

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Suco de laranja combinado a um padrão alimentar saudável melhorou a função endotelial e reduziu o risco cardiovascular em pacientes com síndrome metabólica: ensaio clínico randomizado

RENATA BENASSI DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências Nutricionais

Orientação: Prof^a Dr^a Thais Borges Cesar

ARARAQUARA

2019

Suco de laranja combinado a um padrão alimentar saudável melhorou a função endotelial e reduziu o risco cardiovascular em pacientes com síndrome metabólica: ensaio clínico randomizado

RENATA BENASSI DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências Nutricionais

Orientação: Prof^a Dr^a Thais Borges Cesar

ARARAQUARA

2019

O59s

Oliveira, Renata Benassi de.

Suco de laranja combinado a um padrão alimentar saudável melhorou a função endotelial e reduziu o risco cardiovascular em pacientes com síndrome metabólica: ensaio clínico randomizado / Renata Benassi de Oliveira. – Araraquara, 2019.
60 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação
Em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração em Ciências
Nutricionais.

Orientadora: Thaís Borges Cesar.

1. Suco de laranja. 2. Síndrome metabólica. 3. Dieta. 4.
função endotelial vascular. 5. Risco cardiovascular. I. Cesar, Thaís
Borges, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

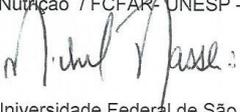
TÍTULO DA TESE: Suco de laranja combinado a um padrão alimentar saudável melhorou a função endotelial e reduziu o risco cardiovascular em pacientes com síndrome metabólica:ensaio clínico randomizado

AUTORA: RENATA BENASSI DE OLIVEIRA

ORIENTADORA: THAIS BORGES CESAR

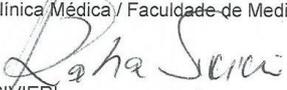
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área: Ciências Nutricionais pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra. THAIS BORGES CESAR
Departamento de Alimentos e Nutrição / FCFAR-UNESP - Araraquara


Prof. Dr. MICHEL NASSER
Departamento de Medicina / Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dra. CAMILA CREMONEZI JAPUR
Departamento de Ciências da Saúde / Faculdade de Medicina- Ribeirão Preto- USP

Prof. Dr. ANDERSON MARLIERE NAVARRO
Departamento de Clínica Médica / Faculdade de Medicina - Ribeirão Preto - USP


Prof. Dra. KATIA SZWIERL
Departamento de Alimentos e Nutrição / FCFAR-UNESP - Araraquara

Araraquara, 15 de março de 2019

Agradecimentos Pessoais

Agradeço primeiramente a Santíssima Trindade “Pai, Filho e Espírito Santo” por me iluminar, me guiar e me permitir seguir tranquila em direção aos meus objetivos e não desanimar com as dificuldades.

Agradeço aos meus pais, que mesmo não estando entre nós, foram a base da minha educação, sempre me pouparam nas dificuldades para que pudesse estudar.

Agradeço a Minda, minha irmã, que compreendeu as minhas falhas sempre colaborando na administração e manutenção da casa para me ajudar. E ao Dudu que mesmo estando longe, sempre respondeu prontamente meus questionamentos.

Agradeço ao meu namorado, Hélio, meu companheiro, que até estatística sentou para estudar comigo, e que sempre me tranquilizava dizendo: “coragem”!

À orientadora Prof^a Dr^a Thais Borges Cesar pela oportunidade e confiança depositada em mim para realizar este trabalho e por todo ensinamento e carinho que sempre teve comigo ao longo desses anos.

À Olivia Ponce pela amizade, parceria e companheirismo durante todas as etapas na realização deste.

À Carolina Ribeiro pela amizade e dedicação durante os estudos para a realização desta tese.

À técnica de laboratório Danielli dos Santos Baeta pela amizade e forte colaboração durante a realização deste trabalho.

Aos estudantes de iniciação científica Lucas Lopes de Castilho, Thais Calixto e Gizele Bonacina pela ajuda durante a parte prática do trabalho.

Às minhas companheiras e amigas de laboratório pela ajuda durante a realização do trabalho, cada uma com sua contribuição e apoio durante todas as fases.

Aos professores integrantes da comissão examinadora pela disponibilidade e atenção e pelas valiosas sugestões ao trabalho que tenho certeza que serão dadas

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas, em especial ao Sérgio Valadão, pelo apoio e acolhimento durante a coleta das amostras.

À minha querida prima Maria Emília, pelo apoio e colaboração durante a realização de diversas fases do meu trabalho.

Aos voluntários que fizeram parte deste trabalho, por toda dedicação, comprometimento e confiança, sem os quais não teríamos tido resultados tão importantes.

Agradecimentos Especiais

À empresa Citrosuco S/A pelo apoio à pesquisa e fornecimento do suco de laranja.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição pelo ensino e dedicação durante minha formação.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara e ao programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição pelo acolhimento e oportunidade.

Resumo

Objetivos: Investigar o efeito da associação entre um padrão saudável alimentar e a ingestão regular do suco de laranja sobre a função endotelial vascular e parâmetros clínico-nutricionais em indivíduos com síndrome metabólica. **Material e Métodos:** Estudo clínico randomizado de grupos paralelos, com intervenção dietética de curto prazo. A idade média foi de 48 ± 9 anos, sendo 69% mulheres e 31% homens. Os voluntários foram alocados randomicamente nos grupos: Controle (n=34) e Suco de Laranja (n=34), sendo que todos receberam orientação nutricional para uma dieta saudável. Os indivíduos do grupo Suco de Laranja receberam concomitantemente à dieta 500 mL/dia de suco de laranja 100%. Ao longo de 12 semanas foram realizadas: (1) avaliação antropométrica, (2) avaliação dietética, (3) avaliação bioquímica, (4) avaliação da função endotelial vascular, e (5) risco cardiovascular global. **Resultados:** Após as 12 semanas de intervenção dietética e suco de laranja foram detectadas para ambos os grupos uma redução média significativa de 2% no peso corporal, 3% no IMC, 5% na massa gorda, 6% na circunferência da cintura e 4% na gordura visceral, sem contudo alterar a massa magra. No grupo Controle foi detectada redução significativa no HDL-C (-10%). Os parâmetros da função endotelial vascular mostraram redução média para ambos os grupos da pressão arterial sistólica e diastólica (-8% e -9%, respectivamente), e melhorias na função endotelial vascular. Além disso, houve redução do risco cardiovascular em ambos os grupos, sugerindo benefícios da orientação dietética e do consumo regular do suco de laranja.

Palavras-chave: suco de laranja, síndrome metabólica, dieta, função endotelial vascular, risco cardiovascular.

Abstract

Objectives: To investigate the effect of the association between healthy food standard and the regular intake of orange juice on vascular endothelial function and clinical and nutritional parameters in individuals with metabolic syndrome.

Material and Methods: Randomized clinical study of parallel groups with short-term dietary intervention. The mean age was 48 ± 9 years, of which 69% were women and 31% were men. The volunteers were allocated randomly in the control groups ($n = 34$) and Orange juice ($n = 34$), all of whom received nutritional guidance for a healthy diet. The subjects in the Orange Juice group received concomitantly 500 ml / day of orange juice 100%. During 12 weeks, the following results were performed: (1) anthropometric evaluation, (2) dietary assessment, (3) biochemical evaluation, (4) evaluation of vascular endothelial function, and (5) global cardiovascular risk. **Results:** After 12 weeks of dietary intervention and orange juice, a significant mean reduction of 2% in body weight, 3% in BMI, 5% in fat mass, 6% in waist circumference and 4% in visceral fat, without altering the lean mass. In the Control group, significant reductions were detected in HDL-C (-10%). Vascular endothelial function parameters showed a mean reduction for both systolic and diastolic blood pressure groups (-8% and -9%, respectively), and improvements in vascular endothelial function. In addition, there was a reduction in cardiovascular risk in both groups, suggesting benefits of dietary guidance and regular consumption of orange juice.

Key words: orange juice, metabolic syndrome, diet, vascular endothelial function, lipid profile, cardiovascular risk.

Abreviaturas

SM - Síndrome Metabólica

DCV - Doença Cardiovascular

NCEP - National Cholesterol Education Program

ATPIII - Adult Treatment Panel III

AACE - The American Association of Clinical Endocrinologists

IDF - International Diabetes Federation

NHBLI - National Heart, Lung and Blood Institute

AHA - American Heart Association

WHF - World Heart Federation

DM - Diabetes Mellitus

AVC - Acidente Vascular Cerebral

ICAM - Molécula de Adesão Intercelular

VCAM - Molécula de Adesão Celular Vascular

MCP1 - Proteína Quimiotática 1 de Monócitos

RCV - Risco Cardiovascular

ERG - Escore de Risco Global

PAS - Pressão Arterial Sistólica

EMI - Espessamento Médio Intímal

DILA – Dilatação Fluxo Mediada

Sumário

Resumo.....	7
Abstract.....	8
Abreviaturas	9
INTRODUÇÃO.....	11
CAPITULO 1.	19
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
REFERÊNCIAS	56

INTRODUÇÃO

As primeiras investigações abordando os componentes da síndrome metabólica (SM) ocorreram em 1920, mas foi a partir 1980 que este tema passou a ser amplamente discutido por especialistas da área da saúde. O conceito de síndrome foi surgindo progressivamente com trabalhos de pioneiros como Vague, que em 1947 que estabeleceu uma correlação entre distribuição da gordura corporal e doenças cardiovasculares (DCV) [1].

Reaven e Hoffman especularam a possibilidade do envolvimento da resistência à insulina e da hiperinsulinemia na etiologia da hipertensão e, em 1988, Reaven e Chen, discutiram a relação da resistência à insulina com a concentração dos ácidos graxos livres, progredindo na hipótese de que a insulina fosse um dos componentes principais no mecanismo central da SM [2,3].

Foi então estabelecida a nomenclatura Síndrome X para esta anomalia, sendo sugerido um aumento do risco cardiovascular devido à associação entre intolerância à glicose, dislipidemia e hipertensão arterial, estabelecendo-se uma relação patogênica entre tais fatores e a resistência insulínica periférica. O termo SM foi criado em 1998 pela Organização Mundial da Saúde [1].

Em 2009, várias organizações científicas e médicas *The National Cholesterol Education Program (NCEP), Adult Treatment Panel III (ATP III), The American Association of Clinical Endocrinologists (AAACE), The International Diabetes Federation (IDF), National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI), The American Heart Association (AHA), World Heart Federation (WHF)* e International Association for the Study of Obesity reuniram os principais critérios da SM num único documento nomeado como “Definição Harmonizada”. Para ser diagnosticada a presença da síndrome, o indivíduo deve apresentar três dentre os cinco fatores de risco determinados. Os fatores encontram-se descritos no Quadro 1. O tratamento medicamentoso para hipertrigliceridemia, hipertensão arterial, glicemia elevada e baixo HDL-C também é considerado na manifestação da síndrome [4,5].

A SM é definida como um transtorno complexo representado por um

conjunto de alterações metabólicas que levam a um aumento risco de DCV ateroscleróticas, diabetes mellitus (DM), e acidente vascular cerebral (AVC) [1,6,7]. O conceito de SM foi surgindo progressivamente pela observação da inter-relação entre gordura visceral, aumento dos ácidos graxos livres circulantes, dislipidemia, hipertensão arterial e intolerância à glicose e evoluindo para o aumento do risco de DM tipo 2 e DCV [1,5].

Fatores de risco	Valores de corte
Circunferência da cintura	<ul style="list-style-type: none"> Homens ≥ 102 cm Mulheres ≥ 88 cm
Triglicérides	≥ 150 mg/dL
HDL-C	<ul style="list-style-type: none"> Homens < 40 mg/dL Mulheres < 50 mg/dL
Pressão arterial	$\geq 130/\geq 85$ mmHg
Glicemia de jejum	≥ 100 mg/ dL

Quadro 1. Critérios para diagnóstico de pacientes com síndrome metabólica [4]

Função Endotelial Vascular

Uma das maneiras para identificarmos a existência dos riscos cardiovasculares é o estudo da função endotelial. As células endoteliais são constituídas por uma camada única de células que recobrem a face interna dos vasos sanguíneos, seguida por algumas camadas de células musculares lisas, e pela túnica adventícia, que faz o contato com os órgãos externos (Figura 1) [8].

As células endoteliais têm importante papel na regulação da resistência vascular e na modulação das respostas imunitárias e inflamatórias [9]. Além de produzir uma vasta gama de substâncias de caráter hormonal, o endotélio também é responsável pela síntese de fatores vasoconstritores e vasodilatadores, como o óxido nítrico que é um dos fatores relaxantes

derivados do endotélio de maior importância e está diretamente relacionado à integridade da função endotelial [10].

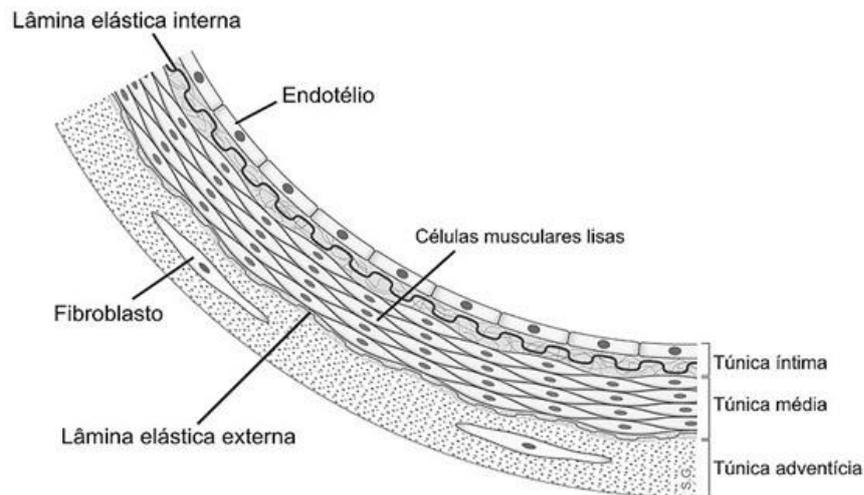


Figura 1. Estrutura do endotélio. Retirado de Maximiniano J. 2012 [8]

Clinicamente a disfunção endotelial é definida como uma alteração do relaxamento vascular dependente do endotélio. No início do processo, a agressão por agentes como o fumo, dislipidemias e hipertensão arterial levam à perda da função fisiológica do endotélio, que se torna permeável à entrada de monócitos e ação de citocinas inflamatórias. Dentro do endotélio vascular, os monócitos se diferenciam em macrófagos, que são estimulados a produzir citocinas, molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1), estimulando o processo inflamatório [11].

Por sua vez, a LDL-C entra facilmente na parede arterial, atravessando a membrana endotelial para entregar o colesterol às células. Todavia, o acúmulo de LDL-C na circulação pode levar a oxidação dos lipídios ou do apo B, gerando partículas de LDL-C modificadas que são pró-inflamatórias. A LDL-C modificada ativa as células endoteliais a expressarem a proteína quimiotática 1 de monócitos (MCP-1), que atrai os monócitos a partir do lúmen do vaso e para o espaço subendotelial, o que é uma das fases iniciais do processo inflamatório, levando ao desenvolvimento de aterosclerose [12].

Estas substâncias estimulam a deposição de células espumosas no espaço subendotelial e progressivamente podem levar a formação da placa ateromatosa [9]. Atualmente a aterosclerose é definida como uma doença inflamatória crônica, e é a causa mais comum da doença cardíaca coronariana levando a um acúmulo de placa de colesterol, cálcio e fibrina nas artérias grandes e médias. A placa pode crescer e produzir isquemia por insuficiência do fluxo sanguíneo, ou por ruptura formando um trombo ou oclusão do lúmen [13].

Fatores de Risco Cardiovascular

Tradicionalmente as hipercolesterolêmicas são definidas como o principal fator de risco para doença cardíaca coronária (NCEP-ATPIII), mas outros fatores de risco são também determinantes para o desenvolvimento da doença, como diabetes, tabagismo, sobrepeso, sedentarismo, hipertensão e outras dislipidemias [14].

Há vários critérios para a avaliação do Risco Cardiovascular (RCV) na população brasileira em geral, a V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose e I Diretriz Brasileira de Prevenção Cardiovascular recomenda a estratificação de risco cardiovascular global em três etapas [15,16]:

1 – A primeira etapa é a presença de doença aterosclerótica clinicamente evidente ou na forma subclínica, ou de seus equivalentes.

2 – A segunda etapa é a estimativa do Escore de Risco Global (ERG), que estima o risco de o indivíduo apresentar um evento cardiovascular em 10 anos. A distribuição da pontuação e o percentual de risco é diferenciado para mulheres e homens, considerando idade, HDL-C, pressão arterial sistólica (PAS) (tratada), PAS (não tratada), fumo e diabetes. Quando o ERG fica abaixo de 5%, classificamos como risco baixo (exceto aqueles com história de DCV prematura, que são reclassificados para risco intermediário). Homens com ERG entre 5% e 20% e mulheres com ERG entre 5% e 10% também são inicialmente considerados de risco intermediário. São considerados de alto risco os homens com ERG > 20% e as mulheres com ERG > 10%.

3 – A terceira etapa é a reclassificação conforme a presença de fatores agravantes.

Não existe uma forma válida no Brasil de avaliação do RCV, pois algumas mulheres jovens tendem a uma estimativa de risco mais baixa do que a real e, por outro lado, homens mais idosos são geralmente identificados como de alto risco, mesmo sem fator de risco relevantes.

Após a aplicação destes critérios, o RCV dos pacientes pode ser estimado utilizando-se a classificação estabelecida pela Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) [17].

Avaliação Biofísica

Dentre os métodos biofísicos a dilatação fluxo mediada (DILA) da artéria braquial é uma técnica ultrassonográfica, não-invasiva, simples, utilizada como marcador de risco para DCV, e vem sendo amplamente utilizada em pesquisa clínica para avaliar a função endotelial. Em indivíduos saudáveis, a DILA da artéria braquial representa 10% do diâmetro em repouso. Em pacientes com DCV, a DILA da artéria braquial está diminuída ou ausente, com valores de dilatação de menor que 10% [18,19]. Para identificarmos a disfunção endotelial, as medidas da função endotelial, através dos métodos biofísicos são, sem dúvida, as mais fidedignas. Outros marcadores bioquímicos permitem interferência mecânicas e não são claros para identificar a perda da função endotelial e suas consequências. Esse método de DILA da artéria braquial é considerado de baixo custo e seguro, permite uma investigação precoce da aterosclerose, é muito aplicado em estudos desenvolvidos mundialmente e com resultados confiáveis [20,21,22,23].

Recentes avanços tecnológicos de diagnósticos das DCV permitem uma avaliação melhor das lesões ateroscleróticas da carótida em estágios subclínicos. Entre esses, a avaliação biofísica é uma ferramenta útil de detecção de RCV de longo prazo em pacientes assintomáticos, ajudando a refinar a estratificação da pontuação de risco e orientar a intervenção aos pacientes [24].

Há uma relação definida entre o espessamento médio intimal (EMI)

com os fatores de RCV tradicionais, como idade, hipertensão, obesidade, dislipidemia e diabetes. Além disso, a ultrassonografia pode identificar alguns indivíduos de alto risco devido a presença de lesões ateroscleróticas, que não são identificadas pela avaliação de fatores de risco tradicionais. Uma meta-análise (Lorenz et al, 2015) mostrou que o risco relativo para AVC e infarto do miocárdio aumentam proporcionalmente com o aumento do EMI da artéria carótida. Assim, o EMI da carótida é um preditor de RCV não invasivo que pode ser utilizado para a predição de DCV em pacientes assintomáticos [18,25].

Síndrome Metabólica e Suco de Laranja

Estudos clínicos e epidemiológicos tem sugerido que a ingestão elevada de frutas e hortaliças está associada com um menor risco de desenvolvimento da doença arterial coronariana, diabetes e SM. Este efeito tem sido relacionado ao conteúdo de antioxidantes em alimentos, como também pela presença de compostos bioativos (ácidos fenólicos) e ácidos graxos mono e poli-insaturados [26].

Por outro lado, dietas ocidentais, que são tipicamente ricas em gorduras saturadas e açúcares, e pobres em fibras, estão associadas a um maior risco de desenvolver DM tipo 2 e DCV [27]. Outros fatores dietéticos podem também contribuir, como o excesso de energia, a obesidade e a inatividade física. De fato, a ingestão de calorias em excesso pode levar à obesidade, que por sua vez está associada a transtornos metabólicos e ao estado inflamatório sistêmico de baixo grau. Uma visão ampla é que a obesidade predispõe à gordura ectópica e, portanto, à fatores de risco metabólicos [28,29].

Neste sentido, recomenda-se uma dieta normocalórica, ou hipocalórica para pessoas obesas, rica em hortaliças, leguminosas, grãos integrais e frutas, priorizando a ingestão de fibras e minimizando o consumo de alimentos ricos em açúcares adicionados. Evidências obtidos de estudo *in vitro*, de animais e em ensaios clínicos com humanos indicam que os compostos fitoquímicos presentes em muitas frutas, como os flavonoides cítricos, são

capazes de modular os biomarcadores associados ao metabolismo da SM [30].

As frutas cítricas são fontes tradicionalmente conhecidas por seu alto conteúdo de vitamina C, mas também por fornecerem nutrientes essenciais como açúcar, fibras, folato, carotenoides, potássio, cálcio e magnésio, além de serem consideradas fontes quase exclusivas de flavonoides cítricos. O Quadro 2 mostra a análise da composição nutricional típica de um copo de suco de laranja 100% realizada em nosso laboratório [31].

Nutrientes	Porção de 250 mL
Energia (kcal)	120
Carboidratos (g)	28
Sacarose (g)	15
Glicose (g)	6
Frutose (g)	7
Pectina (g)	0,7
Proteína (g)	1,7
Lipídeos (g)	0,3
Vitamina C (mg)	72,5
Hesperidina (mg)	60,8
Naringina (mg)	13,3

Quadro 2. Composição química do suco de laranja 100% [31].

Entre os flavonoides cítricos, os mais conhecidos são a hesperidina e naringina que possuem propriedades anti-inflamatórias, anticolesterolêmicas, anticarcinogênicas. Nas frutas cítricas, em especial no suco de laranja, os efeitos dos flavonoides parecem se sobrepôr à ação antioxidante da vitamina C, ampliando sinergicamente o efeito antioxidante dessas frutas [32,33].

Alguns estudos apontam benefícios do consumo do suco de laranja quando ele está associado à uma dieta saudável. Por exemplo, a ingestão de 750 mL de suco de laranja por dia para pessoas eutróficas e obesos reduziu significativamente LDL-C, proteína C reativa e pressão arterial, além de melhorar a sensibilidade à insulina e a capacidade antioxidante no sangue. Outro estudo mostrou que o consumo do suco de laranja por um período

mínimo de um ano foi associado a menor risco cardiovascular em homens e mulheres, com níveis normais e moderadamente altos de colesterol sanguíneo [34,35].

Recentemente um estudo realizado por nosso grupo com indivíduos obesos mostrou que a associação do suco de laranja 100% a uma dieta de restrição calórica promoveu a perda de peso e melhorou vários parâmetros bioquímicos e metabólicos, como o colesterol total, insulina e proteína C reativa ultrasensível, e a sensibilidade à insulina, sem, contudo, elevar a glicemia plasmática [36].

Assim, com base nas evidências que mostraram ações benéficas do suco de laranja, a hipótese desse estudo foi que o consumo de suco de laranja associado a um padrão alimentar saudável, reduz o risco cardiovascular e melhora a função endotelial vascular de indivíduos com síndrome metabólica.

CAPITULO 1.

Suco de laranja combinado a um padrão alimentar saudável melhorou a função endotelial e reduziu o risco cardiovascular em pacientes com síndrome metabólica: ensaio clínico randomizado

Renata B. de Oliveira ¹; Olivia F. Ponce ¹; Michel Nasser ²; Thais B. Cesar ^{*1}.

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP- Univ. Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Departamento de Alimentos e Nutrição, Laboratório de Nutrição. Rodovia Araraquara-Jaú, km 1 - Araraquara 14801-902, SP – Brasil.

² Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Departamento de Medicina, área da Saúde do Adulto e do Idoso. Rodovia Washington Luis, Km 235 Monjolinho, São Carlos 13565-905, SP – Brasil.

*Correspondências para Thais Cesar, tcesar@fctar.unesp.br; tel. +55 16 3301-6927.

Resumo:

Objetivos: Verificar se a administração regular de suco de laranja 100% puro, associado a um padrão alimentar saudável, reduz o risco cardiovascular e melhora a função endotelial vascular de indivíduos com síndrome metabólica em doze semanas. **Métodos:** Estudo clínico randomizado de grupos paralelos com intervenção nutricional de curto prazo. A idade média foi de 48 ± 9 anos, sendo 69% mulheres e 31% homens. Os voluntários foram alocados randomicamente nos grupos: controle (n=34) e suco de laranja (n=34), sendo que todos foram orientados a aumentar o consumo de alimentos in natura ou minimamente processados, e a reduzir os alimentos e condimentos processados e ultra processados, visando um padrão alimentar saudável. Ao grupo suco de laranja foi recomendado o uso diário de 500 mL/dia de suco de laranja, concomitantemente à dieta saudável. Ao longo de 12 semanas foram realizados: (1) avaliação antropométrica, (2) avaliação bioquímica, (3) avaliação da função endotelial e vascular, (4) avaliação do consumo alimentar e (5) estimativa do risco cardiovascular global. **Resultados:** Após as 12 semanas de intervenção foram detectados em ambos os grupos uma redução média significativa no peso corporal (-2%), IMC (-3%), massa gorda (-5%), circunferência da cintura (-6%) e na gordura visceral (-5%), IL6 (-45%), sem alteração de massa magra. No grupo controle foi detectada redução significativa no HDL-C (-10%), mas não no grupo suco de laranja. Neste grupo, foram detectadas ainda reduções significativas no colesterol total (-9.4%), ICAM (-14%), VCAM (-15%), usPCR (-22%), TNF alfa (-20%). Houve também redução significativa da função endotelial e vascular em ambos os grupos, avaliada pelos parâmetros: pressão arterial sistólica (-8%), diastólica (-9%) e redução do espessamento da artéria carótida (-8% CA-IMT). A avaliação do consumo alimentar pelo método NOVA, mostrou uma redução da ingestão de alimentos ultra processados e aumento de alimentos minimamente processados. A melhora de todos os parâmetros levou a redução do risco cardiovascular global em ambos os grupos, em especial naqueles de alto risco sugerindo benefícios da orientação nutricional e do consumo regular do suco de laranja.

Palavras-chave: suco de laranja, síndrome metabólica, orientação nutricional, função endotelial vascular, risco cardiovascular.

Orange juice combined to a healthy eating pattern improved endothelial function and reduced cardiovascular risk in patients with metabolic syndrome: randomized clinical trial

Abstract:

Objectives: To verify that regular administration of 100% pure orange juice, associated with a healthy eating pattern, reduces cardiovascular risk and improves the vascular endothelial function of individuals with metabolic syndrome in twelve weeks. **Material and Methods:** Randomized clinical study of parallel groups with short-term nutritional intervention. The mean age was 48 ± 9 years, of which 69% were women and 31% were men. The volunteers were allocated randomly in the control groups ($n = 34$) and orange juice ($n = 34$), being that all were oriented directed to increase the consumption of fresh or minimally processed, foods and reducing foods and condiments processed and ultra-processed, aiming for a standard healthy. To the orange juice group, it was recommended the daily use of 500 mL / day of orange juice concomitantly to the healthy diet. Over the course of 12 weeks, was performed: (1) anthropometric evaluation, (2) biochemical evaluation, (3) evaluation of endothelial and vascular function, (4) food consumption assessment and (5) estimation of global cardiovascular risk. **Results:** After 12 weeks of intervention, a significant mean reduction in body weight (-2%), BMI (-3%), fat mass (-5%), waist circumference (-6%) and vicinal fat (-5%), IL6 (-45%), with no change in lean mass. In the control group, was detected significant reduction in HDL-C (-10%), but not in the orange juice group. In this group, were detected still significant reductions in total cholesterol (-9.4%), ICAM-1 (-14%), VCAM-1 (-15%), usPCR (-22%) and TNF-alpha (-20%). There was also significant reduction of endothelial and vascular function in both groups, evaluated by the parameters: blood pressure systolic (-8%) and diastolic (-9%) in both groups, while reduction of carotid artery thickening (-8% CA-IMT). The evaluation of food consumption by the NOVA method, showed a reduction of the intake of ultra-processed foods and increase of minimally processed foods. The improvement of all parameters led to the reduction in overall cardiovascular risk in both groups, in special those at high risk, suggesting benefits of nutritional orientation and regular consumption of orange juice.

Key words: orange juice, metabolic syndrome, nutritional orientation, vascular endothelial function, cardiovascular risk.

1. Introdução

Evidências científicas têm mostrado que as frutas e hortaliças como parte de uma dieta balanceada reduzem o risco de desenvolver doenças, como as doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares e câncer [1,2,3,4]. O consumo frequente de frutas está correlacionado à redução da hipertensão e do colesterol sanguíneo, que são causas reconhecidas de acidente vascular cerebral e ataque cardíaco [5]. Tal proteção se deve à presença de várias moléculas bioativas, como vitaminas, minerais, e compostos fenólicos e flavonoides, que combatem o estresse oxidativo e os processos inflamatórios [6,7].

Neste sentido, os sucos de frutas, como o suco de laranja 100%, constituem excelentes opções, de fácil consumo e boa aceitação, e que auxiliam no atendimento das cotas diárias de micronutrientes e fibras solúveis, sem exceder a ingestão energética recomendada [8]. Recente estudo epidemiológico mostrou que entre os consumidores franceses, os sucos de frutas contribuíram com apenas 2% de energia diária, e com proporções significantes de vitaminas do complexo B, vitamina C, E, beta-caroteno, e importantes minerais, como magnésio e potássio, entre outros [9]. Apesar de contribuir com açúcares livres, os sucos de frutas melhoraram a qualidade da dieta sem promover o excesso de peso corporal [9,10].

Evidências atuais apontam que o consumo regular de suco de laranja 100% tem relação inversa com o índice de massa corporal, circunferência da cintura e percentual de gordura corporal em adultos [11], e um menor risco de obesidade e síndrome metabólica [10,12,13]. Um recente estudo randomizado controlado de nosso grupo mostrou que o consumo diário de suco de laranja, por indivíduos obesos sob dieta com controle calórico de emagrecimento, auxiliou na redução do peso corporal semelhante ao grupo sem suco de laranja, e melhorou a sensibilidade à insulina, perfil lipídico, estado inflamatório e oxidativo, e a qualidade da dieta em maior proporção do que nos controles [12,14].

Dados clínicos e experimentais mostraram que os flavonoides das frutas

cítricas apresentam propriedades anti-hipertensivas, hipolipemiantes, sensibilizadoras de insulina, antioxidantes, e anti-inflamatórias, que estão correlacionadas à ação anti-aterogênica [15]. Estudos clínicos destacaram que o consumo de alimentos e bebidas ricos em flavonoides cítricos melhoraram a função endotelial [16,17] em curto prazo [18,19] e longo prazo [20,21] levando a um melhor prognóstico cardiovascular [22,23]. Por exemplo, a ingestão de suco de laranja 100%, ou enriquecido com flavanonas (hesperidina e naringenina), atenuou a dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (BA-FMD) em indivíduos hipertensos durante a hiperemia reativa, devido a atividade dos metabólitos da flavanona sobre a produção de óxido nítrico que melhorou a função vascular [24]. A ingestão de curto prazo de hesperidina também resultou em melhorias significativas na função endotelial, medida pelo BA-FMD, em voluntários com a síndrome metabólica [25]. Metabólitos das flavanonas de grapefruit aumentaram a velocidade do pico sistólico (PWV) da carótida-femoral, diminuindo a rigidez central e reduzindo a estenose arterial em mulheres pós-menopausadas submetidas ao consumo crônico de suco de grapefruit [26].

Baseados nesses fatos, o presente estudo pretendeu verificar se a administração regular de suco de laranja 100% puro, como fonte de compostos antioxidantes e bioativos, associado a um padrão de alimentação saudável, reduz o risco cardiovascular e melhora a função endotelial e vascular em indivíduos com síndrome metabólica. Para testar esta hipótese foram acompanhadas as modificações nos parâmetros antropométricos, bioquímicos, endoteliais e inflamatórios relacionados ao risco cardiovascular global.

2. Método

2.1 Participantes

Oitenta e quatro indivíduos com síndrome metabólica, residentes no município de Araraquara (SP), participaram do estudo (Figura 1 - Desenho do estudo de ensaio clínico – CONSORT 2010). Estes foram recrutados por meio

eletrônico, divulgação em mídia (rádio) e cartazes afixados nas unidades da UNESP, na cidade de Araraquara, tendo esta fase três meses de duração (Junho à Setembro de 2016). O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da UNESP, sob o parecer nº 1.657.604 e, todos os indivíduos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes do início do estudo. O estudo foi registrado no *ClinicalTrial Protocol Registration and Results System*, sob identificação: NCT03301675.

Os indivíduos convidados a participar do estudo foram selecionados por meio de entrevista, conforme os critérios de inclusão: homens e mulheres de 25 a 60 anos apresentando três ou mais fatores para o diagnóstico da síndrome metabólica [27], como descrito abaixo:

- Circunferência cintura homem ≥ 102 cm e mulher ≥ 88 cm;
- Triglicérides ≥ 150 mg/dL;
- HDL-C homem ≤ 40 mg/dL e mulher ≤ 50 mg/dL;
- Pressão arterial ≥ 130 / ≥ 85 mm Hg e
- Glicose em jejum ≥ 100 mg/dL.

Foram incluídas pessoas em uso de medicamento para diabetes, hipertrigliceridemia, hipertensão arterial e baixo HDL-C, e aquelas que apreciavam o consumo de suco de laranja; facilidade para fornecer/enviar informações por meio de comunicação digital (e-mail, aplicativo de mensagens).

Não foram incluídas gestantes e lactantes, indivíduos com obesidade grau 3 ou superior ($IMC > 40$ kg/m²), fazendo uso de suplementos alimentares nos últimos três meses, e indivíduos com doenças, como diabetes *mellitus* sob insulino terapia e contagem de carboidratos, e outras doenças como câncer, doença hepática e renal.

2.2 Desenho do estudo

Este foi um estudo clínico de grupos paralelos no qual os participantes foram randomizados em dois grupos (grupo Controle e grupo Suco de Laranja), durante 12 semanas consecutivas. O estudo foi conduzido na

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP/Araraquara, entre Agosto e Dezembro de 2016. Os participantes do grupo Controle receberam orientação nutricional e, aos participantes do grupo Suco de Laranja, foi associado à orientação nutricional o consumo diário de 500 ml de suco de laranja 100%. Durante o estudo foram realizadas consultas quinzenais, com duas nutricionistas – treinadas - e os parâmetros antropométricos, bioquímicos, endoteliais, inflamatórios, dietéticos e pressão arterial foram obtidas ao início estudo (período basal) e ao final (12ª semana) do estudo. A função endotelial foi realizada e interpretada por médico vascular, em consultório clínico apropriado, também no período basal e na 12ª semana.

2.3 Intervenção nutricional

Na fase de recrutamento e sob supervisão das nutricionistas, os voluntários preencheram um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar [28], considerando as porções de alimentos consumidas por dia e semana.

O Guia Alimentar para a População Brasileira [29] constitui uma das estratégias para promoção da alimentação adequada e saudável, sendo um instrumento para apoiar e incentivar práticas alimentares saudáveis tanto individual como coletivo, da população. São abrangidas quatro categorias de alimentos, definidas de acordo com o tipo de processamento empregado na sua produção.

A primeira que deve ser a base da alimentação, reúne alimentos in natura que são aqueles obtidos diretamente de plantas ou de animais (como folhas e frutos ou ovos e leite) e adquiridos para consumo sem que tenham sofrido qualquer alteração após deixarem a natureza ou os alimentos minimamente processados que são os in natura que, antes de sua aquisição, foram submetidos a alterações mínimas. Exemplos: legumes, verduras, frutas, batata, mandioca, tubérculos, arroz branco ou integral entre outros.

A segunda categoria, que deve ser consumida em pequenas quantidades, corresponde a produtos extraídos de alimentos in natura ou diretamente da natureza por processos como prensagem, moagem,

trituração, pulverização e refino. São usados para temperar e cozinhar alimentos e para criar preparações culinárias variadas e saborosas, incluindo caldos e sopas, saladas, tortas, pães, bolos, doces e conservas entre outros.

A terceira categoria, corresponde a produtos fabricados pela indústria com a adição de sal ou açúcar ou outra substância de uso culinário a alimentos in natura para torna-los duráveis e mais agradáveis ao paladar. Exemplos: cenoura, pepino, ervilhas, palmito, cebola, couve-flor preservados em salmoura; extrato ou concentrados de tomate (com sal e ou açúcar); frutas em calda ou cristalizadas; carne seca e toucinho; sardinha e atum enlatados; queijos; e pães feitos de farinha de trigo, leveduras, água e sal.

A quarta categoria, corresponde a produtos cuja fabricação envolve diversas etapas e técnicas de processamento e vários ingredientes, muitos deles de uso exclusivamente industrial. São formulações industriais feitas inteiramente ou majoritariamente de substâncias extraídas de alimentos (óleos, gorduras, açúcar, amido, proteínas). Exemplos: vários tipos de biscoitos, guloseimas em geral, cereais açucarados, bolos, barras de cereal, sopas, macarrão e temperos 'instantâneos', molhos, salgadinhos "de pacote", refrescos e refrigerantes, iogurtes entre outros.

Na semana inicial do experimento (período basal), os nutricionistas orientaram individualmente os pacientes em consultas quinzenais, com base nos questionários previamente avaliados, sobre quais alimentos deveriam ser mantidos, restritos, excluídos ou adicionados na dieta, visando alcançar um padrão dietético mais saudável. Foi destacada a importância da variação dos alimentos, sugestões de horários e quantidade de refeições. Foram feitas sugestões de preparações de acordo com a rotina individual. As orientações foram feitas com base no Guia Alimentar Brasileiro [29]. Foi enfatizada a exclusão de alguns alimentos e substituições de outros.

Para os indivíduos do grupo Suco de Laranja foram entregues, semanalmente quatro litros de suco de laranja congelado, que deveriam ser consumidos ao longo da semana. Os participantes foram orientados a ingerirem 500 mL/dia, distribuídos em duas porções de 250 mL no lanche da manhã e no lanche da tarde. Diferentemente, o grupo Controle foi orientado a

limitar sua ingestão de frutas e sucos cítricos (laranja, tangerina, limão) a uma vez por semana e em pequenas quantidades. Os alimentos selecionados do lanche da manhã e tarde do grupo controle consistiam de preferencialmente de frutas não cítricas (maçã, banana, mamão, abacaxi, melancia e manga) e porções limitadas de iogurte, que contivessem quantidade energética similar ao suco de laranja do grupo experimental (120 kcal/porção). Na última semana do período de estudo, os participantes preencheram novamente o questionário semi-quantitativo de frequência alimentar [28] para a análise final do consumo alimentar.

Baseado nos registros alimentares, foi realizada a classificação dos alimentos pelo método *NOVA* [30]. Este método identifica os alimentos e produtos alimentícios em quatro diferentes grupos, de acordo com seu grau de processamento. **Grupo 1:** Alimentos in natura ou minimamente processados (leite integral, leite desnatado, sucos naturais, suco *NFC*, café e chá sem açúcar, legumes e leguminosas crus, frutas frescas, mandioca, aveia e farinha de tapioca); **Grupo 2:** Ingredientes culinários processados (ex: carnes de vaca, porco, frango, peixe e ovos – assados, fritos ou cozidos; manteiga, margarina, azeite e vinagre; sal para saladas e condimentos; suco, café e chá com açúcar; feijão e grãos; legumes cozidos; arroz branco, batata e mandioca; açúcar e mel); **Grupo 3:** Alimentos processados (ex: queijos, carnes e bacon, conservas de legumes, compotas de frutas, pão francês, pão de farinha integral); **Grupo 4:** Alimentos ultra processados (ex: iogurte natural e com frutas; salsicha e salgadinhos de pacote; maionese; refrigerantes comum e diet, suco artificial e cerveja, bolos e biscoitos em geral , chocolate, salgados, massas, pães industrializados e macarrão instantâneo).

2.4 Suco de laranja

Os participantes randomizados no grupo Suco de Laranja receberam suco de laranja 100% puro, obtido por processo comercial *NFC* (*not from concentrate*). O suco foi fornecido pela Citrosuco S.A. (Matão, SP, Brasil), foi obtido das laranjas Pera Rio, sendo acondicionado no Laboratório de Análise

Sensorial da FCFAR-UNESP em garrafas PET transparente de 2 litros. As garrafas foram mantidas congeladas até o momento da entrega aos voluntários.

O suco de laranja processado utilizado neste estudo continha 120 kcal, /250 ml, 28 g de carboidratos totais, 15 g de sacarose, 6 g de glicose, 7 g de frutose, 0.7 g de pectina, 72,5 mg narirutina, 61 mg hesperidina [31]. As características físico-químicas do suco de laranja foram: 0,7% de acidez total titulável, 15° Brix de sólidos solúveis totais, 204 mg de ácido ascórbico, 34 mg de compostos fenólicos de equivalente em ácido gálico, e 950 equivalentes de trolox de capacidade antioxidante [31].

2.5 Avaliação Antropométrica

A circunferência da cintura (cm) foi aferida no ponto médio entre a última costela e crista ilíaca com fita métrica inelástica. As medidas de peso corporal (kg), massa magra (kg), massa gorda (kg), e área de gordura abdominal (cm²) foram analisadas por equipamento de bioimpedância tetrapolar de alta frequência (Inbody 720®). Antes do exame, os voluntários deveriam estar em jejum completo de 2 horas, estar vestindo roupas leves, não ingerir bebida alcoólica e não praticar atividade física intensa nas últimas 24 horas. A estatura foi medida apenas na primeira consulta com o voluntário descalço e com estadiômetro de precisão 0,1 cm.

2.6 Avaliação Laboratorial

A coleta das amostras de soro foi realizada por técnicos do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas de Araraquara – SP. Foram coletados 30 mL de sangue dos participantes, em jejum de 12h, O sangue foi centrifugado (3.000 rpm por 10 min) para obtenção das alíquotas de soro, que foram devidamente identificadas e armazenadas a -80°C até a realização dos procedimentos analíticos. Ao longo do estudo, foi pedido aos participantes que mantivessem o uso dos medicamentos habituais e os níveis de atividade física. Os participantes do grupo Suco de Laranja foram monitorados para a ocorrência de efeitos adversos oriundos da ingestão de suco de laranja, como

manifestações gastrointestinais, alergias ou alguma ocorrência considerada anormal.

As medidas de colesterol total, LDL-C, HDL-C, triglicérides, glicemia foram avaliadas pelo método de Química Seca, sistema analítico VITROS 250 Chemistry System®, Ortho Clinical Diagnostics, da Johnson & Johnson®. A análise do ácido úrico foi realizada através do método enzimático automatizado. Os valores de insulina foram avaliados por ensaio de eletroquimioluminescência. A análise de usPCR foi realizada usando método automatizado de imunoturbidimetria, capacidade antioxidante total foi avaliada pelo método do radical ABTS [32]. Os marcadores inflamatórios TNF-alfa e IL-6 e os biomarcadores de função endotelial ICAM-1 e VCAM-1 foram analisados por meio de KIT comercial MILLIPLEX para Luminex.

2.7 Pressão arterial

A pressão arterial sistólica e a diastólica foram aferida em duplicata, e foi considerada a média dessas medidas, por meio de equipamento automático de braço superior e digital (ReliOn, HEM-741CRELN, USA). Todas as medidas foram tomadas de acordo com a prática padrão pela mesma profissional nutricionista. Os pacientes permaneciam em silêncio, sentados e relaxados por pelo menos 5 minutos antes da aferição.

2.8 Função Endotelial

Espessamento Médio Intimal da Artéria Carótida (CA-IMT)

Foi realizado o ultrassom-doppler das carótidas onde os pacientes permaneceram em decúbito dorsal horizontal com a cabeça ligeiramente inclinada para o lado contralateral à carótida estudada. Utilizou-se o equipamento ultrassonográfico SAMSUNG, SonoAce R7 EX, com Color Doppler, Power Doppler, Power Doppler Direcional, Doppler Espectral Pulsado, com um transdutor linear de 5 a 12 MHz com cortes longitudinais e transversais.

O espessamento médio intimal (CA-IMT) foi obtido pelo método automatizado, com determinação das espessuras máxima e média, utilizando

se software específico (AtheroEdge™). As medidas foram aferidas na parede posterior das carótidas comuns, esquerda e direita, em um segmento de aproximadamente 10 cm de extensão, precedendo o bulbo carotídeo. Foi considerada a média entre as duas medidas para fornecer a CA-IMT máxima e média. Para obtenção do espessamento médio intimal (CA-IMT) foram realizados 150 pontos de medidas automatizadas (no mínimo), e o ponto de maior espessura foi considerado o espessamento médio intimal máximo. Foi utilizado gel condutor sobre a pele do paciente na região do transdutor (aparelho que emite e detecta ondas sonoras e captam o movimento do sangue nos vasos). Em seguida foram geradas imagens em cores das artérias e que foram visualizadas no aparelho de ultrassom, como também a produção de sons similares aos batimentos cardíacos, a partir da passagem do sangue nas artérias, sendo posteriormente analisadas pelo médico especialista.

O CA-IMT é um marcador de aterosclerose subclínica (lesão assintomática) e deve ser avaliada em todos os pacientes adultos ou hipertensos assintomáticos com risco moderado de doença cardiovascular. Valores de espessura íntima-média (CA-IMT) com menos de 1,0 mm, de acordo como a Associação Brasileira de Cardiologia, devem ser considerados anormais. A ultrassonografia da artéria carótida é o método de escolha e os resultados são confiáveis, desde que determinados padrões sejam seguidos.

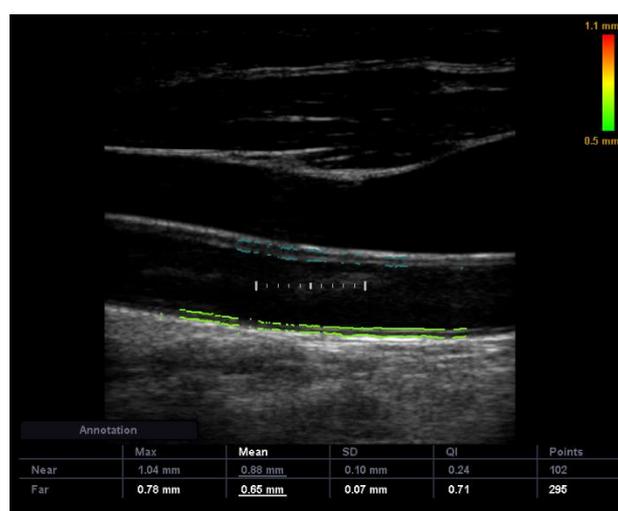


Figura 2. Imagem representativa de medições da espessura da média íntima.

Velocidade Pico-Sistólica (CA-PWV) da artéria carótida

As medições para o cálculo do pico sistólico da artéria carótida (CA-PWV) comum e interna foram realizadas simultaneamente ao teste CA-IMT com o ultrassom, posicionando o ângulo da insonação, entre o raio do transdutor e o eixo axial do vaso, o mais próximo possível do zero. Ambos são medidos através do doppler das carótidas. Todos os exames foram realizados pelo mesmo operador, médico vascular, em seu consultório, em sala apropriada contendo todo material necessário e com auxílio de enfermagem durante os exames.

Dilatação fluxo mediada da artéria braquial (BA-FMD)

A dilatação fluxo mediada da artéria braquial (BA-FMD) foi avaliada pelo diâmetro da artéria antes e pós-isquemia induzida, após 15 minutos de descanso na posição supina em uma sala silenciosa com ar condicionado, [33]. Segundo as diretrizes preconizadas, é encontrada uma posição satisfatória para a localização do transdutor, e seguida é marcada a fossa cubital (área triangular na porção anterior do cotovelo). Após um descanso de 10 minutos na posição de decúbito dorsal, a artéria braquial foi identificada longitudinalmente de 2–10 cm proximal à fossa cubital, e finalmente a BAFMD é mensurada. Um único pesquisador, analisou todos os arquivos de imagens, e o diâmetro de pico foi definido como o maior diâmetro obtido após a liberação da oclusão. A resposta da FMD foi calculada como alteração relativa do diâmetro diastólico em relação ao valor basal, em comparação com o diâmetro diastólico máximo. Ao final obteve-se a média das medidas efetuadas [33,34].

Estratificação do Risco Cardiovascular

A estratificação do Risco Global, foi realizada com base na V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose [35], que recomenda três etapas:

Etapa 1: Identificação de doença aterosclerótica clinicamente evidente ou, formas subclínicas de aterosclerose, como doença arterial coronariana,

cerebrovascular ou obstrutiva periférica; aterosclerose subclínica significativa documentada por métodos diagnóstico; procedimentos de revascularização arterial; diabetes *mellitus* tipos 1 e 2; doença renal crônica; hipercolesterolemia familiar. Se positiva, o indivíduo é imediatamente classificado como alto risco, pois a chance de apresentar um primeiro ou novo evento cardiovascular em 10 anos é superior a 20%.

Etapa 2: Análise do risco global: Quando o indivíduo não se enquadra nas condições descritas da primeira fase, faz-se a estimativa do Escore de Risco Global. Esse algoritmo estima o risco do indivíduo apresentar um evento cardiovascular (Doença Arterial Coronariana, Acidente Vascular Cerebral, Doença Arterial Obstrutiva Periférica, Insuficiência Cardíaca) em 10 anos. A distribuição dos pontos e percentual de risco é diferenciada para mulheres e homens, idade, HDL-C, PAS (não tratada), PAS (tratada), fumo e diabetes. Quando o ERG é inferior a 5%, o paciente é classificado como “risco baixo”, exceto aqueles com história familiar de doença cardiovascular prematura, sendo reclassificado para “risco intermediário”. Homens com ERG entre 5% e 20% e mulheres com ERG entre 5% e 10% também são inicialmente considerados de “risco intermediário”. São considerados de “alto risco” os homens com ERG > 20% e as mulheres com ERG > 10%.

Etapa 3: Reclassificação do risco devido a fatores agravantes. Os pacientes de risco intermediário que apresentam quaisquer fatores agravantes são reclassificados para “alto risco”. São considerados fatores agravantes: história familiar de doença arterial coronariana prematura (parente do primeiro grau masculino <55 anos ou do sexo feminino <65 anos); síndrome metabólica; proteína C reativa de alta sensibilidade > 2 mg/L; espessura íntima-média carotídea > 1,00 mm.

2.9 Cálculo amostral, Randomização e Análise Estatística

O tamanho da amostra foi estabelecido com o programa BioEstat 5.0 com nível de significância de 5% e um poder mínimo do teste de 80%. Para esse cálculo foram levados em consideração resultados previamente obtidos por Ribeiro, et al, 2017 em uma população com características semelhantes,

na qual observou-se a redução nos valores de LDL-C após intervenção com suco de laranja [14]. Portanto, para foi estimado um tamanho amostral mínimo de 21 indivíduos por grupo, totalizando 42 indivíduos. O tamanho final da amostra foi estimado considerando-se uma taxa de desistência de 15%, totalizando 48 indivíduos.

A estratificação foi realizada por sexo dos participantes selecionados por e distribuídos segundo sequência de números aleatórios gerados por computador. A aleatorização foi feita em seguida, através do método de em blocos de quatro, onde foram sorteados os seis arranjos possíveis, considerando-se os dois grupos de estudo. Os pesquisadores responsáveis pela intervenção realizaram a alocação e atribuição dos participantes às intervenções, assim como a entrega do suco de laranja ao longo do período de estudo.

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pela assimetria e curtose. Foi aplicado o teste *T student* para amostras independentes entre os grupos para comparar o novo padrão alimentar dos pacientes. Utilizou-se a análise de variância de medidas repetidas mista (ANOVA *two way*) seguido da análise post-hoc (Sidak) para verificar mudanças das variáveis ao longo dos tempos de estudo e também entre as intervenções. Utilizou-se o programa computacional SPSS (Statistical Package Social Sciences) versão 22 sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$.

3 Resultados

3.1 População de estudo

Finalizaram o estudo sessenta e oito participantes, com idade média de 47 ± 8 anos, sendo a maioria constituído por mulheres (69%). Todos os voluntários foram classificados de acordo com o IMC: acima do peso (19%), obesidade grau 1 (40%), obesidade grau 2 (39%). Em relação ao nível de escolaridade, 13% dos indivíduos possuíam ensino fundamental, 51%, ensino

médio, 32% ensino superior completo e 6 % pós-graduação. Um total de 76% declarou ter renda até 4 salários mínimos, 14% entre 4 e 8 salários e 10%, de 8 a 10 salários. Em relação à prática de atividade física, 35% declararam praticar atividades leves (caminhadas) e 65% não praticavam qualquer tipo de atividade. Nenhum participante fazia uso de suplementos dietéticos, e apenas um indivíduo se declarou fumante.

No grupo controle, 47% dos indivíduos não faziam uso de medicamentos, e 32% utilizavam drogas para hipertensão, 6% para triglicérides elevado e 41% para diabetes. No grupo Suco de Laranja, 32% dos indivíduos não faziam uso de medicamentos, e 59% utilizavam drogas para hipertensão, 6% para colesterol elevado e 23% para diabetes. Não houve relato de efeitos adversos pelo consumo de suco de laranja durante todo o período do experimento. Durante o estudo, os participantes não alteraram seu nível de atividade física e o uso de medicamentos. Na **Tabela 1** são mostradas as características basais dos participantes do estudo.

3.2 Avaliação do consumo de alimentos minimamente processados e ultra processados

De acordo com o Guia Alimentar Brasileiro e considerando suas quatro categorias de alimentos, observamos que na Categoria 1- alimentos in natura ou minimamente processados, nossos voluntários consumiam basicamente leite integral, leite semidesnatado; sucos de fruta naturais, café e chá sem açúcar; legumes e leguminosas crus, frutas frescas, farinha de aveia e farinha de tapioca, em ambos os grupos. No final do experimento o grupo controle manteve a mesma ingestão do início do experimento, porém no grupo suco de laranja, apresentou um aumento na ingestão de 15 porções na semana, que podemos associar ao consumo diário do suco de laranja.

Na categoria 2 – óleo, gordura, sal e açúcar, tanto o grupo controle, como o grupo suco de laranja, apresentaram uma redução de 10% no consumo de suco, café e chá com açúcar; feijão e grãos; sal para salada e condimentos; açúcar e mel; legumes cozidos; arroz branco e integral cozidos com óleo; manteiga, margarina, azeite e vinagre; carnes em geral.

Na categoria 3 – alimentos processados, ambos os grupos apresentaram uma redução no consumo de 8% de queijos, bacon, carnes, pão francês e integral.

Na categoria 4 – alimentos ultra processados, ambos os grupos apresentaram uma redução média no consumo de 12% de iogurte natural e com frutas, lanches de carrinho, maionese, patês, chantilly, refrigerantes, sucos artificiais, cerveja, salgados assados e fritos, massas, frios (presunto, muçarela, mortadela), pães industrializados.

A avaliação do consumo de alimentos pela classificação NOVA mostrou redução de 10% no grupo controle e 13% no grupo Suco de Laranja dos alimentos ultra processados. Já os alimentos processados foram reduzidos em 8% e 9% respectivamente nos grupos controle e Suco de Laranja, enquanto os ingredientes culinários processados reduziram em 11% nos controles e 10% no grupo Suco de Laranja. Porém, apenas o grupo Suco de Laranja mostrou aumento significativo de 30% no consumo dos alimentos in natura ou minimamente processados, enquanto os controles não modificaram o consumo desses itens dietéticos. Essas alterações se deveram à orientação nutricional frequente, e ao constante apoio presencial ou à distância por meio de telefone ou meio digital. O aumento significativo do grupo Suco de Laranja para os alimentos minimamente processados se deveu ao consumo diário de suco de laranja (**Figura 2**).

3.3 Avaliação Antropométrica

Após 12 semanas da orientação nutricional o grupo controle mostrou redução significativa do peso corporal (-2%), IMC (-3%), circunferência da cintura (-7%), massa gorda (-5%) e gordura abdominal (-5%), sem alteração da massa magra (**Tabela 2**). Similarmente, no grupo suco de laranja foi observada redução significativa no peso corporal (-2%), IMC (-2%), circunferência da cintura (-5%), massa gorda (-5%) e gordura abdominal (-4%), havendo manutenção da massa magra ao longo do período (**Tabela 2**).

As modificações advindas da orientação nutricional parecem ter afetado positivamente os parâmetros antropométricos, sem haver diferenças

entre os grupos controle e suco de laranja, e sem ser detectada perda de massa muscular durante o período do experimento (**Tabela 2**).

3.3 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos

Entre os parâmetros bioquímicos analisados, apenas o HDL-colesterol mostrou diminuição significativa de 10% no grupo controle após a orientação nutricional. Todas as outras variáveis, como: glicose, insulina, colesterol total, LDL-C, triglicérides e ácido úrico, não se modificaram nos dois grupos com as alterações dietéticas e ou com a incorporação do suco de laranja na dieta (**Tabela 2**). Porém, foi observada um aumento da capacidade antioxidante, medida pelo ABTS, de 1% em ambos os grupos (**Tabela 2**).

3.4 Avaliação dos Parâmetros Inflamatórios

Foram observadas reduções significativas em todos parâmetros inflamatórios no grupo Suco de Laranja, como descrito a seguir: ICAM-1 (-14%), VCAM-1 (-15%), usPCR (-22%), IL-6 (-45%) e TNF α (-20%). O grupo controle por sua vez diminuiu significativamente o IL-6 (-45%) e o TNF α (-14%), sendo esta diminuição menos intensa e significativa em comparação ao grupo Suco de Laranja (**Tabela 2**).

3.5 Avaliação da Pressão Arterial e da Função Endotelial

Ambos os grupos apresentaram redução significativa na pressão arterial sistólica e na diastólica após a orientação nutricional. No grupo Controle foi detectada redução de 9% na pressão sistólica e 11% na diastólica; enquanto no grupo Suco de Laranja as reduções foram de 7 e 8% respectivamente na pressão sistólica e diastólica (**Tabela 3**).

Ambos os grupos apresentaram redução significativa CA-IMT, tanto a medida manual como a medida automática média e máxima. Em ambos os grupos a CA-IMT-manual reduziu em 10% e a CA-IMT-automática máxima reduziu 5%. A CA-IMT-automática média reduziu 9% no grupo Controle, e 10% no grupo Suco de Laranja (**Tabela 3**). Ao longo do experimento, a PWV

da carótida (CA-PWV), antes e depois do tratamento, não se modificou para ambos os grupos (**Tabela 3**).

As medidas da BA-FMD foram acima de 10%, tanto no grupo Controle e Suco de Laranja, significando que a função endotelial estava normal para todos os participantes do estudo. Essas medidas também não foram diferentes ao longo do experimento para ambos os grupos (**Tabela 3**).

3.6 Avaliação do Índice de Risco Cardiovascular

No início do experimento o grupo Controle tinha 16 pessoas com risco baixo, finalizando a 12^o semana com 23 pessoas; enquanto que no grupo Suco de Laranja, na semana zero, haviam 14 pessoas e na 12^o semana foram contabilizadas 18 pessoas. Por outro lado, o grupo Controle na semana zero possuía 17 pessoas com risco alto, finalizando a 12^o semana com 9 pessoas; enquanto que no grupo Suco de Laranja, na semana zero houve 20 pessoas com risco alto, e na 12^o semana apenas 6 pessoas (**Figura 3**).

4 Discussão

Efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios sistêmicos tem sido associados ao consumo regular de frutas cítricas, ou de suco de laranja 100%, em estudos clínicos e epidemiológicos [15]. No presente estudo foi mostrado que a associação do consumo diário do suco de laranja associado a orientação nutricional para uma dieta mais saudável, reduziu fatores de risco cardiovasculares relacionados à inflamação sistêmica e a função endotelial em indivíduos com síndrome metabólica. Estes efeitos culminaram na reversão de risco cardiovascular alto para risco baixo em 41% dos pacientes, enquanto no grupo sem suco de laranja a taxa de reversão foi de apenas 24%. Tal fato, pode ser explicado à ação dos compostos antioxidantes presentes em elevadas concentrações no suco de laranja, como a vitamina C, carotenoides e flavonoides cítricos.

Ao final do período experimental foram constatados efeitos benéficos advindos da associação entre a dieta saudável e suco de laranja, que levaram

à redução de mediadores inflamatórios que impactam o risco cardiovascular, como: ICAM-1, VCAM-1, IL6, TNF- α e hsPCR, e o aumento da capacidade antioxidante e da função vascular e endotelial, monitorada pela CA-IMT, CA-PWV e BA-FMD, foram similares em intensidade e significância com a dieta isolada e na presença do suco associado à dieta. Estes resultados reforçam a ação cooperativa e sinérgica do suco de laranja na alimentação saudável, agregando benefícios extras no controle do risco cardiovascular.

Os parâmetros antropométricos também foram igualmente afetados pela dieta saudável e pela dieta com o suco de laranja, com reduções na massa corporal, IMC, circunferência da cintura, massa gorda e gordura abdominal. Esses resultados demonstraram que a orientação nutricional realizada junto aos pacientes para a aquisição de um padrão alimentar mais saudável foi alcançada. Desta forma, o suco de laranja parece contribuir no tratamento nutricional dos pacientes mantendo os benefícios alcançados pela implantação da dieta. Ao contrário de estudo anterior [14], o presente trabalho não almejou a restrição energética para a perda de peso per se, mas melhorar o padrão das preparações dos alimentos e reduzir uso dos ingredientes culinários não saudáveis. De fato, a orientação nutricional visou melhorar a qualidade nutricional da dieta, reduzindo a quantidade de alimentos processados e ultra processados, mas mantendo ou aumentando os alimentos in natura e os minimamente processados, em concordância com uma visão mais moderna da intervenção nutricional [36].

De acordo com essa nova concepção [30], uma boa nutrição deve estimular o uso de alimentos in natura ou minimamente processados, evitando o uso de alimentos processados e ultra processados. Em geral, os alimentos processados são feitos a partir de fontes baratas de energia e nutrientes, e contém diversos aditivos, como corantes, acidulantes e flavorizantes, nem sempre inócuos e ou saudáveis. Eles são ricos em amidos refinados, açúcares e sal, e pobres em proteína, fibras dietéticas e micronutrientes. Além disso são hiperpalatáveis, atrativos, com longo prazo de validade e de baixo custo, promovendo assim o consumo excessivo. Devido a intensa incorporação desses produtos na dieta dos países de média e baixa renda,

como na América Latina e especificamente no Brasil, tem havido uma redução significativa no consumo dos alimentos in natura e minimamente processados. Essa modificação nos padrões dietéticos históricos desses países tem levado ao consumo de dietas não saudáveis e a várias doenças não transmissíveis relacionadas à dieta [37].

Sob esta nova perspectiva nutricional, a incorporação do suco de laranja representou uma relevante melhoria na qualidade da dieta, pois sua adição contribuiu para o aumento de 8% do consumo dos alimentos minimamente processados (porções por semana) no grupo Suco de Laranja. Portanto, a implantação de um padrão alimentar mais saudável pelo consumo frequente do suco de laranja, e a redução dos alimentos ultra processados e processados, foi alcançado com maior sucesso no grupo Suco de Laranja. O grupo Controle também melhorou a qualidade da dieta em relação à redução de alimentos processados e ultra processados, mas não aumentou o consumo de alimentos in natura ou minimamente processados.

Todavia o uso contínuo da dieta saudável, que preconizou um teor reduzido de lipídios, foi também responsável pela diminuição do colesterol de HDL no grupo Controle. Isso pode ser considerado um fator negativo da intervenção dietética em relação ao risco cardiovascular, uma vez que este é um fator relevante na classificação da síndrome metabólica. Estudos anteriores tem mostrado que a redução de gorduras totais na dieta reduzem o LDL-C, juntamente com diminuição não desejável do HDL-C [38, 39, 40, 41]. De forma oposta, o suco de laranja não promoveu a modificação nos níveis de HDL-C, mostrando efeito neutro em relação a esta fração lipídica.

Por outro lado, o suco de laranja foi associado à redução em torno de 10% no colesterol total circulante, sem alterar o HDL-C e LDL-C. Também as medidas de glicose, insulina, triglicérides e ácido úrico não foram modificados ao longo do experimento em ambos os grupos, mostrando que o padrão saudável de dieta em associação ou não com o suco de laranja agiu de forma neutra sobre estes parâmetros bioquímicos. Interessante notar, que tanto os triglicérides com a glicemia de jejum se apresentavam muito próximos ou acima do limiar de recomendação. Este perfil bioquímico demonstra que

eventos metabólicos adversos já estavam em curso, sendo que manifestações subclínicas, como a pressão elevada e a resistência à insulina foram detectados nesta população.

A ação antioxidante e anti-inflamatória do suco de laranja em associação com a dieta saudável foi observada no presente estudo pelo aumento da capacidade antioxidante e pela redução significativa dos marcadores inflamatórios IL6, TNF- α , usPCR, e da função endotelial, ICAM e VCAM. O estresse oxidativo e inflamatório tem papel crítico na aterosclerose, contribuindo para a oxidação da LDL e formação de células espumosas pró-inflamatórias [42]. Os macrófagos modificados produzem concentrações elevadas de mediadores inflamatórios e citocinas, além de fatores aterogênicos que levam a proliferação celular e degradação da matriz endotelial do vaso e, eventualmente, a eventos tromboembólicos [43]. Eles secretam citocinas inflamatórias, como IL6 e TNF α , que por sua vez estimulam a produção de moléculas de adesão, como o ICAM-1, VCAM-1, integrinas e seletinas, entre outras [44,45]. Associado a esses fatores inflamatórios subclínicos, usPCR participa diretamente no processo aterogênico, mediando o recrutamento de monócitos e estimulando a liberação de IL6 e TNF α [46]. Desta forma, é possível concluir que componentes do suco de laranja auxiliaram na redução de todos os parâmetros inflamatórios subclínicos, devido principalmente a ação dos flavonoides [25,47,48].

O exame clínico da função vascular pela técnica ultrassom-doppler mostrou que em média os pacientes com síndrome metabólica estavam dentro da faixa de normalidade para: (1) dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (BA-FMD > 10%), (2) espessamento médio-intimal da carótida (CA-IMT < 1,5 mm), e (3) velocidade de pico-sistólico (CA-PWV <125 cm/s). Esses dados sugerem a ausência de placas ateroscleróticas, ou estenose nas paredes das artérias carótidas, e normalidade do fluxo sanguíneo. Apesar dos pacientes serem todos assintomáticos, foi observada uma redução de 10% da espessura da carótida (CA-IMT) nos pacientes de ambos os grupos após a intervenção dietética. Por outro lado, entre os pacientes que apresentavam

BA-FMD <10% no início da intervenção dietética (n=11 no grupo Controle e n=15 no grupo Suco de Laranja), houve melhora significativa em 82% dos controles e em 93% daqueles que tomaram suco de laranja. Isso significa que o padrão de dieta saudável imposto aos pacientes foi favorável à reversão da disfunção endotelial-vascular, e que o suco de laranja não só sustentou, mas também ampliou o impacto positivo na função endotelial.

Adicionalmente, o estudo de correlação entre a ingestão do suco de laranja e marcadores da função endotelial, detectou uma correlação positiva e significativa entre a CA-PWV e a ingestão do suco de laranja ($r=30$, $p<0.01$), mostrando melhora do fluxo sanguíneo devido à menor rigidez da artéria braquial. Outros, já haviam detectado redução do CA-PWV com a ingestão continuada de suco de grapefruit em mulheres saudáveis na pós-menopausa. Segundo os autores, essa condição foi revertida pela ação dos flavonoides cítricos [26]. Melhoria similar na BA-FMD foi encontrada também após ingestão de refeição gordurosa associada ao suco de laranja 100% ou enriquecido com flavanonas cítricas. Este efeito positivo foi coincidente com o pico dos metabólitos de naringenina e hesperetina na circulação (7h) e níveis sustentados de óxido nítrico plasmático. De acordo com os autores, as flavanonas das bebidas cítricas seriam responsáveis por neutralizar o declínio transitório da função endotelial pós-prandial [24]. Um outro estudo também detectou normalização da BA-FMD após uma semana do consumo de suco de laranja vermelha, embora apontou que a redução dos mediadores inflamatórios usPCR, IL-6 e TNF-alfa foram responsáveis pelo efeito observado, não sendo constatada alteração no óxido nítrico plasmático [47].

No início do presente estudo foi ainda observado que entre os pacientes, 94% dos controles e 88% do grupo Suco de Laranja apresentavam pressão sistólica acima de 120 mmHg, ou seja, uma alta prevalência de hipertensão nesta população com síndrome metabólica. Todavia, o tratamento dietético reduziu a taxa de hipertensão em 18% dos controles e 21% dos pacientes tratados, que talvez possa ser atribuído ao uso continuado do suco de laranja. Anteriormente já havíamos detectado redução da pressão arterial sistólica em pacientes eutróficos, e na pressão arterial diastólica de

obesos, após a ingestão continuada de suco de laranja 100% por oito semanas [49]. Outros também mostraram redução dos níveis pressóricos após a ingestão de suco de laranja ou de flavonoides cítricos. Os mecanismos envolvidos, embora não completamente esclarecidos, passam pela redução dos mediadores inflamatórios e sistêmicos, como a IL6, TFN-alfa, e usPCR, bem como dos marcadores da função endotelial microvascular, VCAM-1 e ICAM-1 [25,47,48,50].

Finalizando a discussão dos dados do presente estudo, foi observada uma redução significativa na prevalência de alto risco cardiovascular global, de 47% nos controles, e de 70% nos pacientes tratados com suco de laranja. Pela primeira vez é mostrado que um padrão dietético saudável associado a um alimento minimamente processado, rico em compostos bioativos, como o suco de laranja, foi fundamental para a redução do risco cardiovascular global. Os mecanismos subjacentes responsáveis por esses resultados baseiam-se em estudos anteriores que mostraram que os flavonoides cítricos são capazes de reduzir o estresse oxidativo e inflamatório, com benefícios para a função endotelial e a saúde cardiovascular, reduzindo o risco cardiovascular global.

Referencias

1. López-Jaramillo P, Otero J, PA Camacho, Baldeón M, Fornasini M. Reavaliação nutrição como fator de risco para doenças cardio-metabólicas. *Colomb Med (Cali)*. 2018, 30 de junho; 49 (2): 175-181. doi: 10.25100 / cm.v49i2.3840. Reveja;
2. Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Gioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S. Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. *Am J Clin Nutr*. 2011 Feb;93(2):275-83. doi:10.3945/ajcn.110.000521;
3. Dalle Grave R, Calugi S, Centis E, Marzocchi R, El Ghoch M, Marchesini G. Lifestyle modification in the management of the metabolic syndrome:

- achievements and challenges. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2010 Nov 2;3:373-85. doi:10.2147/DMSOTT.S13860;
4. Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A, Leschik-Bonnet E, Müller MJ, Oberritter H, Schulze M, Stehle P, Watzl B. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur J Nutr.* 2012 Sep;51(6):637-63. doi: 10.1007/s00394-012-0380-y;
 5. Arboix A. Cardiovascular risk factors for acute stroke: Risk profiles in the different subtypes of ischemic stroke. *World J Clin Cases.* 2015 May 16;3(5):418-29. doi: 10.12998/wjcc.v3.i5.418;
 6. Escudero-López B, Ortega Á, Cerrillo I, Rodríguez-Griñolo MR, Muñoz-Hernández R, Macher HC, Martín F, Hornero-Méndez D, Mena P, Del Rio D, Fernández-Pachón MS. Consumption of orange fermented beverage improves antioxidant status and reduces peroxidation lipid and inflammatory markers in healthy humans. *J Sci Food Agric.* 2018 May;98(7):2777-2786. doi: 10.1002/jsfa.8774;
 7. Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomás-Barberán FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr.* 2004 Summer;59(3):113-22;
 8. Hyson DA. A review and critical analysis of the scientific literature related to 100% fruit juice and human health. *Adv Nutr.* 2015 Jan 15;6(1):37-51. doi:10.3945/an.114.005728;
 9. Bellisle F, Hébel P, Fourniret A, Sauvage E. Consumption of 100% Pure Fruit Juice and Dietary Quality in French Adults: Analysis of a Nationally Representative Survey in the Context of the WHO Recommended Limitation of Free Sugars. *Nutrients.* 2018 Apr 7;10(4). pii: E459. doi: 10.3390/nu10040459;
 10. O'Neil CE, Nicklas TA, Rampersaud GC, Fulgoni VL 3. Suco de laranja 100% o consumo está associado a melhor qualidade da dieta, maior adequação de nutrientes, diminuição do risco de obesidade e melhoria dos biomarcadores de saúde em adultos: Pesquisa de Exame de Saúde e Nutrição, 2003-2006. *Nutr J.* 2012 12 de dezembro, 11: 107. doi: 10.1186 / 1475-2891-11-107;

11. Wang B, Liu K, Mi M, Wang J. Effect of fruit juice on glucose control and insulin sensitivity in adults: a meta-analysis of 12 randomized controlled trials. *PLoS One*. 2014 Apr 17;9(4):e95323. doi: 10.1371/journal.pone.0095323. eCollection 2014;
12. Dourado GK, Cesar TB. Investigation of cytokines, oxidative stress, metabolic, and inflammatory biomarkers after orange juice consumption by normal and overweight subjects. *Food Nutr Res*. 2015 Oct 20;59:28147. doi:10.3402/fnr.v59.28147. eCollection 2015. PubMed PMID: 26490535; PubMed Central PMCID: PMC4613901;
13. Rampersaud GC, Valim MF. 100% citrus juice: Nutritional contribution, dietary benefits, and association with anthropometric measures. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017 Jan 2;57(1):129-140. Review. PubMed PMID: 25831042;
14. Ribeiro C, Dourado G, Cesar T. Suco de laranja aliado a uma dieta hipocalórica resulta em perda de peso e melhora os biomarcadores relacionados à obesidade: ensaio controlado. *Nutrição*. 2017 jun; 38: 13-19. doi: 10.1016 / j.nut.2016.12.020;
15. Assini JM, Mulvihill EE, Huff MW. Citrus flavonoids and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2013 Feb;24(1):34-40. doi:10.1097/MOL.0b013e32835c07fd;
16. Rodrigues-Mateos A, Del Pino-Garcia R, George TW, et al. Impact of processing on the bioavailability and vascular effects of blueberry (poly)phenols. *Mol Nutr Food Res* 58,1952-1961;
17. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, et al. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 1024-1029;
18. Heiss C, Finis D, Kleinbongard P, et al. (2007) Sustained increase in flow-mediated dilation after daily intake of high-flavanol cocoa drink over 1 week. *J Cardiovasc Pharmacol* 49, 74–80;
19. Heiss C, Sansone R, Karimi H, et al. (2015) Impact of cocoa flavanol intake on age-dependent vascular stiffness in healthymen: a randomized, controlled, double-masked trial. *Age (Dordr)* 37, 9794;

20. Chanut A, Milenkovic D, Manach C, et al. (2012) Citrus flavanones: what is their role in cardiovascular protection? *J Agric Food Chem* 60, 8809–8822;
21. Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, et al. (2013) Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal* 18, 1818–1892;
22. Zamora-Ros R, Jimenez C, Cleries R, et al. (2013) Dietary flavonoid and lignan intake and mortality in a Spanish cohort. *Epidemiology* 24, 726–733;
23. Wang X, Ouyang YY, Liu J, et al. (2014) Flavonoid intake and risk of CVD: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Br J Nutr* 111, 1–11;
24. Rendeiro C, Dong H, Saunders C, Harkness L, Blaze M, Hou Y, Belanger RL, Corona G, Lovegrove JA, Spencer JP. Flavanone-rich citrus beverages counteract the transient decline in postprandial endothelial function in humans: a randomised, controlled, double-masked, cross-over intervention study. *Br J Nutr*. 2016 Dec; 116(12):1999-2010. doi: 10.1017/S0007114516004219;
25. Morand C, Dubray C, Milenkovic D, Lioger D, Martin JF, Scalbert A, Mazur A. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr*. 2011 Jan; 93(1):73-80. doi: 10.3945/ajcn.110.004945;
26. Habauzit V, Verny MA, Milenkovic D, Barber-Chamoux N, Mazur A, Dubray C, Morand C. Flavanones protect from arterial stiffness in postmenopausal women consuming grapefruit juice for 6 mo: a randomized, controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr*. 2015 Jul; 102(1):66-74. doi: 10.3945/ajcn.114.104646. Epub 2015 May 27. PubMed PMID: 26016866;
27. Eduardo C, Silva S, Paola A De, Nobrega ACL, Mady C, Rossi P, et al. *I Diretriz 569 Brasileira De Diagnóstico E Tratamento Da Síndrome*

- Metabólica. Arq Bras Cardiol 570 2005;84:1–28. doi:10.1590/S0066-782X2005000700001;
28. QFA -Grupo de Pesquisa de Avaliação do Consumo Alimentar – GAC,2009
29. Brasil. Ministério da Saúde. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: MS; 2014;
30. Monteiro CA, Cannon G, Levy RB et al. NOVA. A estrela brilha. [Classificação dos alimentos. Saúde Pública.] World Nutrition Janeiro-Março 2016, 7, 1-3, 28-40;
31. de Paiva A, Gonçalves D, Ferreira P, Baldwin E, Cesar T. Postprandial effect of fresh and processed orange juice on the glucose metabolism, antioxidant activity and prospective food intake. J of Function Foods, 52, 2019,302-309;
32. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999 May;26(9-10):1231-7. PubMed PMID: 10381194;
- 33.** Garrido KU, Rezende F^oJ, Leite SP, Montenegro CAB, Koch H, Soares A. Flow-mediated dilatation of the brachial artery. Study of the endothelial function in menopause women. Rev Bras Ecocardiogr 21 (1): 22 - 26, 2008;
34. Tomiyama Y, Yoshinaga K, Fujii S, Ochi N, Inoue M, Nishida M, Aziki K, Horie T, Katoh C, Tamaki N. Accurate quantitative measurements of brachial artery cross-sectional vascular area and vascular volume elastic modulus using automated oscillometric measurements: comparison with brachial artery ultrasound. Hypertens Res. 2015 Jul;38(7):478-84. doi: 10.1038/hr.2015.6.
35. Faludi AA, Izar MC, Saraiva JFK, Chacra AP, Bianco HT, Afiune Neto A, et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. Arq Bras Cardiol. 2017;109(2 Supl 1):1-76
36. WHO, World Health Organization: 2016.

37. Monteiro CA, Moubarac JC, Levy RB, Canella DS, Louzada MLDC, Cannon G. Household availability of ultra-processed foods and obesity in nineteen European countries. *Public Health Nutr.* 2018 Jan; 21(1):18-26. doi:10.1017/S1368980017001379.
38. Bueno NB, de Melo IS, de Oliveira SL, da Rocha Ataide T. Very-low-carbohydrate ketogenic diet v. low-fat diet for long-term weight loss: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr.* 2013 Oct;110(7):1178-87. doi:10.1017/S0007114513000548. Epub 2013 May 7. Review. PubMed PMID: 23651522.
39. Foster GD, Weight and Metabolic Outcomes After 2 Years on a LowCarbohydrate Versus Low-Fat Diet: A Randomized Trial. *Ann Intern Med.* 2010 August 3;153(3):147-157. doi:10.159/0003-4819-153-3-201008030-00005;
40. Lim HY, Thiam CH, Yeo KP, Bissoendial R, Hii CS, McGrath KC, Tan KW, Heather A, Alexander JS, Angeli V. Lymphatic vessels are essential for the removal of cholesterol from peripheral tissues by SR-BI-mediated transport of HDL. *Cell Metab.* 2013 May 7;17(5):671-84. doi: 10.1016/j.cmet.2013.04.002;
41. Davis NJ, Tomuta N, Schechter C, Isasi CR, Segal-Isaacson CJ, Stein D, Zonszein J, Wylie-Rosett J. Comparative study of the effects of a 1-year dietary intervention of a low-carbohydrate diet versus a low-fat diet on weight and glycemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2009 Jul;32(7):1147-52. doi: 10.2337/dc08-2108;
42. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2004 Oct;84(4):1381-478;
43. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008 Apr;28(4):629-36;
44. Boscá L, Zeini M., Través PG, Hortelano S. Óxido nítrico e viabilidade celular em células inflamatórias: um papel para o NO na função e no destino dos macrófagos. *Toxicologia.* 15 de março de 2005; 208 (2): 249-58;

45. Lawrence T, Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willoughby DA. Possible new role for NF- κ B in the resolution of inflammation. *Nat Med* 2001; 7:1291–7;
46. Verma S, Devaraj S, Jialal I. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? C-reactive protein promotes atherothrombosis. *Circulation*. 2006 May 2;113(17):2135-50;
47. Buscemi S, Rosafio G, Arcolego G, Mattina A, Canino B, Montana M, Verga S, Rini G. Effects of red orange juice intake on endothelial function and inflammatory markers in adult subjects with increased cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr*.2012 May;95(5):1089-95. doi: 10.3945/ajcn.111.031088;
48. Asgary S, Keshvari M, Afshani MR, Amiri M, Laher I, Javanmard SH. Effect of fresh orange juice intake on physiological characteristics in healthy volunteers. *ISRN Nutr*. 2014 Mar 4;2014:405867. doi: 10.1155/2014/405867. eCollection 2014;
49. Silveira JQ, Dourado GK, Cesar TB. Red-fleshed sweet orange juice improves the risk factors for metabolic syndrome. *Int J Food Sci Nutr*. 2015;66(7):830-6. doi: 10.3109/09637486.2015.1093610. PubMed PMID: 26471075;
50. Azzini E, Venneria E, Ciarapica D, Foddai MS, Intorre F, Zaccaria M, Maiani F, Palomba L, Barnaba L, Tubili C, Maiani G, Polito A. Effect of Red Orange Juice Consumption on Body Composition and Nutritional Status in Overweight/Obese Female: A Pilot Study. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1672567. doi:10.1155/2017/1672567. Epub 2017 Mar 20;

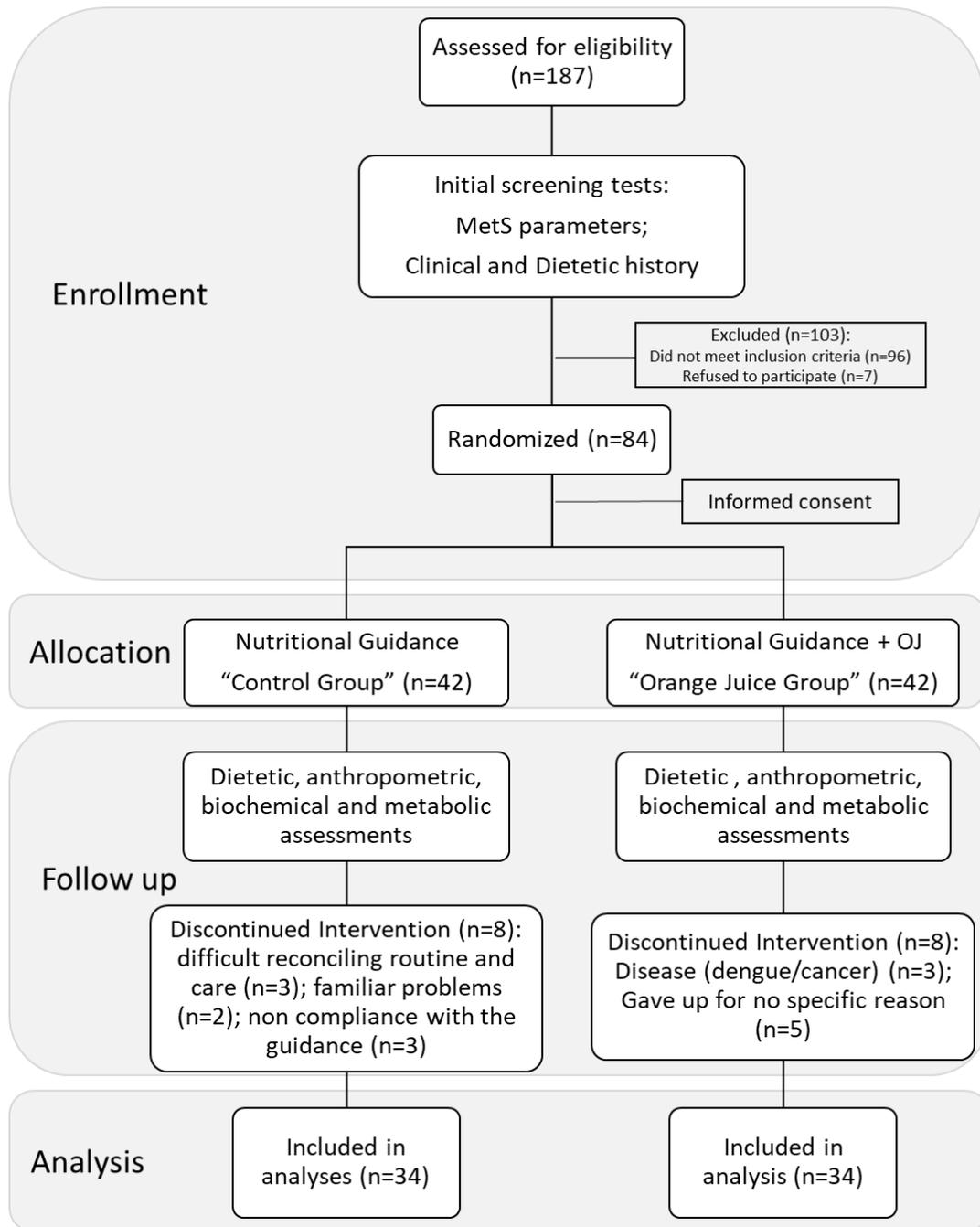
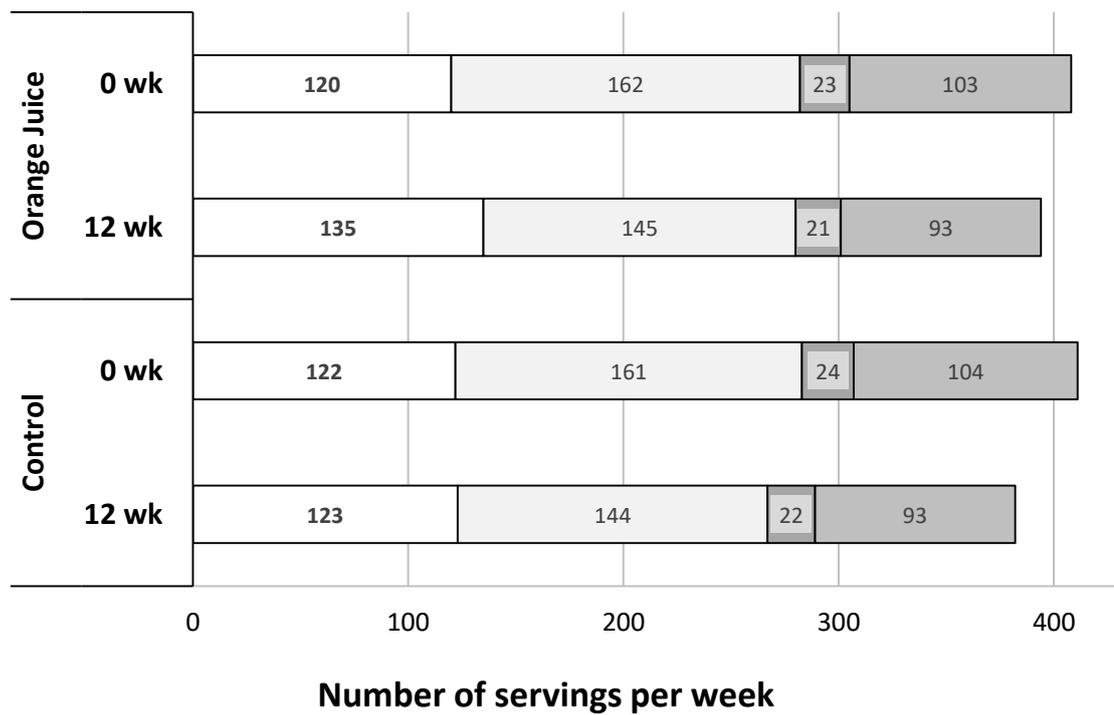


Figure 1: Study design of clinical trial



- G1 – Natural/minimally processed foods
- G2 – Processed Cooking Ingredients
- G3 - Processed Foods
- G4 - Ultra processed Foods

Figure 2: Comparison of food consumption between the control group and OJ according to the NOVA food system [Monteiro et al, 2012] expressed by the number of servings per week

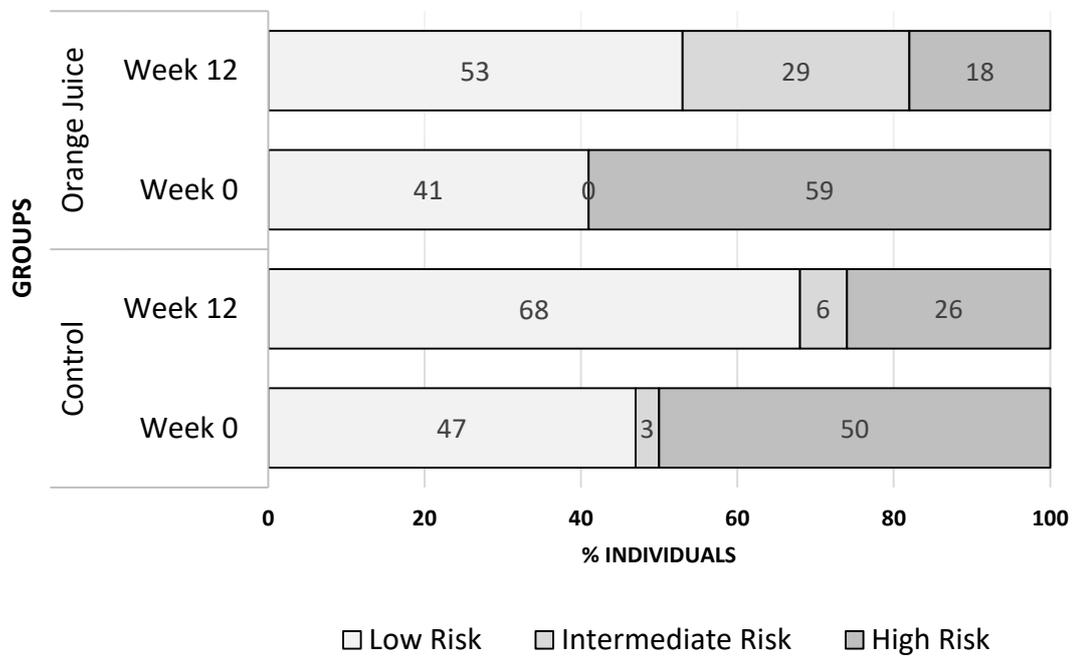


Figure 3: Global Cardiovascular Risk estimated between Control and OJ group, expressed as percentage of individuals (%), before and after healthy eating pattern treatment alone (Control) or allied to orange juice (OJ group). It was observed changes in percentage of the Global Cardiovascular Risk for both groups, by the increase of subjects within low global risk and decrease of subjects within high global risk.

Table 1: Baseline characteristics of subjects with metabolic syndrome undergoing dietary intervention combined with orange juice intake for 12 weeks

Groups		Control	Orange Juice	Total	
Anthropometry		n	34	34	68
Age		years	46 ± 9	46 ± 9	46 ± 9
Sex		m/f	11/23	12/22	23/45
Body weight		kg	95 ± 16	96 ± 16	96 ± 16
BMI		kg/m ²	35 ± 4	34 ± 4	35 ± 4
Waist Circumference		cm	106 ± 12	104 ± 10	105 ± 11
Lean mass		kg	31 ± 7	32 ± 7	32 ± 7
Fat mass		kg	40 ± 9	39 ± 9	40 ± 9
Abdominal Fat		cm ³	155 ± 31	154 ± 22	155 ± 27
Biochemical					
Glucose		mg/dL	106 ± 15	101 ± 11	104 ± 13
Insulin		μU/mL	19 ± 9	19 ± 8	19 ± 9
Total Cholesterol		mg/dL	182 ± 31	191 ± 42	187 ± 37
HDL-C		mg/dL	55 ± 12	56 ± 8	56 ± 10
LDL-C		mg/dL	81 ± 38	87 ± 29	84 ± 34
Triglycerides		mg/dL	199 ± 74	197 ± 75	198 ± 75
Inflammatory					
Adhesion Molecule	ICAM-1	ng/mL	345 ± 77	350 ± 123	348 ± 100
	VCAM-1)	ng/mL	503 ± 158	537 ± 128	520 ± 143
hsPCR		mg/L	0.52 ± 0.4	0.55 ± 0.5	0.54 ± 0.5
Uric Acid		mg/dL	5.37 ± 1.67	5.65 ± 1.51	5.51 ± 1.59
ABTS		μmol	1.63 ± 0.01	1.63 ± 0.03	1.63 ± 0.02
Interleukin-6 (IL6)		μg/L	6 ± 2	6 ± 3	6 ± 3
Tumor Necrosis Factor (TNFα)		pg/mL	6 ± 3	5 ± 2	6 ± 3
Endothelium Function					
Blood Pressure	Systolic	mmHg	139 ± 17	136 ± 16	138 ± 17
	Diastolic	mmHg	88 ± 10	86 ± 11	87 ± 11
Common carotid artery intima-media thickness, (CCA-IMT)	Manual	mm	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01
	Autom _{Max}	mm	0.72 ± 0.09	0.73 ± 0.10	0.73 ± 0.10
	Autom _{Mean}	mm	0.72 ± 0.10	0.75 ± 0.10	0.74 ± 0.10
Pulse wave velocity, (PWV)	Common _{Max}	cm/s	64 ± 13	62 ± 15	63 ± 14
	Common _{Min}	cm/s	18 ± 4	16 ± 4	17 ± 4
	Internal _{Max}	cm/s	64 ± 16	62 ± 14	63 ± 15
	Internal _{Min}	cm/s	26 ± 7	26 ± 7	26 ± 7
#Brachial artery flow-mediated dilatation, (BA-FMD)		%	11 ± 5	11 ± 4	11 ± 5

Student's t-test for independent samples, α=5%

No differences were found between the control and orange juice groups at baseline (p>0.05)

#FMD > 8% = normality,

Global Cardiovascular Risk: estimated according to the Brazilian Guidelines of Cardiology, 2013.

Table 2: Clinical parameters of subjects with metabolic syndrome undergoing dietary intervention combined with orange juice intake for 12 weeks

Groups	Control (n=34)		Orange Juice (n=34)	
<i>Anthropometric</i>	Week 0	Week 12	Week 0	Week 12
Body Weight, kg	95 ± 16 ^a	93 ± 15 ^b	96 ± 16 ^a	94 ± 16 ^b
BMI, kg/m ²	35 ± 4 ^a	34 ± 4 ^b	34 ± 4 ^a	33 ± 4 ^b
Waist Circumference, cm	106 ± 12 ^a	99 ± 8 ^b	104 ± 10 ^a	99 ± 10 ^b
Lean Mass, kg	31 ± 7	31 ± 6	32 ± 7	32 ± 7
Fat Mass, kg	40 ± 9 ^a	38 ± 9 ^b	39 ± 9 ^a	37 ± 9 ^b
Abdominal Fat, cm ³	154 ± 31 ^a	147 ± 30 ^b	154 ± 21 ^a	147 ± 23 ^b
<i>Biochemical</i>	Week 0	Week 12	Week 0	Week 12
Glucose, mg/dL	106 ± 15	103 ± 18	101 ± 11	97 ± 10
Insulin, µU/mL	19 ± 9	18 ± 8	19 ± 8	17 ± 7
Cholesterol total, mg/dL	182 ± 31	171 ± 28	191 ± 42 ^a	173 ± 35 ^b
HDL-C, mg/dL	55 ± 12 ^a	50 ± 11 ^b	56 ± 8	52 ± 8
LDL-C, mg/dL	81 ± 38	81 ± 30	87 ± 29	84 ± 29
Triglycerides, mg/dL	199 ± 74	184 ± 61	197 ± 75	184 ± 72
Uric Acid, mg/dL	5.37 ± 1.67	5.24 ± 1.44	5.65 ± 1.51	5.32 ± 1.32
ABTS, µmol	1.63 ± 0.01 ^a	1.65 ± 0.02 ^b	1.63 ± 0.03 ^a	1.64 ± 0.02 ^b
<i>Inflammatory</i>	Week 0	Week 12	Week 0	Week 12
ICAM-1, ng/mL	345 ± 77	304 ± 82	350 ± 123 ^a	299 ± 106 ^b
VCAM-1, ng/mL	503 ± 158	439 ± 151	537 ± 128 ^a	458 ± 110 ^b
IL6, mg/dL	6.3 ± 2.0 ^a	3.4 ± 1.9 ^b	6.0 ± 3.5 ^a	3.3 ± 2.1 ^b
TNFα, mg/dL	6.2 ± 3	5.3 ± 3	5.1 ± 2 ^a	4.1 ± 2 ^{b, §}
hsPCR, mg/L	0.52 ± 0.4	0.47 ± 0.4	0.55 ± 0.5 ^a	0.43 ± 0.3 ^b

ANOVA two-way of repeated measures followed by Sidak's *post hoc*. $\alpha=5\%$

^{a,b} Different lowercase letters mean difference between week 0 versus 12 for the same group.

§ means difference between groups (Control versus Orange Juice).

Table 3: Endothelial parameters of subjects with metabolic syndrome undergoing dietary intervention combined with orange juice intake for 12 weeks

Groups	Control (n=34)		Orange Juice (n=34)	
Blood Pressure	Week 0	Week 12	Week 0	Week 12
Systolic, mmHg (%)	139 ± 17 ^a	127 ± 16 ^b	136 ± 16 ^a	127 ± 15 ^b
Diastolic, mmHg (%)	88 ± 10 ^a	78 ± 11 ^b	86 ± 11 ^a	79 ± 16 ^b
Endothelium Function	Week 0	Week 12	Week 0	Week 12
Carotid Artery				
IMT-manual, mm	0.061 ± 0.01 ^a	0.055 ± 0.01 ^b	0.064 ± 0.01 ^a	0.057 ± 0.0 ^b
IMT-autom _{Max} , mm	0.72 ± 0.10 ^a	0.68 ± 0.08 ^b	0.73 ± 0.10 ^a	0.70 ± 0.09 ^b
IMT-autom _{Mean} , mm	0.72 ± 0.09 ^a	0.66 ± 0.08 ^b	0.75 ± 0.10 ^a	0.68 ± 0.09 ^b
PWV-common _{max} , cm/s	64 ± 13	65 ± 14	62 ± 15 ^a	66 ± 17 ^b
PWV-common _{min} , cm/s	18 ± 4	16 ± 4	16 ± 4	16 ± 4
PWV-internal _{max} , cm/s	64 ± 16	62 ± 15	62 ± 14	64 ± 16
PWV-internal _{min} , cm/s	26 ± 7	24 ± 16	26 ± 7	26 ± 6
Brachial Artery				
FMD, %	11.4 ± 5.4	12.3 ± 4.3	10.8 ± 4.5	12.6 ± 4.3
wk ₀ <10% and wk ₁₂ >10%	6.6 ± 2.8 ^a	12.9 ± 2.3 ^b	7.8 ± 1.8 ^a	13.9 ± 5.2 ^b

ANOVA two-way of repeated measures followed by Sidak's *post hoc*. $\alpha=5\%$

^{a,b} Different lowercase letters mean difference between week 0 versus 12 for the same group.

IMT = common carotid artery intima-media thickness

PWV = carotid artery pulse wave velocity

BA-FMD = Brachial artery flow-mediated dilatation

wk₀ = zero week; wk₁₂ = 12^o week

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo concluiu que a orientação nutricional associada ao consumo diário de suco de laranja contribuiu para melhora de fatores antropométricos, bioquímicos, endoteliais e inflamatórios em indivíduos com síndrome metabólica. Além de reverter fatores de risco cardiovasculares relacionados a função endotelial e mostrar uma diminuição no consumo de alimentos ultra processados e conseqüentemente aumento no consumo de alimentos minimamente processados e in natura.

REFERÊNCIAS

1. Micili N. A short history of the metabolic syndrome definitions. Proc. Rom._Acad., Series B, 2010, 1, p. 13–20;
2. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 1988 Dec; 37(12):1595-607;
3. Reaven GM, Chen YD. Role of abnormal free fatty acid metabolism in the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Am J Med. 1988 Nov 28;85(5A):106-12;
4. Lam DW, Leroith D. Metabolic Syndrome. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 – May 2015;
5. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation. 2009 Oct 20;120(16):1640-5;
6. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. Cardiol Res Pract. 2014. Epub 2014 Mar 11;
7. Rodrigues TC, Canani LH, Gross JL. Metabolic syndrome, insulin resistance and cardiovascular disease in type-1 diabetes mellitus. Arq. Bras. Cardiol. 2010 Jan; 94(1): 134-139;
8. Maximiano J. Faculdade de ciências médicas UNIFENAS-BH. GT5: Aterosclerose. Out, 2012;

9. Storch AS, Mattos J D, Alves R, Galdino I S, Rocha H N M. Métodos de Investigação da Função Endotelial: Descrição e suas Aplicações. *Int. J. Cardiovasc. Sci.* [Internet]. June [cited 2017 Nov 07]; 2017. 30(3):262-273;
10. Gustafson B, Hammarstedt A, Andersson CX, Smith U Inflamed adipose tissue: a culprit underlying the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007; 27:2276–2283;
11. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126;
12. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320:915-924;
13. Amuluru K, Al-Mufti F, Roth W, Prestigiacomo CJ, Gandhi CD. Anchoring Pipeline Flow Diverter Construct in the Treatment of Traumatic Distal Cervical Carotid Artery Injury. *Interv Neurol.* 2017; 6(3-4):153-162;
14. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001 May 16;285(19):2486-97;
15. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.* [Internet]. 2013 Oct [cited 2019 Feb 18] ; 101(4 Suppl 1): 1-20;
16. Simão AF, Precoma DB, Andrade JP, Correa FH, Saraiva JFK, Oliveira GMM. I Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia - Resumo Executivo. *Arq. Bras. Cardiol.* [Internet]. 2014 May [cited 2019 Feb 18] ; 102(5): 420-431;
17. Santos, RD. et al. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol.* 2001; 77(Supl 3):1-48;

18. Soares C M, et al Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial e complexo médio-intimal das artérias carótida e braquial: avaliação de indivíduos com e sem fatores de risco para aterosclerose. *Radiologia Brasileira*, 2010;43(6), 389-393;
19. Chen SF, et al. Brachial artery flow-mediated dilatation and carotid intima-media thickness in young ED patients with insulin resistance. *Int J Impot Res*. 2016; 28(5):194-9;
20. Darabian, S., Hormuz, M., Latif, M. A., Pahlevan, S., & Budoff, M. J. The Role of Carotid Intimal Thickness Testing and Risk Prediction for the Development of Coronary Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 2013; 15(3), 306;
21. Mintz GS, Garcia-Garcia HM, Nicholls SJ, Weissman NJ, Bruining N, Crowe T, Tardif JC, Serruys PW. Clinical expert consensus document on standards for acquisition, measurement and reporting of intravascular ultrasound regression/progression studies. *EuroIntervention*. 2011; 6(9):1123-30, 9;
22. Lorenz MW, et al PROG-IMT Study Group. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): a meta-analysis of individual participant data. *Lancet*. 2012 Jun 2; 379(9831):2053-62;
23. Regattieri NAT, Leite SP, Koch HA, et al. Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial: desenvolvimento da técnica, estudo em pacientes de risco para aterosclerose e em um grupo controle. *Rev Bras Ultrason*. 2006;9:9–13;
24. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Rastreamento. Brasília (Cadernos de Atenção Básica, n29),2010;
25. Lorenz MW, et al Carotid intima-media thickness progression and risk of vascular events in people with diabetes: results from the PROG-IMT collaboration. *Diabetes Care*. 2015; 38(10):1921-9;

26. Babio N, Bulló M, Salas-Salvadó J. Mediterranean diet and metabolic syndrome: the evidence. *Public Health Nutr* 2009; 12:1607–17;
27. Siri-Tarino, P. W., Sun, Q., Hu, F. B., & Krauss, R. M. Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2010; 91(3), 502–509;
28. Grundy SM. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Med*. 2016 May;26(4):364-73;
29. Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: na update. *Physiol Ver*. 2013; 93:359–404;
30. Mirmiran P, Noori N, Zavareh MB, Azizi F: Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. *Metabolism* 2009, 58(4):460–468.
31. Paiva, A., Gonçalves,D., Ferreira, OS., Baldwin, E., Cesar, T. (2019). Postprandial effect of fresh and processed orange juice on the glucose metabolism, antioxidant activity and prospective food intake. *Journal of Functional Foods*. 52. 302-309. 10.1016/j.jff.2018.11.013.
32. Terao, J. Dietary Flavonoids as Antioxidants. *Forum Nutr*, p. 87-94, 2009.
33. Sanchez-Moreno, C.; Cano, M.P.; De Ancos, B.; Plaza, L.; Olmedilla, B.; Granada, F. Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. *Am J Clin Nutr.*, p. 454-460, 2003.
34. Dourado GK, Cesar TB. Investigation of cytokines, oxidative stress, metabolic, and inflammatory biomarkers after orange juice consumption by normal and overweight subjects. *Food Nutr Res*. 2015 20; 59:28147. 29
35. Aptekmann NP, Cesar TB. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. *Lipids Health Dis*. 2013; 12:119.
36. Ribeiro C, Dourado G, Cesar T. Orange juice allied to a reduced-calorie diet results in weight loss and ameliorates obesity-related biomarkers:A randomized controlled trial. *Nutrition*. 2017; 38:13-19