



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROANTOCIANIDINAS EFEITO CARDIOVASCULAR VERSUS O
STRESS OXIDATIVO

Trabalho submetido por
Sofia da Costa Gomes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

setembro de 2014



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROANTOCIANIDINAS EFEITO CARDIOVASCULAR VERSUS O
STRESS OXIDATIVO

Trabalho submetido por
Sofia da Costa Gomes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Porf. Doutora Margarida Moncada

setembro de 2014

RESUMO

Esta monografia tem como objetivo o estudo da capacidade das proantocianidinas atuarem na prevenção e no tratamento de patologias cardiovasculares.

As proantocianidinas são moléculas pertencentes à família dos flavonoides. Os flavonoides são moléculas com conhecida capacidade em reduzir a incidência das doenças cardiovasculares, assim como um grande número de outras patologias.

As proantocianidinas encontram-se largamente distribuídas nos alimentos. No entanto, podem ser encontradas em maiores concentrações na canela, no cacau, nos frutos vermelhos, e nas sementes das uvas.

As proantocianidinas possuem uma comprovada ação de proteção cardiovascular, atuando também na redução dos factores de risco associados ao desenvolvimento de patologias cardiovasculares, como, a hipertensão, o colesterol elevado e o *stress* oxidativo.

Nesta monografia são explicadas as propriedades fisiológicas das proantocianidinas, assim como as evidências de proteção cardiovascular e os mecanismo de ação em que a mesma é exercida.

Palavras chave:

Doenças cardiovasculares

Proantocianidinas

Flavonoides

Stress oxidativo

ABSTRAT

This work aims to study the capacity of proanthocyanidins to act in the prevention and treatment of cardiovascular pathologies.

Proanthocyanidins are molecules from the family of the flavonoids best known for the ability of reducing the incidence of cardiovascular diseases, as well as a great number of other pathologies.

Proanthocyanidins are widely spread in food. However, they can be found in greater concentrations in cinnamon, cacao, berries and grape seeds.

Proanthocyanidins have a proved action on cardiovascular protection, acting also on the reduction of risk factors associated to the development of cardiovascular diseases such as hypertension, high cholesterol and oxidative stress.

In this work there are addressed the physiological properties of proanthocyanidins, as well as the evidences of cardiovascular protection and its action mechanisms.

Keywords:

Cardiovascular diseases

Proanthocyanidins

Flavonoids

Oxidative stress

Ao meu Manel.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer em primeiro lugar à professora Margarida Moncada por toda a disponibilidade e apoio que sempre demonstrou no decorrer desta tese.

Agradeço aos meus colegas da turma 2, pelo companheirismo demonstrado e tão difícil de encontrar no mundo universitário.

Agradeço às minhas colegas de curso, Tânia Rodrigues e Vanessa José pela ajuda, pelas tardes de estudo e pelo companheirismo e amizade sempre presente.

Agradeço às minhas colegas Isabel Silva, Filipa Cantiga e Ana Sofia Gonçalves pelos momentos de alegria e descontração ao longo do curso.

Agradeço ao Coro Académico Egas Moniz pelos momentos bem passados ao longo do último ano.

Agradeço à minha amiga de sempre e para sempre Patrícia Serpa Soares.

Agradeço à minha colega e amiga de longa data Tânia Couceiro por toda a ajuda ao longo do curso e pela sua amizade dentro e fora da faculdade.

Agradeço à minha irmã Karine e ao meu sobrinho Caetano pelas alegrias compartilhadas.

Agradeço ao Manel por toda a paciência, carinho, compreensão e inspiração que me deu ao longo destes últimos anos. Por ter feito de mim não só uma pessoa melhor como uma estudante melhor.

Por fim, agradeço à pessoa mais importante da minha vida e a única que me proporcionou a oportunidade de tirar o curso que sempre quis, a minha fantástica Mãe, Alice Costa.

ÍNDICE DE CONTEÚDOS

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 ENQUADRAMENTO GERAL.....	11
1.2.OBJETIVOS E METODOLOGIA DA MONOGRAFIA.....	12
1.3 ORGANIZAÇÃO DA MONOGRAFIA.....	12

CAPÍTULO 2 – CARATERISTICAS GERAIS DO FLAVONOIDES

2.1.INTRODUÇÃO.....	14
2.2.ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	15
2.3.CLASSES.....	16

CAPÍTULO 3 - PROANTOCIANIDINAS

3.1. CARATERÍSTICAS GERAIS E DISTRIBUIÇÃO.....	18
3.2. ESTRUTURA E CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA.....	18
3.3. DISTRIBUIÇÃO NA NATUREZA.....	21
3.4. PROPRIEDADES FISIOLÓGICAS.....	22
3.5. BIODISPONIBILIDADE.....	23
3.6 ABSORÇÃO E EXCREÇÃO.....	24
3.7. PARADOXO FRANCÊS.....	25

CAPÍTULO 4 – *STRESS* OXIDATIVO

4.1. INTRODUÇÃO.....	26
4.2. MECANISMO DE AÇÃO.....	27
4.3. RADICAIS LIVRES E MECANISMO DE DEFESA.....	28
4.4 AÇÃO DOS RADICAIS LIVRES.....	29

CAPÍTULO 5 – DESENVOLVIMENTO

5.1. DOENÇAS CARDIOVASCULARES.....	30
5.2. PAPEL DAS PROANTOCIANIDINAS NA PREVENÇÃO E PROTEÇÃO CARDIOVASCULAR.....	31
5.3. MECANISMO DE AÇÃO DAS PROANTOCIANIDINAS.....	32
5.3.1 AÇÃO SOBRE O <i>STRESS</i> OXIDATIVO.....	33
5.3.2 AÇÃO SOBRE O ENDOTÉLIO.....	35
5.3.3. AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA.....	37
5.3.4. AÇÃO NO METABOLISMO.....	38
5.3.5. EFEITO CARDIOPROTETOR E ANTI-ISQUÊMICO.....	39
5.3.6. INIBIÇÃO DA AGREGAÇÃO PLAQUETAR E DESENVOLVI- MENTO DE TROMBOSE.....	41
5.4. PROANTOCIANIDINAS E A ATEROSCLEROSE.....	43

CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1. CONCLUSÃO.....	46
---------------------	----

ÍNDICE DE TABELAS

CAPITULO 2 – CARATERÍSTICAS GERAIS DOS FLAVONOIDES

Tabela 2.2.1 – Ações dos Flavonoides no organismo (Adaptado de Kruger, 2014 e de Asgary 2005).....	15
Tabela 2.3.1 – Classes de Fenóis existentes nas plantas. (Adaptado de Hummer, 2008; Kruger, 2014; Hooper, 2008).....	16

CAPITULO 3 –PROANTOCIANIDINAS

Tabela 3.3.1 – Alimentos e respetiva concentração em Proantocianidinas (adaptado de Kruger <i>et al</i> /2014).....	21
---	----

CAPITULO 4 – *STRESS* OXIDATIVO

Tabela 4.1.1 – Patologias resultantes do <i>stress</i> oxidativo.....	26
Tabela 4.3.1 – Espécies reativas de oxigénio (adaptado de Fang 2002 e Weseler 2010).....	27
Tabela 4.3.2 – Ação de alguns radicais livres no organismo (adaptado de Fang 2002 e Weseler 2010).....	28
Tabela 4.4.1 – Vantagens das Proantocianidinas a nível cardiovascular (adaptado de Fang 2002).....	29

CAPÍTULO 5 – DESENVOLVIMENTO

Tabela 5.3.1 – Vantagens das proantocianidinas a nível cardiovascular (Adaptado de Kruger, 2014).....	33
Tabela 5.3.5.1 – Ação Cardioprotetora e Anti-iscémica dos Flavonoides e das Proantocianidinas (adaptado de Kruger, 2014).....	41
Tabela 5.3.6.1 – Quadro resumo dos principais mecanismos de ação das Proantocianidinas (adaptado de Kruger, 2014).....	42

ÍNDICE DE IMAGENS

CAPÍTULO 3.2 – ESTRUTURA E CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA

Fig.1-Proantocianidinas tipo A (adaptado de Hummer, 2008).....	19
Fig.2. Proantocianidinas tipo B (adaptado de Hummer, 2008).....	19
Fig.3. Proantocianidinas com diferentes unidades de flavan-3-óis (adaptado de Hummer 2008).....	20

LISTA DE ABREVIATURAS

DCV – Doenças Cardiovasculares

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

NO – Óxido Nítrico

PAC – Proantocianidinas

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 ENQUADRAMENTO GERAL

Ao longo dos anos, vários têm sido os estudos desenvolvidos sobre as diversas propriedades dos flavonoides e dos seus benefícios para o organismo humano. Dentro das várias classes de flavonoides as proantocianidinas possuem um especial destaque.

Estas encontram-se largamente distribuídas nos alimentos consumidos diariamente pelo Homem. As proantocianidinas podem também ser encontradas num grande número de suplementos alimentares, utilizados e conhecidos sobretudo devido à capacidade de proteção das vias urinárias, impedindo a adesão das bactérias às paredes da uretra.

No entanto, estas não são as únicas vantagens que a suplementação com estas moléculas conferem ao organismo. As proantocianidinas possuem, entre outras propriedades, a capacidade de atuar ao nível das doenças cardiovasculares, possuindo não só uma ação de proteção cardiovascular, como também reduzindo vários factores de risco associados ao desenvolvimento dos mesmos.

A necessidade de procurar e implementar medidas de combate às doenças cardiovasculares surge do desafio que as mesmas continuam a representar na sociedade em que vivemos. Este grupo de patologias continua a representar a principal causa de morte no Mundo.

As proantocianidinas manifestam-se positivamente no combate a este grupo de patologias, atuando na proteção do músculo cardíaco, e também na redução de vários factores de risco envolvidos no aparecimento destas patologias, como o *stress* oxidativo, o colesterol elevado, a hipertensão arterial e a aterosclerose, entre outros.

1.2 OBJETIVOS E METODOLOGIA DA DISSERTAÇÃO

O principal objetivo da presente monografia é o estudo das propriedades cardiovasculares das proantocianidinas.

Visto as proantocianidinas serem constituintes do grupo dos flavonoides, um primeiro capítulo é direcionado aos mesmos. De seguida são então introduzidas as moléculas em estudo, as proantocianidinas, onde são enumeradas as propriedades das mesmas e o seu comportamento no organismo.

Um terceiro capítulo é dedicado ao *stress* oxidativo, um dos fatores de risco associado ao desenvolvimento de patologias cardiovasculares.

Por fim é explicada a proteção cardiovascular e a redução de outros fatores de risco associados ao mesmo, como as disfunções do endotélio, a hipertensão, e a hipercolesterolemia.

1.3. ORGANIZAÇÃO DA MONOGRAFIA

Esta monografia encontra-se dividida em seis capítulos. O presente capítulo tem caráter introdutório, com uma breve apresentação dos objetivos do trabalho, e organização do monografia.

No segundo capítulo, faz-se uma introdução ao grupo ao qual estão inseridas as moléculas em estudo, os flavonoides passando pela distribuição, atividade e divisão das mesmas.

No capítulo três são introduzidas as moléculas em estudo, as proantocianidinas. Esse capítulo tem como objetivo dar a conhecer melhor estas moléculas do ponto de vista químico e fisiológico. A sua distribuição na natureza encontra-se também mencionada, tal como o seu comportamento no organismo, a sua absorção e excreção.

No capítulo quatro é descrito o processo de desenvolvimento do *stress* oxidativo, fator associado ao desenvolvimento de patologias cardiovasculares, a produção de radicais livres, e a ação dos mesmos no organismo humano.

O capítulo cinco é dedicado às patologias cardiovasculares. No decorrer desse capítulo são descritos os mecanismos pelos quais as proantocianidinas exercem a sua ação cardioprotetora, assim como a redução de fatores que levam ao desenvolvimento deste grupo de patologias. Ainda no presente capítulo é também abordada a aterosclerose, umas das principais doenças cardiovasculares associadas a morte em Portugal e no Mundo.

Por fim, no capítulo seis são apresentadas as conclusões finais desta monografia, fazendo-se ainda referência a perspectivas futuras na temática da monografia.

CAPÍTULO 2 – CARATERISTICAS GERAIS DOS FLAVONOIDES

2.1. INTRODUÇÃO

Os flavonoides são moléculas solúveis em água, constituintes da grande família dos polifenóis. São conhecidos sobretudo devido às suas capacidades antioxidantes. Estas moléculas encontram-se amplamente distribuídas entre as frutas e os vegetais, e são responsáveis pela cor amarela e vermelha dos mesmos. As frutas mais coloridas apresentam de uma maneira geral uma maior concentração em flavonoides. (Kruger, 2014), (Asgary, 2005), (Andersen, 2006), (Georgiev, 2014)

Embora com uma vasta distribuição, alguns alimentos possuem uma maior concentração nestas moléculas como são exemplo os frutos vermelhos, as uvas, a canela e o cacau. (Kruger, 2014)

A sua concentração nos alimentos está dependente de alguns fatores:

- Tipo de fruto; (Kruger, 2014)
- Origem geográfica; (Kruger, 2014)
- Estação do ano; (Kruger, 2014)
- Prática agrícola. (Kruger, 2014)

Vários estudos conferem a este grupo uma já conhecida capacidade de proteção contra várias patologias, entre as quais as patologias cardiovasculares. (Asgary, 2005), (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)

2.2. ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os flavonoides atuam de distintas maneiras na proteção do organismo:

Tabela 2.2.1 – Ações dos Flavonoides no organismo (Adaptado de Kruger, 2014 e de Asgary, 2005)

AÇÕES DOS FLAVONOIDES NO ORGANISMO
Reduzem a oxidação das LDL
Reduzem a adesão e agregação plaquetar
Inibem enzimas envolvidas no metabolismo dos lípidos e das LDL
Diminuem os níveis de LDL e de colesterol total
Promovem a vasodilatação endotelial
Capturam os radicais livres
Possuem ação anti-inflamatória
Possuem ação anti-isquémica
Possuem ação antioxidante

Dentro das varias funções dos flavonoides a que mais se destaca é a sua forte capacidade antioxidante. Esta ação resulta da doação de átomos de hidrogénio aos radicais livres. (Arimboor, 2012), (Kruger, 2014), (Hummer, 2008)

Os flavonoides atuam de diversas maneiras no organismo, conseguindo exercer várias atividades:

- Atividades antibacterianas; (Hummer, 2008)
- Antivíricas; (Hummer, 2008)
- Antialérgicas; (Hummer, 2008)
- Antitrombóticas; (Kruger, 2014)
- Anti-inflamatórias; (Kruger, 2014), (Reed, 2002), (Park, 2012), (Heim, 2012)
- Vasodilatadoras. (Kruger, 2014), (Reed, 2002)

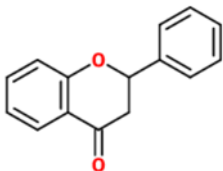
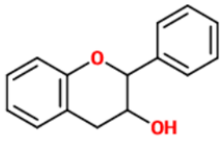
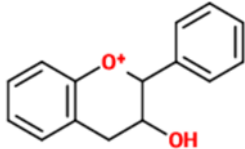
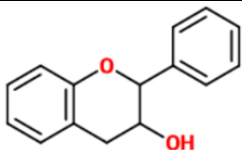
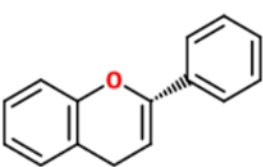
A introdução destas moléculas numa dieta equilibrada representa uma mais valia, conferindo proteção e prevenindo o aparecimento de diversas doenças:

- Cancro; (Hummer, 2008), (Kruger, 2014), (Silva, 2011)
- Diabetes; (Kruger, 2014)
- Enfarte do Miocárdio; (Kruger, 2014)
- Aterosclerose; (Reed, 2002)
- Artrite Reumatoide; (Kruger, 2014),
- Doenças Neurodegenerativas. (Kruger, 2014)

2.3. CLASSES

Os Fenóis existentes nas plantas podem ser divididos de acordo com as seguintes classes: (Hummer, 2008)

TABELA 2.3.1 – Classes de Fenóis existentes nas plantas. (Adaptado de Hummer, 2008; Kruger, 2014; Hooper, 2008)

CLASSES	ESTRUTURA QUÍMICA	EXEMPLOS
FLAVANONAS		CÍTRINOS
ISOFLAVANONAS		SOJA
ANTOCIANIDINAS		AMORAS, GROSE-LHAS, MIRTILOS
FLAVAN-3-ÓIS		CACAU, UVAS, VI-NHO TINTO
PROANTOCIANIDINAS		CACAU, UVAS, VI-NHO TINTO

As antocianidinas (também presentes em alimentos, mas em menores quantidades) e as proantocianidinas são das classes que conferem maior proteção contra o desenvolvimento de patologias cardiovasculares, sendo estas últimas objeto de estudo desta monografia. (Hummer, 2008), (Kruger, 2014), (Andersen, 2006)

CAPÍTULO 3 - PROANTOCIANIDINAS

3.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS E DISTRIBUIÇÃO

As proantocianidinas (PAC), também denominadas por taninos condensados são polímeros de flavonoides constituídos por unidades de flavan-3-ol. (Hummer, 2008) Os fenóis estão amplamente distribuídos no Reino das plantas, e as PAC representam o segundo grupo de fenóis em maior abundância nas mesmas. Estão também presentes numa grande variedade de alimentos ingeridos pelo ser humano no seu dia-a-dia, entre os quais: (Asgary, 2005), (Hummer, 2008), (Arimboor, 2012) (Kruger, 2014), (Rosch, 2004)

- i) As frutas; (Kruger, 2014)
- ii) Os frutos silvestres; (Kruger, 2014)
- iii) As avelãs; (Kruger, 2014)
- iv) O cacau; (Kruger, 2014)
- v) O feijão; (Kruger, 2014)
- vi) O vinho; (Kruger, 2014)
- vii) Os vegetais; (Kruger, 2014)
- viii) Os cereais. (Kruger, 2014)

A sua presença nos alimentos confere aos mesmos textura, cor, sabor (caracteristicamente amargo), mas sobretudo os seus benefícios nutricionais. (Arimboor, 2012) (Hummer, 2008)

3.2. ESTRUTURA E CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA

As PAC são formadas por unidades de flavan-3-ol, ligadas sobretudo por ligações C4 – C8, podendo também estar ligadas por ligações C4 – C6. Estas ligações são denominadas de ligações tipo B. Outro tipo de ligações podem também existir nas moléculas de PAC, tais como as ligações tipo A, que possuem uma ligação adicional relativamente às anteriores, entre C2 e C7. (Hummer, 2008) (Rasmussen, 2005)

Comparativamente às ligações tipo B, as tipo A possuem menos dois átomos hidrogénios. Devido à ligação adicional, estas últimas possuem uma maior estabilidade quando comparadas com as primeiras. (Hummer, 2008), (Rasmussen, 2005)

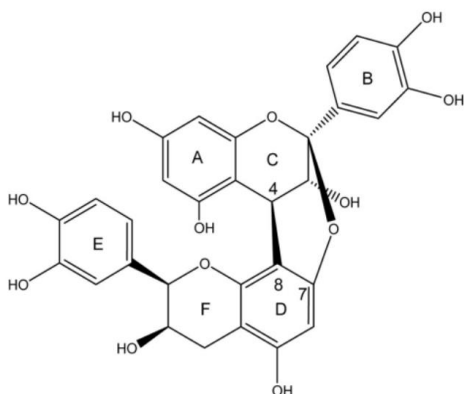


Fig.1 – Proantocianidina Tipo A (Adaptado de Hummer, 2008)

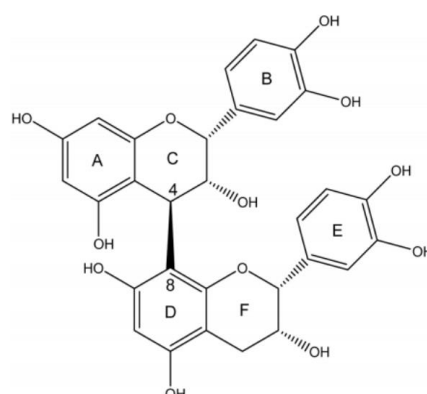


Fig.2 – Proantocianidina Tipo B (Adaptado de Hummer, 2008)

Relativamente à sua estrutura, as PAC apresentam-se variadas. Consoante o monómero de flavan-3-ol assim existe uma classe diferente de PAC. (Hummer, 2008) Na figura 3 estão representadas as quatro unidades de monómeros mais abundantes.

As PAC que possuem na sua constituição apenas unidades de catequinas, passam a denominar-se de procianidinas, sendo estas as mais abundantes nas plantas. (Hummer, 2008)

O grau de polimerização das proantocianidinas influencia a sua biodisponibilidade, assim como a capacidade de atuar benéficamente no organismo. Gu *et al.* verificou que dentro do grupo das PAC existem uma grande variedade de graus de polimerização. (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)

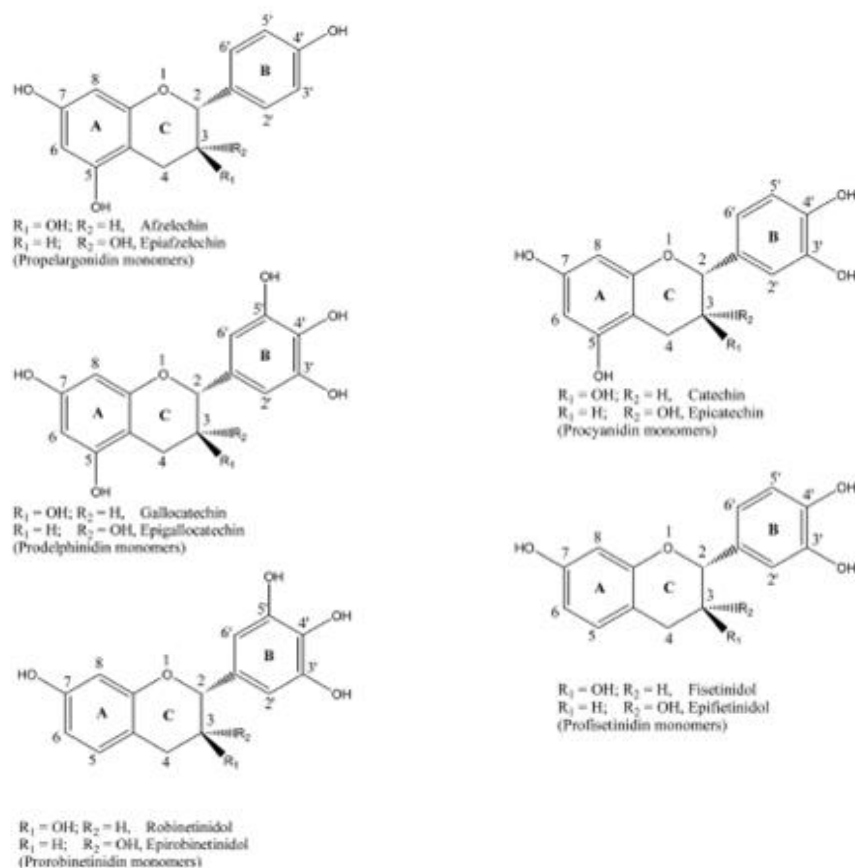


Fig. 3 – Proantocianidinas com diferentes unidades de flavan-3-óis (Adaptado de Hummer, 2008)

Relativamente às propriedades das PAC, estas apresentam um grande número de funções, sendo por isso objeto de estudo intensivo. Dentro das suas propriedades destacam-se,

- Proteção contra o *stress* oxidativo, atuando ao nível das células do endotélio; (Kruger, 2014)
- Prevenção de trombozes; (Kruger, 2014)
- Coagulação. (Kruger, 2014)

Assim, estas moléculas apresentam vários tipos de ações no organismo: i) atuam no stress oxidativo, ii) possuem ação anticancerígena, iii) antidiabética, iv) antimutagénica, e iv) ação cardioprotetora. Esta última será abordada com maior destaque, visto ser objeto de estudo da presente monografia. (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)

As células do sangue são o alvo principal destas moléculas, já que estas estão expostas ao oxigénio mais do que qualquer outro tecido no corpo humano. (Hummer, 2008)

As propriedades das PAC devem-se à sua estrutura físico-química e ao seu tamanho. O grau de polimerização controla as propriedades e a biodisponibilidade das mesmas. (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)

No entanto, caraterizar completamente estas moléculas é difícil devido à sua complexidade, natureza, e número de unidades de monómeros existentes na sua constituição. (Hummer, 2008)

3.3 DISTRIBUIÇÃO NA NATUREZA

Graças à sua ampla distribuição nos alimentos, estas moléculas fazem parte da dieta do Homem no seu dia a dia. Alguns dos alimentos que possuem uma maior concentração em PAC são: (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)

Tabela 3.3.1 – Alimentos e respetiva concentração em PAC (Adaptado de Kruger, et al 2014)

Alimentos	Proantocianidinas (mg/100g)
Sementes de Cacau	9481.75
Canela	8108.14
Chocolate	1635.94
Avelãs (<i>Corylus avellana</i>)	500.66
Arandos (<i>Vaccinium oxycoccos</i>)	418.77
Sementes de Uva	373.4
Mirtilos (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	176.49
Morangos (<i>Fragaria X ananassa</i>)	141.67
Uvas Brancas	81.54
Vinho Tinto	61.63
Pele de Uva	47.97
Chá Verde	12.2

A grande maioria dos alimentos possuem proantocianidinas do tipo B, as tipo A (mais estáveis) podem ser encontradas em:

- Caril (84-90%); (Kruger, 2014)
- Canela (84-90%); (Kruger, 2014)
- Amendoins (51-65%); (Kruger, 2014)
- Frutos vermelhos (51- 65%); (Kruger, 2014)
- Abacate (29%). (Kruger, 2014)

3.4 PROPRIEDADES FISIOLÓGICAS

Como já referido, as PAC apresentam um conjunto de atividades no organismo humano. No entanto, as ações de maior destaque destas moléculas são:

1. Ação antioxidante; (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)
2. Ação anticancerígena; (Hummer, 2008)
3. Ação antidiabética; (Mateos-Martín, 2012)
4. Ação antivírica; (Hummer, 2008)
5. Atividade antitumoral; (Hummer, 2008)
6. Ação cardioprotetora. (Hummer, 2008), (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

3.5 BIODISPONIBILIDADE

As propriedades biológicas dos flavonoides estão dependentes de vários fatores:

- i) Estrutura química; (Kruger, 2014)
- ii) Taxa e da extensão de absorção intestinal; (Kruger, 2014)
- iii) Natureza dos metabolitos em circulação; (Kruger, 2014)
- iv) Grau de polimerização; (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)
- v) Excreção urinária. (Kruger, 2014)

As moléculas de proantocianidinas são particularmente complexas, possuindo vários níveis de polimerização e acilação em diferentes tipos de frutos e vegetais dificultando as sua correta análise. (Kruger, 2014)

Gu *et al.* verificou que o consumo diário de PAC representa 57.7 mg/ dia. (Rasmussen, 2005) No entanto, para que haja um efeito *in vivo* é necessário que quantidades suficientes das mesmas cheguem aos tecidos alvo. (Kruger, 2014)

Como dito anteriormente, as PAC possuem um grau de polimerização muito variável que influencia a sua correta absorção. Estudo recentes comprovam que apenas as PAC que possuem um grau de polimerização menor ou igual a 3 são completamente absorvidas no trato gastrointestinal. Verificou-se também que as PAC que possuem um grau de polimerização de 6 são cerca de dez vezes menos permeáveis às células do intestino humano. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

Apesar de existirem em grande abundância nos alimentos as PAC não são facilmente absorvidas pelo organismo. Apenas os monómeros e dímeros são absorvidos pelo organismo; as PAC com um grau de polimerização superior a 2 chegam com dificuldade à circulação sanguínea. Tal facto deve-se à microflora presente no intestino humano que contribui para a degradação destas moléculas. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

As PAC sobrevivem ao pH ácido do estômago, mas uma vez no intestino são degradadas em moléculas de baixo peso molecular, tais como os ácidos fenólicos. Alguns dos produtos de degradação resultantes são: ácido fenilacético e ácido fenilpropiónico. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

3.6 ABSORÇÃO E EXCREÇÃO

Sendo as paredes do intestino permeáveis aos dímeros e trímeros de proantocianidinas, em ambiente ácido as proantocianidinas que possuem um grau de polimerização inferior a três são decompostas em monómeros e dímeros de epicatequinas e posteriormente absorvidos pelo intestino delgado. (Kruger, 2014)

O intestino é permeável às proantocianidinas oligoméricas, no entanto, o mesmo não se verifica com as poliméricas. As proantocianidinas poliméricas que possuem um grau de polimerização superior a dez são transportadas até ao intestino delgado e aí são maioritariamente degradadas pela microflora intestinal. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

Embora a polimerização influencie negativamente a absorção intestinal das proantocianidinas, estas conseguem ainda assim ter um impacto positivo na saúde. (Kruger, 2014)

Assim, podemos concluir que os benefícios conferidos por este grupo de moléculas não está dependente de uma correta absorção das mesmas. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

Contudo, graças há mistura de polifenóis presentes nas frutas e nos vegetais é difícil afirmar se determinada ação se deve exclusivamente às proantocianidinas ou devido há presença de outros flavonoides, como é o caso das antocianidinas. (Kruger, 2014)

3.7. O PARADOXO FRANCÊS

A dieta rica em gorduras pela população francesa levaria a crer que esta seria uma das populações mais afetadas pelas doenças cardiovasculares. Contudo, estudos epidemiológicos e nutricionais revelaram o denominado paradoxo francês. (Kruger, 2014)

Apesar da sua alimentação rica em gorduras, os franceses possuem uma incidência de doenças cardiovasculares muito reduzida. (Kruger, 2014)

Esta curiosidade despoletou o interesse pelo consumo de polifenóis, já que se verificou que o consumo diário de vinho tinto por parte desta população seria o responsável pela proteção cardiovascular verificada na mesma. (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

CAPÍTULO 4 – STRESS OXIDATIVO

4.1. INTRODUÇÃO

A vida é impossível sem oxigénio. No entanto, o oxigénio é dos principais fatores que torna a vida finita. (Weseler, 2010)

As espécies reativas de oxigénio formam-se aquando da redução do oxigénio nas células do músculo liso, no endotélio e nos fibroblastos. Estas espécies atuam na transdução de sinal e na regulação da função vascular. Contudo, quando em excesso, leva ao desenvolvimento do *stress* oxidativo e à produção de radicais livres. (Weseler, 2010), (Riso, 2012)

O *stress* oxidativo tem um papel fundamental no desenvolvimento de diversas patologias, incluindo as cardiovasculares. (Weseler, 2010)

Tabela 4.1.1 – Patologias resultantes do Stress oxidativo (Adaptado de Weseler, 2010)

Patologias resultantes do Stress Oxidativo
Aterosclerose
Hipertensão
Cancro
Disfunções ao nível do Endotélio
Enfarte
Diabetes
Doenças Neurodegenerativas
Artrite Reumatoide

4.2 MECANISMO DE AÇÃO

As espécies reativas de oxigénio provocam a oxidação dos grupos sulfidrilo, formando pontes dissulfito intra e intermoleculares. Esta oxidação provoca alterações ao nível do organismo como por exemplo:

- Conformação de proteínas; (Weseler, 2010)

- Atividade enzimática; (Weseler, 2010)
- Ligações de DNA. (Weseler, 2010)

Este conjunto de alterações causadas pelo *stress* oxidativo leva a vários danos a nível celular. (Fang, 2002), (Weseler, 2010)

4.3. RADICAIS LIVRES E MECANISMO DE DEFESA

O organismo possui mecanismos de defesa contra os danos celulares provocados pelos radicais livres de maneira a manter o equilíbrio celular. (Fang, 2002), (Weseler, 2010), (Valko, 2007)

Estes mecanismos de defesa ocorrem através de reações enzimáticas e de reações não enzimáticas. (Weseler, 2010)

Das reações enzimáticas fazem parte as enzimas enunciadas na tabela 4.3.1.

Tabela 4.3.1 – Enzimas que atuam no mecanismo de defesa celular (adaptado de Fang, 2002 e de Weseler, 2010)

ENZIMAS
Catalase
Superóxido Dismutase
Antioxidantes
Peroxidases
Glutathione Redutase

Estas enzimas atuam eliminando as espécies reativas de oxigénio. Estas espécies dividem-se em dois grupos: os radicais livres e os não radicais. (Weseler, 2010)

Tabela 4.3.2 – Espécies reativas de oxigénio. (adaptado de Fang, 2002 e de Weseler, 2010)

Espécies reativas de oxigénio	
Radicais livres *	Não radicais**
Superóxido	Oxigénio Singuleto
Hidroxilo	Peróxido de Hidrogénio
Óxido Nítrico	Ácido Hipocloroso
	Peroxinitrato
	Lipohidroperóxidos

* - Os radicais livres possuem um tempo de semi-vida curto e são moléculas muito instáveis. (Weseler, 2010)

** –Os não radicais apresentam um tempo de semi-vida mais longo e são moléculas mais estáveis. (Weseler, 2010)

O desequilíbrio entre a produção e a captura das espécies reativas de oxigénio leva ao desenvolvimento do *stress* oxidativo e à produção de radicais livres. (Weseler, 2010)

Os radicais livres apresentam-se como moléculas que possuem na sua constituição eletrões desemparelhados que de uma maneira geral podem ser considerados instáveis e muito reativos. (Weseler, 2010)

Alguns exemplos de espécies reativas de oxigénio são:

- Radical Superóxido; (Weseler, 2010)
- Radical Hidroxilo; (Weseler, 2010)
- Radical Peróxilo; (Weseler, 2010)
- Radical Hidroperóxilo.(Weseler, 2010)

Tanto os radicais livres do oxigénio como hidrogénio podem ser convertidos em outras espécies não reativas como é o peróxido de hidrogénio e o ácido hipocloroso.

Estes radicais, assim como os radicais do cloro são produzidos pelo Homem e pelos animais em determinadas condições fisiológicas e patológicas. (Weseler, 2010)

4.4 AÇÕES DOS RADICAIS LIVRE

Apesar dos efeitos nefastos que provocam às células, os radicais livres também apresentam um papel importante na origem da vida e na evolução biológica, tendo assim variados efeitos positivos no organismo. (Fang, 2002), (Weseler, 2010)

Alguns exemplos desses efeitos são referidos na tabela abaixo, tendo como exemplo os radicais de oxigénio e de óxido nítrico.

Tabela 4.4.1 – Ação de alguns radicais livres no organismo humano (adaptado de Fang, 2002)

Ações dos radicais no organismo	
Radicais de oxigénio	Radicais de óxido nítrico
Tradução de genes	Ação no endotélio: Relaxamento e proliferação vascular
Transcrição de genes	Neurotransmissor
Regulação da atividade da guanilciclase nas células	Mediador na resposta imunitária

Apesar dos efeitos positivos que os radicais livre possuem no organismo, estes podem também causar oxidação de biomoléculas, levando a danos celulares e à morte. Tal acontece, quando os radicais livres e outras espécies reativas apresentam no seu centro o ião sulfureto. (Fang, 2002)

A atividade dos radicais livres pode ser avaliada de diferentes maneiras, como por exemplo:

- i) Determinação endógena dos níveis de antioxidante; (Fang, 2002)
- ii) Medição de produtos resultantes da oxidação; (Fang, 2002)
- iii) Deteção direta de radicais livres. (Fang, 2002)

CAPÍTULO 5 – DESENVOLVIMENTO

5.1. DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças cardiovasculares continuam a representar um desafio em termos de saúde pública, tanto devido à sua prevalência quanto aos gastos que a mesma acarreta. Apesar dos avanços alcançados pelos profissionais de saúde ao longo dos anos, esta continua a ser a principal causa de morte no Mundo. Em Portugal, a taxa de mortalidade associada a estas patologias tem vindo a diminuir ao longo dos anos, no entanto, continua a ser a principal causa de morte estando também associada a uma importante causa de incapacidade. (Bagchi, 2003), (Intituto Nacional de Estatística, 2014 (consultado em 7/8/2014)).

Apesar do impacto que as doenças cardiovasculares possuem, estas podem ser controladas através da adoção de hábitos de vida saudável, assim como corrigir alguns fatores de risco associados às mesmas, tais como: (Kruger, 2014)

- Hipercolesterolemia; (Kruger, 2014)
- Hipertensão arterial; (Kruger, 2014)
- *Stress* oxidativo. (Kruger, 2014)

Nas doenças cardiovasculares estão incluídas um conjunto de patologias que podem levar à morte, de entre as quais: i) o enfarte agudo do miocárdio (EAM); ii) as doenças cerebrovasculares, incluindo o acidente vascular cerebral isquémico (AVC); iii) a aterosclerose; iv) a hipertensão arterial; (Instituto Nacional de Estatística, 7/9/14)

Algumas das estratégias que podem ser adotadas no controlo destas patologias podem passar pela introdução das proantocianidinas que são, potentes antioxidantes numa dieta equilibrada com a prática de exercício físico regular. (Hummer, 2008), (Kruger, 2014)

É conhecida a capacidade que os radicais livres e o *stress* oxidativo possuem no aparecimento e no desenvolvimento deste grupo de doenças. (Kruger, 2014)

O excesso de radicais livres, decorrente do *stress* oxidativo, em conjunto com a diminuição de antioxidantes naturais – bilirrubina, biliverdina e antioxidantes presentes no plasma – levam ao aparecimento de danos no tecido cardíaco e de disfunções no endotélio associadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Estes radicais são também mediadores da morte celular, apoptose, através de uma ação direta ou com o contributo da formação de lípidos. (Kruger, 2014)

5.2. PAPEL DAS PROANTOCIANIDINAS NA PREVENÇÃO CARDIOVASCULAR

Vários são os estudos desenvolvidos ao longo dos anos que demonstram os benefícios do vinho tinto (rico em proantocianidinas) na prevenção das doenças cardiovasculares. Este papel protetor do vinho tinto deve-se à sua constituição rica num vasto número de antioxidantes, de entre os quais – as antocianinas, as catequinas, as epicatequinas, as proantocianidinas, entre outros compostos fenólicos. Estas últimas, objeto de estudo desta monografia, e responsáveis pelas principais propriedades cardioprotetoras do vinho tinto relativamente a outras bebidas alcoólicas, são extraídas das sementes e pele da fruta durante a fermentação da mesma. Estas moléculas protegem as membranas biológicas dos processos oxidativos, não só graças à neutralização de radicais livres, como também deveria ao aumento das defesas imunitárias do organismo. (Kruger, 2014)

O consumo destas moléculas atua, por exemplo, na prevenção de arteriosclerose, nos danos no tecido cardíaco, nos diabetes, entre outros. (Kruger, 2014)

Com este conhecimento, Sato, M.; Maulik, G. *et al.* realizaram um estudo com o intuito de estudar a capacidade cardioprotetora das proantocianidinas. Neste estudo, formaram-se dois grupos de ratos, um alimentado com sementes de uva e outro de controlo. Concluiu-se que os ratos alimentados com semente de uva revelaram maior resistência ao desenvolvimento de lesões ao nível do miocárdio comparativamente com o grupo controlo. A recuperação pós-isquémia também se revelou melhor. Com este estudo ficou comprovada a ação cardioprotetora das proantocianidinas através da captura de radicais livres, nomeadamente dos radicais de peróxido e hi-

dróxilo, assim como a redução da peroxidação dos lípidos no miocárdio. (Kruger, 2014)

Sendo assim, podemos concluir que uma dieta rica em flavonoides leva a uma redução da prevalência das doenças cardiovasculares e da arteriosclerose. Esta ação protetora é explicada através das capacidades que estas moléculas possuem em:

1. Inibir a oxidação das LDL; (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)
2. Inibir a adesão e agregação plaquetar; (Kruger, 2014)
3. Inibir enzimas que atuam no metabolismo dos lípidos e das lipoproteínas; (Kruger, 2014)
4. Promover a vasodilatação do endotélio; (Kruger, 2014)
5. Diminuir os níveis de colesterol total e de LDL. (Kruger, 2014).

5.3. MECANISMO DE AÇÃO DAS PROANTOCIANIDINAS

A introdução de suplementos de proantocianidinas numa dieta equilibrada confere vantagens notórias do ponto de vista cardiovascular. Vários estudos foram desenvolvidos com o intuito de comprovar a capacidade cardioprotetora destas moléculas em animais e no Homem. Através da sua ação antioxidante, estas moléculas conferem proteção contra o *stress* oxidativo e os radicais livres, aumentando as defesas do organismo contra os mesmos a vários níveis, mas sobretudo contra as patologias cardiovasculares. A utilização destes antioxidantes demonstrou capacidade de neutralizar a ação dos radicais livres no tecido cardíaco através de vários mecanismos. (Kruger, 2014)

Algumas das vantagens conferidas pelas proantocianidinas a nível cardíaco são:

Tabela 5.3.1 – Vantagens das proantocianidinas a nível cardiovascular (Adaptado de Kruger, 2014)

AÇÕES CARDIOVASCULARES DAS PROANTOCIANIDINAS
Aumento da função cardíaca
Aumento da função ventricular pós-isquémico
Redução da ocorrência de enfarte do miocárdio
Diminuição da fibrilação ventricular
Redução da ocorrência de taquicardia
Diminuição das espécies reativas de oxigénio
Redução da formação de malondialdeído (MDA) no coração
Diminuição dos níveis de LDL a sofrerem oxidação (biomarcador das doenças cardiovasculares)
Proteção dos cardiomiócitos de apoptose
Inibição de cardiotoxicidade

Como dito anteriormente a ação cardioprotetora desempenhada por estas moléculas pode ser explicada por vários mecanismos: i) ação sobre o *stress* oxidativo; ii) ação ao nível do endotélio; iii) efeito anti-inflamatório; iv) ação no metabolismo dos lípidos e do colesterol; v) efeito cardioprotetor e anti-isquémico; vi) inibição da agregação plaquetar e do desenvolvimento de trombose. (Kruger, 2014)

5.3.1 AÇÃO SOBRE O *STRESS* OXIDATIVO

As proantocianidinas têm a capacidade de proteger o organismo contra a oxidação, evitando o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A ação destas moléculas em limitar o *stress* oxidativo, tem sido comprovada através de diversos estudos, onde se verificou um aumento de captura dos radicais hidroxilo, peroxilo, e do anião superóxido, e ainda um decréscimo na produção de óxido nítrico e uma redução das espécies reativas de oxigénio, conferindo uma proteção superior à já conhecida de outros antioxidantes, como a vitamina C e E. As proantocianidinas comprovaram também possuir uma excelente capacidade de proteção contra o 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), conhecido devido à peroxidação de lípidos que induz no cérebro e no fígado, assim como fragmentação do DNA. Demonstraram

ainda possuir proteção contra o *stress* oxidativo induzido pelo fumo do tabaco. (Bagchi, 2003), (Rasmussen, 2005)

As proantocianidinas revelam-se assim como moléculas com uma forte capacidade antioxidante, com ação em vários tipos de tecidos e de órgãos. Estas potenciam ainda a ação antioxidante do organismo através: i) do aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT); ii) aumento da capacidade antioxidante; iii) do aumento da captura de radicais livres. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

Proantocianidinas isoladas em arando por Jess Reed, 2002, revelaram propensão para se associarem especificamente às LDL impedindo a sua oxidação pelos radicais livres. As proantocianidinas com maior grau de polimerização revelaram uma maior capacidade em inibir a oxidação das LDL comparativamente às com menor grau de polimerização. Esta propensão deste grupo de flavonoides em atuar como protetor específico das LDL pode dever-se à capacidade de evitar a oxidação das mesmas por radicais livre, ou à capacidade de inibir as enzimas dos macrófagos responsáveis pela oxidação das LDL. No entanto, este mecanismo não se encontra bem estabelecido. (Kruger, 2014)

Para corroborar a ideia da ação que as proantocianidinas podem ter a nível cardiovascular com a diminuição da produção de radicais livres, ou o aumento da captura dos mesmos, deve referir-se que muitos dos fármacos com conhecida ação farmacológica cardiovascular têm a sua ação devida à sua capacidade antioxidante. Os antiarrítmicos inibem a peroxidação dos lípidos, assim como vários b-bloqueadores. O carvedilol (b-bloqueador) aumenta a atividade antioxidante, assim como os seus metabolitos. Outro exemplo são os Bloqueadores da Entrada de Cálcio (BEC) (nifedipina) que são particularmente eficazes na proteção da oxidação das LDL e da ação que o H₂O₂ possui em diminuir a contratilidade do miocárdio. (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

5.3.2 AÇÃO NO ENDOTÉLIO

O aumento do *stress* oxidativo, contribui para o desenvolvimento de:

- Alterações ao nível do endotélio; (Kruger, 2014)
- Desenvolvimento de aterosclerose; (Rasmussen, 2005), (Reed, 2002)
- Enfarte do miocárdio; (Kruger, 2014)
- Perda de óxido nítrico; (Kruger, 2014)
- Hipertensão arterial. (Kruger, 2014)

A ação dos radicais livres e do *stress* oxidativo leva à disfunção de funções fisiológicas, tais como: (i) a agregação plaquetar; (ii) a adesão leucocitária; e (iii) a circulação anormal do sangue. (Kruger, 2014)

Os radicais livres provocam danos ao nível do endotélio devido ao desenvolvimento do *stress* oxidativo nos vasos sanguíneos, prejudicando o correto funcionamento dos mesmos. A disfunção do endotélio está assim associada ao aumento do risco de desenvolvimento de patologias cardiovasculares. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

Em situações agudas de *stress* oxidativo há um aumento de óxido nítrico, que provoca uma proteção das células do miocárdio, impedindo a sua apoptose. As proantocianidinas possuem a capacidade de provocar um aumento do óxido nítrico conferindo um relaxamento do endotélio. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

O endotélio possui um papel importante na manutenção da homeostase vascular. A disfunção do endotélio provocada pelo *stress* oxidativo e a perda de óxido nítrico são manifestações iniciais de alterações vasculares. Esta disfunção do endotélio em conjunto com a diminuição dos níveis de NO, provocam um aumento do *stress* oxidativo que conduz a alterações na adesão dos leucócitos; na agregação das plaquetas e na circulação normal do sangue. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

A diminuição da vasodilatação está fortemente associada a doenças cardiovasculares, como por exemplo, aterosclerose e a hipertensão. A vasodilatação do endotélio é mediada através da libertação de óxido nítrico. Estudo recentes de Jones e Bolli, 2006 demonstraram que há um aumento de óxido nítrico em situações de *stress* oxidativo. Este aumento de NO possui uma ação protetora sobre as células do músculo cardíaco evitando a sua apoptose. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

As moléculas de proantocianidinas, ao estimularem a produção de NO, exercem uma ação cardioprotetora. Assim, as proantocianidinas provocam um relaxamento do endotélio e uma consequente diminuição da pressão arterial. O NO libertado exerce uma ação de relaxamento a nível vascular e das células do músculo liso. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

Ao mesmo tempo que estimulam a produção de NO, estas moléculas exercem a sua ação antioxidante. Ao protegerem as LDL de serem oxidadas pela ação de radicais livres, as proantocianidinas impedem a adesão e a agregação plaquetar ao nível do endotélio. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005), (Kruger, 2014)

A ação vasodilatadora provocada pelas proantocianidinas resultante do aumento da produção de NO, assim como a sua capacidade antioxidante, conferem uma proteção acrescida contra as doenças cardiovasculares. (Kruger, 2014)

Além destas capacidades, as moléculas de proantocianidinas inibem ainda a enzima de conversão da angiotensina. Esta enzima participa na produção de angiotensina II, molécula que se encontra envolvida no desenvolvimento da hipertensão arterial e que possui também efeitos sobre o endotélio. Através da capacidade de inibir a enzima de conversão da angiotensina, as proantocianidinas permitem o controlo da hipertensão e interferem também com o desenvolvimento da arteriosclerose, que será abordado num capítulo mais à frente. (Kruger, 2014)

Assim, podemos resumir as principais atividades fisiológicas das proantocianidinas sobre o endotélio como: i) proteção dos cardiomiócitos, ii) relaxamento do endotélio, iii) diminuição da pressão arterial. (Rasmussen, 2005), (weseler, 2010) (Kruger, 2014)

5.3.3. EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO

A inflamação está na base do desenvolvimento de diversas patologias cardiovasculares. As proantocianidinas protegem o organismo contra diversos processos inflamatórios, envolvidos no aparecimento de várias patologias cardiovasculares, como é exemplo a aterosclerose. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)

A ação anti-inflamatória ocorre em parte devido à capacidade destas moléculas em:

- Interferir com a expressão de citocinas inflamatórias; (Kruger, 2014)
- Limitar a expressão de adesinas ao nível do endotélio. (Reed, 2002)

As citocinas e as adesinas possuem um papel fundamental na inflamação. (Reed, 2002)

O fator NF- κ B participa como mediador no processo inflamatório, e está associado ao desenvolvimento de diversas patologias neurodegenerativas e ateroscleróticas. Este factor participa na expressão de genes inflamatórios. (Reed, 2002)

Tal como dito anteriormente as proantocianidinas levam ao aumento de NO, que quando associado ao fator kappa beta (NF- κ B) impede a sua ligação à região promotora de genes, que codifica para várias proteínas pro-inflamatórias como as adesinas e as citocinas. (Reed, 2002)

A diminuição da expressão de adesinas nas células endoteliais leva a uma diminuição da migração de células imunes, já que, estas para migrarem até à área afetada necessitam de estar expressas as adesinas assim como certos factores de crescimento. Consecutivamente há uma diminuição da migração de células imunes devido à falta de adesinas, prevenindo-se o excesso de filtração das mesmas, conduzindo a uma estimulação da função imunitária. (Reed, 2002)

A ação anti-inflamatória conferida pelas proantocianidinas provoca um aumento do fluxo sanguíneo, produzindo um aumento das citocinas anti-inflamatórias e uma diminuição das citocinas pro-inflamatórias. (Reed, 2002)

As proantocianidinas possuem particular interesse na prevenção da aterosclerose, já que a inflamação apresenta um papel fundamental no desenvolvimento desta patologia que será abordada mais à frente nesta monografia. (Reed, 2002), (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

5.3.4 AÇÃO METABÓLICA

A ação cardioprotetora das proantocianidinas também se verifica através da sua capacidade em promover a estabilidade lipídica e assim produzir efeitos no metabolismo. Os flavonoides estão associados a vários processos no metabolismo dos lípidos:

- Redução dos níveis de LDL; (Kruger, 2014)
- Aumento dos níveis de HDL; (Kruger, 2014)
- Inibição da oxidação das LDL. (Kruger, 2014)

A ação de inibição da oxidação das LDL é muito superior comparativamente com outros antioxidantes já muito conhecidos, como a vitamina C e E. (Kruger, 2014)

Esta capacidade de reduzir os níveis de colesterol associada a este grupo de moléculas deve-se em parte à excreção fecal de esteróis produzida pelas mesmas. Liang et al, (2013) associaram aos mirtilos a capacidade de reduzir os níveis plasmáticos de colesterol devido ao aumento da excreção fecal e neutralização das moléculas de esteróis. (Kruger, 2014)

Testes realizados em coelhos suplementados com 1% de proantocianidinas revelaram-se efetivos na redução da atividade das LDL através da inibição da oxidação das mesmas. As LDL estão fortemente associadas ao desenvolvimento de aterosclerose. Este assunto será abordado num capítulo mais à frente. (Kruger, 2014)

Em 2002, Vinson et al. estudaram a capacidade das proantocianidinas em hamsters, verificando que a suplementação com estas moléculas tinham provocado uma redução de 25% nos níveis plasmáticos de colesterol, uma redução de cerca de 50%

nos níveis de triglicéridos, e uma redução de 50-63% na formação das placas ateroscleróticas. (Kruger, 2014)

As proantocianidinas possuem também a capacidade de minimizar os efeitos de uma dieta rica em gorduras, como verificado no paradoxo francês. Estas moléculas reduziram a ocorrência de lipogénese no fígado de ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras. (Kruger, 2014)

Através da redução dos níveis de LDL e conseqüentemente da oxidação das mesmas por radicais livres, as proantocianidinas impedem que se inicie o processo de inflamação nas artérias, reduzindo assim, a capacidade de ocorrência da aterosclerose. (Kruger, 2014)

As sementes de uva ricas em proantocianidinas apesar da capacidade metabólica, possui também o poder de reduzir os níveis séricos de triglicéridos e de prevenir danos resultantes da oxidação. Desta maneira, estas moléculas possuem a aptidão em regular as dislipidémias e o metabolismo dos açúcares e lípidos. (Kruger, 2014)

Estas moléculas possuem também o poder de interagir com o receptor de insulina, levando consecutivamente a um aumento dos níveis de glicose. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005), (Reed, 2002)

5.3.5 EFEITO CARDIOPROTETOR E ANTI-ISQUÉMICO

A obstrução do fluxo sanguíneo leva ao desenvolvimento de isquemia no miocárdio. Este processo caracteriza-se pelo desenvolvimento de necrose, apoptose e arritmias. (Kruger, 2014)

Em estudos realizados com ratos suplementados com proantocianidinas, verificou-se que estas moléculas são capazes de aumentarem a produção de óxido nítrico, levando ao aumento da contratilidade do músculo cardíaco, assim como a diminuição do desenvolvimento de arritmias e um aumento do fluxo aórtico. Verificou-se

também que as proantocianidinas conseguem inibir a apoptose das células do miocárdio, processo este mediado pela STAT-1. (Kruger, 2014)

As proantocianidinas limitam os efeitos resultantes da insuficiência cardíaca através da estimulação da atividade mitocondrial e da inibição da atividade das enzimas lisossomais. Desta maneira, há uma diminuição dos danos provocados ao nível do miocárdio e é também reestruturada a função mitocondrial. (Kruger, 2014), (Bogh-dady, 2013)

Karthikeyan et al., 2007, desenvolveram um estudo em ratos tratados com sementes de uvas contendo proantocianidinas, onde se verificou um aumento da atividade mitocondrial do miocárdio e das enzimas da cadeia respiratória, levando a uma diminuição da atividade lisossomal das enzimas formando-se uma proteção contra os danos no miocárdio. No mesmo estudo, concluiu-se também que estas moléculas melhoram a capacidade antioxidante mitocondrial, auxiliam na preservação da membrana da mitocôndria, e restauram a função da mesma. (Kruger, 2014)

Um estudo realizado por Bagchi et al. (2003) verificou-se que o miocárdio dos ratos suplementados com proantocianidinas era mais resistente aos danos provocados por isquemia do que os ratos sem proantocianidinas. O mesmo estudo revelou que estas moléculas conferiam também uma melhor recuperação ventricular pós-isquêmica, assim como, uma diminuição de ocorrência de arritmias e de danos cardíacos devido à interferência que as proantocianidinas têm sobre a formação de stress oxidativo e de radicais hidroxilo envolvidos na formação dos eventos referidos. (Kruger, 2014)

Bagchi et al (2003) conseguiu ainda verificar a capacidade que as proantocianidinas possuem em diminuir a ocorrência de apoptose nos cardiomiócitos. A suplementação com PAC reduziu em cerca de 69% o número de células apoptóticas quando comparado com o grupo controlo (grupo sem suplementação de PAC). (Kruger, 2014)

A ação dos flavonoides e das proantocianidinas descrita no quadro abaixo, resume o porquê da redução do risco cardiovascular estar associada à introdução destas moléculas numa dieta equilibrada. (Kruger, 2014), (Rasmussen, 2005)

Tabela 5.3.5.1 - Ação cardioprotetora e anti-isquêmica dos flavonoides e das proantocianidinas.(Adaptado de Kruger, 2014)

Flavonoides	Proantocianidinas
1. Reduzem a ocorrência de enfarte	1. Aumenta a recuperação pós-isquêmica
2. Aumentam a contractilidade e o fluxo sanguíneo	2. Diminui a incidência de fibrilação ventricular
3. Reduzem o risco de arritmia	3. Diminui a incidência de taquicardia ventricular
4. Diminui o dano isquêmico	4. Efeito anti-oxidante nos cardiomiócitos
	5. Diminui a ocorrência de apoptose

5.3.6 INIBIÇÃO DA AGREGAÇÃO PLAQUETAR E DESENVOLVIMENTO DE TROMBOSE

As plaquetas são células que participam no processo de coagulação sanguínea. Normalmente, estas células não aderem ao endotélio das artérias coronárias, nem da artéria aorta, já que, o endotélio quando saudável liberta NO e prostaglandinas que impedem a agregação destas células ao mesmo. Quando o endotélio se encontra danificado, as plaquetas tornam-se ativas e adquirem a capacidade de se agregarem a este, contribuindo para o desenvolvimento de danos no mesmo, como é o caso do desenvolvimento de trombos. (Reed, 2002), (Kruger, 2014)

A formação de trombos nas artérias coronárias provoca o enfarte do miocárdio, sendo este muitas das vezes fatal. As pessoas com diabetes, hipertensão, colesterol elevado (LDL), e fumadores possuem as suas plaquetas ativas, correndo um maior risco de desenvolver trombos e por conseguinte um enfarte do miocárdio. (Reed, 2002), (Kruger, 2014)

Os trimeros e pentâmeros de proantocianidinas existentes no cacau e no vinho tinto mostraram-se capazes de inibir a ativação das plaquetas *ex vivo* e *in vitro* respectivamente. Dois copos de vinho tinto por dia são o suficiente para diminuir a probabilidade de formação de trombos, graças à sua rica composição em proantocianidinas. (Reed, 2002), (Kruger, 2014)

Num estudo realizado em 10 voluntários a agregação plaquetar foi reduzida em 77% depois de 7-10 dias de consumo diário de toranja rosada. No entanto, em indivíduos com consumo diário de laranja e toranja (sem ser rosada) os mesmos resultados não foram verificados, já que a toranja rosada é três vezes mais concentrada em grupos fenolicos quando comparada à toranja não rosada. (Reed, 2002), (Kruger, 2014)

Sendo assim, a ação cardioprotetora das proantocianidinas pode ser resumida na tabela abaixo:

Tabela 5.3.6.1 - Quadro resumo do mecanismo de ação das proantocianidinas.(Kruger , 2014)

MECANISMO	PROANTOCIANIDINAS
Stress oxidativo	Diminuição de radicais hidroxilo e superóxido; aumento da atividade de enzimas antioxidantes.
Endotélio	Aumento de NO; Diminuição da pressão arterial.
Anti-inflamatório	Inibição de citocinas inflamatórias; inibição de adesinas no endotélio; inibe factor beta kapa; melhora circulação sanguínea.
Metabolismo	Inibe oxidação de LDL; diminui os níveis de triglicéridos; diminui a prevalência da arteriosclerose; diminui os níveis de colesterol total.
Cardioproteção	Aumenta a recuperação pós-isquêmica; reduz incidência de fibrilação ventricular; atenua o stress oxidativo.

5.4. PROANTOCIANIDINAS E A ATEROSCLEROSE

A aterosclerose é uma doença inflamatória que se caracteriza pela formação de placas no interior das artérias, provocando o seu espessamento e perda de elasticidade. Estas placas resultam da acumulação de lípidos e de colesterol. Quando há formação de aterosclerose, o sangue é impedido de circular normalmente, levando ao desenvolvimento de isquemia do miocárdio. O desenvolvimento de aterosclerose causa o aparecimento de patologias cardiovasculares que podem levar à morte, como é exemplo o enfarte e/ou o ataque cardíaco. A aterosclerose representa uma das principais causas de morte por doença cardiovascular. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)

O desenvolvimento desta patologia decorre de concentrações elevadas de colesterol total, triglicéridos, de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), e de lipoproteínas de alta densidade (HDL). As LDL são oxidadas através da ação dos radicais livres ou por enzimas que medeiam a sua oxidação. Depois de alteradas, as LDL ligam-se às paredes das artérias, formando placas de gordura, e iniciando assim o processo inflamatório. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)

A inflamação possui um papel central no desenvolvimento da arteriosclerose. Uma vez iniciada, ocorre a acumulação de monócitos que migram da corrente sanguínea para a zona afetada, onde mais tarde irão também sofrer alterações. Uma vez presentes no interior das artérias, estes aderem ao endotélio diferenciando-se em macrófagos. Os macrófagos ligam-se às LDL oxidadas, provocando um aumento das mesmas, distribuindo-se irregularmente ao longo das artérias, formando as placas ateroscleróticas. Estas placas provocam uma diminuição da função endotelial, limitando o diâmetro das artérias e dificultando assim o percurso natural do sangue e o fornecimento de oxigénio aos tecidos. Estão então formadas as lesões iniciais do processo de inflamação envolvido na aterosclerose. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)

Com a progressão e desenvolvimento desta patologia, outros tecidos passam a estar envolvidos, como o músculo liso, o colagénio, e as plaquetas. (Reed, 2002)

O melhor tratamento para a aterosclerose passa pela sua prevenção. Esta pode ser feita através de uma dieta rica em flavonoides. (Reed, 2002)

Através da sua ação antioxidante, estas moléculas conseguem atuar de distintas maneiras no desenvolvimento da aterosclerose:

- i. Impedem as LDL de serem oxidadas; (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)
- ii. Inibem a resposta inflamatória das células; (Reed, 2002)
- iii. Facilitam a circulação do sangue; (Reed, 2002)
- iv. Inibem a agregação plaquetar e a trombose. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)

No entanto, estudos realizados revelaram que os polímeros de flavonoides que não são absorvidos podem afetar o desenvolvimento da aterosclerose, aumentando o transporte de colesterol e a sua clearance através da sua excreção nos sais biliares e nas fezes. (Reed, 2002)

- i. Impedem as LDL de serem oxidadas

As proantocianidinas presentes nas uvas e nos mirtilos vermelhos conseguem associar-se especificamente às LDL e inibir a sua oxidação. (Reed, 2002)

A resposta inflamatória na aterosclerose resulta em resposta à acumulação de LDL oxidadas. As proantocianidinas possuem ação anti-inflamatória. (Reed, 2002), (Rasmussen, 2005)

- ii. Inibem a resposta inflamatória das células

As proantocianidinas interferem com a ação de enzimas envolvidas no processo inflamatório. Quinase, fosfolipase A2, lipooxigenase e ciclooxigenase são algumas das mais importantes enzimas envolvidas nos processos inflamatórios das doenças cardiovasculares. (Reed, 2002)

- A inibição da proteína quinase limita o desenvolvimento da aterosclerose, já que esta está envolvida na ativação de células imunes na lesão aterosclerótica. (Reed, 2002)

- A inibição da fosfolipase A2 reduz a taxa a que a lesão é formada. A enzima fosfolipase A2 está envolvida no processo de formação de leucotrienos e prostaglandinas, ambos associados à ativação de células imunes e envolvidos na formação da lesão aterosclerótica. (Reed, 2002)

- A inibição da ciclooxigenase e da lipooxigenase também têm impacto na diminuição da inflamação. (Reed, 2002)

A ação inibitória dos flavonoides sob as enzimas e as células imunes envolvidas na resposta inflamatória na aterosclerose não é independente da ação antioxidante destas moléculas. (Reed, 2002).

CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1. CONCLUSÃO

Os hábitos alimentares e o estilo de vida são alguns dos principais responsáveis pelo desenvolvimento, mas também pela prevenção das doenças cardiovasculares. A incidência deste grupo de patologias continua a representar um grande desafio para a saúde apesar dos esforços desenvolvidos para combater o mesmo.

Tornou-se então imperativo o desenvolvimento de estratégias que possam ser facilmente adaptadas e aplicadas pela população em geral de maneira a reduzir a taxa de mortalidade associada às doenças cardiovasculares.

A introdução de uma dieta rica e equilibrada em frutas e vegetais é uma das recomendações que podem alterar o futuro deste grupo de patologias. O consumo de alimentos ricos em proantocianidinas com conhecidas propriedades antioxidantes comprovadas por vários estudos ao longo dos anos podem constituir uma estratégia com um significativo impacto a nível cardiovascular.

As proantocianidinas possuem uma significativa e comprovada ação no organismo com efeitos positivos visíveis a vários níveis. Estas moléculas atuam na prevenção e desenvolvimento do cancro, na redução dos níveis de hipertensão arterial, regulam os níveis de colesterol e glicemia, possuem uma atividade anti-inflamatória, reduzem o desenvolvimento de aterosclerose e atuam ainda como antioxidantes.

O objetivo de estudo desta monografia foi comprovar a capacidade destas moléculas atuarem nas doenças cardiovasculares, objetivo este atingido com sucesso. As proantocianidinas possuem a capacidade de prevenir o desenvolvimento e a incidência das doenças cardiovasculares através de vários mecanismos.

Impedem a oxidação das LDL, processo associado diretamente ao desenvolvimento de aterosclerose, umas das principais manifestações de doenças cardiovasculares.

Atuam no metabolismo dos lípidos, reduzindo os níveis de colesterol total. (Kruger, 2014), (Reed, 2002)

As proantocianidinas atuam ao nível do endotélio, conduzindo a um aumento de óxido nítrico e a uma regularização dos níveis de pressão arterial. O aumento do óxido nítrico por parte destas moléculas permite ainda uma proteção das células do tecido cardíaco, os cardiomiócitos impedindo a morte das mesmas. (Kruger, 2014)

Estas moléculas atuam ao nível do *stress* oxidativo, processo envolvido no aparecimento das patologias cardiovasculares. As proantocianidinas previnem e diminuem a produção de radicais livres envolvidos no desenvolvimento de cancro e no envelhecimento celular. Aumentam a ação protetora das enzimas envolvidas no processo de proteção natural do organismo contra os radicais livres e o stress oxidativo. (Kruger, 2014)

As proantocianidinas atuam nos processos inflamatórios associado também a várias doenças cardiovasculares, sobretudo a aterosclerose. A sua ação anti-inflamatória deve-se sobretudo à capacidade de interferir com a expressão de citocinas inflamatórias e de limitarem a expressão de adesinas ao nível do endotélio, prevenindo assim a disfunção do mesmo. (Kruger, 2014), (Reed, 2002)

Estas moléculas promovem ainda a estabilidade lipídica, produzindo efeitos no metabolismo dos lípidos. Estão ainda associadas a vários processos no metabolismo dos mesmos, como a redução dos níveis de LDL, o aumento dos níveis de HDL e a inibição da oxidação das LDL. (Kruger, 2014)

As proantocianidinas atuam diretamente no miocárdio, facilitando a recuperação pós-isquémica, diminuindo a incidência de fibrilação ventricular e auricular. Previnem a ação do *stress* oxidativo e dos radicais livres nos cardiomiócitos, evitando a sua apoptose. (Kruger, 2014)

Podemos assim concluir que a suplementação com proantocianidinas têm um potencial terapêutico incalculável na prevenção e no tratamento de diversas patologias, mas sobretudo das doenças cardiovasculares. (Kruger, 2014)

No entanto, devido à complexidade destas moléculas o seu completo contributo continua por definir. Apesar da sua vasta distribuição nos alimentos ingeridos no dia-a-dia, a sua absorção e consequente ação está dependente não só das moléculas ingeridas, mas sobretudo do grau de polimerização das mesmas. (Kruger, 2014)

Mais estudos são requeridos para uma completa compreensão destas moléculas e da sua ação tanto a nível cardiovascular, como outros benefícios que têm para a saúde.

BIBLIOGRAFIA

Andersen, O. M.; Markham, K. R.; (2006) *Flavonoids chemistry, biochemistry, and applications*. CRC press

Arimboor, R., Arumughan, C., (2012) Effect of Polymerization on Antioxidant and Xanthine Oxidase inhibitory Potential of Sea Buckthorn (H. Rhamnoides) Proanthocyanidins. Institute of Food Technologists. *Journal of Food Science*.

Asgary, S.; Naderi, GH; Askari, N.; (2005) Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals. *Pulsus Group Inc*.

Bagchi, D.; Sen, C.K.; Ray, S.D.; Das, D.K.; Bagchi, M.; Preuss, H.G.; Vinson, J.A.; (2003) Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. School of Pharmacy and Creighton University Health Professions. Medical Center. Department of Pharmacy Sciences.

Boghdady, N., A., (2013) Antioxidant and antiapoptotic effects of proanthocyanidin and ginkgo biloba extract against doxorubicin-induced cardiac injury in rats. Cairo University, Faculty of Pharmacy, Biochemistry Department.

Fang, Y.; Yang, S.; Wu, Guoyao. (2002) Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. Elsevier Science Inc.

Georgiev, V., Ananga, A., Tsoleva, V., (2014, janeiro). Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals.

Heim, K. C., Angers, P., Léonhart, S., Ritz, B. W., (2012) Anti-inflammatory and neuroactive properties of selected fruit extracts. *Journal of Medicine Food*

Hooper, L.; Kroon, P. A.; Rimm, E. B.; Cohn, J. S.; Harvey, I.; Le Cornu, K.A.; (...) Cassidy, A. (2008). Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*,

Hummer, W., Schreier, P., (2008, 12 março) Analysis of proanthocyanidins.

Instituto Nacional de Estatística, 2014. Portugal, Doenças Cérebro-Cardiovasculares em Números, 2013 (consultado em 7/8/2014).
<http://www.spc.pt/DL/Home/fm/i019350.pdf>

Kruger, M. J.; Davies, N.; Myburgh, K. H.; Lecour, S.; (2014) Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. *Food Research International*

Mateos-Martin, M.; Fuguet, E.; Quero, C.; Pérez-Jiménez, J.; Torres, J. (2012) New identification of proanthocyanidins in cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum L.*) using MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*

Park, J., Park, M., Oh, H., Woo, Y., Lim, M., Lee, H., (...) Min, J., (2012) Grape-seed proanthocyanidin extract as suppressors of bone destruction in inflammatory autoimmune arthritis.

Rasmussen, S. E.; Frederiksen, H.; Krogholm, K. S.; Poulsen, L.; (2005) Dietary proanthocyanidins: Occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease.

Reed, J.; (2002) Cranberry Flavonoids, Atherosclerosis and Cardiovascular Health. University of Wisconsin-Madison, Department of Animal Sciences.

Riso, P., Klimis-Zacas, D., Bo, C. D., Martini, D., Campolo, J., Vendrame, S., (...), Porrini, M. (2012, 20 de março), Effect of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink intervention on markers of oxidative stress, inflammation and endothelial function in human with cardiovascular risk factors.

Silva, S. (2011). *Ação antioxidante dos flavonoides e de outros antioxidantes: seu efeito protetor no cancro e nas doenças cardiovasculares*. (Monografia de mestrado). Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007), Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*

Weseler, A. R.; Bast, Aalt; (2010) Oxidative Stress and Vascular Function: Implications for Pharmacologic Treatments. Maastricht University Medical Centre. Department of Pharmacology and Toxicology.