

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/256991743>

# PROANTOCIANIDINAS NA DIETA HUMANA. INFLUÊNCIA NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Article in *Studia* (Lisbon, Portugal) · January 2013

CITATIONS

0

READS

1,615

3 authors:



**Paulo Figueiredo**

Atlântica

71 PUBLICATIONS 675 CITATIONS

SEE PROFILE



**Filipa Albuquerque**

2 PUBLICATIONS 0 CITATIONS

SEE PROFILE



**Sara Romeiro**

3 PUBLICATIONS 0 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Bio-inspired dyes [View project](#)

## PROANTOCIANIDINAS NA DIETA HUMANA. INFLUÊNCIA NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Paulo Figueiredo\*, Filipa Albuquerque\*\*, Sara Romeiro\*\*

### Resumo

Existem dados indicativos de uma ligação entre a baixa incidência de doenças do foro cardíaco e o consumo de alimentos de origem vegetal. Desde a introdução do conceito do paradoxo Francês, têm sido publicados inúmeros trabalhos científicos, que tentam explicar essa associação e identificar os componentes, presentes no vinho, chá, cacau e outros alimentos, responsáveis pela redução da mortalidade devida a doenças das coronárias.

O vinho tinto e outros alimentos obtidos a partir de plantas são excelentes fontes de polifenóis, todos com elevada capacidade antioxidante. As proantocianidinas têm sido apontadas como justificando o maior efeito do vinho tinto, quando comparado com o vinho branco e outras bebidas alcoólicas, na prevenção de doenças cardiovasculares.

O presente artigo pretende ilustrar o conhecimento actual sobre proantocianidinas, a sua actividade química, ocorrência, consumo, biodisponibilidade, metabolismo e o seu papel na redução dos riscos associados às doenças cardiovasculares.

**Palavras-Chave:** proantocianidinas, doenças cardiovasculares, efeito antioxidante.

### Abstract

The link between the consumption of plant-derived foods and the low incidence of coronary heart disease has been subject to major interest, since the French paradox has first been mentioned. A great number of studies tried to explain this relationship and to find the components in wine, tea, cocoa and other foods that may exert such properties.

These foods represent an excellent source of polyphenols, all of which exhibit strong antioxidant capacities. In particular, the proanthocyanidins have been suggested as a candidate to explain the superior effect of red wine as compared to white wine and other alcoholic beverages, in preventing coronary heart diseases.

This review describes the present knowledge on the proanthocyanidins, their chemical activity and occurrence, daily intake from foods, bioavailability, metabolism and their role in reducing the risks leading to cardiovascular diseases.

**Keywords:** proanthocyanidins, cardiovascular disease, antioxidant effects.

## 1.Introdução

As proantocianidinas (PA), ou taninos condensados, são os compostos fenólicos naturais mais abundantes após a leghemina<sup>1</sup>. Encontram-se em diversos alimentos, tais como frutos, leguminosas, bagas, cacau, bebidas alcoólicas e chá, fazendo parte regular da dieta humana. São responsáveis pela adstringência de vários alimentos, devido à sua capacidade de formar complexos com as proteínas existentes na saliva<sup>1</sup>.

As proantocianidinas são oligómeros ou polímeros de flavan-3-óis, podendo existir ligações C4→C8 ou C4→C6 entre os monómeros. São as chamadas estruturas de tipo B. Poderá existir uma ligação éter adicional entre C2→O7, originando as PA tipo A. As unidades monoméricas que as compõem são designadas catequinas e (epi)catequinas<sup>2</sup> (Fig. 1).

As PA que contêm exclusivamente unidades (epi)catequina são chamadas procianidinas e constituem o grupo mais abundante de PA no mundo vegetal. Existem outros dois tipos de PA, as que contêm subunidades (epi)afzelequinas e (epi)galocatequinas e que se denominam propelargonidinas e prodelfinidinas, respectivamente. As unidades componentes das PA podem ainda sofrer substituição química por grupos acilo ou glicósidos, sendo as posições C3 e C5 as mais frequentemente substituídas<sup>3</sup>.

\*Doutor em Química-Física, Prof. Auxiliar Univ. Atlântica/Unidade de Biotecnologia Ambiental/INUAF, paulo@pfigueiredo.org

\*\*Nutricionistas, Univ. Atlântica/CMG, filipa.f.albuq@gmail.com, saramromeiro@gmail.com

Os estudos sobre os teores de PA nos alimentos revelam uma certa falta de concordância. Tal deve-se sobretudo a diferenças nos métodos analíticos e processos de amostragem utilizados<sup>4</sup>. A base de dados da United States Department of Agriculture (USDA) é usada como referência, pois apresenta teores de PA extraídas, com solventes orgânicos e água, a partir de diversos alimentos<sup>5</sup>. A maioria dos alimentos analisados contém apenas o tipo mais vulgar das PA B, embora também fossem encontradas algumas de tipo A e ainda propelargonidinas e prodelfinidinas. De um modo geral, os frutos, sobretudo os frutos vermelhos, são boas fontes de PA, enquanto as hortícolas e os cereais exibem baixos teores<sup>6</sup>. Mais recentemente, tem sido dada mais atenção ao grupo das chamadas PA não extractáveis, aquelas que não são solúveis nos solventes habitualmente utilizados e que requerem uma hidrólise prévia<sup>4,6</sup>.

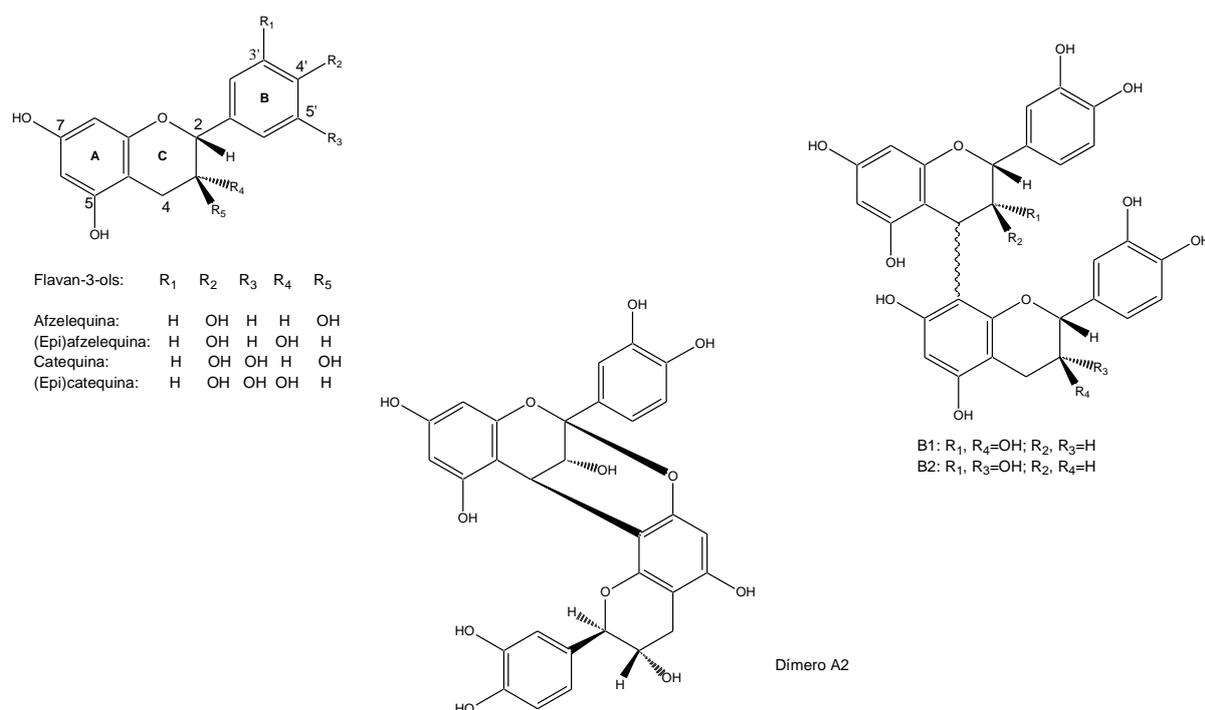


Figura 1 – Estruturas químicas das proantocianidinas.

As PA podem surgir nos alimentos com diversos graus de polimerização. Este grau de polimerização das PA é uma das variáveis com maior influência nas propriedades biológicas por elas exibidas<sup>7</sup>. Entre estas propriedades podem salientar-se a capacidade antioxidante e de captura de radicais livres<sup>2,8</sup>, efeitos anti-inflamatório<sup>9,10</sup> e antimicrobiano<sup>11</sup>, redução do risco de vários câncros<sup>12,13</sup> e de doenças cardiovasculares crónicas<sup>14-18</sup>. Existem poucos dados relativos ao consumo de PA, no entanto os estudos levados a cabo e as estimativas publicadas indicam ser o grupo de flavonóides mais consumidos nas dietas Ocidentais<sup>19,20</sup>.

## 2. Absorção biológica e metabolismo das proantocianidinas

O elevado consumo diário de PA dá uma indicação do grande potencial destes compostos como alimentos funcionais e nutracêuticos. No entanto, para que produza efeitos biológicos *in vivo*, é essencial que uma quantidade suficiente do agente químico alcance o tecido alvo. Os mais recentes desenvolvimentos das técnicas analíticas têm permitido o conhecimento do metabolismo das PA no corpo humano. As formas mais polimerizadas das PA são mais frequentes nos alimentos, mas parecem ser pouco absorvidas no organismo. Os estudos mais actuais indicam que apenas as PA com grau de polimerização  $\leq 3$  são absorvidas intactas no tracto gastrointestinal<sup>21,22</sup>; outros confirmam a presença de diferentes metabolitos na urina, resultantes da ingestão de catequinas e PA com grau de polimerização  $\leq 3$ <sup>22,23</sup>. De

\*Doutor em Química-Física, Prof. Auxiliar Univ. Atlântica/Unidade de Biotecnologia Ambiental/INUAF, [paulo@pfigueiredo.org](mailto:paulo@pfigueiredo.org)

\*\*Nutricionistas, Univ. Atlântica/CMG, [filipa.f.albuq@gmail.com](mailto:filipa.f.albuq@gmail.com), [saramromeiro@gmail.com](mailto:saramromeiro@gmail.com)

acordo com a literatura, a maioria das PA são estáveis no estômago e atravessam intactas o intestino delgado, sendo degradadas a ácidos fenólicos por microrganismos presentes no intestino grosso<sup>24,25</sup>.

A compreensão dos efeitos biológicos benéficos, associados à ingestão de alimentos ricos em PA, só será possível se for efectivamente conhecido o grau de polimerização destes compostos nos alimentos e o seu metabolismo. Do conhecimento actual, pode concluir-se que apenas as formas monoméricas e diméricas são parcialmente biodisponíveis e que é muito pouco provável que as PA com grau de polimerização superior a 2 sejam capazes de atingir a circulação sistémica. São também estas as únicas formas capazes de produzir metabolitos de fácil absorção, os quais desempenharão um papel importante nos efeitos benéficos para a saúde<sup>14,26</sup>.

### 3.Efeito cardioprotector das proantocianidinas

As doenças cardiovasculares são um dos principais problemas de saúde no mundo<sup>22</sup>, sendo a aterosclerose uma das suas principais causas. Esta é uma doença inflamatória caracterizada pela acumulação de lípidos e elementos fibrosos nas artérias de grande e média dimensão. O processo inicia-se pela acumulação de proteínas de baixa densidade (LDL) oxidadas que, juntamente com tensões oxidativas, originam disfunções no endotélio e activação dos macrófagos. As LDL oxidadas estimulam a acumulação de colesterol pelos macrófagos. Estes macrófagos carregados de lípidos são designados por células espumosas, componentes das estrias gordurosas, actuando como indicadores iniciais de lesões ateroscleróticas. Após formação das estrias gordurosas, o ateroma evolui para uma lesão mais complexa, podendo conduzir à formação de tecido fibroso. As placas ateroscleróticas reduzem a função do endotélio, limitam o diâmetro efectivo dos vasos sanguíneos, restringindo o fluxo de sangue e a oxigenação dos tecidos. Se o tamanho das placas aumentar, aumentará a sua tendência para a ruptura, causando trombozes e morte súbita por enfarte do miocárdio<sup>27,28</sup>.

O corpo humano produz regularmente espécies reactivas de oxigénio como o singuleto de oxigénio ( $^1O_2$ ), o radical anião superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), o radical monóxido de azoto ( $NO^{\cdot}$ ) e radicais livres alquila e peróxido. Estes agentes oxidantes são responsáveis por danos em lípidos, proteínas e ácido desoxirribonucleico (ADN) e participam ainda nos processos de envelhecimento e patogénese<sup>29</sup>. Simultaneamente, os seres humanos também possuem diversos sistemas de defesa, capazes de sequestrar radicais e reparar os danos causados por agentes oxidantes.

Desde que, em 1992, foi lançado o conceito do paradoxo Francês, baseado na constatação de que os habitantes da cidade francesa de Toulouse, embora consumissem uma quantidade elevada de alimentos contendo gorduras saturadas, mostravam uma menor incidência de mortes causadas por doenças coronárias, comparativamente a outros países<sup>30</sup>, tem sido sugerida uma relação entre o consumo de vinho tinto e uma protecção relativamente a essas doenças. Os estudos realizados desde então, indicam que não será o etanol, mas sim os compostos fenólicos, os quais exibem elevada capacidade antioxidante, os responsáveis pelos efeitos benéficos<sup>31</sup>.

Os polifenóis, provenientes dos alimentos, constituem um grupo de compostos capaz de sequestrar as espécies reactivas de oxigénio, através das suas propriedades de dadores de electrões, formando radicais fenóxilo relativamente estáveis. Estes radicais, situados no anel B das PA (Fig. 1), devido à sua estabilidade, exercem um efeito antioxidante, reduzindo o risco de ocorrência de doenças cardiovasculares<sup>32</sup>. Muitos dos estudos, levados a cabo para avaliar a capacidade antioxidante das PA e dos alimentos que as contêm, foram realizados *in vitro*, não tendo em conta o metabolismo e biodisponibilidade das moléculas. Desse modo, os bons resultados encontrados poderão não se verificar *in vivo*. A principal limitação da maioria dos estudos *in vitro* é o facto de os polifenóis testados serem diferentes daqueles encontrados no organismo. É necessário não apenas conhecer o órgão alvo e o seu ambiente físico-químico mas também saber se o composto alcança esse alvo. Na ausência destes dados, será difícil extrapolar resultados obtidos *in vitro* para a situação *in vivo* e

\*Doutor em Química-Física, Prof. Auxiliar Univ. Atlântica/Unidade de Biotecnologia Ambiental/INUAF, [paulo@pfigueiredo.org](mailto:paulo@pfigueiredo.org)

\*\*Nutricionistas, Univ. Atlântica/CMG, [filipa.f.albuq@gmail.com](mailto:filipa.f.albuq@gmail.com), [saramromeiro@gmail.com](mailto:saramromeiro@gmail.com)

particularmente determinar quais os compostos fenólicos, existentes nos alimentos, responsáveis pelos efeitos protectores contra doenças crónicas. Vários dos estudos *in vitro* indicam que a capacidade antioxidante das PA purificadas aumenta com o seu grau de polimerização<sup>2,33</sup>, o que torna questionável a sua relevância, devido ao facto de ser altamente improvável que estas formas atinjam a circulação sistémica intactas. A maioria dos estudos levados a cabo para analisar a protecção, conferida por alimentos contendo PA, contra a oxidação de LDL, relata resultados positivos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Alguns autores consideram que este efeito poderá ser devido às formas monoméricas e diméricas existentes nesses alimentos<sup>14</sup>. No entanto, ensaios realizados em linfócitos humanos mostraram que PA com graus de polimerização entre 2 e 5 causavam um forte estímulo do sistema imunitário e da imunidade adaptativa<sup>34</sup>.

Considera-se actualmente que a aterosclerose é mediada por mecanismos inflamatórios<sup>35</sup>. Diversos estudos têm mostrado que as PA possuem propriedades anti-inflamatórias, embora não esteja ainda clarificado o seu mecanismo de acção: inibição ou bloqueio do processo inflamatório<sup>14,36-38</sup>. É também necessário ter em conta o metabolismo dos compostos ingeridos. Alguns estudos que o fizeram, relatam efeitos positivos dos metabolitos de PA sobre o processo inflamatório<sup>39-42</sup>. A disfunção do endotélio está associada a um aumento do risco de doenças cardiovasculares. O endotélio vascular sintetiza e liberta óxido nítrico, o qual por sua vez vai promover a vasodilatação, reduzir a agregação de plaquetas e limitar o fluxo de proteínas do plasma para a parede das artérias<sup>14</sup>. O consumo de alimentos e extractos vegetais ricos em PA, como vinho tinto, chocolate, sumo de uva e extracto de semente de uva, demonstrou efeitos favoráveis sobre a função do endotélio vascular<sup>43-49</sup>. No entanto, nenhum destes estudos foi efectuado com PA purificadas, pelo que o efeito verificado poderá resultar da combinação dos diversos compostos fenólicos presentes nos alimentos testados.

Para esclarecer qual a contribuição das PA para a actividade protectora dos alimentos, foram realizados diversos estudos *in vitro*. Ensaio com vinho tinto, utilizando aortas de rato, demonstraram que os compostos fenólicos simples e as catequinas monoméricas não têm efeito positivo e que, pelo contrário, as antocianinas e os trímeros, tetrâmeros, pentâmeros, polímeros e galatos das PA possuem actividade vasorelaxante<sup>50</sup>. Sendo conhecida a biodisponibilidade das PA (*vide supra*) é pouco provável que os compostos identificados nestes estudos sejam os responsáveis pelo efeito vasodilatador *in vivo*. É possível que estes resultem sim de uma combinação dos produtos metabólicos de todos os polifenóis presentes no vinho tinto<sup>51</sup>. Um outro factor que contribui para o desenvolvimento da aterosclerose é a agregação plaquetária, pelo que a sua inibição terá efeitos benéficos<sup>14</sup>. Estudos realizados sobre os polifenóis do cacau, revelaram que a (epi)catequina e PA de baixo peso molecular eram fortes inibidores da 5-lipoxigenase humana e que as PA provocavam uma diminuição da função das plaquetas no ser humano<sup>52,53</sup>. Também se verificou uma redução na agregação de plaquetas, após tratamento com vinho tinto e sumo de uvas tintas, mas não com vinho branco ou com etanol<sup>14</sup>.

Foi recentemente demonstrado que PA extraídas de maçãs eram capazes de modificar a expressão de diversos genes *in vitro*. Em particular, células do endotélio humano exibiram um fenótipo e uma modulação da expressão genética associadas a eventos relevantes do processo angiogénico<sup>54</sup>. Há, no entanto, que ter em consideração, que a maioria dos ensaios realizados *in vitro*, sobre a actividade biológica das PA, utilizaram extractos ou compostos purificados, não tendo em conta os processos de absorção e metabólicos que ocorrem aquando da ingestão de alimentos.

#### 4. Estudos desenvolvidos em modelos animais

Dadas as limitações encontradas em estudos com seres humanos<sup>55</sup>, têm sido realizados ensaios em diversos animais, tanto com alimentos ricos em PA como com extractos de PA<sup>14,55</sup>. Na tentativa de estudar os efeitos antitrombóticos de PA, foi administrado oralmente, a ratos, um extracto de grainhas de uvas, verificando-se uma redução significativa do tamanho dos trombos. Os tradicionais anticoagulantes orais usados no tratamento de

\*Doutor em Química-Física, Prof. Auxiliar Univ. Atlântica/Unidade de Biotecnologia Ambiental/INUAF, [paulo@pfigueiredo.org](mailto:paulo@pfigueiredo.org)

\*\*Nutricionistas, Univ. Atlântica/CMG, [filipa.f.albuq@gmail.com](mailto:filipa.f.albuq@gmail.com), [saramromeiro@gmail.com](mailto:saramromeiro@gmail.com)

trombose venosa profunda são incapazes de curar lesões do endotélio causadas por oclusão anterior do trombo, sendo possível que as PA estejam directamente associadas à protecção do endotélio, à agregação de plaquetas, à inibição da adesão de células inflamatórias e de trombos<sup>47</sup>.

Outro estudo envolveu hamsters hipercolesterolémicos, alimentados com uma dieta rica em gorduras saturadas e colesterol. Foi-lhes fornecido um extracto de vinho tinto contendo vários compostos fenólicos, entre os quais (epi)catequina, PA diméricas, antocianinas e ácidos fenólicos. Os extractos foram ministrados em etanol ou em água, utilizando respectivamente etanol e água como controlos. Após 8 semanas, os dois grupos que receberam o extracto, com ou sem etanol, registaram uma diminuição de colesterol e triacilgliceróis no plasma e ainda uma diminuição de estrias gordurosas na aorta. Como o etanol, por si só, provocou uma redução semelhante, foi sugerido que este álcool é um complemento dos compostos fenólicos para a acção benéfica do vinho tinto<sup>56</sup>. Por outro lado, num ensaio realizado com cães, foi mostrado que tanto o vinho tinto como o sumo de uvas tintas possuíam efeito anti-plaquetário<sup>57</sup>.

Um ensaio, em ratos alimentados com dieta hipercolesterolémica, evidenciou um efeito cardioprotector da ingestão oral de um extracto de PA de grainhas de uva. O efeito foi atribuído às propriedades de redução da apoptose e à capacidade antioxidante das PA<sup>58</sup>. Em mais um ensaio realizado com ratos alimentados com uma dieta hiperlipidémica, foi evidenciada uma redução nos marcadores de inflamação e um aumento na produção de citocinas anti-inflamatórias, associados ao consumo de PA de grainhas de uva<sup>59</sup>.

Ao estudar o efeito de polifenóis das uvas em cobaias ovariectomizadas, um modelo para mulheres em pós-menopausa, foi verificada uma diminuição de triacilgliceróis e colesterol VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) no plasma. Aparentemente, o consumo de uvas altera o metabolismo do colesterol hepático, afectando a taxa de secreção de VLDL, resultando numa menor acumulação de colesterol na aorta<sup>60</sup>.

Além disso, as PA mostram um efeito semelhante ao da insulina na regulação do metabolismo do colesterol; a sua ingestão por ratos tem mostrado uma redução na secreção de VLDL e LDL<sup>55</sup>.

Dado que a maioria das PA é metabolizada em ácidos fenólicos simples, no intestino, os estudos publicados sobre o efeito destes ácidos podem lançar pistas relativamente ao efeito das PA purificadas sobre a aterosclerose. Um estudo em hamsters hipercolesterolémicos analisou o efeito de ácidos hidroxicinâmicos (caféico e sinápico obtidos a partir do vinho e clorogénico a partir de maçãs) em comparação com um extracto fenólico de vinho tinto. Concluiu-se que a concentração de colesterol no plasma era mais baixa no grupo que recebeu o extracto fenólico do vinho tinto, enquanto os ácidos hidroxicinâmicos não exibiram qualquer efeito<sup>61</sup>. Estes estudos parecem demonstrar que a ingestão crónica de compostos não alcoólicos do vinho tinto, sobretudo polifenóis, impede o desenvolvimento de aterosclerose em hamsters e que os ácidos hidroxicinâmicos do vinho não serão os compostos fenólicos envolvidos no efeito benéfico do alimento. Pode, no entanto, argumentar-se que os metabolitos resultantes da digestão das PA são algo diferentes dos ácidos hidroxicinâmicos investigados.

Desta exposição, pode concluir-se que os estudos efectuados sobre modelos animais são em pequeno número e utilizaram diversos animais, pelo que a informação retirada sobre os mecanismos de protecção conferida pelas PA é ainda muito limitada.

## **5.Efeito das proantocianidinas na prevenção do risco cardiovascular**

A actividade cardioprotectora das PA, em seres humanos, tem sido sobretudo estudada com extractos de grainha de uva e produtos à base de cacau<sup>62</sup>. Sendo estes últimos, produtos de composição complexa, os resultados obtidos são pouco relevantes do ponto de vista da possível utilização das PA num contexto nutracêutico. Já os estudos realizados com extractos de grainha de uva, sendo misturas mais simples, permitem ter uma ideia mais real do potencial das PA como factores benéficos na protecção contra as doenças cardiovasculares. Entre os efeitos demonstrados, em seres humanos, contam-se o aumento

\*Doutor em Química-Física, Prof. Auxiliar Univ. Atlântica/Unidade de Biotecnologia Ambiental/INUAF, [paulo@pfigueiredo.org](mailto:paulo@pfigueiredo.org)

\*\*Nutricionistas, Univ. Atlântica/CMG, [filipa.f.albuq@gmail.com](mailto:filipa.f.albuq@gmail.com), [saramromeiro@gmail.com](mailto:saramromeiro@gmail.com)

da capacidade antioxidante do plasma<sup>63</sup> e a melhoria da função do endotélio em indivíduos com alto risco cardiovascular<sup>64</sup>.

Num estudo de intervenção com voluntários humanos, foi fornecida uma dose diária de cacau em pó  $\geq 13$  g, durante 4 semanas, tendo-se verificado um efeito favorável sobre as concentrações de colesterol LDL e lipoproteína de alta densidade (HDL) e de LDL oxidado, no plasma<sup>65</sup>. Num outro estudo sobre consumo de cacau, foi avaliado o resultado da sua ingestão por indivíduos saudáveis, durante 6 semanas. Verificou-se uma redução da oxidabilidade do LDL<sup>66</sup>. Mas, quando o cacau foi fornecido a indivíduos que efectuavam exercício físico intenso, o qual induz *stress* oxidativo, observou-se uma diminuição na peroxidação dos lípidos<sup>67</sup>. Daqui conclui-se que, em indivíduos propensos a *stress* oxidativo, produtos ricos em PA exercem efeito antioxidante, o que vem apoiar a tese de que o consumo de alimentos ricos em PA e flavanóis diminui o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Sendo os fumadores frequentes um outro bom modelo para o *stress* oxidativo, foi fornecido a um grupo desses voluntários um extracto de grainhas de uva, concluindo-se que tanto os indicadores de oxidação TBARS (substâncias reactivas do ácido tiobarbitúrico) como a fase de arranque para a oxidação do LDL foram significativamente reduzidos<sup>68</sup>. Outros estudos com extractos de grainhas de uva, realizados em voluntários humanos, mostraram redução na agregação de plaquetas e no *stress* oxidativo<sup>31,69-71</sup>.

Os extractos de grainha de uva têm a vantagem de ter uma composição química menos complexa que a do vinho, ao mesmo tempo que contêm cerca de  $\frac{2}{3}$  do teor total de flavonóides da uva<sup>31</sup>. A sua utilização como suplemento alimentar já é corrente desde há alguns anos, tanto na Europa como nos EUA, sendo considerados como seguros para a generalidade das populações. Esta é a principal razão pela qual se encontram na literatura muitas mais referências a estudos sobre a bioactividade destes extractos, comparativamente aos realizados sobre a ingestão de vinho. Existem, no entanto, estudos epidemiológicos demonstrando que os consumidores de vinho têm uma menor taxa de mortalidade devida a doenças cardiovasculares que outros indivíduos<sup>72,73</sup>. Por outro lado, em estudos realizados com diferentes amostras verificaram-se efeitos benéficos idênticos, atribuídos a diferentes bebidas alcoólicas, nomeadamente cerveja e bebidas destiladas<sup>74</sup>. A falta de acordo sobre esta matéria levou outros autores a propor que a menor taxa de mortalidade, por doença cardiovascular, em consumidores de vinho, pode ser parcialmente devida a diferenças no estilo de vida (hábitos alimentares, exercício físico, entre outros), pois factores como a composição lipídica dos alimentos, falta de exercício físico e hipertensão são analogamente factores de risco importantes no desenvolvimento da aterosclerose<sup>74-78</sup>.

Como já foi referido, é difícil identificar quais os componentes biodisponíveis responsáveis por estas propriedades biológicas atribuídas às PA, existindo poucos estudos *in vivo* capazes de responder a esta questão. Em dois ensaios independentes, foram encontradas, no plasma de voluntários humanos, formas monoméricas e os dímeros B2 e B1, respectivamente após consumo de uma bebida de cacau e de um extracto de grainha de uva<sup>79,80</sup>.

## 6. Conclusões

Há cerca de 20 anos que diversos investigadores procuram componentes do vinho tinto e outros alimentos com potencial efeito benéfico para a saúde. Mais recentemente, foi sugerido que as PA existentes no vinho tinto poderiam explicar o chamado “paradoxo Francês”. Estes compostos polifenólicos provêm tanto das grainhas como da película das uvas e são extraídos para o vinho tinto durante o processo de fermentação. Vários estudos realizados *in vitro*, em modelos animais e com voluntários humanos demonstraram um potencial efeito cardioprotector destes compostos.

Apesar de existir um consenso generalizado de que o consumo de PA está associado a efeitos benéficos relacionados com a saúde cardiovascular em seres humanos, o conhecimento actual sobre a absorção e a biodisponibilidade das PA no ser humano é ainda

\*Doutor em Química-Física, Prof. Auxiliar Univ. Atlântica/Unidade de Biotecnologia Ambiental/INUAF, [paulo@pfigueiredo.org](mailto:paulo@pfigueiredo.org)

\*\*Nutricionistas, Univ. Atlântica/CMG, [filipa.f.albuq@gmail.com](mailto:filipa.f.albuq@gmail.com), [saramromeiro@gmail.com](mailto:saramromeiro@gmail.com)

bastante limitado. Os dados existentes indicam que a biodisponibilidade das formas poliméricas é baixa, o que aponta para que os compostos biologicamente activos sejam as formas monoméricas, catequinas e pequenos produtos metabólicos produzidos como resultado da degradação das PA no intestino. Será pois necessário adquirir mais conhecimentos sobre os mecanismos de absorção, metabolismo e biodisponibilidade das PA mais complexas, nos organismos vivos e, em particular, no ser humano. É também necessário conhecer a real concentração destes compostos e seus metabolitos no plasma, no contexto das habituais dietas alimentares, sobretudo naquelas, como a Mediterrânica, que envolvem uma ingestão crónica de alimentos ricos em flavonóides.

A investigação da capacidade cardioprotectora das formas purificadas de PA, é um outro aspecto que necessita de ser aprofundado, pois a maioria dos dados actuais baseiam-se apenas nos efeitos de misturas, geralmente mal identificadas, de polifenóis em extractos ou em alimentos como o vinho e o cacau.

Um problema, não abordado nesta revisão, é a falta de atenção dada à estereoquímica dos flavanóis. As quatro estruturas base são os monómeros (-)-epicatequina, (+)-catequina, (+)-epicatequina e (-)-catequina, mas a grande maioria dos trabalhos realizados ignora essa estereoespecificidade. Sabendo da importância da estereoquímica na absorção, metabolismo e actividade biológica dos compostos, esta poderá ser uma importante limitação para um correcto conhecimento da importância do consumo de produtos ricos em flavanóis e PA<sup>81</sup>.

Apesar de todas estas limitações, existem fortes indicações sobre o potencial cardioprotector das PA, pois alguns estudos efectuados, quer em animais quer em seres humanos, assim o confirmaram. Nomeadamente, verificaram-se decréscimos nos níveis de colesterol do plasma e na extensão da aterosclerose e ainda uma redução no nível de oxidação de LDL. Faltam, no entanto, mais estudos epidemiológicos que permitam confirmar a relação entre o consumo de PA e a redução do risco de doenças cardiovasculares, embora a crescente investigação, realizada para identificar diversos alimentos como fontes de PA, possa constituir uma base para tais estudos.

Para além das PA, são conhecidos efeitos cardioprotectores associados a outros compostos fenólicos. Como diversas famílias destes compostos estão simultaneamente presentes em diversos alimentos, é difícil concluir qual ou quais são responsáveis por um dado efeito biológico. Em contraponto, conhecem-se alguns efeitos antagónicos sobre a actividade biológica e biodisponibilidade das PA causados pela interacção com proteínas<sup>82,83</sup>. Em particular, existem diversos relatos sobre a interacção de polifenóis com produtos lácteos; embora existam dados contraditórios, a maioria parece apontar para uma redução das suas capacidade antioxidante e biodisponibilidade, resultante da adição de lacticínios, tanto *in vivo* como *in vitro*<sup>83</sup>. Existem, no entanto, alguns outros resultados que apontam para que essa interacção não tenha qualquer efeito ou tenha mesmo efeito estimulador. Tal dever-se-á, provavelmente, a diferenças nos procedimentos experimentais usados para avaliação da capacidade antioxidante e da composição fenólica e as tentativas de comparação e extrapolação de resultados obtidos entre estudos realizados *in vivo* e *in vitro*. Daqui resulta a necessidade de realizar estudos mais aprofundados e sistemáticos sobre as propriedades de cada composto individualmente e em associação com outros, nomeadamente outras proteínas que não as existentes nos lacticínios, em particular as de origem vegetal.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Santos-Buelga, C., Scalbert, A. (2000) Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* **80**, 1094-1117.
- <sup>2</sup> Zhou, HC., Lin, YM., Li, YY., Li, M., Wei, SD., Chai, WM., Tam, N. F. (2011) Antioxidant properties of polymeric proanthocyanidins from fruit stones and pericarps of *Litchi chinensis* Sonn. *Food Res. Int.* **44**, 613-620.
- <sup>3</sup> Hümmel, W., Schreier, P. (2008) Analysis of proanthocyanidins. *Mol. Nutr. Food Res.* **52**, 1381-1398.
- <sup>4</sup> Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Saura-Calixto, F. (2009) Proanthocyanidin content in foods is

largely underestimated in the literature data: An approach to quantification of the missing proanthocyanidins. *Food Res. Int.* **42**, 1381-1388.

<sup>5</sup> USDA (2004) (Accessed 24/03/2013) USDA Database for the proanthocyanidin content of selected foods. In: *US Department of Agriculture NDL*. Available at: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/PA/PA.pdf>

<sup>6</sup> Hellström, J. K., Törrönen, A. R., Mattila, P. H. (2009) Proanthocyanidins in common food products of plant origin. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 7899-7906.

<sup>7</sup> Dueñas, M., Sun, B., Hernández, T., Estrella, I., Spranger, M. I. (2003) Proanthocyanidin composition in the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* **51**, 7999-8004.

<sup>8</sup> Park, Y. S., Jeon, M. H., Hwang, H. J., Park, M. R., Lee, S.-H., Kim, S. G., M. Kim (2011) Antioxidant activity and analysis of proanthocyanidins from pine (*Pinus densiflora*) needles. *Nutr. Res. Pract.* **5**, 281-287.

<sup>9</sup> Diouf, P. N., Stevanovic, T., Cloutier, A. (2009) Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chem.* **113**, 897-902.

<sup>10</sup> Monagas, M., Khan, N., Andres-Lacueva, C., Casas, R., Urpí-Sardà, M., Llorach, R., Lamuela-Raventós, R. M., Estruch, R. (2009) Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**, 1144-1150.

<sup>11</sup> Daglia, M. (2012) Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.* **23**, 174-181.

<sup>12</sup> Choy, Y. Y., Jagers, G. K., Oteiza, P. I., Waterhouse, A. L. (2013) Bioavailability of intact proanthocyanidins in the rat colon after ingestion of grape seed extract. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 121-127.

<sup>13</sup> Ouédraogo, M., Charles, C., Ouédraogo, M., Guissou, I. P., Stévigny, C., Duez, P. (2011) An overview of cancer chemopreventive potential and safety of proanthocyanidins. *Nutr. Cancer* **63**, 1163-1173.

<sup>14</sup> Rasmussen, S. E., Frederiksen, H., Krogholm, K. S., Poulsen, L. (2005) Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Mol. Nutr. Food Res.* **49**, 159-174.

<sup>15</sup> Taubert, D., Roesen, R., Lehmann, C., Jung, N., Schömig, E. (2007) Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide: a randomized controlled trial. *JAMA* **298**, 49-60.

<sup>16</sup> Balzer, J., Rassaf, T., Heiss, C., Kleinbongard, P., Lauer, T., Merx, M., Heussen, N., Gross, H. B., Keen, C. L., Schroeter, H., Kelm, M. (2008) Sustained benefits in vascular function through flavanol-containing cocoa in medicated diabetic patients. A double-masked, randomized, controlled trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* **51**, 2141-2149.

<sup>17</sup> Heiss, C., Jahn, S., Taylor, M., Real, W. M., Angeli, F. S., Wong, M. L., Amabile, N., Prasad, M., Rassaf, T., Ottaviani, J. I., Mihardja, S., Keen, C. L., Springer, M. L., Boyle, A., Grossman, W., Glantz, S. A., Schroeter, H., Yeghiazarians, Y. (2010) Improvement of endothelial function with dietary flavanols is associated with mobilization of circulating angiogenic cells in patients with coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* **56**, 218-224.

<sup>18</sup> Sorond, F. A., Lipsitz, L. A., Hollenberg, N. K., Fisher, N. D. L. (2008) Cerebral blood flow response to flavanol-rich cocoa in healthy elderly humans. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **4**, 433-440.

<sup>19</sup> Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S., Prior, R. L. (2004) Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J. Nutr.* **134**, 613-617.

<sup>20</sup> Prior, R. L., Gu, L. (2005) Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*. **66**, 2264-2280.

<sup>21</sup> Faria, A., Mateus, N., Freitas, V. d., Calhau, C. (2006) Modulation of MPP<sup>+</sup> uptake by procyanidins in Caco-2 cells: Involvement of oxidation/reduction reactions. *FEBS Lett.* **580**, 155-160.

<sup>22</sup> Iglesia, R. dl., Milagro, F. I., Campión, J., Boqué, N., Martínez, J. A. (2010) Healthy properties of proanthocyanidins. *BioFactors* **36**, 159-168.

<sup>23</sup> Rein, D., Lotito, S., Holt, R. R., Keen, C. L., Schmitz, H. H., Fraga, C. G. (2000) Epicatechin in human plasma: *in vivo* determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. *J. Nutr.* **130**, 2109S-2114S.

<sup>24</sup> Déprez, S., Brezillon, C., Rabot, S., Philippe, C., Mila, I., Lapierre, C., Scalbert, A. (2000) Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J. Nutr.* **130**, 2733-2738.

- <sup>25</sup> Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**, 727-747.
- <sup>26</sup> Cremin, P., Kasim-Karakas, S., Waterhouse, A. L. (2001) LC/ES-MS detection of hydroxycinnamates in human plasma and urine. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 1747-1750.
- <sup>27</sup> Ross, R. (1999) Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* **340**, 115-126.
- <sup>28</sup> Hort, M. A., Stralio, M. R., Duz, M. S., Netto, P. M., Souza, C. B., Schultz, T., Horst, H., Pizzolatti, M. G., de Bem, A. F., Ribeiro-do-Valle, R. M. (2012) Cardioprotective effects of a proanthocyanidin-rich fraction from *Croton celtidifolius* Baill: Focus on atherosclerosis. *Food Chem. Toxicol.* **50**, 3769-3775.
- <sup>29</sup> Leopold, J. A., Loscalzo, J. (2009) Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease. *Free Radic. Biol. Med.* **47**, 1673-1706.
- <sup>30</sup> Renaud, S., de Lorgeril, M. (1992) Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* **339**, 1523-1526.
- <sup>31</sup> Kar, P., Laight, D., Shaw, K. M., Cummings, M. H. (2006) Flavonoid-rich grapeseed extracts: a new approach in high cardiovascular risk patients? *Int. J. Clin. Pract.* **60**, 1484-1492.
- <sup>32</sup> Seyoum, A., Asres, K., El-Fiky, F. K. (2006) Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* **67**, 2058-2070.
- <sup>33</sup> Es-Safi, N. E., Guyot, S., Ducrot, P. H. (2006) NMR, ESI/MS, and MALDI-TOF/MS analysis of pear juice polymeric proanthocyanidins with potent free radical scavenging activity. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 6969-6977.
- <sup>34</sup> Kenny, T. P., Keen, C. L., Schmitz, H. H., Gershwin, M. E. (2007) Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **232**, 293-300.
- <sup>35</sup> Hansson, G. K. (2009) Inflammatory mechanisms in atherosclerosis. *J. Thromb. Haemost.* **7 Suppl. 1**, 328-331.
- <sup>36</sup> Nardi, G. M., Felippi, R., DalBó, S., Siqueira-Junior, J. M., Arruda, D. C., Monache, F. D., Timbola, A. K., Pizzolatti, M. G., Ckless, K., Ribeiro-do-Valle, R. M. (2003) Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* bark. *Phytomedicine* **10**, 176-184.
- <sup>37</sup> Heim, K. C., Angers, P., Léonhart, S., Ritz, B. W. (2012) Anti-inflammatory and neuroactive properties of selected fruit extracts. *J. Med. Food* **15**, 851-854.
- <sup>38</sup> Shimoda, H., Shan, S.-J., Tanaka, J., Seki, A., Seo, J.-W., Kasajima, N., Tamura, S., Ke, Y., Murakami, N. (2010) Anti-inflammatory properties of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) extract and suppression of nitric oxide production by its constituents. *J. Med. Food* **13**, 156-162.
- <sup>39</sup> Hurst, S. M., McGhie, T. K., Cooney, J. M., Jensen, D. J., Gould, E. M., Lyall, K. A., Hurst, R. D. (2010) Blackcurrant proanthocyanidins augment IFN- $\gamma$ -induced suppression of IL-4 stimulated CCL26 secretion in alveolar epithelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.* **54**, S159-S170.
- <sup>40</sup> Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., Bahorun, T. (2005) Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutagen* **579**, 200-213.
- <sup>41</sup> Zhang, F. L., Gao, H. Q., Wu, J. M., Ma, Y. B., You, B. A., Li, B. Y., Xuan, J. H. (2006) Selective inhibition by grape seed proanthocyanidin extracts of cell adhesion molecule expression induced by advanced glycation end products in endothelial cells. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **48**, 47-53.
- <sup>42</sup> Badía, E., Sacanella, E., Fernández-Solá, J., Nicolás, J. M., Antúnez, E., Rotilio, D., de Gaetano, G., Urbano-Márquez, A., Estruch, R. (2004) Decreased tumor necrosis factor-induced adhesion of human monocytes to endothelial cells after moderate alcohol consumption. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 225-230.
- <sup>43</sup> Kane, M. O., Anselm, E., Rattmann, Y. D., Auger, C., Schini-Kerth, V. B. (2009) Role of gender and estrogen receptors in the rat aorta endothelium-dependent relaxation to red wine polyphenols. *Vasc. Pharmacol.* **51**, 140-146.
- <sup>44</sup> Chan, S.-L., Capdeville-Atkinson, C., Atkinson, J. (2008) Red wine polyphenols improve endothelium-dependent dilation in rat cerebral arterioles. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **51**, 553-558.
- <sup>45</sup> Nishioka, K., Hidaka, T., Nakamura, S., Umemura, T., Jitsuiki, D., Soga, J., Goto, C., Chayama, K., Yoshizumi, M., Higashi, Y. (2007) Pycnogenol, French maritime pine bark extract, augments endothelium-dependent vasodilation in humans. *Hypertens. Res.* **30**, 775-780.
- <sup>46</sup> Keen, C. L., Holt, R. R., Oteiza, P. I., Fraga, C. G., Schmitz, H. H. (2005) Cocoa antioxidants and cardiovascular health. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 298S-303S.
- <sup>47</sup> Zhang, Y., Shi, H., Wang, W., Ke, Z., Xu, P., Zhong, Z., Li, X., Wang, S. (2011) Antithrombotic

effect of grape seed proanthocyanidins extract in a rat model of deep vein thrombosis. *J. Vasc. Surg.* **53**, 743-753.

<sup>48</sup> Tokoudagba, J.-M., Auger, C., Bréant, L., N'Gom, S., Chabert, P., Idris-Khodja, N., Gbaguidi, F., Gbenou, J., Moudachirou, M., Lobstein, A., Schini-Kerth, V. B. (2010) Procyanidin-rich fractions from *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) leaves cause redox-sensitive endothelium-dependent relaxation involving NO and EDHF in porcine coronary artery. *J. Ethnopharmacol.* **132**, 246-250.

<sup>49</sup> Caton, P. W., Pothecary, M. R., Lees, D. M., Khan, N. Q., Wood, E. G., Shoji, T., Kanda, T., Rull, G., Corder, R. (2010) Regulation of vascular endothelial function by procyanidin-rich foods and beverages. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 4008-4013.

<sup>50</sup> Fitzpatrick, D. F., Bing, B., Maggi, D. A., Fleming, R. C., O'Malley, R. M. (2002) Vasodilating procyanidins derived from grape seeds. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **957**, 78-89.

<sup>51</sup> Gresele, P., Cerletti, C., Guglielmini, G., Pignatelli, P., de Gaetano, G., Violi, F. (2011) Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *J. Nutr. Biochem.* **22**, 201-211.

<sup>52</sup> Murphy, K. J., Chronopoulos, A. K., Singh, I., Francis, M. A., Moriarty, H., Pike, M. J., Turner, A. H., Mann, N. J., Sinclair, A. J. (2003) Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *Am. J. Clin. Nutr.* **77**, 1466-1473.

<sup>53</sup> Dalli, E., Vallés, J., Cosín-Sales, J., Santos, M. T., Moscardó, A., Milara, J., Sotillo, J. F. (2011) Effects of hawthorn (*Crataegus laevigata*) on platelet aggregation in healthy volunteers. *Thromb Res.* **128**, 398-400.

<sup>54</sup> García-Conesa, M.-T., Tribolo, S., Guyot, S., Tomás-Barberán, F. A., Kroon, P. A. (2009) Oligomeric procyanidins inhibit cell migration and modulate the expression of migration and proliferation associated genes in human umbilical vascular endothelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.* **53**, 266-276.

<sup>55</sup> Bladé, C., Arola, L., Salvadó, M.-J. (2010) Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. *Mol. Nutr. Food Res.* **54**, 37-59.

<sup>56</sup> Auger, C., Caporiccio, B., Landrault, N., Teissedre, P. L., Laurent, C., Cros, G., Besançon, P., Rouanet, J.-M. (2002) Red wine phenolic compounds reduce plasma lipids and apolipoprotein B and prevent early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic golden Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *J. Nutr.* **132**, 1207-1213.

<sup>57</sup> Demrow, H. S., Slane, P. R., Folts, J. D. (1995) Administration of wine and grape juice inhibits *in vivo* platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* **91**, 1182-1188.

<sup>58</sup> Thiruchenduran, M., Vijayan, N. A., Sawaminathan, J. K., Devaraj, S. N. (2011) Protective effect of grape seed proanthocyanidins against cholesterol cholic acid diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Cardiovasc. Pathol.* **20**, 361-368.

<sup>59</sup> Terra, X., Montagut, G., Bustos, M., Llopiz, N., Ardèvol, A., Bladé, C., Fernández-Larrea, J., Pujadas, G., Salvadó, J., Arola, L., Blay, M. (2009) Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *J. Nutr. Biochem.* **20**, 210-218.

<sup>60</sup> Zern, T. L., West, K. L., Fernandez, M. L. (2003) Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs. *J. Nutr.* **133**, 2268-2272.

<sup>61</sup> Auger, C., Laurent, N., Laurent, C., Besançon, P., Caporiccio, B., Teissédre, P. L., Rouanet, J.-M. (2004) Hydroxycinnamic acids do not prevent aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic golden Syrian hamsters. *Life Sci.* **74**, 2365-2377.

<sup>62</sup> Espín, J. C., García-Conesa, M. T., Tomás-Barberán, F. A. (2007) Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry* **68**, 2986-3008.

<sup>63</sup> Vinson, J. A., Proch, J., Bose, P. (2001) MegaNatural<sup>®</sup> gold grapeseed extract: *in vitro* antioxidant and *in vivo* human supplementation studies. *J. Med. Food* **4**, 17-26.

<sup>64</sup> Clifton, P. M. (2004) Effect of grape seed extract and quercetin on cardiovascular and endothelial parameters in high-risk subjects. *J. Biomed. Biotechnol.* **5**, 272-278.

<sup>65</sup> Baba, S., Natsume, M., Yasuda, A., Nakamura, Y., Tamura, T., Osakabe, N., Kanegae, M., Kondo, K. (2007) Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo- and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder. *J. Nutr.* **137**, 1436-1441.

<sup>66</sup> Mathur, S., Devaraj, S., Grundy, S. M., Jialal, I. (2002) Cocoa products decrease low density

lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. *J. Nutr.* **132**, 3663-3667.

- <sup>67</sup> Wiswedel, I., Hirsch, D., Kropf, S., Gruening, M., Pfister, E., Schewe, T., Sies, H. (2004) Flavanol-rich cocoa drink lowers plasma F(2)-isoprostane concentration in humans. *Free Radic. Biol. Med.* **37**, 411-421.
- <sup>68</sup> Vigna, G. B., Costantini, F., Aldini, G., Carini, M., Catapano, A., Schena, F., Tangerini, A., Zanca, R., Bombardelli, E., Morazzoni, P., Mezzetti, A., Fellin, R., Facino, R. M. (2003) Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers. *Metabolism* **52**, 1250-1257.
- <sup>69</sup> Vitseva, O., Varghese, S., Chakrabarti, S., Folts, J. D., Freedman, J. E. (2005) Grape seed and skin extracts inhibit platelet function and release of reactive oxygen intermediates. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **46**, 445-451.
- <sup>70</sup> Keevil, J. G., Osman, H. E., Reed, J. D., Folts, J. D. (2000) Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J. Nutr.* **130**, 53-56.
- <sup>71</sup> Natella, F., Belevi, F., Gentili, V., Ursini, F., Scaccini, C. (2002) Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 7720-7725.
- <sup>72</sup> Bertelli, A. A. A., Das, D. K. (2009) Grapes, wines, resveratrol, and heart health. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **54**, 468-476.
- <sup>73</sup> Theobald, H., Bygren, L. O., Carstensen, J., Engfeldt, P. (2000) A moderate intake of wine is associated with reduced total mortality and reduced mortality from cardiovascular disease. *J. Stud. Alcohol* **61**, 652-656.
- <sup>74</sup> Arranz, S., Chiva-Blanch, G., Valderas-Martínez, P., Medina-Remón, A., Lamuela-Raventós, R. M., Estruch, R. (2012) Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients* **4**, 759-781.
- <sup>75</sup> Kromhout, D., Menotti, A., Kesteloot, H., Sans, S. (2002) Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. *Circulation* **105**, 893-898.
- <sup>76</sup> Tjønneland, A., Grønbaek, M., Stripp, C., Overvad, K. (1999) Wine intake and diet in a random sample of 48763 Danish men and women. *Am. J. Clin. Nutr.* **69**, 49-54.
- <sup>77</sup> Martínez-González, M. A., Sánchez-Villegas, A. (2004) The emerging role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology: monounsaturated fats, olive oil, red wine or the whole pattern? *Eur. J. Epidemiol.* **19**, 9-13.
- <sup>78</sup> Lindberg, M. L., Amsterdam, E. A. (2008) Alcohol, wine, and cardiovascular health. *Clin. Cardiol.* **31**, 347-351.
- <sup>79</sup> Holt, R. R., Lazarus, S. A., Sullards, M. C., Zhu, Q. Y., Schramm, D. D., Hammerstone, J. F., Fraga, C. G., Schmitz, H. H., Keen, C. L. (2002) Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4 $\beta$ -8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *Am. J. Clin. Nutr.* **76**, 798-804.
- <sup>80</sup> Sano, A., Yamakoshi, J., Tokutake, S., Tobe, K., Kubota, Y., Kikuchi, M. (2003) Procyanidin B1 is detected in human serum after intake of proanthocyanidin-rich grape seed extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1140-1143.
- <sup>81</sup> Schroeter, H., Heiss, C., Spencer, J. P. E., Keen, C. L., Lupton, J. R., Schmitz, H. H. (2010) Recommending flavanols and procyanidins for cardiovascular health: Current knowledge and future needs. *Mol. Aspects Med.* **31**, 546-557.
- <sup>82</sup> Trombley, J. D., Loegel, T. N., Danielson, N. D., Hagerman, A. E. (2011) Capillary electrophoresis methods for the determination of covalent polyphenol-protein complexes. *Anal. Bioanal. Chem.* **401**, 1523-1529.
- <sup>83</sup> Ozdal, T., Capanoglu, E., Altay, F. (2013) A review on protein-phenolic interactions and associated changes. *Food Res. Int.* **51**, 954-970.