

LAYANE URZEDO RODRIGUES

**SUCO DE LARANJA REDUZ COLESTEROL
E INSULINA NO SANGUE DE INDIVÍDUOS
SAUDÁVEIS**

**ARARAQUARA – SP
2008**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA**

**SUCO DE LARANJA REDUZ COLESTEROL
E INSULINA NO SANGUE DE INDIVÍDUOS
SAUDÁVEIS**

LAYANE URZEDO RODRIGUES

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Alimentos e Nutrição da Faculdade
de Ciências Farmacêuticas para
obtenção do grau de mestre em Alimentos e Nutrição –
Área de Ciências Nutricionais**

***Orientadora: Profa. Dra. Thaís Borges César
Coorientador: Prof. Dr. João Bosco Faria***

**ARARAQUARA
2008**

Ficha Catalográfica

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

R696s Rodrigues, Layane Urzedo
Suco de laranja reduz colesterol e insulina no sangue de indivíduos saudáveis. / Layane Urzedo Rodrigues. – Araraquara, 2008.
69 f.

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

Orientador: Thaís Borges César

Co-orientador: João Bosco Faria

1.Suco de laranja. 2 Colesterol. 3.LDL – Colesterol. 4. Nutrição Clínica. I. César, Thaís Borges, orient.. II.Faria, João Bosco, co-orient. III.Título.

CAPES: 40300005

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais,
Valdo e Antonia, que sempre me apoiaram
e incentivaram minhas decisões.
A vocês devo minha vida, minha formação
enquanto pessoa e profissional.

AGRADECIMENTOS

- *À Profa. Dra. Thaís Borges César, pela orientação do trabalho, oportunidade, credibilidade e confiança.*
- *Ao Prof. Dr. João Bosco Faria pela coorientação e toda atenção ao meu trabalho.*
- *À Milena Salomão Peres de Araújo, amiga, por todos os momentos de dificuldade, alegrias, aprendizado e co-participação neste trabalho.*
- *À Nancy Preising Aptekmann Bonifácio, pela colaboração neste trabalho.*
- *À Profa. Dra. Maria de Lourdes Pires Bianchi, membro da banca, que me incentivou a caminhar na vida acadêmica e pela sua presença na apresentação da defesa desta dissertação.*
- *Ao Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Júnior, membro da banca, pelas sugestões para melhoria deste trabalho e sua presença.*
- *Ao Programa de Pós-graduação, à Cláudia Lúcia Molina, Laura Rosim e Sônia Ornellas, da Seção de Pós-Graduação pela atenção e respeito.*
- *Aos funcionários da biblioteca pela disponibilidade e auxílio dispensados.*
- *A CAPES pela bolsa concedida.*
- *À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unesp de Araraquara pelo acolhimento e espaço de trabalho concedido.*
- *À Profa. Magali Monteiro pela amizade, pelos conselhos e por partilhar grandes experiências.*
- *Aos professores do curso de pós-graduação, pelo estímulo e contribuição.*

- *Aos funcionários e docentes do Laboratório de Metabolismo de Lípidos do Incor - SP, pela oportunidade da realização de parte deste trabalho.*
- *À empresa Citrosuco S/A, pela doação do suco de laranja para a realização deste trabalho.*
- *Aos funcionários e parceiros do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas, pelo auxílio e atenção.*
- *A todos os voluntários que participaram do estudo, pois sem eles este trabalho não seria possível.*

*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

Bertolt Brecht

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Thaís Borges César
(Orientadora)

Profa. Dra. Maria de Lourdes Pires Bianchi
(Membro)

Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Júnior
(Membro)

Araraquara, 03 de Novembro de 2008.

RESUMO

A Síndrome Metabólica é um transtorno complexo caracterizado por um grupo de alterações metabólicas e cardiovasculares que compreendem hipertensão arterial, hipertrigliceridemia, redução do HDL colesterol, intolerância aos carboidratos, obesidade centrípeta, aumento de inibidor-1 do ativador do plasminogênio, hiperuricemia e doença cardiovascular aterosclerótica relacionados com resistência à insulina. A resistência à insulina é uma anormalidade metabólica definida como uma redução da sensibilidade da célula à ação da insulina. A perda ou prejuízo das funções exercidas pelo endotélio vascular e o aumento na produção de radicais livres são fatores importantes para a doença aterosclerótica e a resistência à insulina. Os flavonóides são compostos naturais polifenólicos com pronunciada atividade antioxidante sobre a LDL, que leva à inibição das lesões ateroscleróticas. Juntamente com a vitamina C, estes compostos têm um papel importante na redução da concentração de insulina de jejum e melhora da função endotelial. Ambos são encontrados em sucos cítricos, especialmente no suco de laranja. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de 750 mL de suco de laranja por dia, durante 60 dias, sobre o perfil dos lípides, glicemia e insulinemia, índice HOMA, paraoxonase 1 e tamanho da HDL. A amostra populacional foi constituída de 29 indivíduos, com idade entre 25 e 55 anos, moradores da cidade de Araraquara-SP. Avaliações antropométricas, bioquímicas e do consumo alimentar foram realizadas em todos os indivíduos. A avaliação antropométrica revelou que 35% dos indivíduos estavam com sobrepeso e obesidade, e todos os indivíduos apresentavam um percentual de gordura corporal acima dos valores recomendados. Homens e mulheres com sobrepeso e obesidade apresentavam circunferência abdominal acima dos valores limítrofes para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Após a suplementação com o suco de laranja não houve alteração em nenhuma das variáveis antropométricas tanto em homens quanto em mulheres. A avaliação da ingestão

alimentar no período do experimento mostrou que o consumo de proteínas, lipídios, ácidos graxos saturados e colesterol não se alteraram com a suplementação com o suco de laranja, enquanto que o consumo de carboidratos pelas mulheres eutróficas teve um aumento significativo. O consumo de vitamina C aumentou em homens eutróficos e com sobrepeso e obesidade, assim como observado em mulheres eutróficas. A avaliação bioquímica mostrou redução significativa do colesterol total de 11% nos homens e 10% nas mulheres e redução de 15% do LDL-colesterol para ambos os sexos após a suplementação com o suco de laranja. A redução significativa do HDL-colesterol de 9% e 6% para homens e mulheres, respectivamente deve-se à redução do colesterol. Como consequência, os níveis de Apo A-I, que está acoplada à superfície da HDL, também reduziu. Nos indivíduos eutróficos houve uma redução de 15% da insulinemia e de 13% do índice HOMA neste grupo, enquanto que no grupo com sobrepeso e obesidade houve uma redução de 23% da secreção de insulina e de 18% do HOMA. Estes resultados mostraram que a ingestão de suco de laranja melhorou o perfil de lípidos sanguíneos, reduzindo o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O suco de laranja também auxiliou na redução da concentração de insulina de jejum, reduzindo o índice HOMA, e, portanto pode ser utilizado como fator de prevenção secundária do Diabetes Mellitus tipo 2.

ABSTRACT

The metabolic syndrome is a complex disorder, characterized by a group of cardiovascular and metabolic changes that include hypertension, hypertriglyceridemia, reduction of HDL cholesterol, intolerance to carbohydrates, centripetal obesity, increased inhibition of the plasminogen activator, hyperuricemia and atherosclerotic cardiovascular disease related to insulin resistance. Insulin resistance is a metabolic abnormality defined as a sensitivity reduction of the cell to the action of insulin. The loss or damage of the functions performed by the vascular endothelium and the increase in the production of free radicals are important factors for atherosclerotic disease and insulin resistance. Flavonoids are natural polyphenol compounds with pronounced LDL antioxidant activity, that leads to inhibition of atherosclerotic lesions. When taken along with vitamin C, these compounds have an important role in reducing the concentration of fasting insulin and improving endothelial function. Both compounds are found in citrus juices, especially in orange juice. This study aimed to evaluate the effect of orange juice supplementation of 750 ml per day for 60 days on the profile of lipids, glucose and insulin levels, HOMA index, paraoxonase 1 activity and size of HDL particle. The sample population was composed of 29 individuals, aged between 25 and 55 years, residents of the city of Araraquara, Sao Paulo. Anthropometric, biochemical and food intake evaluations were conducted in all individuals. The anthropometric assessment showed that 35% of subjects were overweighted or obese, moreover all subjects had body-fat percentage above the recommended standard. Men and women with overweight and obesity had abdominal circumference higher than the borderline values for cardiovascular disease development. Following orange juice supplementation, there was no change in anthropometric variables of men or women. The assessment of food intake during the experiment showed that the consumption of protein, fat, saturated fatty acids and cholesterol have not changed with the

supplementation with orange juice, while the consumption of carbohydrates by eutrophic women had significantly increased. The consumption of vitamin C increased in eutrophic men and with overweight and obesity, as well as observed in eutrophic women. The biochemical evaluation showed a significant reduction in total cholesterol levels and its fractions following orange juice supplementation, 11% for men and 10% for women for total cholesterol and a reduction of 15% for LDL-cholesterol in both sexes. The significant reduction of HDL-cholesterol levels, 9% and 6% of men and women respectively, is due to a decrease in total cholesterol and LDL-cholesterol levels. As a consequence, the levels apolipoprotein Apo AI, which is attached to the surface of HDL, were also reduced. In eutrophic subjects group there was a reduction 15% in insulin level and 13% in HOMA index, whereas the group with overweight and obesity showed a reduction of 23% in insulin secretion and 18% of HOMA index. These results supporting that ingestion of orange juice improves the blood lipid profile, reduces the risk of cardiovascular disease. The orange juice also assists in reducing the concentration of fasting insulin and HOMA index, therefore can be used as a secondary factor for the prevention of type 2 diabetes.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	14
LISTA DE ABREVIATURAS.....	15
CAPÍTULO 1: O Suco de Laranja melhora a sensibilidade à Insulina em	
Indivíduos Normoglicêmicos.....	16
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
CASUÍSTICA.....	22
Avaliação Antropométrica.....	23
Avaliação Bioquímica.....	24
Análise Estatística.....	25
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
CAPÍTULO 2: Ação Hipocolesterolêmica do Suco de Laranja em Indivíduos	
Normolipidêmicos	44
RESUMO	45
ABSTRACT.....	46
INTRODUÇÃO	47
CASUÍSTICA.....	50

	14
Avaliação Bioquímica.....	51
Suco de Laranja.....	53
Análise Estatística.....	53
RESULTADOS.....	54
DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

1. Variáveis antropométricas dos homens (n=14) no início do experimento e após a ingestão do suco de laranja. Araraquara, 2006.....	39
2. Variáveis antropométricas das mulheres (n=15) no início do experimento e após a ingestão do suco de laranja. Araraquara, 2006.....	40
3. Dados da ingestão alimentar dos homens antes e após 60 dias de experimento. Araraquara, 2006.....	41
4. Dados da ingestão alimentar das mulheres antes e após 60 dias de experimento. Araraquara, 2006.....	42
5. Análises de glicose em jejum, insulina em jejum e índice HOMA dos voluntários antes e após a ingestão do suco de laranja. Araraquara, 2006.....	43

Capítulo 2

1. Variáveis antropométricas em mulheres (n=15) e homens (n=14) distribuídas de acordo com o índice de massa corporal (IMC) no início do experimento (pré) e ao final (pós) da suplementação com suco de laranja. Araraquara-SP, 2006.....	66
2. Ingestão dietética de lipídeos totais, ácidos graxos saturados e colesterol dietético antes (pré) e após (pós) o período de suplementação com suco de laranja em homens e mulheres e comparação com as cotas dietéticas recomendadas (DRI-2005). Araraquara-SP, 2006.....	67
3. Dosagens bioquímicas dos lípides e apolipoproteínas séricas em homens e mulheres no início (pré) e final (pós) do período de suplementação dietética com suco de laranja. Araraquara-SP, 2006.....	68
4. Atividade da enzima paraoxonase 1 (PON1) e tamanho da partícula de HDL. Araraquara-SP, 2006.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAT	Acetil-Coenzima-A transferase
AHA	Associação Americana do Coração
AMDR	Variação Média Aceitável de Macronutriente
Apo A-I	Apolipoproteína A-I
Apo B-100	Apolipoproteína B-100
CA	Circunferência Abdominal
CG	Carga Glicêmica
CT	Colesterol total
DCV	Doença Cardiovascular
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DRI	Recomendações de Ingestão Dietética
IG	Índice Glicêmico
HDL	Lipoproteína de densidade alta
HDL-c	Colesterol de HDL
IMC	Índice de massa corporal
HMG-CoA r	Hidroxi-Metil-Glutaryl Coenzima A redutase
HOMA	Homeostasis model of assessment
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
InCor	Instituto do Coração de São Paulo-SP
LDL	Lipoproteína de densidade baixa
LDL-c	Colesterol de LDL
NO	Óxido Nítrico
PON 1	Paraoxonase 1
% GC	Porcentagem de Gordura Corporal
RDA	Cota Dietética Recomendada
RI	Resistência à insulina
R24h	Recordatório alimentar de 24 horas
QFA	Questionário de Frequência Alimentar
TG	Triglicerídeo
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
WHO	Organização Mundial de Saúde

CAPÍTULO 1

O SUCO DE LARANJA MELHORA A SENSIBILIDADE À INSULINA EM INDIVÍDUOS NORMOGLICÊMICOS

RESUMO

Suco de laranja é uma fonte natural de flavonóides cítricos, que podem proteger contra a doença coronariana e o câncer, e pode ser facilmente incorporado numa dieta saudável. Apesar de tudo, o suco de laranja também está associado com a alta ingestão de açúcar (glicose e frutose) que podem aumentar a resistência à insulina e levar ao diabetes e suas complicações. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do consumo diário de suco de laranja sobre a resistência à insulina (RI) determinada pelo Índice HOMA e analisar a relação com o risco de desenvolver doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2. Foram estudados 29 indivíduos não-diabéticos (14 homens e 15 mulheres), com idades entre 25 e 55 anos, selecionados aleatoriamente entre os estudantes e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, SP, Brasil. Os voluntários ingeriram 750mL/dia de suco de laranja, sem adição de açúcar, durante 60 dias. Os resultados mostraram uma redução de 15% nos níveis de insulina para os indivíduos eutróficos e de 13% para os indivíduos com sobrepeso, conseqüentemente houve uma redução do índice HOMA de 13% e 18%, respectivamente, após o tratamento dietético, mostrando o potencial do suco de laranja em aumentar a sensibilidade à insulina naqueles indivíduos e diminuindo o risco do desenvolvimento do diabetes ou da doença coronariana.

ABSTRACT

Orange juice is a natural source of citrus flavonoids that can protect against coronary heart disease and cancer and it can be easily incorporated into a healthy diet. In spite of this, orange juice is also associated with high sugar intake (glucose and fructose) that can increase insulin resistance and lead to diabetes and its complications. The objective of this study was to evaluate the effect of routine consumption of orange juice on the insulin resistance (IR) determined by Homa Index and the risk parameters to develop cardiovascular disease and diabetes mellitus type 2. We studied 29 non-diabetic individuals (14 men and 15 women), aged between 25 and 55 years, randomly selected among students and employees of a Pharmaceutical School in Araraquara, SP, Brazil. They volunteered to drink 750mL/day of orange juice, without added sugar, during 60 days. The results showed a reduction 15% of insulin levels to eutrophic individuals and 13% to overweight individuals, consequently there was a reduction of the HOMA index of 13% and 18%, respectively, after the dietetic treatment, showing the orange juice potential on increasing the sensibility to the insulin in those individuals and decreasing the risk for diabetes or coronary heart disease.

INTRODUÇÃO

A resistência à insulina é uma anormalidade metabólica definida como uma redução da sensibilidade da célula à ação da insulina na circulação sanguínea, e é característica dos indivíduos com diabetes mellitus tipo 2, diabetes tipo 1 descontrolado, cetoacidose diabética e obesidade (REAVEN, 1988; DeFRONZO, 1992; YKI-JÄRVINEN, 1986; BONADONNA *et al.*, 1990; LUZI *et al.*, 1988; KISSEBAH, 1991).

A redução da ação insulínica em indivíduos não-diabéticos pode ser acompanhada por um grupo de alterações metabólicas e cardiovasculares que compreendem hipertensão arterial, hipertrigliceridemia, redução do HDL colesterol, intolerância aos carboidratos, obesidade centrípeta, aumento de inibidor-1 do ativador do plasminogênio, hiperuricemia e doença cardiovascular aterosclerótica. Este conjunto de alterações da resistência à insulina é conhecido como síndrome de resistência à insulina ou síndrome metabólica (REAVEN, 1988; DeFRONZO *et al.*, 1991; FERRANNINI *et al.*, 1991).

Em virtude da associação entre a resistência à insulina, hiperinsulinemia e aterosclerose existe um crescente interesse no desenvolvimento de técnicas para acessar a sensibilidade à insulina *in vivo* (LAAKSO *et al.*, 1991, SAAD *et al.*, 1994). MATTHEWS e colaboradores (1985) desenvolveram uma equação empírica denominada HOMA (“Homeostasis Model Assessment”) capaz de prever a resistência à insulina por meio de medidas da glicemia e insulina de jejum. Este modelo, baseado na glicemia e insulinemia de indivíduos saudáveis e de pacientes com diversos graus de comprometimento da função da célula beta, permite avaliar o risco e realizar uma predição do desenvolvimento de Diabetes tipo 2 (KUROE *et al.*, 2003; YOSHINAGA *et*

al., 1999) . Os critérios utilizados para diagnóstico de DM e intolerância à glicose foram estabelecidos em 1997 (EXPERT COMMITTEE, 1997).

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma condição clínica geralmente insidiosa e que está associada com a obesidade na maioria dos casos (80-85%) e é o tipo mais freqüente em toda a população diabética, correspondendo a 90% das pessoas acometidas pela doença (CRUZ-FILHO *et al.*, 2002). A prevalência do DM na população adulta mundial é de cerca de 4% podendo variar de acordo com a etnia e os hábitos da população estudada, como alimentação, atividade física e prevalência da obesidade. Dos 4,9 milhões de adultos diabéticos em 1995, estima-se que em 2025 o Brasil terá cerca de 11,6 milhões (KING *et al.*, 1998) chegando a 300 milhões de pessoas no mundo todo (WINER & SOWERS, 2004).

Existem pelo menos dois defeitos metabólicos que contribuem para a etiologia do DM2: a deficiência na secreção de insulina e a resistência à ação da insulina (RI) hepática e periférica (WAJCHENBERG *et al.*, 1998). O aumento da gordura abdominal está fortemente correlacionado com a diminuição da sensibilidade à insulina (BASU *et al.*, 2003; CEFALU *et al.*, 1995; DeNINO *et al.*, 2001; BODEN *et al.*, 1993). A adiposidade corporal pode modificar a relação entre resistência à insulina, a glicose plasmática e as concentrações de insulina no plasma (FERRANNINI *et al.*, 1997; 2002; JONES *et al.*, 2000).

A alimentação equilibrada é um fator fundamental para a regulação da glicemia e conseqüentemente da insulinemia. Porém, os alimentos apresentam diferentes respostas glicêmicas e insulínicas definidas por seus índices glicêmicos. O índice glicêmico (IG) é baseado em uma escala de resposta glicêmica e insulínica a uma quantidade fixa de carboidratos (50g) quando comparado à resposta glicêmica de um alimento padrão, geralmente glicose ou pães (WILLIAMS *et al.*, 2000). O IG pode ser modificado frente à mistura de alimentos e pela interação entre eles (HOLLENBECK & COULSTON, 1991; BRAND-MILLER *et al.*, 1990; OSTMAN *et al.*, 2001; PI-SUNYER, 2002). Vários fatores relativos à constituição, forma e preparo dos alimentos podem

influenciar a carga glicêmica, como a presença de fibras dietéticas, gorduras, açúcares simples, proteína, estrutura do amido, floculação, entre outros (HOLLENBECK & COULSTON, 1991; PI-SUNYER, 2002).

A carga glicêmica (CG) do alimento é o produto do IG pela quantidade de carboidratos. A CG da dieta seria o resultado do efeito glicêmico da dieta como um todo, sendo uma medida de avaliação da quantidade e qualidade de carboidratos, considerando o efeito na glicemia do consumo de uma porção usual de um alimento (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002). As frutas cítricas apresentam um IG moderado, entre 56 a 69, enquanto o suco de laranja apresenta um IG ao redor de 50, que é considerado baixo, e apresenta carga glicêmica de aproximadamente 12, avaliada como moderada (MENDOSA). Portanto, este alimento não provoca uma hiperglicemia pós-prandial, conseqüentemente não havendo a hiperinsulinemia, que é um dos fatores de risco de desenvolvimento do DM2.

Estudos demonstram a capacidade de dietas de baixa carga glicêmica em melhorar a sensibilidade à insulina, além de apresentarem efeito terapêutico e preventivo (FROST *et al.*, 1994, 1996, 1998). Estudo prospectivo realizado com mais de 30.000 adultos mostrou que refeições com baixa carga glicêmica contribuíram para a redução do risco de diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (DCV) (HODGE *et al.*, 2004). Assim as dietas terapêuticas de baixa carga glicêmica são importantes não só para os diabéticos, mas também para indivíduos com dislipidemias e com DCV.

Os sucos cítricos, em especial o suco de laranja, são fontes de vitaminas, minerais, flavonóides e especialmente vitamina C, têm sido recomendados por vários grupos de saúde e nutrição, pois melhora o perfil lipídico e reduz o risco de doenças cardiovasculares (KUROWSKA *et al.*, 2000; LIU *et al.*, 2000; SQUIRES *et al.*, 1979; NELSON *et al.*, 1975), podendo suprimir espécies oxidativas de oxigênio e processos inflamatórios (GHANIM *et al.*, 2007). O estresse oxidativo e inflamatório em diabéticos podem contribuir para a aceleração da aterosclerose.

Neste estudo se pretendeu avaliar a contribuição de um elevado consumo de suco de laranja durante um período relativamente longo no desenvolvimento da síndrome metabólica, constituindo um risco real para indivíduos eutróficos e com sobrepeso e obesidade. Para atingir este objetivo foi avaliada a dieta, variáveis antropométricas e parâmetros bioquímicos, entre eles o HOMA, como um preditor da progressão da síndrome metabólica e do Diabetes Mellitus tipo 2.

CASUÍSTICA

Estudo longitudinal de uma amostra de 29 indivíduos de uma população de homens e mulheres adultos saudáveis, recrutados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas e na comunidade de Araraquara-SP, com idade entre 25 e 55 anos. Para o propósito deste estudo a seleção dos voluntários foi realizada de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, SP protocolo CEP/FCF/CAr nº 8/2005.

Os indivíduos foram selecionados através de entrevista individual e sua participação no estudo ocorreu conforme a disponibilidade individual. Foram excluídos aqueles com doenças da tireóide, doenças renais, cardiopatias ou diabetes, e os que faziam uso crônico de medicamentos, ou ainda os que tinham alguma restrição médica para não participar do estudo.

Foi realizada a avaliação da ingestão dietética por meio de recordatório alimentar de 24 horas, medidas antropométricas, avaliação bioquímica das curvas glicêmicas e insulínicas e intervenção dietética de 750mL de suco de laranja diariamente durante 60 dias.

O suco de laranja era concentrado congelado e foi cedido pela empresa Citrosuco Paulista S.A. de Matão-SP, fábrica de suco de laranja e subprodutos do

Grupo Fischer. O suco era retirado na própria fábrica em Matão pela pesquisadora deste estudo, em baldes de 26Kg e levado para o laboratório de Nutrição da UNESP de Araraquara-SP onde eram envasados assepticamente em garrafas de 900mL que rendiam 5,4L de suco diluído 1:6 em água.

Distribuiu-se o suco concentrado congelado mensalmente, sem qualquer custo aos participantes, em garrafas de 900mL que foram mantidas em freezer ou no congelador da geladeira. A diluição era feita diariamente, pelo participante, para 750mL de suco diluído para o consumo do dia. O suco congelado concentrado fornecido pela Citrosuco Paulista S.A. apresentava °Brix de 64,89 e Ratio de 17,12 e sua composição nutricional segue o padrão das tabelas internacionais da USDA: Nutrient Database.

Avaliação Antropométrica: Os participantes foram pesados e medidos em dois momentos do estudo, antes e após a ingestão de 750mL de suco de laranja por 60 dias. O peso corporal foi obtido com o indivíduo imóvel, sem sapatos e com roupas leves, em balança mecânica modelo 31 Filizola®, com capacidade de 150 kg e divisão de 100g. A altura foi registrada em metros e obtida a partir da fixação de uma fita inelástica em uma parede a 100 cm do chão, onde os participantes estavam em pé, descalços, com os calcanhares juntos, costas retas e os braços estendidos ao lado do corpo. A classificação do estado nutricional foi realizada segundo o Índice de Massa Corporal (IMC) (WHO, 2000). A medida da circunferência da cintura foi realizada com o indivíduo em pé, utilizando-se uma fita métrica não extensível medida na cicatriz umbilical. A medida foi feita no momento da expiração e os resultados foram interpretados com base nos valores limítrofes de 94 cm para os homens e 80 cm para as mulheres (JANSSEN *et al.*, 2002).

A análise da bioimpedância elétrica é um método rápido, não invasivo e que serve para avaliar a composição corporal. No dia que antecedeu a avaliação os indivíduos foram orientados a seguirem orientações como ingerir dois litros de líquido,

não fazer exercícios físicos ou sauna 8 horas antes do teste, não ingerir bebidas alcoólicas e café 12 horas antes do teste e evitar o uso de medicamentos diuréticos. A avaliação foi realizada com o indivíduo deitado de costas, com as pernas afastadas e os braços em paralelo afastados do tronco. No dia da avaliação os participantes encontravam-se em jejum de 12 horas. Dois eletrodos pletismógrafos foram colocados no dorso da mão e do pé direito do indivíduo deitado e em repouso sobre uma superfície não condutora de corrente elétrica. Os dois eletrodos fontes foram posicionados no nível das articulações metacarpofalangianas e metatarsofalangianas entre o segundo e terceiro dedo e os eletrodos sensores foram posicionados no punho e no tornozelo do lado direito do indivíduo. Através dos eletrodos fontes foi introduzida uma corrente de baixa intensidade, $800\mu\text{A}$ a 50kHz , que foi captada pelos eletrodos proximais. Dessa maneira, os valores de resistência e reactância obtidos foram calculados para obtenção dos percentuais de água corporal, massa magra e gordura corporal. O equipamento utilizado foi o BIODYNAMICS MODELO 310e e o tempo de duração do teste foi de aproximadamente três minutos.

Avaliação Bioquímica: As colheitas de sangue, realizadas antes do consumo diário de suco de laranja e após dois meses de ingestão do suco, foi realizada pela manhã com os indivíduos em jejum de 12 horas e deitados em repouso, entre 7h00min e 10h00min da manhã no Laboratório de Análises Clínicas São Lucas, pelos funcionários habilitados do laboratório. Uma amostra de 40mL de sangue foi colhida de cada participante, por punção venosa do antebraço, em cinco colheitas: jejum (0 min), 30, 60, 90 e 120 min após a ingestão de 75g de dextrosol diluídos em 200mL de água para determinação da concentração de insulina e glicose sanguíneas na curva glicêmica e insulínica. A determinação quantitativa da insulina foi concebida em imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche. O Kit comercial utilizado foi

o Insulin 100 testes Roche. A glicose foi determinada pelo método enzimático GOD-Trinder, utilizando o kit comercial Glicose Pap Liquiform 1 x 500ml Labtest.

Utilizando-se dos níveis de glicose e insulina em jejum é possível estimar a resistência à ação da insulina através do índice HOMA (Homeostatic model assessment). O cálculo é feito através da fórmula:

$$HOMA = \frac{\text{glicemia}(\text{mmol/L}) \times \text{insulina}(\mu\text{U/mL})}{22,5}$$

Os valores de corte para o índice HOMA que indicam resistência à insulina foram: HOMA > 3,5 para os homens e HOMA > 3,9 para as mulheres, segundo o cálculo de Turner e colaboradores (MATTHEWS *et al.* 1985).

Análise Estatística: A análise estatística dos resultados foi realizada com o auxílio do software Microsoft Office Excel 2003 e Sigma Stat, versão 2.03, 1995. As variáveis foram resumidas e tabuladas como média e desvio padrão. Todos os conjuntos de dados foram testados quanto à normalidade. O nível de significância adotada foi de 5% em todas as comparações efetuadas. Os dados com distribuição normal foram examinados por Teste t-pareado e para os dados com distribuição não normal foi utilizado o Teste de Wilcoxon.

RESULTADOS

Para verificar o impacto do suco de laranja sobre as variáveis preditoras da progressão do Diabetes Mellitus tipo 2, como a insulina plasmática, a glicemia e o índice HOMA, foi realizado um estudo longitudinal em uma amostra da população de Araraquara, SP. De acordo com a distribuição do IMC, foi constatado no início do experimento que 64% dos homens e 67% das mulheres apresentavam peso corporal dentro da faixa de normalidade ou eutrofia, sendo que os indivíduos restantes encontravam-se com sobrepeso e obesidade.

A população foi distribuída em quatro grupos de acordo com o sexo e o IMC para análise antropométrica e ingestão alimentar: homens eutróficos e mulheres eutróficas ($IMC \leq 25 \text{ kg/m}^2$), e homens e mulheres com sobrepeso e obesos ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2$). Os valores médios do peso corporal, bioimpedância e circunferência abdominal no início e no final do experimento são apresentados na Tabelas 1 e 2. Após a suplementação com o suco de laranja por 60 dias não foi observada modificação no IMC dos grupos.

A porcentagem de gordura corporal de todos os grupos estava acima dos valores de referência antes e após o período experimental e não foi observada alteração significativa após a ingestão de suco de laranja por 60 dias. Os participantes com excesso de peso, tanto os homens quanto as mulheres, apresentaram circunferência abdominal superior aos limites seguros (94 cm para os homens e 80 cm para as mulheres) (JASSEN *et al.*, 2002).

A ingestão dietética habitual dos participantes obtida pelo Recordatório Alimentar de 24 horas (R24h) e do Questionário de Frequência Alimentar (QFA), antes e após a ingestão de suco de laranja por 60 dias, são mostrados nas Tabelas 3 e 4. Apesar do suco de laranja ter sido adicionado à dieta regular dos indivíduos, não foi observado aumento significativo na ingestão energética para todos os grupos estudados, os quais apresentaram consumo energético adequado às recomendações

nutricionais. O consumo de proteínas não foi modificado com a introdução do suco de laranja para as mulheres e homens eutróficos e com sobrepeso e obesos.

A ingestão de carboidratos foi aumentada após a suplementação com suco de laranja para as mulheres eutróficas, mas não para aquelas com sobrepeso ou obesas. Não houve alteração no consumo de carboidratos entre os homens eutróficos e com sobrepeso ou obesos, no entanto, o grupo de homens com sobrepeso e obesos apresentou ingestão abaixo do valor recomendado.

A ingestão de lípidos totais dos homens e mulheres não foi modificada no período experimental, porém, as mulheres com sobrepeso apresentaram ingestão superior às recomendadas após a suplementação com o suco de laranja, embora não tenha sido significativamente alterada em relação ao período anterior. O consumo dos ácidos graxos saturados ultrapassou as recomendações para ambos os grupos dos homens e mulheres antes e após o experimento não havendo, entretanto, alteração com a adição de suco de laranja. A ingestão de colesterol não foi alterada após a suplementação com o suco de laranja, no entanto, o consumo de colesterol dos homens esteve acima da recomendação, enquanto a maioria das mulheres apresentou consumo próximo do recomendado.

O suco de laranja aumentou significativamente a ingestão de vitamina C na dieta dos homens eutróficos e com sobrepeso/obesos, este último grupo apresentava ingestão de vitamina C abaixo do recomendado antes da suplementação. Nas mulheres, o consumo de vitamina C estava adequado no início do experimento e as mulheres eutróficas mostraram um aumento significativo na ingestão de vitamina C após a suplementação com o suco de laranja por 60 dias.

A glicemia e a insulinemia de jejum dos indivíduos foram avaliadas antes e após a ingestão de 750 mL/dia de suco de laranja durante 60 dias. Nos indivíduos eutróficos não foi observada alteração da glicemia em jejum após o consumo de suco de laranja, no entanto, houve uma redução significativa da insulinemia e do HOMA neste grupo. Por outro lado, no grupo com sobrepeso e obesidade houve um aumento

da glicemia de jejum após o consumo do suco, embora foi detectada uma redução significativa da secreção de insulina e do HOMA (Tabela 5).

DISCUSSÃO

No estudo realizado, os voluntários apresentaram uma adesão satisfatória para o consumo elevado e crônico de suco de laranja. Características como sabor, fácil ingestão, e qualidades nutricionais, como a presença de vitaminas, minerais e flavonóides foram condições subjetivas muito apreciadas pelos participantes. Apesar do elevado consumo diário de suco, os participantes não aumentaram o peso corporal, a circunferência abdominal e a porcentagem de gordura corporal, contrariando a suposição de que o suco de laranja é um alimento “altamente calórico e por isso deve ser evitado”. Assim, o consumo de três copos (750mL) de suco de laranja por dia não contribuiu para o aumento de sobrepeso e obesidade na população analisada.

O consumo dietético de ácidos graxos saturados e colesterol pelos homens e mulheres, eutróficos e com sobrepeso, esteve acima dos valores recomendados, durante todo o período experimental, acompanhando a tendência do consumo elevado destes componentes da dieta como verificado nos demais países ocidentais. Portanto, o consumo de suco de laranja parece não ter tido nenhuma influência sobre estes componentes da dieta. Da mesma forma, a ingestão de proteínas não foi afetada pelo suco, o que concorda com os dados de Kurowska *et al.* (2000). A ingestão de lípidos totais pelos homens eutróficos e com sobrepeso e pelas mulheres eutróficas não excedeu o valor recomendado pela NRC (2005) após o período de suplementação. Nas mulheres com sobrepeso e obesidade, embora tenha ocorrido um aumento na ingestão de lípidos pós-suplementação, este não foi significativo.

Ao contrário, o consumo de carboidratos em mulheres eutróficas aumentou significativamente após o período de suplementação, fato relacionado à ingestão diária do suco de laranja, que foi um fator modificador do padrão de ingestão energética, acrescentando diariamente 315kcal. Não houve, entretanto alteração do consumo de

carboidratos dos homens eutróficos e com sobrepeso/obesos e das mulheres com sobrepeso/obesas, sendo que todos apresentaram um consumo energético de acordo com a recomendação diária. Assim, relativo ao consumo de carboidratos podemos concluir que 750mL por dia de suco de laranja foi adequada para a população masculina, todavia excessivo para as mulheres eutróficas. Sugerimos que experimentos desta natureza devam realizar um controle da ingestão energética total para as mulheres eutróficas, buscando equilibrar a razão do risco-benefício.

Vários estudos têm mostrado que o alto consumo de energia, principalmente na forma de lipídeos, está associado ao sobrepeso e obesidade (RAVUSSIN & TATARANNI, 1997; BRAY & POPKIN, 1998; JÉQUIER & BRAY, 2002; BRAY *et al.*, 2004). Além disso, o aumento da gordura abdominal que acompanha a obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento de intolerância à glicose e diabetes (BOYKO *et al.*, 2000; HAYASHI *et al.*, 2003). No Brasil atual foi estimado que cerca de 9% dos homens e 13% das mulheres apresentam obesidade (IBGE-POF 2000-2003). Associado a esta epidemia, vem também aumentando o número de pacientes resistentes à insulina e portadores de diabetes mellitus tipo 2 (ZANELLA *et al.*, 2001).

Devido às características multifatoriais da síndrome metabólica não existe um tratamento medicamentoso específico para tal condição, mas a terapia nutricional e a prática de atividade física são obrigatórias no combate à síndrome. O plano alimentar contemplando uma dieta equilibrada e alimentos que auxiliem no combate a resistência à insulina visa à prevenção da obesidade, dos altos níveis pressóricos e das complicações cardiovasculares relacionadas (ADA, 2004). Embora ainda não se conheça a causa específica da resistência à insulina, sabe-se que as dislipidemias associadas a uma ingestão elevada de lipídeos estão fortemente relacionadas à gênese da síndrome metabólica, sugerindo uma modificação na interação entre o metabolismo de gorduras e carboidratos (HEGARTY *et al.*, 2003).

Neste estudo a avaliação da resistência à insulina (IR) foi realizada pela estimativa do índice HOMA-IR, sendo este método comparável à técnica do CLAMP

euglicêmico de glicose em pacientes diabéticos e não-diabéticos (BONORA *et al.*, 2000). A escolha deste tipo de avaliação se deveu à praticidade do método na rotina clínica e ao fato de ser referenciado em inúmeras publicações científicas atuais. Todavia o nível do HOMA-IR adequado para diagnosticar um estado de resistência à insulina é variável (MARCHESINI *et al.*, 2003; CHITTURI *et al.*, 2002; SCHWIMMER *et al.*, 2003). Alguns estudos demonstram, no entanto, a capacidade do HOMA em prever o desenvolvimento do DM2 (RESNICK *et al.*, 2003; HAFFNER *et al.*, 1996). Como descrito na metodologia, foram utilizados os valores de corte do HOMA acima de 3,5 para os homens e 3,9 para as mulheres baseado em estudo clínico (MATTHEWS *et al.* 1985) e em indivíduos com diferentes graus de sensibilidade à insulina (BONORA *et al.* 2000).

Os participantes do presente estudo receberam uma suplementação crônica e elevada de vitamina C natural, advinda do suco de laranja, contendo cerca de 150 mg diárias desta vitamina. De acordo com Sherman *et al.* (2000), a suplementação com vitamina C pode auxiliar na redução da concentração de insulina de jejum e por isso reduzir o índice HOMA. Todavia, foi observado um aumento significativo na glicemia de jejum de homens e mulheres com sobrepeso e obesidade. Embora este aumento não tenha atingido valores acima dos recomendados, o aumento da glicemia pode estar associado ao sobrepeso, que por si só já representa uma importante alteração metabólica.

Simultaneamente, o excesso de peso, o sedentarismo, e a alimentação rica em gorduras saturadas favorecem o aumento da peroxidação lipídica que provoca alterações na permeabilidade da membrana endotelial. Este evento afeta a fluidez da membrana celular alterando a ligação da insulina com os receptores, reduzindo a atividade dos transportadores de glicose e diminuindo a absorção da glicose intravascular (CABALLERO, 1993). Ainda, as células das ilhotas pancreáticas,

produtoras de insulina, podem ser oxidadas pelos radicais livres reduzindo a síntese de proteínas (SALONEN *et al.*, 1995).

A terapêutica da ingestão aguda de vitamina C melhora a função vascular em pacientes com doença arterial coronariana (LEVINE *et al.*, 1996) e a ingestão crônica melhora a função endotelial em crianças com hiperlipidemia (ENGLER *et al.*, 2003). Em alguns estudos, a suplementação crônica com vitamina C em pacientes com diabetes tipo 2 provoca uma diminuição de radicais livres no plasma que está associada com a melhora da captação da glicose (PAOLISSO *et al.*, 1995), diminuição da pressão sanguínea (MULLAN *et al.*, 2002), e melhora da função endotelial (REGENSTEINER *et al.*, 2003).

A disfunção endotelial contribui diretamente para a resistência à insulina, pois no endotélio dos vasos a vitamina C estimula a produção de óxido nítrico (NO) (ZENG & QUON, 1996) levando à vasodilatação e ao aumento do fluxo sanguíneo. Isto aumenta significativamente a mediação da captação celular da glicose promovida pela insulina (BARON, 1994, 1995, 1996, 2000; SHERMAN *et al.*, 2000). Diabéticos ou indivíduos com síndrome metabólica apresentam em geral níveis baixos de antioxidantes (FORD *et al.*, 2003; SINCLAIR, 1994; WILL & BYERS, 1996) e a administração de doses farmacológicas agudas intra-arterial de vitamina C melhora a disfunção endotelial na vigência de diabetes, obesidade, hipertensão, hipercolesterolemia ou hiperglicemia aguda (BECKMAN *et al.*, 2001; NATALI *et al.*, 2000; PERTICONE *et al.*, 2001; SHERMAN *et al.*, 2000; TADDEI *et al.*, 1998; TIMIMI *et al.*, 1998; TING *et al.*, 1996, 1997).

A ingestão elevada de suco de laranja contribuiu para um aumento considerável de vitamina C circulante, o que por sua vez deve ter auxiliado no controle da insulina e no aumento da sensibilidade a ela, reduzindo conseqüentemente o índice HOMA nestes pacientes. Parece, portanto que o suco de laranja é um alimento que quando incorporado de forma regular, mesmo em níveis bastante elevados, contribui para a prevenção da resistência à insulina.

5 CONCLUSÕES

O suco de laranja aumentou a sensibilidade à insulina em todos os indivíduos estudados, independente do gênero e IMC, como observado pela menor secreção de insulina e redução no índice HOMA. Embora a elevada ingestão do suco de laranja acrescentou cerca de 315 kcal/dia na dieta, não houve alteração do peso corporal, IMC, gordura corporal e circunferência abdominal nos participantes deste estudo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Diabetes Association. Standardizations of diabetics medical care. **Diabetes Care**, v. 3, n.2, p. 64-84, 2004.

Baron AD. Hemodynamic actions of insulin. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 267, p. E187–E202, 1994.

Baron AD, Brechtel-Hook G, Johnson A, Cronin J, Leaming R, and Steinberg HO. Effect of perfusion rate on the time course of insulin-mediated skeletal muscle glucose uptake. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 271, p. E1067–E1072, 1996.

Baron AD, Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, and Brechtel G. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation contributes to both insulin sensitivity and responsiveness in lean humans. **J Clin Invest**, v. 96, p. 786–92, 1995.

Baron AD, Tarshoby M, Hook G, Lazaridis EN, Cronin J, Johnson A, and Steinberg HO. Interaction between insulin sensitivity and muscle perfusion on glucose uptake in human skeletal muscle: evidence for capillary recruitment. **Diabetes**, v. 49, p. 768–74, 2000.

Basu R, Breda E, Oberg AL, Powell CC, Dalla Man C, Basu A, Vittone JL, Klee GG, Arora P, Jensen MD, Toffolo G, Cobelli C, Rizza RA: Mechanisms of the age-associated deterioration in glucose tolerance: contribution of alterations in insulin secretion, action, and clearance. **Diabetes**, v. 52, p.1738–48, 2003.

Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, and Creager MA. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. **Circulation** 103: 1618–23, 2001.

Boden G, Chen X, DeSantis RA, Kendrick Z: Effects of age and body fat on insulin resistance in healthy men. **Diabetes Care**, v.16, p.728 –33, 1993.

Bonadonna R, Groop L, Kraemer N, Ferranini E, Del Prato S, DeFronzo R. Obesity and insulin resistance in humans: A dose response study. **Metabolism**, v.39, p. 452-459; 1990.

Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis Model Assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies en subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. **Diabetes Care**, v.23, p. 57 – 63, 2000.

Boyko EJ, Fujimoto WY, Leonetti DL, Newell-Morris L. Visceral adiposity and risk of type 2 diabetes: a prospective study among Japanese Americans. **Diabetes Care**, v. 23, p. 465-71; 2000.

Brand-Miller JC, Fosterr KAF, Crossman S, Truswell AS. The glycemic and insulin indices of realistic meals and rye breads tested in healthy subjects. **Diabetes Nutrition Metabolic**, v. 3, p. 137-142, 1990.

Bray GA & Popkin BM. Dietary fat intake does affect obesity! **Am J Clin Nutr**, v. 68, p. 1157-73, 1998.

Bray GA, Paeratakul S, Popkin BM. Dietary fat and obesity: a review of animal, clinical and epidemiological studies. **Physiol Behav**. V. 30, Suppl 83(4), p. 549-55, 2004.

Caballero B. Vitamin E improves the action of insulin. **Nutr Rev**. V. 51, P. 339–40, 1993.

Cefalu WT, Wang ZQ, Werbel S, Bell-Farrow A, Crouse JR 3rd, Hinson WH, Terry JG, Anderson R: Contribution of visceral fat mass to the insulin resistance of aging. **Metabolism**, v. 44, p. 954 –9, 1995.

Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. **Hepatology**, v. 35, p. 373 -79, 2002.

Cruz-Filho RA, Corrêa LL, Ehrhardt AO, Cardoso GP, Barbosa GM. O papel da glicemia capilar de jejum no diagnóstico precoce do Diabetes Mellitus: correlação com fatores de risco cardiovascular. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46 (3), p. 255-259, 2002.

DeFronzo RA, Ferranini E. Insulin resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes Care**, v.14, p.173-94, 1991.

DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 35, p. 389-97; 1992.

DeNino WF, Tchernof A, Dionne IJ, Toth MJ, Ades PA, Sites CK, Poehlman ET: Contribution of abdominal adiposity to age-related differences in insulin sensitivity and plasma lipids in healthy nonobese women. **Diabetes Care**, v. 24, p. 925–32, 2001.

Engler MM, Engler MB, Malloy MJ, Chiu EY, Schloetter MC, Paul SM, Stuehlinger M, Lin KY, Cooke JP, Morrow JD, Ridker PM, Rifai N, Miller E, Witztum JL, and Mietus-Snyder M. Antioxidant vitamins C and E improve endothelial function in children with hyperlipidemia: Endothelial Assessment of Risk from Lipids in Youth (EARLY) Trial. **Circulation** 108: 1059–63, 2003.

Expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus: Report of the expert committee on diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 20, p. 1183-1197, 1997.

Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinemia: The key feature of cardiovascular and metabolic syndrome. **Diabetologia**, v. 34, p. 416-22, 1991.

Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G: Insulin resistance and hypersecretion in obesity: European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). **J Clin Invest**, v. 100, p. 1166–73, 1997.

Ferrannini E, Balkau B: Insulin: in search of a syndrome. **Diabet Med**, v.19, p.724–29, 2002 .

Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Diabetes**, v. 52, p. 2346–52, 2003.

Foster-Powell K, Holt SHA, Brand-Miller JC. Internacional table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr*. V. 76, p. 55-56, 2002.

Frost G, Wilding J, Beecham J. Dietary advice based on the glycemic index improves dietary profile and metabolic control in type 2 diabetic patients. **Diabetes Medical**, v. 11, p. 397-401, 1994.

Frost G, Keogh B, Smith D, Akinsanya K, Leeds A. The effect of low-glycemic carbohydrate on insulin and glucose response in vivo and in vitro in patients with coronary heart disease. **Metabolism**, v. 45, p. 669-72, 1996.

Frost, G; Leeds, A; Trew, G; Margara, R; Dornhorst, A. insulin sensitivity in women at risk of coronary heart disease and the effect of a low glycemic diet. **Metabolism**, v. 47, p.1245-51,1998.

Ghanim H, Mohanty P, Pathak R, Chaudhuri A, Sia CL, Dandona P. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response. **Diabetes Care**, v. 30(6), p. 1406-11; 2007.

Haffner SM, et al. A prospective analysis of the HOMA model. The Mexico City Diabetes Study. **Diabetes Care**, v. 19, n. 10, p. 1138-41, 1996.

Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely MJ, Newell-Morris L, Kahn SE, Fujimoto WY. Visceral adiposity and the risk of impaired glucose tolerance: a prospective study among Japanese Americans. **Diabetes Care**, v. 26, p. 650-5, 2003.

Hegarty BD, Furler SM, YE J, Cooney GJ, Kraegen EW. The role of intramuscular lipid in insulin resistance. **Acta Physiol Scand**, v.178, n.4, Aug, p. 373-83. 2003.

Hodge AM, English DR, O'dea K, Giles GG. Glycemic index and dietary fiber and the risk of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, V.27, N.11, P. 2701-06, 2004.

Hollenbeck CB, Coulston AM. The clinical utility of the glycemic index and its application to mixed meals. **Canada Journal Physiology Pharmacology**, v. 69, p. 100-07, 1991.

Janssen I, Heymsfield SB, Allison DB, Kotler DP, Ross R. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. **Am. J.Clin. Nutr.**, v.75, p.683–8; 2002.

Jéquier E, Bray GA. Low-fat diets are preferred. **Am J Med**, v. 113, n. 9B, p. 41S-46S, 2002.

Jones CN, Abbasi F, Carantoni M, Polonsky KS, Reaven GM: Roles of insulin resistance and obesity in regulation of plasma insulin concentrations. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 278, p. E501–E508, 2000.

King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025; prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes care**, v. 21, p. 1414-1431, 1998.

Kissebah AH. Insulin resistance in visceral obesity. **Int J Obes**, v.15, p.109-115, 1991.

Kurowska EM, Spence JD, Jordan J, Wetmore S, Freeman DJ. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. **Am.J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. 1095-100; 2000.

Kuroe A, et al. Impaired beta-cell function and insulin sensitivity in Japanese subjects with normal glucose tolerance. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 59, n. 1, p. 71-7, 2003.

Laakso M, Sarlund H, Salonen R, Suhonen M, Pyorala K, Salonen JT, et al. Asymptomatic atherosclerosis and insulin resistance. **Arterioscler Thromb**, v. 11, p.1068-1076, 1991.

Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF Jr, and Vita JA. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. **Circulation** 93: 1107–13, 1996.

Liu S, Manson JE, Lee IM, Cole SR, Hennekens CH, Willett WC, Buring JE. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 922-28; 2000.

Luzi L, Barret EJ, Groop LC, Ferranini E, DeFronzo RA. Metabolic effects of low dose insulin therapy in glucose metabolism in diabetic ketacidosis. **Diabetes**, v.37, p. 470-477, 1988.

Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. **Hepatology**, v. 37, p. 917-23, 2003.

Matthews D, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Trecher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, v. 28, p. 412-419, 1985.

Mendosa D. **Glycemic Values of Common American Foods**. Disponível em: <http://www.mendosa.com/common_foods_bw.htm>. Acesso em 12/09/2007.

Mullan BA, Young IS, Fee H, and McCance DR. Ascorbic acid reduces blood pressure and arterial stiffness in type 2 diabetes. **Hypertension** 40: 804–9, 2002.

Natali A, Sironi AM, Toschi E, Camastra S, Sanna G, Perissinotto A, Taddei S, and Ferrannini E. Effect of vitamin C on forearm blood flow and glucose metabolism in essential hypertension. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 20: 2401–6, 2000.

Nelson EW, Streiff RR, Cerda JJ: Comparative bioavailability of folate and vitamin C from a synthetic and natural source. **Am. J Clin Nutr**, v. 28, p. 1014-19; 1975.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Dietary reference intakes** for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients), 2005. Disponível em: <<http://www.nap.edu>>. Acesso em: 31/08/07.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Dietary Reference Intakes** for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids, 2000. Disponível em: <<http://www.nap.edu>>. Acesso em: 31/08/07.

Ostman EM, Elmstahl HGML, Bjorck IME. Inconsistency between Glycemic and Insulinemic Responses to regular and fermented milk products. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 74, p. 96-100, 2001.

Paolisso G, Balbi V, Volpe C, Varricchio G, Gambardella A, Saccomanno F, Ammendola S, Varricchio M, and D'Onofrio F. Metabolic benefits deriving from chronic vitamin C supplementation in aged noninsulin dependent diabetics. **J Am Coll Nutr** 14: 387–92, 1995.

Perticone F, Ceravolo R, Candigliota M, Ventura G, Iacopino S, Sinopoli F, and Mattioli PL. Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress: protective effect of vitamin C. **Diabetes**, v. 50: 159–65, 2001.

Pesquisa de Orçamentos Familiares – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional no Brasil. Realizada em 2000-2003. IBGE-POF 2000-2003.

Pi-Sunyer FX. Glycemic index and disease. **Am J Clin Nutr**, v.76, Suppl.1, 290S-8S, 2002.

Ravussin E, Tatarinni PA. Dietary fat and human obesity. **J Am Diet Assoc**, v. 97, Suppl, p. S42-S46, 1997.

Reaven GM. Banting lecture 1988: Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v.37, p.1595-607, 1988.

Regensteiner JG, Popylisen S, Bauer TA, Lindenfeld J, Gill E, Smith S, Oliver-Pickett CK, Reusch JE, and Weil JV. Oral L-arginine and vitamins E and C improve endothelial function in women with type 2 diabetes. **Vasc Med** 8: 169–75, 2003.

Resnick HE, et al. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular disease in nondiabetic American Indians: the Strong Heart Study. **Diabetes Care**, v. 26, n. 3, p. 861-7, 2003.

Saad M, Anderson R, Laws A, Watanabe R, Kades W, Chen Y-D, et al. A comparison between the minimal model and the glucose clamp in the assessment of insulin sensitivity across the spectrum of glucose tolerance: For the insulin resistance atherosclerosis study. **Diabetes**, v. 43, p. 1114-1121, 1994.

Salonen JT, Nyyssonen K, Tuomainen TP, et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. **Br Med J**, p. 311, p.1124-27, 1995.

Schwimmer JB, Deutsch R, Rauch JB, Behling C, Newbury R, Lavine JE. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. **J. Pediatr.** V. 143 (4), p. 500-5, 2003.

Sherman DL, Keaney JF Jr, Biegelsen ES, Duffy SJ, Coffman JD, and Vita JA. Pharmacological concentrations of ascorbic acid are required for the beneficial effect on endothelial vasomotor function in hypertension. **Hypertension**, v. 35, p. 936-41, 2000.

Sinclair AJ, Taylor PB, Lunec J, Girling AJ, Barnett AH. Low plasma ascorbate levels in patients with type 2 diabetes mellitus consuming adequate dietary vitamin C. **Diabet Med**, v.11, p. 893-8, 1994.

Squires SR, Hanna JG: Concentration and stability of ascorbic acid in marketes reconstituted orange juice. **J. Agric Food Chem**, v. 27, p. 639-41; 1979.

Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, and Salvetti A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. **Circulation** 97: 2222- 9, 1998.

Timimi FK, Ting HH, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, and Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **J Am Coll Cardiol** 31: 552-7, 1998.

Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, and Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **J Clin Invest** 97: 22-28, 1996.

Ting HH, Timimi FK, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, and Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia. **Circulation** 95: 2617-22, 1997.

USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, **Release 19 (2006)** http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl. Acesso em 29/08/07 .

Wajchenberg BL, Silva, MER, Ursich MJM, Rocah DM, Santomauro ATG, Santos RF. Etiopatogenia do diabetes mellitus do tipo 2. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 42, p. 333-350, 1998.

WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: **World Health Organization, 2000.**

Will JC & Byers T. Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C? **Nutr Rev**, v. 54, p. 193-202, 1996.

Williams DEM, Prevost AT, Whichelow MJ, Cox BD, Day NE, Wareham NJ. A cross-sectional study of dietary patterns with glucose intolerance and other features of metabolic syndrome. **Br J Nutr.** V. 83, p. 257-66, 2000.

Winer N, Sowers JR. Epidemiology of Diabetes. **J. Clin. Pharmacol.** V. 44, p. 397-405, 2004.

Yki-Järvinen H, Koivisto VA. Natural course of insulin resistance in type 1 diabetes. **N Engl J Med**, v. 315, p. 224-30, 1986.

Yoshinaga H. et al. Heterogeneous relationship of early insulin response and fasting insulin level with development of non-insulin-dependent diabetes mellitus in non-diabetic Japanese subjects with or without obesity. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 44, n. 2, p. 129-36, 1999.

Zanella MT, Kohlmann Jr. O, Ribeiro AB. Treatment of obesity hypertension and diabetes syndrome. **Hypertension**, v.38 (3Pt2), p.705-8. 2001.

Zeng G & Quon MJ. Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by wortmannin. Direct measurement in vascular endothelial cells. **J Clin Invest**, v. 98, p. 894-8, 1996.

Tabela 1: Variáveis antropométricas dos homens (n=14) no início do experimento e após a ingestão do suco de laranja. Araraquara, 2006.

HOMENS	IMC \leq 25kg/m ²		IMC $>$ 25kg/m ²	
	antes	depois	antes	depois
Peso (kg)	66 \pm 5	67 \pm 5	93 \pm 16	93 \pm 16
IMC (kg/m ²)	22 \pm 1	22 \pm 1	30 \pm 3	30 \pm 3
Gordura Corporal (%)	22 \pm 6	21 \pm 3	27 \pm 5	26 \pm 6
Circunferência Abdominal (cm)	79 \pm 7	79 \pm 7	104 \pm 13	104 \pm 12

Tabela 2: Variáveis antropométricas das mulheres (n=15) no início do experimento e após a ingestão do suco de laranja. Araraquara, 2006.

MULHERES	IMC \leq 25kg/m ²		IMC $>$ 25kg/m ²	
	antes	depois	antes	depois
Peso (kg)	58 \pm 7	57 \pm 7	70 \pm 7	70 \pm 5
IMC (kg/m ²)	21 \pm 2	21 \pm 2	28 \pm 3	28 \pm 3
Gordura Corporal (%)	28 \pm 4	26 \pm 4	34 \pm 4	34 \pm 3
Circunferência Abdominal (cm)	77 \pm 6	77 \pm 5	90 \pm 7	90 \pm 7

Tabela 3: Dados da ingestão alimentar dos homens antes e após 60 dias de experimento. Araraquara, 2006.

Homens	IMC\leq25 kg/m²		IMC$>$25 kg/m²	
	antes	depois	antes	depois
Energia, kcal/d	2892 \pm 1513	2043 \pm 775	2499 \pm 533	2549 \pm 1200
	(AMDR : 2585 – 3015 kcal/d)		(AMDR: 2591 – 3439 kcal/d)	
Proteína, g/d	135 \pm 32	100 \pm 49	136 \pm 45	125 \pm 74
	(AMDR: 70- 245 g/d)		(AMDR: 75 – 263 g/d)	
Carboidrato, g/d	429 \pm 250	333 \pm 125	289 \pm 30	332 \pm 163
	(AMDR: 315 – 455 g/d)		(AMDR: 339 – 489 g/d)	
Lipídios, g/d	89 \pm 60	72 \pm 41	93 \pm 43	91 \pm 52
	(AMDR: 62- 109 g/d)		(AMDR: 67 – 117 g/d)	
AG Saturado, g/d	25 \pm 13	23 \pm 17	32 \pm 15	33 \pm 22
	(AMDR: 7-22 g/d)		(AMDR: 10 – 23 g/d)	
Colesterol, mg/d	578 \pm 563	271 \pm 310	304 \pm 146	386 \pm 240
	(AHA: 200 mg/d)		(AHA: 200 mg/d)	
Vitamina C, mg/d	106 \pm 103	203 \pm 32*	67 \pm 67	207 \pm 54*
	(RDA: 90 mg/d)		(RDA: 90 mg/d)	

*diferença estatisticamente significativa, $p < 0,05$. (Teste t pareado)

AMDR: Variação Média Aceitável de Macronutriente

AHA: American Heart association

RDA: Cota Dietética Recomendada.

Tabela 4: Dados da ingestão alimentar das mulheres antes e após 60 dias de experimento. Araraquara, 2006.

Mulheres	IMC≤25kg/m ²		IMC>25kg/m ²	
	antes	depois	antes	depois
Energia, kcal/d	1484 ± 306	1687 ± 345	1744 ± 750	2403 ± 1139
	(AMDR: 1784 – 2164 kcal/d)		(AMDR: 1738 – 2310 kcal/d)	
Proteína, g/d	87 ± 26	76 ± 26	86 ± 27	93 ± 48
	(AMDR: 49 – 173 g/d)		(AMDR: 51 – 177 g/d)	
Carboidrato, g/d	204 ± 35	244 ± 52*	252 ± 110	330 ± 127
	(AMDR: 222 – 320 g/d)		(AMDR: 228 – 329 g/d)	
Lipídios, g/d	44 ± 20	55 ± 22	44 ± 34	85 ± 55
	(AMDR: 44 – 77 g/d)		(AMDR: 45 – 79 g/d)	
AG Saturado, g/d	14 ± 8	18 ± 6	14 ± 12	30 ± 20
	(AMDR: 4 – 15 g/d)		(AMDR: 4 – 16 g/d)	
Colesterol, mg/d	189 ± 100	232 ± 164	175 ± 129	308 ± 71
	(AHA: 200mg/d)		(AHA: 200mg/d)	
Vitamina C, mg/d	98 ± 77	199 ± 52*	151 ± 57	222 ± 64
	(RDA: 75mg/d)		(RDA: 75mg/d)	

*diferença estatisticamente significativa, p<0,05. (Teste t pareado)

AMDR: Variação Média Aceitável de Macronutriente

AHA: American Heart association

RDA: Cota Dietética Recomendada.

Tabela 5: Análises de glicose em jejum, insulina em jejum e índice HOMA dos voluntários antes e após a ingestão do suco de laranja. Araraquara, 2006.

	IMC \leq 25kg/m ² (n=19)		IMC $>$ 25kg/m ² (n=10)	
	antes	depois	antes	depois
Glicose jejum, mg/dL	79,7 \pm 4,5	80,5 \pm 5,0	80,2 \pm 3,4	83,9 \pm 5,4*
Insulina jejum, uU/mL	7,5 \pm 4,1	6,4 \pm 4,1*	8,6 \pm 5,2	6,6 \pm 3,6*
HOMA - IR	1,5 \pm 0,9	1,3 \pm 0,9*	1,7 \pm 1,0	1,4 \pm 0,7*

* diferença estatisticamente significativa, p<0,05. (Teste t pareado)

CAPÍTULO 2

AÇÃO HIPOCOLESTEROLÊMICA DO SUCO DE LARANJA EM INDIVÍDUOS NORMOLIPIDÊMICOS

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo investigar o papel da ingestão crônica do suco de laranja sobre os níveis sanguíneos das lipoproteínas em homens e mulheres normolipidêmicos. Os voluntários receberam 750mL por dia de suco de laranja durante 60 dias e foram realizadas medidas bioquímicas do perfil lipídico, apolipoproteínas, paraoxonase1, tamanho da partícula de HDL, variáveis antropométricas e ingestão alimentar antes e após o período experimental. Os resultados mostraram que o suco de laranja reduziu 11% o colesterol total e 15% o LDL-colesterol nos homens; enquanto nas mulheres foi verificada redução de 10% no colesterol total e 15% no LDL-colesterol. O HDL-C e a Apo A-I diminuíram 9% e 16% nos homens e 6% e 21% nas mulheres, respectivamente, refletindo a redução do colesterol total no sangue. Os triglicérides, Apo B-100, PON1, tamanho da partícula de HDL, IMC, gordura corporal e circunferência abdominal não foram alterados com o tratamento dietético. Em conclusão, este estudo mostrou que o suco de laranja apresenta propriedades hipocolesterolêmicas, e sugere que junto com os flavonóides cítricos presentes no suco de laranja, retardam o estresse oxidativo e conseqüentemente o processo aterosclerótico.

ABSTRACT

The goal of this research was to investigate the effect of regular consumption of orange juice on lipoprotein blood levels in normolipidemic men and women. The volunteers received 750mL a day of orange juice for 60 days. Biochemical measurements of lipid profile, apolipoproteins, paraoxonase1, the size of HDL were performed before and after the experimental period, as well as anthropometric parameters and dietary inquire. The results showed that orange juice consumption reduced 11% total cholesterol and 15% LDL-cholesterol in men; while for women a reduction of 10% total cholesterol and 15% LDL-cholesterol was verified. The HDL-c and Apo A-I were also reduced for men and women, reflecting the reduction of the total cholesterol. Triglycerides, Apo B-100, PON1, size of HDL, BMI, percentage of body fat and abdominal circumference were not altered with the dietary treatment. In conclusion, this study showed that orange juice presents hypocoestrerolemic properties, and this effect associated with the antioxidant activity of citrus flavonoids from orange juice may delay the oxidative stress and, consequently, the atherogenic development.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV), incluindo doenças arteriais coronarianas, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio e hipertensão arterial sistêmica constituem grave problema de saúde pública acometendo parte significativa da população adulta mundial. De acordo com a Organização Mundial de Saúde em 2002, aproximadamente um terço de todas as mortes, cerca de 16,7 milhões de pessoas, no mundo foram resultantes das doenças cardiovasculares (WHO, 2006). Todavia nos últimos 30 anos foi presenciado um declínio razoável da mortalidade por causas cardiovasculares em países desenvolvidos, enquanto que elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido em países em desenvolvimento, dentre os quais destaca-se o Brasil. No início da próxima década, há previsão de uma verdadeira epidemia da doença cardiovascular nos países em desenvolvimento com conseqüências desastrosas para a saúde pública, caso medidas preventivas efetivas não sejam tomadas imediatamente (WHO, 2006; IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia, 2007).

A maioria das doenças cardiovasculares é resultante de complicações da aterosclerose, um processo inflamatório dinâmico do endotélio em resposta à injúria arterial (NOLL, 1998). Um importante evento que inicia o processo aterosclerótico é o transporte e deposição do colesterol pelas lipoproteínas de baixa densidade (LDL) através do endotélio para dentro da parede arterial. Uma vez na camada íntima da artéria, os lípidos da LDL podem ser oxidados, e a partícula captada por macrófagos dá origem às células espumosas, que são as unidades formadoras da aterosclerose. (MANDAMANCHI *et al.*, 2005). Assim a aterosclerose é caracterizada como uma proliferação celular acompanhada de acúmulo de lipídeos e que, com seu desenvolvimento progressivo, tende a ocupar a luz arterial.

A hipótese oxidativa da aterosclerose tem contribuído para ampliar o campo de estudo das substâncias antioxidantes que podem prevenir o estresse oxidativo, reduzir a oxidação da LDL e inibir o desenvolvimento da aterosclerose (FUHRMAN *et al.*,

2005). Um agente antioxidante natural do organismo humano é a enzima paraoxonase 1 que possui um papel fundamental na prevenção da aterosclerose impedindo a oxidação de lípidos na lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e inativação de lípidos oxidados da LDL (DRAGANOV & LA DU, 2004; GETZ & REARDON, 2004).

Identificada em tecidos animais, em 1946, por Abraham Mazur, a paraoxonase 1 (PON1) é uma esterase/lactonase associada à HDL (SORENSEN *et al.*, 1999; JAMES & DEAKIN, 2004; TEIBER, *et al.*, 2003) e sua atividade está inversamente relacionada ao risco de doenças cardiovasculares (GETZ & REARDON, 2004; MACKNESS *et al.*, 2004). Experimentos *in vitro* mostram que a PON1 pode proteger a HDL da oxidação, preservando a integridade da partícula e atenuar a oxidação da LDL, por hidrolisar lipídeos oxidados em lipoproteínas, em macrófagos e em lesões ateroscleróticas (AHMED *et al.*, 2001; AVIRAM *et al.*, 2000; ROZENBERG *et al.*, 2003). Mas para exercer seu efeito antioxidante é necessário que haja interação entre a PON1 e os lipídeos oxidados, o que pode ocorrer de duas formas: (1) por difusão da PON1 durante a interação entre LDL e HDL; (2) e provável transferência dos lipídeos oxidados da LDL para a HDL e posterior ação da PON1 (JAMES & DEAKIN, 2004; PASDAR *et al.*, 2006).

Estudos atuais têm mostrado que os flavonóides, um grupo de substâncias não nutritivas presentes nos alimentos, podem retardar ou prevenir o ataque das doenças ateroscleróticas. Isto se deve à sua atividade antioxidante sobre as LDL e conseqüente ação inibidora na formação da placa ateromatosa. Os flavonóides são compostos naturais encontrados em frutas e vegetais, e por isso extensivamente consumidos por vegetarianos e grupos de indivíduos com amplo consumo de frutas e vegetais levando a menor incidência da doença aterosclerótica nestas populações (CÉSAR *et al.*, 2004; DAHER *et al.*, 2005). O estudo da atividade metabólica dos flavonóides têm demonstrado ainda a atenuação do estresse oxidativo em doenças como o câncer, Diabetes Mellitus, doenças neurodegenerativas, aterosclerose, entre

outras (SCHRAMM & GERMAN, 1998; HARBORNE & WILLIAMS, 2000; MIDDLETON *et al.*, 2000).

O suco de laranja é um alimento notadamente conhecido pelo alto conteúdo de vitamina C, além de possuir quantidades apreciáveis de outros nutrientes essenciais, como carotenóides, folato e potássio. As frutas cítricas incluindo o suco de laranja são fontes dos flavonóides hesperidina e naringinina que protegem contra o câncer (BENAVENTE-GARCIA *et al.*, 2007; MANTHEY *et al.*, 2002) e aterosclerose (VINSON *et al.*, 2002; KUROWSKA e MANTHEY; 2002 ; WHITMAN *et al.*, 2005). Outros estudos relatam associação dos flavonóides cítricos com redução do risco de doenças coronarianas, redução do colesterol sanguíneo, inibição da oxidação da LDL e ácidos graxos e ainda redução da agregação plaquetária (KUROWSKA *et al.*, 2000a,b; WILCOX *et al.*, 2001; BORRADAILE *et al.*, 2002; CHIBA *et al.*, 2003; KIM *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2003; WHITMAN *et al.*, 2005).

A hesperidina é o principal componente flavonóide encontrado exclusivamente nas frutas cítricas e em quantidades apreciáveis no suco de laranja (KUROWSKA & MANTHEY, 2004; ERLUND *et al.*, 2001). A hesperidina juntamente com a naringenina, outro flavonóide das frutas cítricas, exibem ação cardioprotetora indireta por exercer efeito supressor sobre as espécies reativas de oxigênio *in vitro* (COOK *et al.*, 1996; GHANIM *et al.*, 2007). A hesperidina da laranja e a naringinina da grapefruit são estruturalmente similares à genisteína da soja, postulada como hipocolesterolêmica (ANTHONY *et al.*, 1996).

No homem e em animais experimentais, o suco de laranja e a hesperidina isolada mostraram efeito hipolipidêmico sobre o colesterol total (CT), colesterol de LDL (LDL-C), triglicérides (TG), e aumento do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) (KUROWSKA *et al.*, 2000a,b; KUROWSKA e MANTHEY, 2002; CÉSAR *et al.*, 2004). Foi sugerido que as flavanonas são capazes de reduzir os níveis de colesterol sanguíneo por dois mecanismos básicos: (1) inibição da enzima Acetil-Coenzima-A transferase (ACAT), responsável pela esterificação do colesterol hepático

(WILCOX *et al.*, 2001) e, (2) aumento da atividade dos receptores celulares de LDL-C (MONFORTE *et al.*, 1995; BOK *et al.*, 1999; WHITMAN *et al.*, 2005).

Baseado nas evidências apresentadas, este estudo se propôs a investigar o efeito crônico da ingestão de suco de laranja sobre alguns fatores do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Para tanto, foi avaliado o perfil dos lípides sanguíneos, apolipoproteínas, paraoxonase1, tamanho da partícula de HDL, variáveis antropométricas e ingestão alimentar de homens e mulheres adultos submetidos à suplementação com suco de laranja.

CASUÍSTICA

Uma amostra de 34 indivíduos saudáveis recrutados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas e na comunidade de Araraquara, SP, composto por 17 homens e 17 mulheres, com idade entre 25 e 55 anos, propuseram a ingerir 750 mL de suco de laranja durante 60 dias e realizar as determinações bioquímicas de colesterol total, LDL-C, HDL-C, triglicérides, apolipoproteína A-I (Apo A-I), apolipoproteína B-100 (Apo B), paraoxonase1 (PON1) e o tamanho da partícula da HDL antes e após a ingestão do suco. No decorrer do período experimental 3 homens e 2 mulheres desistiram do estudo. A diferença de faixa etária entre os indivíduos, apesar de ampla, respeita os parâmetros lipídicos determinados pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (IV DIRETRIZES DE CARDIOLOGIA, 2007) que estabelece os mesmos valores de lípidos para adultos maiores de 20 anos.

Todos os voluntários foram informados acerca da finalidade do trabalho e as dúvidas esclarecidas. A seleção foi realizada, de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, SP protocolo CEP/FCF/CAr nº 8/2005. Após a aceitação do termo de consentimento livre e esclarecido, procedeu-se a colheita de sangue.

Avaliação Bioquímica: As colheitas de sangue dos participantes foram realizadas em duas ocasiões, no início do experimento e após 60 dias da suplementação com suco de laranja, no Laboratório de Análises Clínicas São Lucas, Araraquara, SP, sendo que os indivíduos encontravam-se em jejum de 12 horas e em repouso. As amostras de sangue foram centrifugadas para separação do soro e plasma, armazenadas e posteriormente realizadas as determinações bioquímicas. As amostras separadas para análises da paraoxonase1 e tamanho da partícula de HDL foram encaminhadas ao Laboratório de Lípides do Instituto do Coração (InCor), São Paulo-SP.

Todas as dosagens bioquímicas foram realizadas em equipamento automático. As apolipoproteínas, Apo A-I e Apo B-100, foram dosadas por imunoturbidimetria automatizada, com kits comerciais Roche. O colesterol total e os triglicérides foram determinados pelo método Enzimático-Trinder, utilizando-se o kit comercial Labtest. O HDL-C foi determinado por Inibição Seletiva, sistema para determinação homogênea direta do colesterol HDL no soro humano, utilizando o kit comercial Labtest. O valor de LDL-C foi obtido a partir dos resultados das dosagens de CT, TG e HDL-C, pela fórmula de FRIEDEWALD *et al*, 1972.

$$* LDLc = CT - HDLc - \left(\frac{TG}{5} \right)$$

*Equação válida se TG < 400mg/dL.

O tamanho da HDL foi mensurado segundo a técnica descrita por Lima e Maranhão (2004). Esta técnica consiste na adição 0,5 mL de Polietilenoglicol (PEG) (Merk-Schuchardt) em cada amostra de plasma-EDTA (0,5 mL) e agitado em um vortex-mixer por 30 segundos. As amostras foram então centrifugadas durante 10 min a 25 °C em uma microcentrífuga (Modelo 5415 C; Eppendorf). Uma porção 0,5 mL do sobrenadante foi adicionada a 1,5 mL de uma solução de 10 mmol/L de NaCl e passaram por um filtro de 0,22 µm. Os diâmetros das partículas HDL foram

determinadas pela utilização de um ZetaPALS Zeta Potencial Analyzer (Brookhaven Instruments Corporation). Este instrumento usa um laser de hélio-neon de 29 mW em 658 nm para excitar as amostras. A luz é coletada em um ângulo de 90° por um tubo fotomultiplicador e, em seguida, é direcionado para um correlator. O software (BIC particle sizing) deriva o tamanho das partículas a partir da função do correlator. Os resultados de cada amostra foram expressos como a média do diâmetro das partículas de cinco testes de 2 minutos cada. Para verificar a precisão do instrumento, antes de realizar o estudo, foram submetidas, comercialmente disponíveis, nanoesferas de tamanho padrão (Duque Científica), de diâmetros conhecidos.

A atividade da PON1 é medida pela adição de 500 µl de tampão Tris-HCl 0,1M pH 8,05 contendo 2 mmol/L de CaCl₂ e 1,1 mmol/L de paraoxon (Sigma Chemical Co.) a 25 µL de soro. A amostra é, então, distribuída em uma placa de 96 poços fundo chato, 200 µL por poço [em duplicata]. A leitura é feita em comprimento de onda de 405 nm e temperatura de 37°C utilizando “Leitor de Microplacas” (Microplate Reader, Benchmark, Bio-RAD). Para o cálculo da atividade, são feitas 6 leituras em intervalos de 1 minuto cada. Sendo que o resultado é obtido multiplicando-se a média da variação das absorvâncias pelo fator descrito abaixo.

Cálculo do Fator:

$$FATOR = \frac{VTR(mL)}{\epsilon_{405} \times VA(mL) \times E(cm)}$$

onde,

VTR (volume total da reação) = 500 µL solução + 25 µL da amostra = 525 µL

ϵ_{405} = 18050 L M⁻¹ cm⁻¹ (SENTI et al. , 2003, AGACHAN et al., 2004.)

VA (volume da amostra) = 25 µL

E (espessura da ‘cubeta’¹) = 1 cm

¹ Foram usados de fato placas com 96 poços, e esta medida refere-se a altura do poço preenchido com a amostra. A notação “cubeta” foi mantida para que a fórmula não fosse alterada.

Substituindo os valores e ajustando para as unidades internacionais temos:

$$\text{Fator} = 1163,43 \text{ nMol mL}^{-1}$$

Cálculo da Atividade:

$$\text{Atividade da Paraoxonase} = \text{Fator} \times \Delta\text{abs}/\text{min} = 1163,43 \times \Delta\text{abs} \text{ nMol min}^{-1} \text{ mL}^{-1},$$

onde Δabs = é média da variação das absorvâncias medidas a cada 1 minuto.

Suco de Laranja: Os participantes ingeriram 750mL de suco de laranja concentrado congelado diluído 1:6 em água diariamente durante 60 dias. O suco concentrado congelado foi cedido pela empresa Citrosuco Paulista S.A. de Matão-SP, fábrica de suco de laranja e subprodutos do Grupo Fischer. O suco era retirado na própria fábrica em Matão pela pesquisadora deste estudo, em baldes de 26Kg e levado para o laboratório de Nutrição da UNESP de Araraquara-SP onde eram envasados assepticamente em garrafas de 900mL que rendiam 5,4L de suco diluído 1:6 em água.

Distribuiu-se o suco concentrado congelado mensalmente, sem qualquer custo aos participantes, em garrafas de 900mL que foram mantidas em freezer ou no congelador da geladeira. A diluição era feita diariamente para 750mL de suco, para o consumo do dia. O suco congelado concentrado fornecido pela Citrosuco Paulista S.A. apresentava °Brix de 64,89 e Ratio de 17,12 e a composição nutricional segue o padrão das tabelas internacionais da USDA: Nutrient Database.

Análise Estatística: A análise estatística dos resultados foi realizada com o auxílio do software Microsoft Office Excel 2003 e Sigma Stat, versão 2.03, 1995. As variáveis foram resumidas e tabuladas como média e desvio padrão. Todos os conjuntos de dados foram testados quanto à normalidade. O nível de significância adotada foi de 5% em todas as comparações efetuadas. Os dados com distribuição normal foram examinados por Teste t-pareado e para os dados com distribuição não normal foi utilizado o Teste de Wilcoxon.

RESULTADOS

No início do experimento cerca de 36% dos homens e 33% das mulheres apresentavam peso corporal acima da faixa de normalidade, considerados como sobrepeso e obesidade. Foi verificada uma alta incidência de indivíduos com uma dieta ou atividade física inadequadas indicando um maior risco para as doenças cardiovasculares. Considerando estes fatores e para uma análise mais acurada dos resultados, os voluntários foram divididos em quatro grupos, de acordo com seu perfil antropométrico e gênero, a saber: (1) homens eutróficos e (2) homens com sobrepeso, (3) mulheres eutróficas e (4) mulheres com sobrepeso.

Em oposição à suposição de que o suco de laranja leva ao aumento do peso corporal por causa do seu conteúdo energético, o elevado consumo de suco de laranja deste estudo, de 750mL/dia equivalente a 315kcal, não foi associado com nenhuma variação detectável no peso, IMC, porcentagem de gordura corporal e circunferência da cintura antes e após a suplementação com suco de laranja em todos os grupos analisados (Tabela 1).

A comparação do consumo de alimentos ricos em lípidos, ácidos graxos saturados e colesterol no início e no final do experimento mostraram que não houve alteração significativa do consumo destes alimentos entre homens e mulheres (Tabela 2). Foi observado, entretanto, que o consumo de ácidos graxos saturados e colesterol dos homens estava acima dos valores recomendados antes e após a suplementação com o suco de laranja.

A análise dos lípidos e lipoproteínas sangüíneos mostrou que após o consumo de 750mL/dia de suco de laranja houve uma redução significativa de 11% do colesterol total e de 15% do LDL-colesterol nos homens. Para as mulheres, após o consumo do suco de laranja, foi verificada redução de 10% para o colesterol total e 15% para o LDL-C (Tabela 3). Porém, a concentração de apo B-100 após o consumo de suco de laranja não mostrou modificação significativa no sangue dos homens ou das mulheres (Tabela 3), sugerindo que não houve aumento no número de LDL, já

que cada partícula apresenta apenas uma apo B-100, sendo, portanto um marcador do número de LDL na circulação.

Embora o suco de laranja seja considerado um alimento rico em açúcares naturais, como a frutose e glicose, e por isso teria potencial para elevar os triglicérides séricos, não foi detectado aumento significativo destes lipídeos na circulação dos homens e das mulheres deste estudo, e os valores mensurados, antes e após a suplementação, não excederam os valores de referência (Tabela 3).

Medidas do HDL-C e apo A-I após o consumo de suco de laranja mostraram uma redução significativa de 9% e 16% nos homens e 6% e 21% nas mulheres, respectivamente (Tabela 3). Por outro lado, o tamanho médio das partículas de HDL não foi alterado com a suplementação com o suco de laranja (Tabela 4), indicando não haver modificação do conteúdo central “core” das partículas de HDL, representado principalmente pelo éster de colesterol.

A análise da atividade da enzima PON1 mostrou uma redução não significativa de 20% após a suplementação com o suco de laranja (Tabela 4) tanto em homens como em mulheres. Embora esta redução tenha ocorrido em 80% dos indivíduos da amostra, as diferenças antes e depois não foram significativas por causa do amplo desvio padrão verificado.

No início do experimento, na análise do tamanho da HDL dos participantes foi observada uma população de HDL entre 9,1nm para os homens e 8,7nm para as mulheres. Ao final do tratamento não houve mudança significativa no tamanho da partícula após a suplementação com o suco de laranja (Tabela 4). O tamanho das frações de HDL oscila de 7 a 12nm (BARTER, 2002). Observou-se uma redução no número de lipoproteínas HDL, mas não houve alteração no tamanho da partícula, ou seja, não houve perda de colesterol, triglicerídios, fosfolipídios e éster de colesterol pela partícula de HDL.

DISCUSSÃO

A aterosclerose é uma doença de etiologia multifatorial e desenvolvimento lento, com vários mecanismos implicados no curso da doença e terapêutica complexa que envolve dieta, medicamentos e modificações no estilo de vida. Diversos estudos mostram que a disfunção endotelial antecede a formação da placa aterosclerótica, assim, a intervenção farmacológica nos processos iniciais que desencadeiam este evento pode resultar na prevenção da aterosclerose, considerada a etiologia das síndromes coronarianas e a principal causa de mortes nos países ocidentais (LUSIS, 2000).

Atualmente, os principais fármacos utilizados no tratamento da hiperlipidemia são as estatinas. Estes agentes são inibidores competitivos da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzima que catalisa, de forma precoce e limitante, a síntese de colesterol hepático (BROWN & GOLDSTEIN, 1986; STEINBERG, 1997). Os efeitos benéficos destas drogas correlacionam-se com a capacidade em melhorar o perfil lipídico, sobretudo em reduzir os níveis de LDL-colesterol.

Os flavonóides são compostos naturais polifenólicos de baixo peso molecular presentes em frutas e vegetais e que são consumidos amplamente na nossa dieta diária. Por possuírem um largo espectro de ação farmacológica, como atividade antioxidante pronunciada sobre a LDL, atividade antitrombótica e conseqüente ação inibidora sobre a formação da placa ateromatosa, estas substâncias apresentam o perfil adequado para a terapia da doença aterosclerótica (SCHRAMM & GERMAN, 1998; HARBORNE & WILLIAMS, 2000; MIDDLETON *et al.*, 2000).

O consumo de compostos polifenólicos correlaciona-se negativamente com a incidência das doenças cardiovasculares, e, portanto, cada vez mais estudos são realizados com o objetivo de avaliar o efeito de flavonóides dietéticos ou nutracêuticos no desenvolvimento da aterosclerose. FUHRMAN, *et al.* (2005), mostrou que o consumo de uma preparação em pó feita de uvas frescas reduziu em 41% as lesões

ateroscleróticas no arco aórtico, diminuiu a captação de LDL oxidada pelos macrófagos e o estresse oxidativo nos macrófagos peritoniais e no soro de camundongos hipercolesterolêmicos.

As uvas são ricas em flavonóides, sendo o resveratrol o principal representante, e o consumo destes compostos polifenólicos explicam o famoso paradoxo francês, onde a baixa incidência das doenças cardiovasculares no sul da França, apesar da ingestão de uma dieta rica em gordura saturada, é atribuída ao consumo moderado e regular de vinho tinto pela população. Além dos flavonóides encontrados no vinho tinto, os componentes polifenólicos presentes no chá verde também são capazes de prevenir a progressão da aterosclerose em modelos animais, ou seja, retardam a progressão das lesões ateroscleróticas iniciais a placas avançadas, as quais são propensas à ruptura e formação de trombos (VINSON *et al.*, 2004; MIURA *et al.*, 2001).

A avaliação bioquímica dos lípides séricos após a suplementação com o suco de laranja sugeriu que o consumo freqüente deste alimento favorece a redução das concentrações de colesterol total e das frações. Estudos prévios mostraram que o consumo de suco de laranja pelo homem (ROSA *et al.*, 2007, DEVARAJ *et al.*, 2006; CÉSAR *et al.*, 2004, KUROWSKA *et al.*, 2000b) e por animais de experimentação (KUROWSKA & MANTHEY, 2004) reduziram o colesterol total e de LDL, apontando ainda benefícios adicionais pelo consumo freqüente. O suco reduziu os níveis de proteína C reativa (DEVARAJ *et al.*, 2006), de radicais livres (JONHSTON *et al.*, 2003), da peroxidação lipídica e de outros marcadores do estresse oxidativo (FRANKE *et al.*, 2005, RISO *et al.*, 2005; SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 2003a, JOHNSTON *et al.*, 2003); além de reduzir alguns marcadores inflamatórios (SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 2003b). Os flavonóides cítricos promoveram redução da biossíntese de colesterol hepático, pela inibição da atividade da HMG CoA redutase e ACAT em ratos alimentados com dieta rica em colesterol (BOK *et al.*, 1999). A redução na atividade da ACAT leva a uma menor esterificação do colesterol hepático disponível para a

formação da VLDL, resultando, assim, em uma redução da secreção de VLDL do fígado (CARR *et al.*, 1992).

No presente estudo, a concentração dos triglicérides séricos não foi alterada pelo consumo de suco de laranja. Mesmo com a elevada ingestão de suco de laranja, que acrescentou cerca de 75g/dia de açúcares naturais ou 315kcal/dia por indivíduo, não foi detectada alteração dos triglicérides. Estes resultados concordam com pesquisa anterior com homens normocolesterolêmicos e com dislipidemia que tomavam de um a três copos de suco de laranja regularmente (GARCIA *et al.*, 2008). Baseado em experimentos com animais submetidos à suplementação com flavanonas isoladas, suco de laranja ou grapefruit, foi sugerido por que as flavanonas do suco de laranja reduzem os triglicérides séricos em animais experimentais, mas a influência do suco sobre os triglicérides séricos no homem são controversos. Parece que a magnitude dos efeitos sobre os triglicérides dependem primariamente de fatores como a idade, sexo, nível basal de glicose, insulina e triglicérides; presença de resistência a insulina, e a quantidade de frutose consumida na dieta (KUROWSKA *et al.*, 2000a). Estudo recente reportou que o consumo de frutose ou de xarope de frutose durante duas semanas, num total de 20 a 25% da energia da dieta não aumentou as concentrações de triglicérides em indivíduos saudáveis e com sobrepeso ou obesidade (STANHOPE *et al.*, 2008).

Em relação ao consumo dietético de lípidos, particularmente das gorduras saturadas e colesterol, que potencialmente afetam o colesterol plasmático e de LDL, foi verificado que os homens deste estudo apresentavam consumo superior às recomendações. Entretanto, não houve alteração do padrão de ingestão de gorduras durante o período experimental, sugerindo que as modificações observadas no perfil lipídico ocorreram independentemente da contribuição dos lípidos da dieta.

Neste estudo foi verificada uma proporção de indivíduos com sobrepeso, 36% dos homens e 33% das mulheres, acompanhando a tendência observada entre adultos na região sudeste do país. A distribuição da gordura corporal foi idêntica à

distribuição do IMC, sugerindo que todos os indivíduos com sobrepeso e obesos apresentavam excesso de massa gorda. A medida da circunferência abdominal (CA) confirmou ainda que estes mesmos participantes apresentavam maior risco de desenvolvimento de complicações relacionadas à obesidade, onde se verificou média de 10cm de circunferência abdominal acima dos valores permitidos (JASSEN *et al.*, 2002) tanto para os homens quanto para as mulheres. Sabe-se que medidas do IMC e da circunferência abdominal superiores aos valores limítrofes estabelecidos se associam positivamente com fatores de risco predisponentes para as doenças cardiovasculares (MOORADIAN *et al.*, 2008).

Como já mostrado na literatura, a aterogênese também está estreitamente correlacionada com o aumento nos níveis de peroxidação lipídica. Em condições de homeostase, a oxidação da LDL é provavelmente mínima, devido tanto à presença de muitos antioxidantes dietéticos distribuídos no plasma e agregados a esta lipoproteína, como também pela remoção eficiente da LDL através do seu reconhecimento por receptores presentes abundantemente nas células hepáticas (WITZTUM, 1994; LIBBY, 2002). Contudo, essa situação pode ser modificada quando há aumento de espécies reativas, sejam de oxigênio ou nitrogênio, estabelecendo um quadro de estresse oxidativo. Uma vez que a modificação oxidativa da LDL nativa, decorrente deste balanço oxidativo, é um ponto chave na gênese da aterosclerose, a proteção desta lipoproteína contra a oxidação pode ser uma estratégia eficaz na prevenção e/ou progressão dos eventos implicados na formação do ateroma (KITA *et al.*, 2001; RICE-EVANS *et al.*, 1996; ABUJA *et al.*, 1997; VAYA *et al.*, 1997). Sendo assim, a mensuração de marcadores de peroxidação lipídica, figura como uma excelente ferramenta na caracterização de substâncias que agem como protetores tissulares e plasmáticos dos eventos oxidativos (ESTERBAUER, 1989; CASCIERI, 2002).

A paraoxonase 1, um marcador bioquímico da peroxidação lipídica, reduziu sua atividade provavelmente devido ao aporte elevado de vitamina C obtida pela ingestão de 750mL de suco de laranja por dia. Além disso, experimentos sugerem que

os flavonóides agem em sinergia com a vitamina C potencializando seu efeito antioxidante nas lipoproteínas do sangue prevenindo contra os danos da aterosclerose (JOHNSTON *et al.*, 2003; SÁNCHEZ-MORENO *et al.*; 2003a,b; FRANKE *et al.*, 2005), o que pode ter também contribuído para reduzir a ação da paraoxonase 1.

Os resultados de ROSENBLAT *et al.* (2006) sugerem que a HDL aumenta a atividade da PON1 ao estabilizar a enzima. Neste trabalho houve uma redução significativa de partículas de HDL, o que pode ter influenciado na redução da atividade da PON1. Outra hipótese pela redução da atividade da PON1 está relacionada com a redução significativa de Apo A-I, já que a deficiência de Apo A-I em humanos está relacionada com a redução da atividade sérica da PON1 (SORENSEN *et al.*, 1999; JAMES *et al.*, 1998; NOTO *et al.*, 2001; CABANA *et al.*, 2003). A maior parte da PON1 sérica está localizada na superfície da HDL e da Apo A-I (SORENSEN *et al.*, 1999; JAMES & DEAKIN, 2004).

CONCLUSÕES

O consumo de 750 mL/dia suco de laranja não foi associado com nenhuma variação no peso corporal, IMC, porcentagem de gordura e circunferência abdominal após a suplementação por 60 dias. O suco de laranja reduziu o colesterol total e LDL-colesterol demonstrando propriedade hipocolesterolêmica e antiaterogênica. A redução do HDL-colesterol e apo A-I foram associadas com a redução total do colesterol sanguíneo e provável menor atividade oxidante no sangue devido ao elevado aporte de vitamina C e flavanonas cítricas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abuja PM, Liebmann P, Hayn M, Schauenstein K, Esterbauer H. Antioxidant role of melatonin in lipid peroxidation of human LDL. **FEBS Letters**, v.413, p.289-93, 1997.

Ahmed Z, Ravandi A, Maguire GF, et al. Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (PON1) during high density lipoprotein oxidation with peroxynitrite donor. **J. Biol Chem**, v.276, p.24473-81, 2001.

Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL Jr, Morgan TM, Burke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. **J Nutr**. V. 126, p. 43-50, 1996.

Aviram M, Hardak E, Vaya J. et al. Human serum paraoxonase (PON1), Q and R selectively decrease lipid peroxides in coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. **Circulation**, v.101, p.2510-17, 2000.

Barter PJ. Hung sinclair lecture: the regulation and remodelling of HDL by plasma factors. **Atheroscler. Suppl**. 3, p. 39-47, 2002.

Benavente-Garcia O, Castillo J, Alcaraz M, Vicente V, Del Rio JA, Ortuño A. Beneficial action of Citrus flavonoids on multiple cancer-related biological pathways. **Curr. Cancer. Drug. Targets** ., v.7, n.8, p.795-809, 2007.

Bok SH, Lee SH, Park YB, Bae KH, Son KH, Jeong TS, Choi MS. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and Acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **J. Nutr.**, v.129, n.6, p.1182-85, 1999.

Borradaile NM, Dreu LE, Barret PHR, Huff MW. Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin: enhanced rapid intracellular degradation independent of reduced microsomal cholesteryl esters. **J Lipid Res**, v. 43, p. 1544-54, 2002.

Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**, v.232, p.34-47, 1986.

Cabana VG, Reardon CA, Feng N, et al. Serum paraoxonase: effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. **J. lipid Res**, v.44, p.780-92, 2003.

Cascieri MA. The potential for anti-inflammatory therapies for coronary artery disease. **Nature Reviews**, v.1, p.122 -130, 2002.

Carr TP, Parks JS, Rudel L L. Hepatic ACAT activity in African green monkeys is highly correlated to plasma LDL cholesteryl enrichment and coronary artery atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb**. V.12, p. 1274-83, 1992.

Cesar TB, Carneiro AC, Vendramine RC. Effect of chronic consumption of orange juice on the lipid profile and nutritional status of healthy subjects. In: THE 228TH ACS NATIONAL MEETING, August 2004, Philadelphia, PA, USA. Disponível em: <http://oasys2.confex.com/acs/228nm/techprogram/P788271.HTM>. Acesso em: 01/07/08.

Chiba H, Uehara M, Wu J, Wang X, Masuyama R, Suzuki K, Kanazawa K, Ishimi Y. Hesperidin, a citrus flavonoid, inhibits bone loss and decreases serum and hepatic lipids in ovariectomized mice. **J Nutr**, v. 133, p. 1892-97, 2003.

Cook NC, Samman S. Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **J Nutr Biochem**, v. 7, p. 66-76, 1996.

Daher CF, Abou-Khalil J, Baroody GM. Effect of acute and chronic grapefruit, orange, and pineapple juice intake on blood lipid profile in normolipidemic rat. **Med Sci Monit**, v.11(12), p.465-72, 2005.

Devaraj S, Autret BC, Jialal I. Reduced-calorie orange juice beverage with plant sterols lowers C-reactive protein concentrations and improves the lipid profile in human volunteers. **Am. J. Clin. Nut.**, v.84, supl.4, p.756-61. 2006.

Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. V. 369, suppl.1, p. 78-88, 2004.

Erlund I, Meririnne E, Alfthan G, Aro A. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. **J Nutr**, v. 131, p. 235-41, 2001.

Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. **Free Radical Research Communications**, v.6, p.67-75, 1989.

Franke AA, Cooney RV, Henning SM, Custer LJ. Bioavailability and Antioxidant Effects of Orange Juice Components in Humans. **J. Agric . Food. Chem.**, v.53, p.5170 -78, 2005.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifugation. **Clin Chem.**, v.18, p. 499-509, 1972.

Fuhrman B, Volkova N, Coleman R, Aviram M. Grape powder polyphenols attenuate atherosclerosis development in apolipoprotein E deficient (E⁰) mice and reduce macrophage atherogenicity. **Journal of Nutrition**, v.135, p.722-28, 2005.

Garcia, ACDB, Bonifácio NP, Vendramine RC, César TB. Influência do consumo de suco de laranja nos lípides sanguíneos e na composição corporal de homens normais e com dislipidemia. *Nutrire*, August, prelo; 2008.

Getz GS, Reardon CA. Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. **Curr Opin Lipidol**, v.15, p.261-67, 2004.

Ghanim H, Mohanty P, Pathak R, Chaudhuri A, Sia AL, Dandona P. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response. **Diabetes Care**, v.30, n.6, p. 1406-11, 2007.

Harborne JB, Willians CA. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481-504, 2000.

James RW, Blatter Garin MC, Calabresi L, et al. Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. **Atherosclerosis**, v.139, p. 77-82, 1998.

James RW, Deakin SP. The importance of high-density lipoprotein for paraoxonase-1 secretion, stability and activity. **Free Radic Biol Med**, v.37, p.1986-94, 2004.

Janssen I, Heymsfield SB, Allison DB, Kotler DP, Ross R. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. **Am. J.Clin. Nutr.**, v.75, p.683–88; 2002.

Johnston CS, Candice FLD, Strong GM. Orange Juice Ingestion and Supplemental Vitamin C Are Equally Effective at Reducing Plasma Lipid Peroxidation in Healthy Adult Women. **J. Am. Coll. Nutr.**, v.22, supl.6, p.519– 23, 2003.

Kim HK, Jeong TS, Lee MK, Park YB, Choi MS. Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. **Clin Chim Acta**, v. 327, p. 129-37, 2003.

Kita T, kume N, Minami M, Hayashida K, Murayama T, Sano H, Moriwaki H, kataoka H, Nishi E, Horiuchi H, Arai H, Yokode M. Role of oxidized LDL in atherosclerosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.947, p.199-206, 2001.

Kurowska EM, Spence JD, Jordan J, Wetmore S, Freeman DJ. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. **Am.J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. 1095-100,2000a.

Kurowska EM, Borradaile NM, Spence JD, Carrol KK. Hypocholesterolemic effects of dietary citrus juices in rabbits. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 1, p. 21-29, 2000b.

Kurowska EM, Manthey JA. Regulation of lipoprotein metabolism in HepG2 cells by citrus flavonoids. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v.505, p.173-79, 2002.

Kurowska EM, Manthey JA. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. **J. Agric. Food Chem.**, v.52, p. 2879-86, 2004.

Lee BJ, Lin PT, Liaw YP, Chang SJ, Cheng CH, Huang YC. Homocysteine and risk of coronary artery disease: folate is the important determinant of plasma homocysteine concentration. **Nutrition**, v. 19, p. 577-83, 2003.

Libby P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature Reviews**, v. 420, p.868-74, 2002.

Lima ES, Maranhão RC. Rapid, Simple Laser-Light-Scattering Method for HDL Particle Sizing in Whole Plasma. **Clinical Chemistry** v. 50, n° 6, p.1086-88, 2004.

Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature Reviews*, v.407, p.233-41, 2000.

Mackness M, Durrington PN, Mackness B. Paraoxonase1 activity, concentration and genotype in cardiovascular diseases. **Curr Opin Lipidol**, v.15, p.399-404, 2004.

Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.25, p.1-11, 2005.

Manthey JA, Guthrie N. Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. **J. Agric . Food. Chem.**, v.9, n.50, p.5837- 43, 2002.

Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v.52, p.673 -751, 2000.

- Miura Y, Tomita CT, et al. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Journal of Nutrition**, v.131, p.27-32, 2001
- Monforte MT, Trovato A, Kirjavainen S, Forestieri AM, Galati EM, Lo Curto RB. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. **Farmacologia**, v.50, n.9, p. 595-99, 1995.
- Mooradian AD, Haas MJ, Wehmeier KR, Wong NC. Obesity related changes in high-density lipoprotein metabolism. **Obesity**, V. 16, n.6, p.1152-60, 2008.
- Noll G. Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. **Atherosclerosis**, v. 140 Suppl.1, p. 3-9, 1998.
- Noto H, Hashimoto Y, Satoh H, et al. Exclusive association of paraoxonase 1 with high-density lipoprotein particles in apolipoprotein A-I deficiency. **Biochem Biophys Res Commun**, v.289, p.395-401, 2001.
- Pasdar A, Ross-Adams H, Cumming A, Cheung J, Whalley L, ST Clair D, Macleod MJ. Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. **BMC Medical Genetics**. V.7, n. 28 doi:10.1186/1471-2350-7-28, 2006.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, p.933-56, 1996.
- Riso P, Visioli F, Gardana C, Grande S, Brusamolino A, Galvano F, Galvano G, Porrini M. Effects of blood orange juice intake on antioxidant bioavailability and on different markers related to oxidative stress. **J. Agric. Food. Chem.**, v.53, p.941-47. 2005.
- Rosa JM, Xian-Liu Z, Guthrie N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects. **Alternatives Therapies**, v.13, n.6, p.44-48, 2007.
- Rosenblat M, Karry R, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is a more potent antioxidant and stimulant of macrophage cholesterol efflux, when present in HDL than in lipoprotein-deficient serum: Relevance to diabetes. **Atherosclerosis**. v.187, n.74, p.1-10, 2006.
- Rozenberg O, Rosenblat M, Coelman R, et al. Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. **Free Radic Biol Med**, v.34, p.774-84, 2003.
- Sánchez-Moreno C, Cano MP, Ancos B, Plaza L, Olmedilla B, Granado F, Martín A. Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.78, supl.3, p.454-60, 2003a.
- Sánchez-Moreno C, Cano MP, Ancos B, Plaza L, Olmedilla B, Granado F, Martín A. High-Pressurized Orange Juice Consumption Affects Plasma Vitamin C, Antioxidative Status and Inflammatory Markers in Healthy Humans. **J. Nutr.**, v.133, p.2204-09, 2003b.
- Schramm DD, German JB. Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, p.560-66, 1998.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Brás. Cardiol.**, v.88, supl.1, p.1-19, 2007.

Sorenson, RC; Bisgaier, CL; Aviram, M et al. Human serum paraoxonase /arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 19, p.2214-2225, 1999.

Stanhope KL, Griffen SC, Bair BR, Swarbrick MM, Keim NL, Havel PJ. Twenty-four-hour endocrine and metabolic profiles following consumption of high-fructose corn syrup, sucrose-, fructose-, and glucose-sweetened beverages with meals1–3. *Am J Clin Nutr.* V.87, p.1194–203, 2008.

Steinberg D, Lewis A. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. **Circulation**, v.95, p.1062-71, 1997.

Teiber JF, Draganov DI, La Du BN. Lactonase and lactonizing activities of human serum paraoxonase 1 (PON1) and rabbit serum PON3. **Biochem Pharmacol**, v.66, p.887-96, 2003.

USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, **Release 19 (2006)**http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-in/list_nut_edit.pl. Acesso em 29/08/07.

Vaya J, Belinky PA, Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. **Free Radical Biology and Medicine**, v.23, p.302-13, 1997.

Vinson JA, Liang X, Proch J, Hontz BA, Dancel J, Sandone N. Polyphenol antioxidants in citrus juices: in vitro and in vivo studies relevant to heart disease. **Adv . Exp. Med. Biol.**, v.505, p.113-22, 2002.

Vison JA, Teufel K, Wu N. Green and black teas inhibit atherosclerosis by lipid, antioxidant, and fibrinolytic mechanisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.3661-65, 2004.

Whitman SC, Kurowska EM, Manthey JA, Daugherty A. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class a scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages. **Atherosclerosis**, v.178, p.25-32, 2005.

Wilcox LJ, Borradaile NM, Dreu LD, Huff MW. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenina and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **J Lipid Res**, v. 42, p. 725-34, 2001.

Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. **Lancet**, v.344, p.793-95, 1994.

WHO World Health Organization. **Cardiovascular diseases.** [www. Who.int/cardiovascular diseases](http://www.who.int/cardiovascular diseases), em 10/10/2006.

Tabela 1: Variáveis antropométricas em mulheres (n=15) e homens (n=14) distribuídas de acordo com o índice de massa corporal (IMC) no início do experimento (pré) e ao final (pós) da suplementação com suco de laranja. Araraquara-SP, 2006.

Suco de Laranja	Eutróficos (IMC \leq 25kg/m ²)		Sobrepeso/Obesidade (IMC $>$ 25kg/m ²)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Mulheres (n=15)				
Peso (kg)	58 \pm 7	57 \pm 7	70 \pm 7	70 \pm 5
IMC (kg/m ²)	21 \pm 2	21 \pm 2	28 \pm 3	28 \pm 3
Gordura Corporal (%)	28 \pm 4	26 \pm 4	34 \pm 4	34 \pm 3
Circunferência Abdominal (cm)	77 \pm 6	77 \pm 5	90 \pm 7	90 \pm 7
Homens (n=14)				
Peso (kg)	66 \pm 5	67 \pm 5	93 \pm 16	93 \pm 16
IMC (kg/m ²)	22 \pm 1	22 \pm 1	30 \pm 3	30 \pm 3
Gordura Corporal (%)	22 \pm 6	21 \pm 3	27 \pm 5	26 \pm 6
Circunferência Abdominal (cm)	79 \pm 7	79 \pm 7	104 \pm 13	104 \pm 12

Tabela 2: Ingestão dietética de lipídeos totais, ácidos graxos saturados e colesterol dietético antes (pré) e após (pós) o período de suplementação com suco de laranja em homens e mulheres e comparação com as cotas dietéticas recomendadas (DRI-2005). Araraquara-SP, 2006.

Nutrientes	Indivíduos eutróficos ($IMC \leq 25 \text{kg/m}^2$)		Ind. sobrepeso/obesos ($IMC > 25 \text{kg/m}^2$)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Mulheres (n=15)				
Lipídeos Totais, g/d	44 ± 20 (DRI: 44 – 77 g/d)	55 ± 22	44 ± 34 (DRI: 45 – 79 g/d)	85 ± 55
AG Saturados, g/d	14 ± 8 (DRI: 4 – 15 g/d)	18 ± 6	14 ± 12 (DRI: 4 – 16 g/d)	30 ± 20
Colesterol, mg/d	189 ± 100 (RDA: 200mg/d)	232 ± 164	175 ± 129 (RDA: 200mg/d)	308 ± 71
Homens (n=14)				
Lipídeos Totais, g/d	89 ± 60 (DRI: 62- 109 g/d)#	72 ± 41	93 ± 43 (DRI: 67 – 117 g/d)	91 ± 52
AG Saturados, g/d	25 ± 13 (DRI: 7-22 g/d)	23 ± 17	32 ± 15 (DRI: 10 – 23 g/d)	33 ± 22
Colesterol, mg/d	578 ± 563 (RDA: 200 mg/d)	271 ± 310	304 ± 146 (RDA: 200 mg/d)	386 ± 240

Intervalo de variação da cota dietética recomendada (DRI) de acordo com o gênero e IMC do grupo.

Tabela 3: Dosagens bioquímicas dos lípides e apolipoproteínas séricas em homens e mulheres no início (pré) e final (pós) do período de suplementação dietética com suco de laranja. Araraquara-SP, 2006.

Variáveis bioquímicas do soro (mg/dL)	Suplementação com suco de laranja			
	Homens (n=14)		Mulheres (n=15)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Triglicerídeos	102 ± 33	106 ± 35	88 ± 39	98 ± 48
Colesterol total	182 ± 41	162 ± 37*	174 ± 30	157 ± 22*
LDL-colesterol	117 ± 39	99 ± 35*	104 ± 23	88 ± 20*
HDL-colesterol	45 ± 9	42 ± 8*	53 ± 12	49 ± 9*
Apo A-I	112 ± 15	94 ± 16*	130 ± 30	103 ± 24*
Apo B-100	91 ± 31	92 ± 32	85 ± 25	91 ± 17

* valores com diferença estatisticamente significativa, $p < 0,05$. Teste t pareado

Tabela 4: Atividade da enzima paraoxonase 1 (PON1) e tamanho da partícula de HDL. Araraquara-SP, 2006.

Suplementação de suco de laranja	Pré	Pós	<i>p</i>
PON 1, (nmol.min⁻¹.mL⁻¹)			
Mulheres (n=15).	56 ± 44	45 ± 30	0,13
Homens (n=14)	52 ± 31	42 ± 23	0,10
Tamanho da HDL, (nm)			
Mulheres (n=15).	8,68 ± 0,63	8,93 ± 0,61	0,52
Homens (n=14)	9,09 ± 0,52	8,79 ± 0,86	0,52