 421-4.
5. Casiglia E, Spolaore P, Ginocchio G, Ambrosio G. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. *Eur J Epidemiol.* European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. 1993; 9: 293-7.
6. Cavin C, Holzhaeuser D, Scharf G, Constable A, Huber W, Schilter B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food Chem Toxicol.* Rockville Pike, Bethesda MD, EUA. 2002; 40:1155-63.
7. Clausson B, Granath F, Ekblom A, Lundgren S, Nordmark A, Signorello LB, Cnattingius S. Effect of caffeine exposure during pregnancy on birth weight and gestational age. *Am J Epidemiol.* 2002; 155: 429-36.
8. Corrao G, Zambon A, Bagnardi V, D'Amicis A, Klatsky A. Coffee, caffeine, and the risk of liver cirrhosis. *Ann epidemiol.* 2001; 11:458-65.
9. De Maria CAB, Moreira RFA. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Quím Nova.* 2007; 30: 586-92.

10. Fredholm BB, Battig K, Holmen J, Nehlig A, Zvartau EE: Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev.* 1999; 51:83-133.
11. Freedman ND, Everhart JE, Lindsay KL, Ghany MG, Curto TM, Shiffman ML, Lee WM, Lok AS Di Bisceglie AM, Bonkovsky HL, Hoefs JC, Dienstag JL, Morishima C, Abnet CC, Sinha R, and the HALT-C Trial Group. Coffee Intake Is Associated with Lower Rates of Liver Disease Progression in Chronic Hepatitis C. *Hepatology.* 2009; 50:1360-9.
12. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology.* 2008; 134:1655-69.
13. Gallus S, Tavani A, Negri E, La Vecchia C. Does coffee protect against liver cirrhosis? *Ann Epidemiol.* 2002; 12:202–5.
14. Gelatti U, Covolo L, Franceschini M, Pirali F, Tagger A, Ribero ML, Trevisi P, Martelli C, Nardi G, Donato F. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its aetiology: a case control study. *J Hepatol.* 2005; 42:528-34.
15. Honjo S, Kono S, Coleman MP, Shinci K, Sakurai Y, Todoroki I, Umeda T, Wakabayashi K, Imanishi K, Nishikawa H, Ogawa S, Katsurada M, Nakagawa K, Yoshizawa N. Coffee consumption and serum aminotransferases in middle-aged Japanese men. *J Clin Epidemiol.* 2001; 54:823-9.
16. Huxley R, Lee CM, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, Grobbee DE, Batty D, Woodward M. Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2009; 169:2053-63.
17. Klatsky AL, Morton C, Udaltsova N, Friedman GD. Coffee, cirrhosis, and transaminase enzymes. *Arch Intern Med.* 2006; 166:1190–5.
18. La Vecchia C. Coffee, liver enzymes, cirrhosis and liver cancer. *J Hepatol.* 2005; 42:444-6.
19. Lai GY, Weinstein SJ, Albanes D, Taylor PR, McGlynn KA, Virtamo J, Sinha R, Freedman ND. The association of coffee intake with liver cancer incidence and chronic liver disease mortality in male smokers. *British Journal of Cancer.* 2013; 109:1344-51.

20. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Li TY, Rodriguez-Artalejo F, Hu FB. The relationship of coffee consumption with mortality. *Ann Intern Med.* 2008; 148:904-14.
21. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84:888-93.
22. Modi AA, Feld JJ, Park Y, Kleiner DE, Everhart JE, Liang TJ, Hoofnagle JH. Increased Caffeine Consumption Is Associated with Reduced Hepatic Fibrosis. *Hepatology.* 2010; 51:201-9.
23. Molloy JW, Calcagno CJ, Williams CD, Jones FJ, Torres DM, Harrison SA. Association of coffee and caffeine consumption with fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and degree of hepatic fibrosis. *Hepatology.* 2012; 55:429-36.
24. Myncis M. Hepatite alcoólica. In: Mattos AA & Dantas-Correa EB. *Tratado de Hepatologia.* Ed Rubio, 2010. p. 357-69. (Cohen RV, Roll S, Schaffa TD. *Hernioplastia incisional videolaparoscópica.* Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso. 1999. p. 127-31.
25. Nakanishi N, Nakamura K, Nakajima K, Suzuki K, Tatara K. Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyltransferase: a study of middle-aged Japanese men. *Eur J Epidemiol.* 2000; 16:419-23.
26. Paluska SA. Caffeine and exercise. *Curr Sports Med Rep.* 2003; 2:213-9.
27. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic chronic hepatitis C. *Lancet.* 1997; 349:825-32.
28. Purnak T, Ozaslan E. Coffee intake and chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2009; 50:1673.
29. Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology.* 2005; 128:24-32.

30. Sääksjärvi K, Knekt P, Rissanen H, Laaksonen MA, Reunanen A, Männistö S. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's diseases. *Eur J Clin Nutr*. 2008; 62:908-15.
31. Shapiro H, Bruck R. Coffee and tea consumption and chronic liver disease. *Gastroenterology*. 2006; 130:1931-2.
32. Shimazu T, Tsubono Y, Kuriyama S, Ohmori K, Koizumi Y, Nishino Y, Shibuya D, Tsuji I. Coffee consumption and the risk of primary liver cancer: pooled analysis of two prospective studies in Japan. *Int J Cancer*. 2005; 116: 150-4.
33. Sinha RA, Farah BL, Singh BK, Siddique MM, Li Y, Wu Y, Ilkayeva OR, Gooding J, Ching J, Zhou J, Martinez L, Xie S, Bay BH, Summers SA, Newgard CB, Yen PM. Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism via autophagy-lysosomal pathway. *Hepatology*. [abstract]. 2013.
34. Tfouni SAV, Camargo MCR, Vitorino SHP, Menegário TF, Toledo MCF. Contribuição do guaraná em pó (*Paullinia cupana*) como fonte de cafeína na dieta. *Rev Nutr. São Paulo*. 2007; 20: 63-8.
35. Tverdal A, Skurtveit S. Coffee intake and mortality from liver cirrhosis. *Ann Epidemiol*. 2003; 13:419–23.
36. Westerterp-Plantenga MS, Lejeune MP, Kovacs EM. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. *ObesRes*. 2005; 13:1195–204.
37. WHO expert consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *The Lancet*. 2004; 157-63.

6 ARTIGO CIENTÍFICO

EXISTE ASSOCIAÇÃO ENTRE VITAMINA D E FIBROSE HEPÁTICA EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA?

“ASSOCIAÇÃO ENTRE VITAMINA D E FIBROSE HEPÁTICA”

Kalinca da Silva Oliveira, Cristiane Valle Tovo

Curso de PG-Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Formatado conforme as normas de publicação do Journal of Gastrointestinal Liver Disease

Endereço para correspondência: Kalinca da Silva Oliveira

Múcio Teixeira, 156, ap 102. Bairro Menino Deus. Porto Alegre-RS

CEP 90050- 360

Telefone: (51) 9109.4629

e.mail: nutricionista@kalincaoliveira.com.br

Número de palavras no texto: 1.096

Número de palavras no abstract: 173

RESUMO

Introdução - A vitamina D está sendo reconhecida por possuir propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias e antifibróticas, sendo estas atividades muito relevantes na patogênese e no tratamento de muitas causas de doença hepática crônica. **Objetivo** - O presente estudo tem por objetivo avaliar a existência de associação dos níveis séricos de vitamina D com a atividade inflamatória e com os graus de fibrose hepática em pacientes portadores de infecção crônica pelo vírus C. **Métodos** - Estudo transversal, constituído por 74 pacientes com infecção crônica pelo vírus C. Todos os pacientes realizaram a dosagem de vitamina D 25 e análise de dados antropométricos. A biópsia hepática foi realizada em um período de no máximo 36 meses antes da inclusão no estudo. **Resultados** – Dentre os 74 pacientes incluídos no estudo, 45 (60,8%) eram do sexo feminino, com média de idade $57,03 \pm 9,24$ anos e 63 (85,1%) eram de cor branca. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os níveis séricos de vitamina D e a atividade inflamatória ($p= 0,373$) e o grau de fibrose hepática ($p= 0,935$). **Conclusões** – No presente estudo, não houve associação entre vitamina D e atividade inflamatória, bem como com o grau de fibrose hepática nos pacientes com hepatite C crônica.

PALAVRAS-CHAVE: Vitamina D, Hepatite C crônica, Fibrose Hepática.

ABSTRACT

Introduction – Vitamin D is known for its immunomodulatory, anti-inflammatory and antifibrotic properties, which are quite relevant in the pathogenesis and treatment of many causes of chronic liver disease. **Objective** – This study aimed to evaluate the association between serum levels of vitamin D and inflammatory activity and degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. **Methods** – Cross-sectional study of 74 patients with chronic hepatitis C. All patients underwent vitamin D dosage and anthropometric data analysis. Liver biopsy was performed in a maximum 36-month period before inclusion in the study. **Results** – Among the 74 patients included in the study, 45 (60.8%) were women, mean age was 57.03 ± 9.24 years, and 63 (85.1%) were white. No association was observed between serum levels of vitamin D and inflammatory activity ($p= 0.373$) nor with the degree of liver fibrosis ($p= 0.935$). **Conclusions** – In this study, no associations between vitamin D and inflammatory activity, or the degree of liver fibrosis were observed in patients with chronic hepatitis C.

KEYWORDS: Vitamin D, Chronic Hepatitis C, Liver Fibrosis.

INTRODUÇÃO

Recentemente a vitamina D está sendo reconhecida por possuir propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias e antifibróticas, sendo estas atividades relevantes na patogênese e no tratamento de muitas causas de doença hepática crônica ⁽¹⁾.

O fígado exerce papel fundamental no metabolismo da vitamina D. Nos pacientes com doença hepática crônica, a ocorrência de insuficiência de vitamina D (<75 nmol/L) é quase universal, e a deficiência (<50 nmol/L) ocorre em cerca de dois terços dos indivíduos. Mesmo na ausência de cirrose, a deficiência está presente na maioria dos pacientes com doença hepática crônica. Naqueles com cirrose, a prevalência de deficiência grave (<25 nmol/L) é maior conforme a gravidade da disfunção de síntese hepática ^(2,3).

A deficiência de vitamina D ocorre independentemente da etiologia da doença hepática ^(4,5). Os níveis séricos de proteínas ligantes da vitamina D, que desempenham um papel fundamental no transporte e biodisponibilidade de vitamina D, estão moderadamente diminuídos na cirrose ^(6,7). Tem sido descrita uma relação inversamente proporcional entre os níveis séricos de vitamina D com a fibrose hepática e também com a resposta ao tratamento antiviral com interferon e ribavirina ⁽⁸⁾.

É concebível que a redução nos níveis séricos de vitamina D por si só, possa favorecer a progressão da fibrose. Diferentes modelos experimentais mostram que a vitamina D, através da interação com o receptor de vitamina D, protege contra a ocorrência de estresse oxidativo ⁽⁹⁾, reduzindo assim a atividade inflamatória e fibrogênica de células hepáticas esteladas ^(10,11).

O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação dos níveis séricos de vitamina D com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes portadores de hepatite C crônica em um hospital público de nível terciário do sul do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal, com amostra por conveniência constituída de pacientes portadores de hepatite C crônica, com ou sem cirrose, no período de julho de 2012 a maio de 2013, atendidos no ambulatório de Gastroenterologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre- RS.

Os pacientes foram incluídos de forma consecutiva, sendo considerados os maiores de 18 anos de idade e portadores de infecção crônica pelo HCV, com diagnóstico definido pelo resultado positivo do exame sorológico anti-HCV e confirmação da viremia através da verificação do RNA-HCV. Todos os pacientes realizaram a biópsia hepática em um período de no máximo 36 meses antes da inclusão no estudo.

Foram excluídos os pacientes com uso abusivo de álcool (80g/dia) ⁽¹²⁾ presente ou passado, e os co-infectados pelos vírus da hepatite B e da imunodeficiência humana (HIV).

Todos os pacientes realizaram a dosagem de vitamina D 25 pelo método de eletroquimioluminescência no aparelho Elesys da ROCHE Diagnóstica (Suíça), no Laboratório Central do Complexo Hospitalar Santa Casa.

A idade dos pacientes foi analisada de acordo com percentis (p25/p50/p75). Foram analisados dados antropométricos tais como: peso, altura e índice de massa

corporal (IMC) calculado através da fórmula peso/altura² ⁽¹³⁾. Os pacientes não se encontravam em acompanhamento nutricional.

Os anticorpos anti-HCV foram detectados através do teste ELISA III, de acordo com as instruções de fabricação (Abbott AxSYM System, N.Chicago/IL, EUA). Posteriormente, foi realizado *imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA)*, seguido de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real.

A biópsia hepática foi realizada como parte do protocolo de avaliação do paciente para avaliação da indicação de tratamento do HCV, utilizando a classificação Metavir ⁽¹⁴⁾ para estadiamento.

A presença de cirrose foi avaliada por métodos clínico-laboratoriais, exames de imagem e histopatológico, quando necessário.

Aspectos éticos

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital Santa Casa de Porto Alegre (Anexo 3) e apresenta risco mínimo para os pacientes. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 4) para participação no estudo.

Análise estatística

O programa MsExcel 2000 foi utilizado para armazenamento dos dados; o pacote estatístico SPSS 19.0 (*Statistical Package for Social Science*) foi utilizado para análise posterior dos resultados.

As variáveis quantitativas foram apresentadas em forma de média e desvio padrão. As variáveis qualitativas foram apresentadas em forma de frequência e percentual. A associação entre as variáveis contínuas e ordinais com os níveis séricos de vitamina D, foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman (r_s).

O nível de significância assumido foi de 5%.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 74 pacientes portadores de HCV, sendo 45 (60,8%) do sexo feminino, com média de idade $57,0 \pm 9,2$ anos e 63 (85,1%) eram de cor branca (Tabela I). Quando analisada a idade em percentis, foi observado que 32,4% dos pacientes encontravam-se com idade inferior a 52 anos, 47,3% com idades entre 52-64 anos, e 20,3% com idade superior a 64 anos.

Quando analisados os níveis médios séricos de vitamina D segundo a atividade inflamatória e grau de fibrose hepática, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,700$ e $p=0,468$, respectivamente) (Tabela II). Não foi observada associação entre os níveis séricos de vitamina D e a atividade inflamatória ($r_s=0,099$; $p=0,416$), ou com o grau de fibrose hepática ($r_s=-0,015$; $p=0,901$).

Tabela I – Caracterização da amostra de pacientes com Hepatite C crônica, mediante os níveis séricos de vitamina D (N=74).

Variáveis	Total
Sexo, n (%)	
Masculino	29 (39,2)
Feminino	45 (60,8)
Idade em anos, n (%)	
<52	24 (32,4)
52-64	35 (47,3)
>64	15 (20,3)
Cor da pele, n(%)	
Branca	63 (85,1)
Não branca	11 (14,9)

Tabela II – Níveis médios séricos de vitamina D (ng/ml) e alterações histopatológicas na biópsia hepática (N=74)

Variáveis	Média*	Desvio Padrão	p-valor
Atividade Inflamatória**			0,700
0. Ausente	32,6	14,9	
1. Mínima	39,0	15,4	
2. Moderada	38,1	14,3	
3. Acentuada	40,2	14,8	
			0,468
Grau de Fibrose**			
0. Ausência de fibrose	30,5	12,6	
1. Portal sem septos	37,9	13,6	
2. Portal com raros septos	42,2	14,1	
3. Portal com numerosos septos	36,6	16,2	
4. Cirrose	36,0	14,9	

*ng/ml: nanogramas por mililitros

** Escore Metavir

DISCUSSÃO

No presente estudo não foi encontrada associação entre os níveis séricos de vitamina D e os graus de atividade inflamatória e fibrose hepática. Alguns estudos examinaram a relação entre a vitamina D e a evolução da doença em pacientes com hepatite C crônica ^(1,15,16). Um estudo recente mostrou que o HCV reduz a produção de 7-desidrocolesterol, o precursor da vitamina D endógena. A maioria dos pacientes apresentava níveis baixos de vitamina D, sugerindo que o HCV deprime os níveis séricos e altera o metabolismo lipídico ⁽¹⁷⁾.

A deficiência de vitamina D está intimamente associada com a gravidade da doença ^(2,3,6,7,18). As propriedades anti-inflamatórias e moduladoras de vitamina D poderiam ter impacto na progressão da doença, especialmente no HCV. ⁽¹⁾.

Mais recentemente, evidências apontam que a vitamina D pode ter impacto sobre os resultados clínicos e resposta ao tratamento de pacientes com hepatite C crônica ⁽¹⁹⁻²²⁾.

Tem sido sugerida também uma associação independente entre o baixo nível sérico de vitamina D e um maior grau da atividade hepática inflamatória ^(23,24). Uma provável explicação para a associação entre menores níveis de vitamina D e menor atividade inflamatória hepática seria a diminuição da atividade da 25-hidroxilase, promovendo diminuição da hidroxilação da vitamina D e consequentemente menores níveis séricos ⁽²³⁾. Entretanto, esta associação não foi observada no presente estudo, corroborando os achados de Petta et al ⁽⁸⁾, colocando em dúvida este potencial mecanismo.

Alguns estudos demonstram que os níveis séricos de vitamina D estão relacionados inversamente com a fibrose hepática, havendo relação com os efeitos

anti-inflamatórios ^(8,15,25,26), desta forma a deficiência de vitamina D pode contribuir para a fibrose hepática mais avançada e o uso de suplementação pode ter efeito antifibrótico em portadores do HCV ⁽¹⁶⁾. Por outro lado, Kitson et al ⁽²³⁾ e Bitetto et al ⁽²⁴⁾, não encontraram associação entre os níveis séricos de vitamina D e o grau de fibrose hepática nos seus estudos, não sendo claros os fatores responsáveis, que poderiam ser raciais, genéticos ou diferenças metodológicas empregadas na análise da vitamina D.

O fato de o presente estudo não apresentar dados sobre os potenciais fatores de confusão que podem influenciar os níveis séricos de vitamina D (exposição à luz do sol, ingestão da dieta e prevalência de osteoporose), pode ser considerado um fator limitante.

Em conclusão, no presente estudo não houve associação entre os níveis séricos de vitamina D e atividade inflamatória, bem como com o grau de fibrose hepática nos pacientes com hepatite C crônica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol*. 2012; 57:897–909.
2. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 513-20.
3. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci*. 2010; 55: 2624-8.
4. Rode A, Furlanos S, Nicoll A. Oral vitamin D replacement is effective in chronic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol*. 2010; 34: 618–20.
5. Malham M, Jørgensen SP, Ott P, et al. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than Aetiology. *World J Gastroenterol*. 2011; 17: 922–5.
6. Masuda S, Okano T, Osawa K, Shinjo M, Suematsu T, Kobayashi T. Concentrations of vitamin D-binding protein and vitamin D metabolites in plasma of patients with liver cirrhosis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1989; 35: 225–34.
7. Schiødt FV. Gc-globulin in liver disease. *Dan Med Bull*. 2008; 55: 131–46.
8. Petta S, Cammà C, Scazzone C, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2010; 51:1158–67.
9. Willheim M, Thien R, Schrattbauer K, et al. Regulatory effects of 1alpha, 25 dihydroxyvitamin D3 on the cytokine production of human peripheral blood lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84:3739-44.
10. Cigolini M, Iagulli MP, Miconi V, Galiotto M, Lombardi S, Targher G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2006; 29:722-4.

11. Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D₃, and the immune system. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(Suppl):1717S–1720S.
12. Myncis M. Hepatite alcoólica. *In:* Mattos AA & Dantas-Correa EB. Tratado de Hepatologia. Ed Rubio, 2010. p. 357-369. (Cohen RV, Roll S, Schaffa TD. Hernioplastia incisional videolaparoscópica. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso, 1999. p. 127-31.
13. WHO expert consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *The Lancet.* 2004; 157-63.
14. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology.* 1996; 24:289-93.
15. Gutierrez JA, Parikh N, Branch AD. Classical and emerging roles of vitamin D in hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis.* 2011; 31:387–98.
16. Cholongitas E, Theocharidou E, Goulis J, Tsochatzis E, Akriviadis E, Burroughs AK. Review article: the extra-skeletal effects of vitamin D in chronic hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 35:634–46.
17. Clark PJ, Thompson AJ, Vock DM, et al. Hepatitis C virus selectively perturbs the distal cholesterol synthesis pathway in a genotype-specific manner. *Hepatology.* 2012; 56:49–56.
18. Baur K, Mertens JC, Schmitt J, et al. Combined effect of 25-OH vitamin D plasma levels and genetic vitamin D receptor (NR 111) variants on fibrosis progression rate in HCV patients. *Liver Int.* 2012; 32:635–43.
19. Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, et al. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology.* 2011; 54:1570–9.
20. Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, et al. 25-Hydroxyvitamin D₃ suppresses hepatitis C virus production. *Hepatology.* 2012; 56: 1231-9.

21. Yano M, Ikeda M, Abe K, et al. Comprehensive analysis of the effects of ordinary nutrients on hepatitis C virus RNA replication in cell culture. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51:2016–27.
22. Rahman AH, Branch AD. A vitamina D para os seus pacientes com hepatite C crônica? *Journal of Hepatology*. 2013; 58:184–9.
23. Kitson MT, Dore GJ, George J, et al. Vitamin D status does not predict sustained virologic response or fibrosis stage in chronic hepatitis C genotype 1 infection. *J Hepatol*. 2013 Mar; 58:467-72.
24. Bitetto D, Fabris C, Fornasiere E, et al. Vitamin D supplementation improves response to antiviral treatment for recurrent hepatitis C. *Transpl Int*. 2011; 24:43–50.
25. Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, et al. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy. *J Hepatol*. 2011; 54:887–93.
26. Terrier B, Carrat F, Geri G, et al. Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV–HCV co-infected patients with chronic hepatitis. *J Hepatol*. 2011; 55:756–61.

7 CONCLUSÃO

OBJETIVO 1: Avaliar a associação do consumo da cafeína com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.

O consumo de cafeína foi associado com um menor risco de fibrose hepática avançada em pacientes infectados pelo HCV. No entanto, os dados sugerem que o efeito benéfico requer um consumo acima de 250 mg/dia.

Não houve associação entre o consumo de cafeína e a atividade inflamatória na biópsia hepática.

OBJETIVO 2: Avaliar a associação dos níveis séricos de vitamina D com a atividade inflamatória e o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica.

Não foi demonstrada associação entre os níveis séricos de vitamina D e atividade inflamatória, bem como com o grau de fibrose hepática nos pacientes com hepatite C crônica.

8 ANEXOS

ANEXO 1- QUESTIONÁRIO

ALIMENTOS	QUANTIDADES	FREQUÊNCIA/ semana (1)=1x, (2)=2x, (3)=3x, (4)=4x, (5)=5x, (6)=6x, (7)=>6x, (8)= não consome	CAFEÍNA (mg)	TEMPO ESTIMADO (1)=até 2 a, (2) > 2a – 4a, (3) > 4a – 6a, (4)= sempre	PAROU HÁ QUANTO TEMPO (1)=6meses, (2)=1ano, (3)=2 anos, (4)= >2 anos (5)= nunca parou
CHOCOLATE Barra= grande ou pequena					
ACHOCOLATADO Colheres					
CHIMARRÃO Térmicas					
CAFÉ PRETO Xícara = 100ml ou 200ml					
CHÁ PRETO Xícara = 200ml					
REFRIGERANTE DE COLA Copos = 200ml					
ENERGÉTICOS Copos = 200ml					

ANEXO 2 – TABELA DE QUANTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA

Substância	Quantidade de cafeína em 100ml (mg)
Café coado	55,5
Cafezinho ou dose no Brasil	55,5
Expresso	133,3
Café instantâneo	85
Café descafeinado	2,2
Chá preto	26,6
Chá instantâneo	16,6
Refrigerante com cafeína	11,1
Chocolate quente	3,8
Leite com achocolatado	2,2
Chocolate amargo	66,6
Chocolate ao leite	44,4
Bebidas enrgéticas	32
Chimarrão	18

Adaptado por Andrade JB e cols²⁵ e Fredholm BB e cols²⁶.

ANEXO 3 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE



Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585
 CEP 90020-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68
 Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tcche.br



PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Complementar II nº 022/012

Protocolo nº 3676/11

Título: “Papel da cafeína da vitamina D na progressão de fibrose em pacientes com hepatite C crônica”.

Pesquisador Responsável: Cristiane Valle Tovo

Instituição onde se realizará – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Data de Entrada: 06/12/2011

II – Objetivo:

III - Sumário do Projeto

Descrição e caracterização da amostra: Será realizado um estudo de coorte prospectivo, sem intervenções, onde a população do estudo será constituída por pacientes portadores de hepatite C crônica, com ou sem cirrose, podendo ter ou não HCC, atendidos no ambulatório de Gastroenterologia – Hospital Santa Clara/Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre – RS.

Critérios de inclusão: Os pacientes serão incluídos de forma consecutiva, sendo considerados, os maiores de 18 anos de idade, portadores de infecção crônica pelo vírus da hepatite C, com diagnóstico definido pelo resultado positivo do exame sorológico anti-HCV e confirmação de viremia através da verificação do RNA-VHC.

Critérios de exclusão: Serão excluídos os pacientes alcoolistas e os co-infectados pelo vírus da hepatite B e HIV.

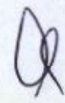
Adequação das condições - Hospital escola com infra-estrutura adequada para a realização do estudo descrito

IV - Comentários:

- **Justificativa do uso de placebo** – Não se aplica.
- **Análise de riscos e benefícios** – Riscos mínimos; todos os exames solicitados, com exceção da Vitamina D, são pedidos de rotina pelos médicos dos pacientes. Benefício: aumento do conhecimento científico na área estudada e conclusão do curso de mestrado da pesquisadora.
- **Adequação do termo de consentimento e forma de obtê-lo** – O termo de consentimento e o termo de confidencialidade dos dados, estão adequados.
- **Informação adequada quanto ao financiamento** – Adequado.

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/SCMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tcche.br

Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
 IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
 Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.
 FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.





Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585
 CEP 90020-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68
 Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tche.br



- Outros centros no caso de estudos multicêntricos – Não se aplica.

V - Parecer do Relator — “Após reavaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer”.

VI - Data da Reunião: 03/01/2012.

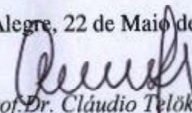
VII - Data da 2ª Reavaliação: 22/05/2012.

“Projeto e Termo de Consentimento, Aprovados”.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 – Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Porto Alegre, 22 de Maio de 2012.


 Prof. Dr. Cláudio Telöken
 Coordenador do CEP/ISCMPA

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br
 Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
 IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
 Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.
 FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.

Parecer 022/12

ANEXO 4 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PAPEL DA CAFEÍNA E DA VITAMINA D NA PROGRESSÃO DE FIBROSE EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

Órgão promotor :UFCSPA

Você está sendo convidado a participar da pesquisa realizada pela nutricionista Kalinca Oliveira que tem como objetivo identificar o Papel da Cafeína e da Vitamina D na Progressão de Fibrose em Pacientes com Hepatite C Crônica. Esta pesquisa corresponde à Dissertação de Mestrado que será apresentada ao Curso de PG-Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

A sua avaliação ocorrerá através de um questionário, formulário e exame físico, que serão aplicados e coletados no ambulatório do Hospital Santa Clara/ Complexo Hospitalar Santa Casa. Você poderá consultar os pesquisadores responsáveis sempre que entender necessário e obter informações e/ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e sua participação no mesmo. É livre a opção de desistência a qualquer momento da presente pesquisa, sem nenhuma penalização e/ou prejuízo no seu atendimento. A identidade dos participantes será mantida em sigilo e os dados coletados serão tratados estatisticamente e divulgados em função de sua relevância científica. Possíveis publicações derivadas deste estudo também manterão os mesmos cuidados e sigilos. A pesquisa será totalmente custeada pelos pesquisadores sem qualquer ônus ao participante.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre. (Fone do CEP/ISCMPA: 3214.8571)

Eu, _____, fui devidamente informado sobre os objetivos desta pesquisa, de forma clara e detalhada e autorizo a coleta de dados através de questionário, respondido neste momento.

As pesquisadoras responsáveis por esta pesquisa são a Nutricionista Kalinca Oliveira (fone: (51) 9109.4629) e Dra Cristiane Valle Tovo (fone: (51) 9189.3113).

Nome do paciente

____/____/____

Assinatura

Data

Pesquisador

____/____/____

Assinatura

Data

ANEXO 5 – ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS**ASSOCIATION OF CAFFEINE INTAKE AND LIVER FIBROSIS IN
PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C.**

Kalinca da Silva Oliveira¹, Caroline Buss², Cristiane Valle Tovo³

1 – Hepatology Post Graduation Course Student at Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

2 - Adjunct Professor, Nutrition Department, UFCSPA. Hepatology Post Graduation Course Professor, UFCSPA. RD, PhD

3 - Adjunct Professor, Clinics Department, UFCSPA; MD, PhD
Hepatology Post Graduation Course Professor, UFCSPA.

(Formatted according the Archives of Gastroenterology)

Corresponding author: Kalinca da Silva Oliveira

Múcio Teixeira 156/102. Porto Alegre-RS ZIP code 90050 – 360

Phone: (51) 9109.4629

e.mail: nutricionista@kalincaoliveira.com.br

This study had no financial support.

ABSTRACT

Introduction - Caffeine consumption has been associated to decreased levels of liver enzymes and lower risk of fibrosis in patients with hepatitis C virus. **Purpose** - This study aimed to evaluate the association between caffeine consumption and inflammatory activity or degree of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection. **Methods** - A cross-sectional study of patients with chronic hepatitis C virus infection treated in an outpatient Gastroenterology Unit of Santa Casa Hospital (Porto Alegre – Brasil). Patients were interviewed regarding the consumption of caffeine and were subjected to anthropometrical assessment. Liver biopsy was performed in a maximum period of 36 months before inclusion in the study. **Results** - There were 113 patients, 67 (59.3%) were females, 48 (42.5%) were aged between 52 and 62 years, and 101 (89.4%) were white. The average caffeine consumption was 251.41 ± 232.32 mg/day, and 70 (62%) patients consumed up to 250 mg/day of caffeine. There was no association between caffeine consumption and inflammatory activity on liver biopsy. On the other hand, when evaluating caffeine consumption and liver fibrosis it was observed an inverse association. **Conclusions** - The major consumption of caffeine was associated with minor liver fibrosis. There was no association between caffeine consumption and inflammatory activity.

KEYWORDS: Caffeine, Chronic Hepatitis C, Liver Fibrosis.

INTRODUCTION

Caffeine is a pharmacologically active alkaloid of the group of methylxanthines⁽³⁴⁾. It is a liposoluble substance absorbed quickly and efficiently through the gastrointestinal tract, presenting a 100%-bioavailability⁽²⁶⁾. It is present in many types of foods such as chocolate, teas, energetic drinks and coffee, the latter being the main source of this substance^(4,9). It is considered the most used psychoactive substance in the world and about 80% of the population makes daily use⁽⁷⁾.

Some authors have demonstrated an inverse association between coffee intake related to several inflammatory diseases^(1,12) mortality and markers of inflammation⁽²⁰⁾, although not all the studies are consistent⁽²¹⁾. Coffee consumption has also been associated with a reduced risk of many chronic diseases, including type 2 diabetes mellitus, Parkinson's disease, and liver diseases^(16,22,30).

Components in coffee, including caffeine, diterpenes⁽³³⁾, and polyphenols⁽²⁹⁾, have been related to favorable changes in the activity of liver enzymes, such as α -glutamyltransferase and aminotransferases^(6,11,19,32). Furthermore it has been awarded a lipolytic action of caffeine, contributing to the reduction of hepatic steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)⁽¹⁸⁾. Recently, caffeine consumption has been linked to decreased levels of liver enzymes and lower risk of fibrosis in patients with hepatitis C (HCV)^(15,22,25,31) virus.

The present study aims to evaluate the association of caffeine consumption and inflammatory activity or the degree of liver fibrosis in patients with HCV in a public tertiary care hospital in southern Brazil.

MATERIALS AND METHODS

This is a cross-sectional study, in which the convenience sample comprised patients with HCV with or without cirrhosis. It was held from July 2012 to May 2013, at the Gastroenterology Outpatient Unit in Hospital Santa Casa de Porto Alegre – RS, Brasil.

Patients were consecutively included, considering those over 18 years and those with chronic infection with HCV, defined by a positive anti-HCV test and confirmation of viremia checking the RNA-HCV. All patients underwent liver biopsy in a maximum period of 36 months before study entry.

We excluded patients with alcohol abuse (80g/day) ⁽²⁴⁾ present or past, and coinfecting with hepatitis B and human immunodeficiency virus (HIV). Patients were individually interviewed and caffeine consumption was assessed by a questionnaire. The habitual consumption of caffeine was reported in the last 5 years prior to the liver biopsy. The calculation of caffeine intake was performed by the daily intake, as described by Andrade JB et al ⁽²⁾ and Fredholm BB et al ⁽¹⁰⁾.

The age of the patients was analyzed according to percentiles (p25/p50/p75). Anthropometric data were analyzed as such: weight, height and body mass index (BMI) calculated by the formula weight/height^2 ⁽³⁷⁾. Patients were not in nutritional monitoring.

Anti-HCV antibodies were detected by ELISA III, according to the manufacture's instructions (Abbott AxSYM System N.Chicago/IL, USA). Subsequently, a microparticle enzyme immunoassay (MEIA) was performed, followed by real-time polymerase chain reaction (PCR).

Liver biopsy was performed as part of the protocol for assessing the indication of treatment of HCV, using the Metavir ⁽³⁾ score for staging. The presence of cirrhosis was assessed by clinical, laboratory and image methods, and histopathological ones when needed.

This research protocol was approved by the local Ethics Committee and presents minimal risk to patients. All patients signed an informed consent form for participation in the study.

The first step of the analysis was to check the distribution of the variables and recoding. For descriptive data analysis averages, standard deviations, frequency distributions and percentages were used. Bivariate analysis was used for quantitative (averaging and comparison of averages or t test) and qualitative variables (chi-square). To compare caffeine consumption between sex and skin color, the Mann-Whitney test was used.

The association between continuous variables and ordinal with caffeine consumption was assessed with Spearman correlation coefficient (rs). Control of confounding factors to explain the degree of liver fibrosis, multiple linear regression analysis was applied.

For this study, $p < 0.05$ was adopted as statistically significant. The processing and data analysis was performed using SPSS, version 18.0.

RESULTS

A total of 113 patients with HCV were included; 67 (59.3%) were females, 48 (42.5%) aged 52 to 62 years, and 101 (89.4%) were white (Table 1).

The average caffeine intake was 251.41 ± 232.32 mg/day, and 70 (62%) patients consumed up to 250 mg/day of caffeine. The patients reported regular consumption of caffeine and unmodified intake in the last 5 years.

There was a significant inverse association between caffeine intake and age ($r_s = -0.394$, $p < 0.001$) (Figure 1). There was no significant association between caffeine consumption and BMI ($p = 0.891$).

Regarding inflammatory activity on liver biopsy, 45 (40.2%) patients were classified as A2 - moderate by Metavir score (Table 2). There was no statistically significant difference when caffeine consumption was analyzed stratifying by inflammatory activity ($p = 0.942$).

Regarding to the degree of liver fibrosis, 39 (34.5%) patients were cirrhotic (Table 2). When analyzed the caffeine consumption according to different degrees of liver fibrosis it was observed that the higher the caffeine intake, the lower the degree of liver fibrosis ($p = 0.01$).

These data were repeated in direct correlation analysis, observing that there was no association between caffeine consumption and inflammatory activity ($r_s = -0.072$; $p = 0.451$) but it was associated with liver fibrosis ($r_s = -0.338$; $p < 0.001$) (Figure 2).

After adjustment by multiple linear regression analysis considering age, sex, skin color and caffeine to explain the degree of fibrosis, age remained a risk factor associated with the degree of fibrosis ($\beta = 0.348$, $p < 0.001$). Caffeine levels were borderline in relation to the degree of fibrosis ($\beta = -0.153$, $p = 0.106$).

DISCUSSION

The data in this study demonstrated an inverse relationship between caffeine intake and liver fibrosis, but no association with inflammatory activity was observed.

Several studies in the literature have suggested the beneficial effect of coffee among individuals with chronic liver disease ^(5.8.13.15.17.31.35), observed an inverse association between inflammatory activity, fibrosis and caffeine consumption ^(22.31). So far, no one knows for sure if coffee affects spontaneous HCV seroconversion or the response to HCV therapy among patients chronically ⁽²⁸⁾ infected.

Metabolic effects of caffeine responsible for liver protection are uncertain and an antioxidant effect have been suggested to be beneficial ⁽¹⁵⁾.

In the present study, no association between inflammatory activity and caffeine was observed. These findings are corroborated by the study of Modi et al ⁽²²⁾, which also found no association between inflammatory activity and caffeine.

As for the progression of fibrosis it has been suggested that increasing intake of coffee is associated with a lower risk of advanced ⁽²³⁾ fibrosis. Thus, it is suggested that coffee antifibrogenic may have some mechanism that could prevent progression of the disease.

Any treatment modality that may potentially prevent the progression of fibrosis in chronic liver disease, especially if it confers few adverse effects, has the potential to improve morbidity and mortality ⁽¹⁴⁾. In this sense, a Norwegian population-based study demonstrated an inverse relationship between coffee consumption and mortality in cirrhotic patients ⁽³⁵⁾.

Freedman et al ⁽¹¹⁾ demonstrated in a prospective study with 766 patients that the higher caffeine consumption is associated with lower degrees of fibrosis in

patients with chronic liver disease, especially those with chronic HCV infection. Other studies ^(8,13) confirmed these results.

In this study, patients who consumed a larger amount of caffeine per day had more mild fibrosis, and the ones consuming smaller amounts presented more advanced fibrosis.

Freedman et al ⁽¹¹⁾ suggests that the beneficial effect requires caffeine consumption above a threshold equivalent to about two cups of coffee per day (≥ 222 mg of caffeine). In the present study more than a third of the sample drank over 251 mg/day, there was association between higher consumption of caffeine and lighter fibrosis. Furthermore, we observed an inverse association between mean age and the degree of liver fibrosis, the youngest being those with less fibrosis, probably the lowest time of disease progression.

Importantly, the progression of fibrosis depends on several factors, such as age over 40 years at the time of infection, consumption of alcohol greater than 80g/day, being male among others ⁽²⁷⁾. The analysis of these factors is relevant, since the degree of fibrosis could be related to some of these, and not the consumption of caffeine. In the present work, we observed that caffeine cannot yet be considered a statistically independent factor to explain the degree of fibrosis.

Regarding the association between obesity and fibrosis, Westerterp-Plantenga et al ⁽³⁶⁾ studied patients with overweight and obesity, which observed a positive association between caffeine intake and weight loss. In this study, BMI was assessed as overweight patients might experience greater progression of fibrosis. However, BMI did not interfere, since there is no difference between the mean BMI and higher or lower caffeine consumption.

Although patients did not report changes in patterns of caffeine intake over time, this data may not accurately reflect the consumption during the progression of liver disease, which may be considered as a limitation of the study.

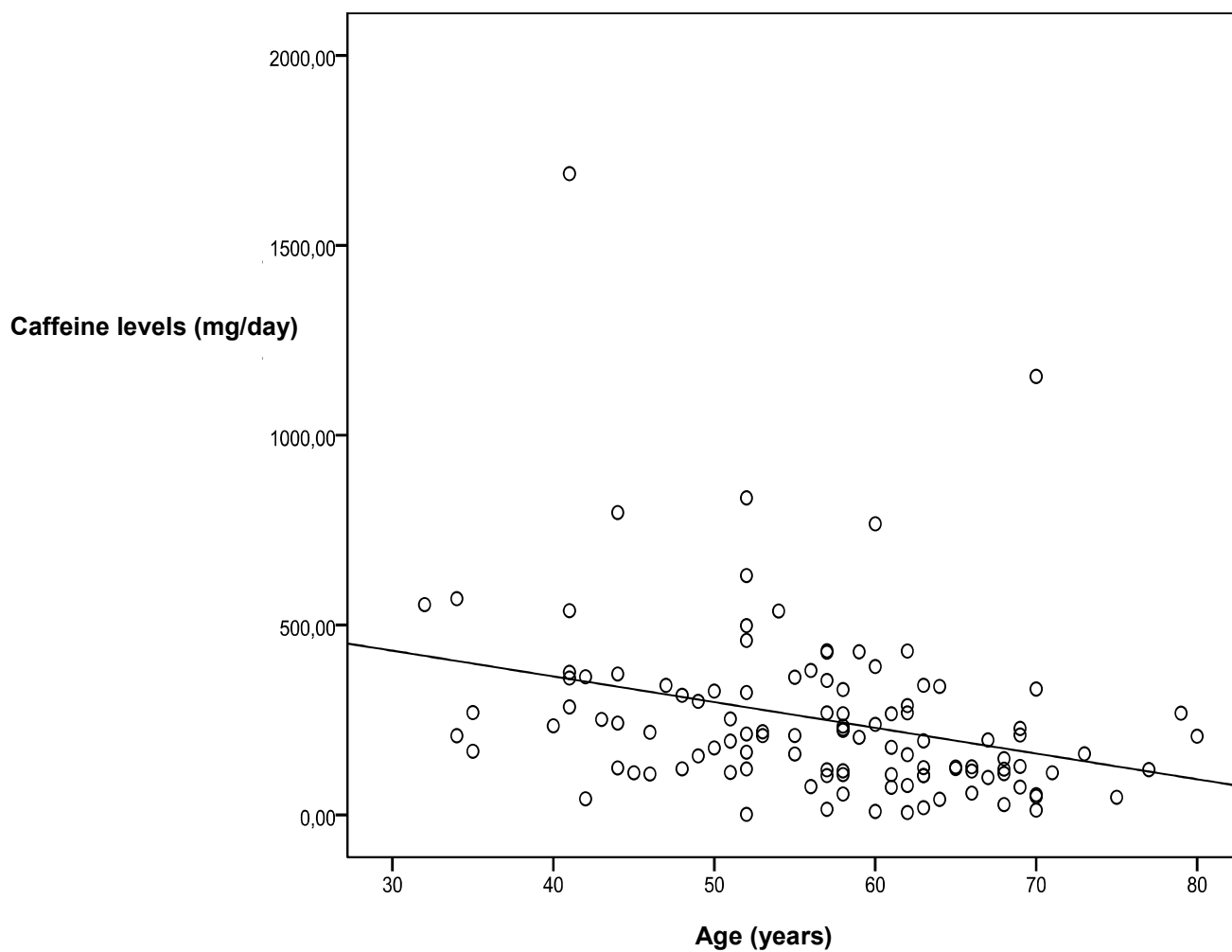
In conclusion, the higher caffeine intake was associated with a lower degree of liver fibrosis in HCV-infected patients. There was no association between caffeine consumption and inflammatory activity.

Table 1. Characteristics of patients with chronic hepatitis C (N = 113).

Variable	Total
Sex, n (%)	
Male	46 (40.7)
Female	67 (59.3)
Age in years, n (%)	
≤51	31 (27.4)
52–62	48 (42.5)
63≥	34 (30.1)
Skin color, n (%)	
White	101 (89.4)
Not white	12 (10.6)
BMI in kg/m ² , mean (sd *)	26.7 (5.1)

*sd = standard deviation

Figure 1. Correlation between caffeine intake (mg/day) and age (N=113).



$P < 0,001$

$r_s = -0,394$

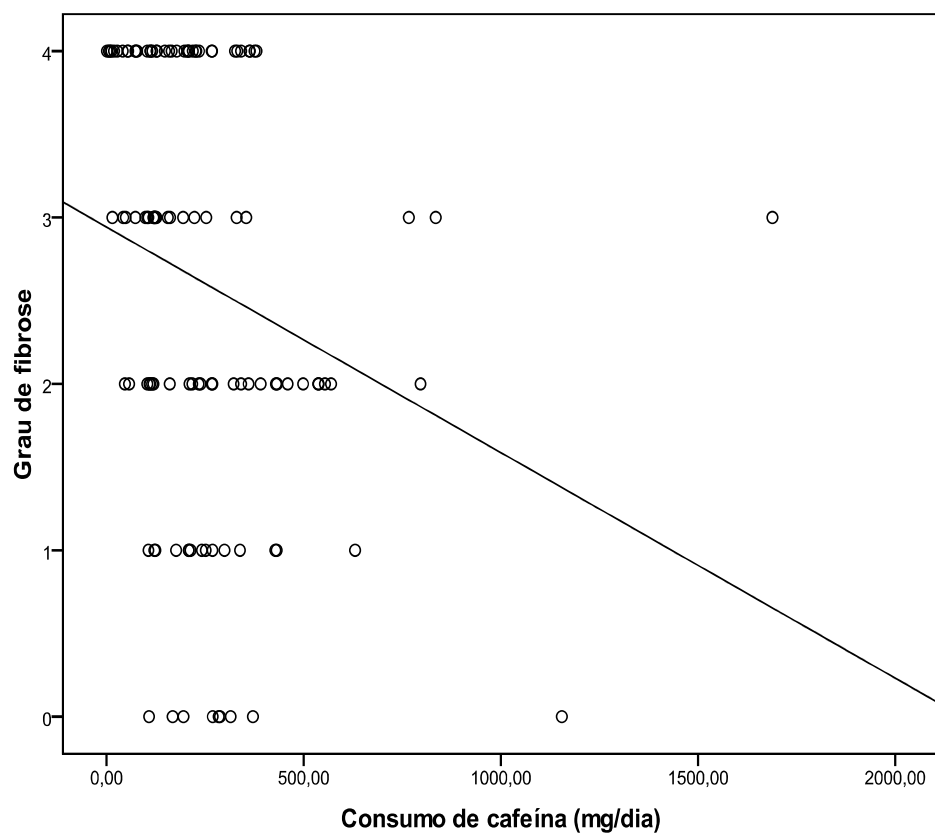
Table 2. Caffeine consumption and histopathological changes in liver biopsy
(N = 113).

Variables	Total	Caffeine intake (mg/day)*		p-value
		≤ 250	≥ 251	
Inflammatory activity, n (%)**				0.942
0. Absent	18 (16.1)	12 (66.7)	06 (33.3)	
1. Low of	37 (33.0)	22 (59.5)	15 (40.5)	
2. Moderate	45 (40.2)	27 (60.0)	18 (40.0)	
3. Enhanced	12 (10.7)	08 (66.7)	04 (33.3)	
Degree of fibrosis, n (%)**				0.01
0. Absence of fibrosis	09 (8.0)	03 (33.3)	06 (66.7)	
1. Portal without septa	15 (13.3)	08 (53.3)	07 (46.7)	
2. Portal with rare septa	27 (23.9)	12 (44.4)	15 (55.6)	
3. Portal with numerous septa	23 (20.3)	17 (73.9)	06 (26.1)	
4. Cirrhosis	39 (34.5)	20 (76.9)	09 (23.1)	

* mg/day: milligrams per day

**Metavir score

Figure 2. Correlation between caffeine intake (mg/day) and the degree of liver fibrosis (N = 113).



$P < 0,001$

$r_s = -0,338$

REFERENCES

1. Andersen LF, Jacobs DR Jr, Carlsen MH, Blomhoff R. Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2006;83:1039-46.
2. Andrade JB, Pinheiro HLC, Lopes WA, Martins S, Amorim AMM, Brandão AM. Determinação de cafeína em bebidas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Química Nova. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas, SP, Brasil.* 1995; 18: 379-81.
3. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996; 24:289-93.
4. Camargo MCR, Toledo MCF. Teor de cafeína em cafés brasileiros. *Ciênc Tecnol Aliment* 1998; 18: 421-4.
5. Casiglia E, Spolaore P, Ginocchio G, Ambrosio G. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. *Eur J Epidemiol* 1993; 9: 293-7.
6. Cavin C, Holzhaeuser D, Scharf G, Constable A, Huber W, Schilter B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food Chem Toxicol* 2002; 40:1155-63.

7. Clausson B, Granath F, Ekbom A, Lundgren S, Nordmark A, Signorello LB, Cnattingius S. Effect of caffeine exposure during pregnancy on birth weight and gestational age. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 429-36.
8. Corrao G, Zambon A, Bagnardi V, D'Amicis A, Klatsky A. Coffee, caffeine, and the risk of liver cirrhosis. *Ann Epidemiol* 2001; 11:458-65.
9. De Maria CAB, Moreira RFA. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Quím Nova* 2007; 30: 586-92.
10. Fredholm BB, Battig K, Holmen J, Nehlig A, Zvartau EE: Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev* 1999; 51:83-133.
11. Freedman ND, Everhart JE, Lindsay KL, Ghany MG, Curto TM, Shiffman ML, Lee WM, Lok AS, Di Bisceglie AM, Bonkovsky HL, Hoefs JC, Dienstag JL, Morishima C, Abnet CC, Sinha R, and the HALT-C Trial Group. Coffee Intake Is Associated with Lower Rates of Liver Disease Progression in Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2009; 50:1360-9.
12. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134:1655-69.
13. Gallus S, Tavani A, Negri E, La Vecchia C. Does coffee protect against liver cirrhosis? *Ann Epidemiol* 2002; 12:202–5.

14. Gelatti U, Covolo L, Franceschini M, Pirali F, Tagger A, Ribero ML, Trevisi P, Martelli C, Nardi G, Donato F. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its aetiology: a case control study. *J Hepatol* 2005; 42:528-34.
15. Honjo S, Kono S, Coleman MP, Shinchi K, Sakurai Y, Todoroki I, Umeda T, Wakabayashi K, Imanishi K, Nishikawa H, Ogawa S, Katsurada M, Nakagawa K, Yoshizawa N. Coffee consumption and serum aminotransferases in middle-aged Japanese men. *J Clin Epidemiol* 2001; 54:823-9.
16. Huxley R, Lee CM, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, Grobbee DE, Batty D, Woodward M. Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Arch Intern Med* 2009; 169:2053-63.
17. Klatsky AL, Morton C, Udaltsova N, Friedman GD. Coffee, cirrhosis, and transaminase enzymes. *Arch Intern Med* 2006; 166:1190–5.
18. La Vecchia C. Coffee, liver enzymes, cirrhosis and liver cancer. *J Hepatol* 2005; 42:444-6.
19. Lai GY, Weinstein SJ, Albanes D, Taylor PR, McGlynn KA, Virtamo J, Sinha R, Freedman ND. The association of coffee intake with liver cancer incidence and chronic liver disease mortality in male smokers. *British Journal of Cancer* 2013; 109:1344-51.

20. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Li TY, Rodriguez-Artalejo F, Hu FB. The relationship of coffee consumption with mortality. *Ann Intern Med* 2008; 148:904-14.
21. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:888-93.
22. Modi AA, Feld JJ, Park Y, Kleiner DE, Everhart JE, Liang TJ, Hoofnagle JH. Increased Caffeine Consumption Is Associated with Reduced Hepatic Fibrosis. *Hepatology* 2010; 51:201-9.
23. Molloy JW, Calcagno CJ, Williams CD, Jones FJ, Torres DM, Harrison SA. Association of coffee and caffeine consumption with fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and degree of hepatic fibrosis. *Hepatology* 2012; 55:429-36.
24. Myncis M. Hepatite alcoólica. In: Mattos AA & Dantas-Correa EB. *Tratado de Hepatologia*. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. p. 357-69.
25. Nakanishi N, Nakamura K, Nakajima K, Suzuki K, Tatara K. Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyltransferase: a study of middle-aged Japanese men. *Eur J Epidemiol* 2000; 16:419-23.
26. Paluska SA. Caffeine and exercise. *Curr Sports Med Rep* 2003; 2:213-9.

27. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997; 349:825-32.
28. Purnak T, Ozaslan E. Coffee intake and chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009; 50:1673.
29. Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology* 2005; 128:24-32.
30. Sääksjäkvi K, Knekt P, Rissanen H, Laaksonen MA, Reunanen A, Männistö S. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's diseases. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62:908-15.
31. Shapiro H, Bruck R. Coffee and tea consumption and chronic liver disease. *Gastroenterology* 2006; 130:1931-2.
32. Shimazu T, Tsubono Y, Kuriyama S, Ohmori K, Koizumi Y, Nishino Y, Shibuya D, Tsuji I. Coffee consumption and the risk of primary liver cancer: pooled analysis of two prospective studies in Japan. *Int J Cancer* 2005; 116: 150-4.
33. Sinha RA, Farah BL, Singh BK, Siddique MM, Li Y, Wu Y, Ilkayeva OR, Gooding J, Ching J, Zhou J, Martinez L, Xie S, Bay BH, Summers SA, Newgard CB, Yen PM. Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism via

- autophagy-lysosomal pathway. *Hepatology* [abstract]. 2013. Pubmed; PMID 23929677.
34. Tfouni SAV, Camargo MCR, Vitorino SHP, Menegário TF, Toledo MCF. Contribuição do guaraná em pó (*Paullinia cupana*) como fonte de cafeína na dieta. *Rev Nutr* 2007; 20: 63-8.
35. Tverdal A, Skurtveit S. Coffee intake and mortality from liver cirrhosis. *Ann Epidemiol* 2003; 13:419–23.
36. Westerterp-Plantenga MS, Lejeune MP, Kovacs EM. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. *Obes Res* 2005; 13:1195–204.
37. WHO expert consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *The Lancet* 2004; 157-63.

ANEXO 6 – ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS**IS THERE AN ASSOCIATION BETWEEN VITAMIN D AND LIVER
FIBROSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C?****“ASSOCIATION BETWEEN VITAMIN D AND LIVER FIBROSIS.”**

Kalinca da Silva Oliveira, Caroline Buss, Cristiane Valle Tovo

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Corresponding author: Kalinca da Silva Oliveira

Múcio Teixeira, 156, ap 102. Porto Alegre-RS

Post Code 90050- 360

Phone: 55-51-9109.4629

e.mail: nutricionista@kalincaoliveira.com.br

Number of words in the text: 1.096

Number of words in abstract: 173

This study had no financial support.

ABSTRACT

Introduction – Vitamin D is known for its immunomodulatory, anti-inflammatory and antifibrotic properties, which are quite relevant in the pathogenesis and treatment of many causes of chronic liver disease. **Objective** – This study aimed to evaluate the association between serum levels of vitamin D and inflammatory activity and degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. **Methods** – Cross-sectional study of 74 patients with chronic hepatitis C. All patients underwent vitamin D dosage and anthropometric data analysis. Liver biopsy was performed in a maximum 36-month period before inclusion in the study. **Results** – Among the 74 patients included in the study, 45 (60.8%) were women, mean age was 57.03 ± 9.24 years, and 63 (85.1%) were white. No association was observed between serum levels of vitamin D and inflammatory activity ($p= 0.373$) nor with the degree of liver fibrosis ($p= 0.935$). **Conclusions** – In this study, no associations between vitamin D and inflammatory activity, or the degree of liver fibrosis were observed in patients with chronic hepatitis C.

KEYWORDS: Vitamin D, Chronic Hepatitis C, Liver Fibrosis.

INTRODUCTION

Recently, vitamin D has been known for its immunomodulatory, anti-inflammatory and antifibrotic properties, which are quite relevant in the pathogenesis and treatment of many causes of chronic liver disease ⁽¹⁾.

The liver has a fundamental role in vitamin D metabolism. In patients with chronic liver disease, vitamin D insufficiency (<75 nmol/L) is nearly universal, and deficiency (<50 nmol/L) occurs in almost two thirds of the individuals. Even in the absence of cirrhosis, deficiency is present in most patients with chronic liver disease. In those who have cirrhosis, the prevalence of severe deficiency (<25 nmol/L) is higher, depending on the gravity of the liver synthesis dysfunction ^(2,3).

Vitamin D deficiency occurs regardless of the liver disease etiology ^(4,5). Vitamin D binding proteins serum levels, which perform an essential role in vitamin D transportation and bioavailability, are mildly decreased in cirrhosis ^(6,7). An inversely proportional relationship between vitamin D serum levels and liver fibrosis has been described and response to antiviral treatment with interferon and ribavirin, as well ⁽⁸⁾.

It is conceivable that reduction in vitamin D serum levels alone can benefit fibrosis progression. Different experimental models show that vitamin D, besides interacting with vitamin D receptor, provides protection against oxidative stress ⁽⁹⁾, thus reducing inflammatory and fibrogenic activity of hepatic stellate cell ^(10,11).

This study aimed to evaluate the association between vitamin D serum levels and inflammatory activity and degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C at a tertiary public hospital in southern Brazil.

MATERIALS AND METHODS

A cross-sectional study was developed with convenience sample composed of patients with chronic hepatitis C, with or without cirrhosis, between July 2012 and May 2013, who were attended at the Gastroenterology Outpatient clinic of a tertiary care hospital in southern Brazil.

Seventy-four patients were consecutively included, considering the following: age 18 and over, chronic HCV infection, diagnosis defined by positive result of the anti-HCV serological test and confirmation of viremia by RNA-HCV checking. All patients underwent liver biopsy in a maximum 36-month period prior to the inclusion in the study.

Patients with current or previous alcohol abuse problems (80g/day) ⁽¹²⁾ and patients coinfectd by the hepatitis B and human immunodeficiency viruses (HBV/HIV) were excluded from the study.

All patients underwent 25(OH)D dosage by the electrochemiluminescence method, using Roche Diagnostics Elecsys analyzer (Switzerland), at the Central Laboratory of Santa Casa Hospital.

The patients' age was analyzed using percentiles (p25/p50/p75). The following anthropometric data were analyzed: weight, height and body mass index (BMI), calculated by the formula weight/height^2 ⁽¹³⁾. Patients were not under nutritional monitoring.

Anti-HCV antibodies were detected by the ELISA III test, in accordance with the manufacturing instructions (Abbott AxSYM System, N.Chicago/IL, EUA). Then, microparticle enzyme immunoassay (MEIA) was conducted, followed by real-time polymerase chain reaction (PCR).

Liver biopsy was performed as part of the patient's evaluation protocol to assess HCV treatment indication, using Metavir score ⁽¹⁴⁾ for staging. The presence of cirrhosis was evaluated by clinical laboratory methods, image and histopathological tests, whenever necessary.

Ethical aspects

This research was submitted and approved by the Ethics Committee and it presents minimum risks to the patients. All patients signed the Informed Consent in order to take part in the study.

Statistical analysis

The software MsExcel 2000 was used to store data; SPSS 19.0 (Statistical Package for Social Science) was used to analyze further results.

The quantitative variables were presented as mean and standard deviation. The qualitative variables were presented as frequency and percentage. The association between the continuous and ordinal variables with vitamin D serum levels was evaluated by Spearman's correlation coefficient (r_s).

The significance level assumed was 5%.

RESULTS

Seventy-four patients with HCV were included in the study; 45 (60.8%) were women; the mean age was 57.0 ± 9.2 years and 63 (85.1%) were white (Table I). When age was analyzed using percentile, it was observed that 32.4% of the patients were under 52 years, 47.3% were between 52-64 years, and 20.3% were over 64 years.

There was no statistically significant differences between the mean vitamin D serum levels and the inflammatory activity levels and degrees of hepatic fibrosis ($p=0.700$ and $p=0.468$, respectively) (Table II). Moreover, it was not observed association between the vitamin D serum levels and inflammatory activity ($r_s=0.099$; $p=0.416$), or the degree of liver fibrosis ($r_s=-0.015$; $p=0.901$).

DISCUSSION

No association between vitamin D serum levels and the different levels of inflammatory activity or degrees of liver fibrosis was found in this study. Some studies examined the relationship between vitamin D and the evolution of the disease in patients with chronic hepatitis C ^(1.15.16). A recent study showed that HCV reduces the production of 7-dehydrocholesterol, the precursor of endogenous vitamin D. Most patients presented low vitamin D levels, suggesting that HCV depresses serum levels and changes the lipid metabolism ⁽¹⁷⁾.

Vitamin D deficiency is closely related to the disease severity ^(2.3.6.7.18). Vitamin D anti-inflammatory and modulating properties could impact on disease progression especially on HCV ⁽¹⁾. More recently, evidences show that vitamin D might have an impact on other clinical results and the response to the treatment of patients with chronic hepatitis C ⁽¹⁹⁻²²⁾.

An independent association between low vitamin D serum level and higher degree of inflammatory activity has been suggested ^(23.24). A probable explanation for the association between lower vitamin D levels and lower inflammatory activity of the liver would be the decrease of 25-hydroxylase activity, promoting decrease in vitamin

D hydroxylation activity and, hence, lower serum levels ⁽²³⁾. However, this association was not observed in this study, corroborating Petta and colleagues' findings ⁽⁸⁾, putting in question this potential mechanism.

Some studies show that vitamin D serum levels are inversely related to liver fibrosis, demonstrating a relationship with its anti-inflammatory effects ^(8.15.25.26). Thus, vitamin D deficiency may contribute to a more advanced liver fibrosis and the use of supplementation may have an antifibrotic effect on HCV carriers ⁽¹⁶⁾. On the other hand, Kitson et al ⁽²³⁾ and Bitetto et al ⁽²⁴⁾ did not find association between vitamin D serum levels and the degree of liver fibrosis in their studies, where the responsible factors were not clear, with chances of being racial, genetic or methodological differences used in vitamin D analysis.

The fact that this study does not present data on the potential confounders that may influence vitamin D serum levels (sunlight exposure, diet intake and osteoporosis prevalence) can be considered a limiting factor of the analysis.

In conclusion, in the present study, there was no association between vitamin D serum levels and inflammatory activity or the degree of liver fibrosis in the patients with chronic hepatitis C.

REFERENCES

1. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol*. 2012; 57:897–909.
2. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 513-20.
3. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci*. 2010; 55: 2624-8.
4. Rode A, Furlanos S, Nicoll A. Oral vitamin D replacement is effective in chronic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol*. 2010; 34: 618–20.
5. Malham M, Jørgensen SP, Ott P, et al. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than Aetiology. *World J Gastroenterol*. 2011; 17: 922–5.
6. Masuda S, Okano T, Osawa K, Shinjo M, Suematsu T, Kobayashi T. Concentrations of vitamin D-binding protein and vitamin D metabolites in plasma of patients with liver cirrhosis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1989; 35: 225–34.
7. Schiødt FV. Gc-globulin in liver disease. *Dan Med Bull*. 2008; 55: 131–46.

8. Petta S, Cammà C, Scazzone C, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2010; 51:1158–67.
9. Willheim M, Thien R, Schratlbauer K, et al. Regulatory effects of 1alpha, 25 dihydroxyvitamin D3 on the cytokine production of human peripheral blood lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84:3739-44.
10. Cigolini M, Iagulli MP, Miconi V, Galiotto M, Lombardi S, Targher G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2006; 29:722-4.
11. Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(Suppl):1717S–1720S.
12. Myncis M. Hepatite alcoólica. *In*: Mattos AA & Dantas-Correa EB. *Tratado de Hepatologia*. Ed Rubio, 2010. p. 357-369. (Cohen RV, Roll S, Schaffa TD. *Hernioplastia incisional videolaparoscópica*. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso, 1999. p. 127-31.
13. WHO expert consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *The Lancet*. 2004; 157-63.

14. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996; 24:289-93.
15. Gutierrez JA, Parikh N, Branch AD. Classical and emerging roles of vitamin D in hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis*. 2011; 31:387–98.
16. Cholongitas E, Theocharidou E, Goulis J, Tsochatzis E, Akriviadis E, Burroughs AK. Review article: the extra-skeletal effects of vitamin D in chronic hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 35:634–46.
17. Clark PJ, Thompson AJ, Vock DM, et al. Hepatitis C virus selectively perturbs the distal cholesterol synthesis pathway in a genotype-specific manner. *Hepatology*. 2012; 56:49–56.
18. Baur K, Mertens JC, Schmitt J, et al. Combined effect of 25-OH vitamin D plasma levels and genetic vitamin D receptor (NR 111) variants on fibrosis progression rate in HCV patients. *Liver Int*. 2012; 32:635–43.
19. Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, et al. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology*. 2011; 54:1570–9.
20. Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, et al. 25-Hydroxyvitamin D3 suppresses hepatitis C virus production. *Hepatology*. 2012; 56: 1231-9.

21. Yano M, Ikeda M, Abe K, et al. Comprehensive analysis of the effects of ordinary nutrients on hepatitis C virus RNA replication in cell culture. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51:2016–27.
22. Rahman AH, Branch AD. A vitamina D para os seus pacientes com hepatite C crônica? *Journal of Hepatology*. 2013; 58:184–9.
23. Kitson MT, Dore GJ, George J, et al. Vitamin D status does not predict sustained virologic response or fibrosis stage in chronic hepatitis C genotype 1 infection. *J Hepatol*. 2013 Mar; 58:467-72.
24. Bitetto D, Fabris C, Fornasiere E, et al. Vitamin D supplementation improves response to antiviral treatment for recurrent hepatitis C. *Transpl Int*. 2011; 24:43–50.
25. Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, et al. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy. *J Hepatol*. 2011; 54:887–93.
26. Terrier B, Carrat F, Geri G, et al. Low 25-OH vitamin D serum levels