

Tiago Filipe Pereira de Jesus

# **O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

**Porto, 2013**



Tiago Filipe Pereira de Jesus

# **O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

**Porto, 2013**

Tiago Filipe Pereira de Jesus

**O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas**

**Orientadora:**

Professora Doutora Catarina Lemos

Professora Auxiliar

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Farmacêuticas

---

(Tiago Filipe Pereira de Jesus)

## Resumo

Ao longo de várias décadas, os investigadores biomédicos e nutricionistas têm procurado propriedades terapêuticas em plantas comestíveis e nos seus produtos (sumos de fruta, por exemplo). Realizaram muitos estudos onde investigaram alimentos e produtos alimentares relativamente aos seus efeitos em várias populações incluindo crianças, idosos e imunocomprometidos.

A procura de compostos naturais como forma de terapêutica convencional tem vindo a aumentar e neste sentido é importante que o consumidor tenha informações sustentadas no conhecimento científico.

O mirtilo é um fruto silvestre com diversas aplicações documentadas. Este fruto tem na sua constituição componentes bioactivos que lhe conferem propriedades únicas. A sua aplicação é diversa, com actividades funcionais, fisiológicas, preventivas e terapêuticas.

O mirtilo pode ser incluído na dieta humana e pode ser usado como suplemento alimentar, processado de diversas formas disponíveis no mercado. Existem estudos que indicam que existem benefícios na utilização do mirtilo conjuntamente com medicamentos de origem sintética, havendo a possibilidade de futuramente ser incluído na terapêutica combinada de certas patologias.

**Palavras-chave:** Mirtilo, arando, *Vaccinium*, compostos bioactivos, prevenção, terapêutico, antioxidante, anti-inflamatório.

## **Abstract**

Over several decades, biomedical researchers and nutritionists have sought therapeutic properties in edible plants and their products (fruit juice, for example). Many studies have investigated food and food products for their effects on various populations including children, the elderly and immunocompromised.

The search for natural compounds as a form of conventional therapy has been increasing and in this sense it is important for consumers to have information based in scientific knowledge.

The blueberry/cranberry is a fruit with several applications documented. This fruit has bioactive compounds on its constitution that provide unique properties. Its application is diverse, with functional, physiological, preventive and therapeutic activities.

The cranberry may be included in the human diet, and can be used as a food supplement, processed in several ways available in the market. Some studies show that it can also be used in conjunction with drug of synthetic origin and included in the combination therapy of certain diseases.

**Keywords:** Blueberry, cranberry, *Vaccinium*, bioactive compounds, prevention, treatment, antioxidant, anti-inflammatory.

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos os que directamente contribuíram para a realização deste trabalho, tornando possível a finalização deste percurso académico.

À minha orientadora, Professora Doutora Catarina Lemos, por toda a disponibilidade, dedicação, empenho e orientação científica na realização desta dissertação.

Ao Professor Jeffrey S. Phippen pela pronta colaboração na cedência das fotos, permitindo que este trabalho ficasse mais rico.

À minha família, em especial aos meus pais e avós a quem devo todo o meu percurso académico.

À minha namorada por todo o apoio e compreensão.

# Índice

I. Introdução.....	1
II. O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas.....	3
1. Os Frutos Silvestres .....	3
2. O Mirtilo.....	3
3. Componentes bioactivos presentes nos mirtilos.....	11
3.1 Antocianinas.....	11
3.2 Flavonóis .....	11
3.3 Flavan-3-óis (catequinas) .....	12
3.4 Taninos.....	12
3.5 Ácidos fenólicos.....	12
4. Propriedades antioxidantes do mirtilo .....	13
5. Propriedades anti-inflamatórias.....	15
6. Propriedades preventivas e terapêuticas .....	17
6.1 Efeitos anticancerígenos.....	18
6.1.1 Indução da apoptose .....	19
6.1.2 Redução da invasão e metástases devido à inibição das metaloproteinases da matriz .....	20
6.1.3 Diminuição da expressão e actividade da Ornitina Descarboxilase ...	20
6.1.4 Inibição de processos inflamatórios .....	21
6.2 Efeitos cardioprotectores.....	21
6.2.1 Acção anti-hipertensora.....	22
6.2.2 Propriedades antidislipidémicas .....	24
6.2.3 Acção anti-agregante plaquetária .....	25
6.2.4 Propriedades antidiabéticas .....	26
6.3 Efeitos sobre as infecções do tracto urinário.....	27

6.4	Efeitos na saúde oral .....	30
6.4.1	Cárie Dentária .....	30
6.4.1.1	Inibição da adesão de S. mutans.....	30
6.4.2	Doença Periodontal .....	32
6.4.2.1	Efeitos sobre os periodontopatogéneos .....	32
6.4.2.1.1	Adesão e formação de biofilme.....	32
6.4.2.1.2	Enzimas proteolíticas .....	33
6.4.2.2	Efeitos sobre a resposta do hospedeiro .....	33
6.4.2.2.1	Propriedades anti-inflamatórias.....	33
6.4.2.2.2	Inibição de enzimas que degradam o tecido hospedeiro ...	34
6.5	Efeitos antivirais.....	35
6.6	Efeitos sobre o tracto gastrointestinal .....	37
6.7	Efeitos na patologia ocular .....	38
6.8	Efeitos nas doenças neurológicas .....	39
7.	Suplementação e consumo.....	41
III.	Conclusão .....	45
IV.	Bibliografia.....	46

## Índice de Figuras

Figura 1 – Classificação científica da família <i>Ericaceae</i> .....	4
Figura 2 – Compota de Mirtilo .....	43
Figura 3 – Chá de Mirtilo .....	43
Figura 4 – Cápsulas de arando vermelho contendo Vitamina C .....	44
Figura 5 – Saquetas em pó constituídas por PAC, provenientes de <i>V. macrocarpon</i> ...	44

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Espécies de mirtilo .....	5
--------------------------------------	---

## Lista de Abreviaturas

COX – Ciclooxigenase

GTF – Glucosiltransferase

DCV – Doenças cardiovasculares

HDL – Lipoproteínas de alta densidade

IDL – Lipoproteínas de densidade intermédia

IL – Interleucina

ITU – Infecção do trato urinário

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LPS – Lipopolissacarídeos

MCP-1 – Proteína quimiotáctica de monócitos

MMP – Metaloproteinases da matriz, do inglês, *matrix metalloproteinases*

NDM – Material não dialisável, do inglês *non dialysable material*

NF- $\kappa$ B – Factor de transcrição nuclear, do inglês *nuclear factor kappa B*

ODC – Ornitina descarboxilase

PAC – Proantocianidinas

RANTES – Quimiocina expressa e segregada por linfócitos T, regulada na activação

ROS – Espécies reactivas de oxigénio, do inglês *reactive oxygen species*

TNF- $\alpha$  – Factor de necrose tumoral alfa

VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade

## I. Introdução

Uma dieta equilibrada está associada a três princípios: diversidade, moderação e equilíbrio. Daqui resulta a importância da qualidade dos alimentos e o respeito pelas quantidades de porções recomendadas para cada grupo. O conceito de nutrição ideal inclui o potencial que os alimentos apresentam para a promoção da saúde e do bem-estar geral. Neste sentido, ao longo de várias décadas, os investigadores biomédicos e nutricionistas têm procurado propriedades terapêuticas em plantas comestíveis e nos seus produtos (sumos de fruta, por exemplo) (Lipson *et al.*, 2007a).

O mirtilo ou arando é um fruto organoléptico com excelentes aspectos nutricionais e funcionais, visto que apresenta níveis elevados de polifenóis comparativamente com a maioria dos frutos e vegetais comercializados. O mirtilo pode ser encontrado e consumido fresco ou noutras formas processadas, como sumos, iogurtes, geleias, compotas, entre outros (Yang *et al.*, 2010; Del Rio *et al.*, 2010).

O mirtilo é um fruto silvestre do género *Vaccinium* e da família *Ericaceae* (Fernald, 1950) que tem sido alvo de muita atenção devido ao papel positivo na saúde humana e na prevenção de certas patologias. Esses efeitos protectores têm sido genericamente atribuídos à ampla gama de polifenóis presentes no fruto, que são responsáveis pela elevada capacidade de eliminação de radicais livres. Ao mirtilo são atribuídas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Karlsen *et al.*, 2007; Brownmiller *et al.*, 2008).

Têm sido descritas diversas propriedades benéficas associadas aos mirtilos, nomeadamente no tratamento e prevenção de desordens do trato urinário, de patologias cardiovasculares, da cárie dentária, de úlceras gástricas e do cancro (Burger *et al.*, 2000; Stothers, 2002; Arts & Hollman, 2005; Bodet *et al.*, 2008). São também descritas propriedades anti-proliferativas, anti-cancerígenas, antibacterianas e antivirais (Nijveldt *et al.*, 2001; Ferguson *et al.*, 2004; Weiss *et al.*, 2005).

Pelo exposto, considerou-se relevante uma abordagem ao tema o mirtilo e suas propriedades terapêuticas, pela ascendente importância que o fruto vem vindo a consolidar, quer comercialmente quer farmacologicamente. É uma fonte natural, relativamente abundante e rica, tendo como objectivo a prevenção ou mesmo o tratamento. É um fruto que pode ser facilmente encontrado em Portugal, principalmente na zona do Médio Vouga, sendo uma fonte de elevado rendimento desta região, que exporta 90% da sua produção, com uma área de cultivo em constante crescimento.

Este trabalho foi elaborado de acordo com o antigo acordo ortográfico. Relativamente à denominação do fruto mirtilo, considerou-se, sempre que possível, a referência à espécie. Existem várias nomenclaturas para este fruto, que variam geograficamente. Em Portugal, considera-se genericamente a designação mirtilo ou arando, apesar de noutras regiões existir uma nomenclatura mais específica para definir diferentes variedades, tais como *Blueberry*, *Bilberry* e *Cranberry*. Esta última também pode ser designada em Portugal como arando americano, mirtilo vermelho ou arando de baga vermelha.

## II. O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas

### 1. Os Frutos Silvestres

Frutos silvestres como o mirtilo (*Vaccinium*), amora silvestre (*Rubus sp.*), groselha preta (*Ribes nigrum*) e vermelha (*Ribes uva-crispa*), uva (*Vitis vinífera*), framboesa vermelha (*Rubus idaeus*) e preta (*Rubus occidentalis*), morango (*Fragaria Ananassa*), romã (*Punica granatum*) e mangostão (*Garcinia mangostana*) são uma fonte particularmente rica em antioxidantes (Seeram *et al.*, 2006; Seeram, 2008a; Szajdek & Borowska, 2008). Estes são conhecidos como antioxidantes naturais e devido à sua elevada concentração e diversidade qualitativa nos frutos vermelhos, são cada vez mais referidos como alimentos funcionais naturais (Szajdek & Borowska, 2008).

Os frutos silvestres são popularmente consumidos na dieta frescos ou em formas processadas, como sumos, bebidas de fruta, iogurtes, produtos congelados, vinhos, compotas, marmeladas e geleias. Além disso, extractos de frutos silvestres são amplamente consumidos sob a forma de suplementos alimentares, devido aos seus potenciais benefícios para a saúde humana (Seeram *et al.*, 2006; Szajdek & Borowska, 2008).

### 2. O Mirtilo

O mirtilo é um fruto silvestre disponível num grande número de variedades, descendentes de espécies e subespécies da família da *Ericaceae* e do género *Vaccinium* (Fernald, 1950).

Na figura 1 está esquematizada a classificação científica da família da *Ericaceae*. Todas as espécies indicadas são arbustos que dão origem ao fruto mirtilo, estando estas descritas na tabela 1. As diferentes espécies distinguem-se essencialmente com base nas características do arbusto e só em alguns casos através dos atributos da baga.

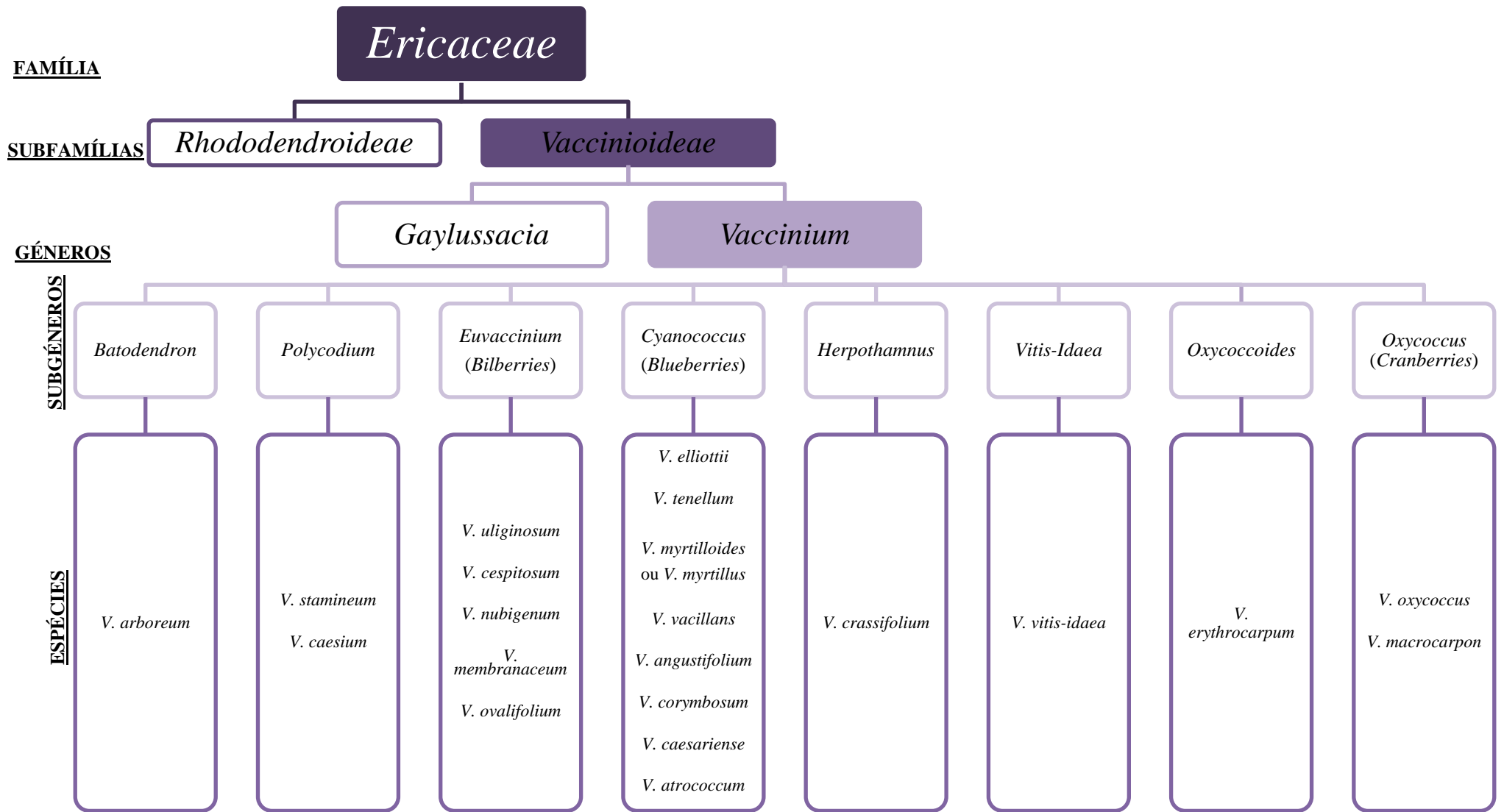


Figura 1. Classificação científica da família *Ericaceae* (Fernald, 1950)

Tabela 1. Espécies de mirtilos

***V. arboreum***

(***Farkleberry*** ou ***Sparkleberry***) Arbusto grosso ou pequena árvore com altura até 9 m e com tronco até 3 dm de diâmetro.



Foto gentilmente cedida por Jeffrey S. Pippen, Duke University, Carolina do Norte, EUA

***V. stamineum***

(***Deerberry*** ou ***Squaw-Huckleberry***) Arbusto difusamente ramificado com altura entre 0,3-3 m. A cor do fruto (baga) vai de verde para amarelo, roxo ou azul, com ou sem flor.



Foto gentilmente cedida por Jeffrey S. Pippen, Duke University, Carolina do Norte, EUA

***V. caesium***

(***Deerberry***, ***Squaw-Huckleberry***) Arbusto menor que o anterior, pois a altura varia entre os 0,2-5 (raramente 10) dm.

***V. uliginosum*** Arbusto rígido e corpulento, deprimido ou ascendente, com uma altura entre 0,2-6 dm e com ramos lenhosos fortes. Possui baga azul-escura, doce e com flor. Ideal para terrenos turfosos, rochosos ou secos e localizados em encostas superiores na montanha.

***V. cespitosum*** Arbusto anão tufado, deprimido ou com ascendente delgado, com uma altura entre 0,5-3 dm. As bagas são azuis com flor. O terreno ideal é em margens de cascalho ou rochoso e aberto. É ascendente em áreas alpinas/montanhas e descendente ao nível do mar.

***V. nubigenum*** Arbusto mais lenhoso do que todas as espécies anteriores. Apresenta caules e ramos lenhosos ascendentes com alturas compreendidas entre 0,2-7 dm. Bagas com cor azul-preta, com um sabor extremamente rico e com flor. Os terrenos ideais são os rochosos, turfosos ou em encostas de baixa vegetação, dando-se melhor do nível do mar para áreas subalpinas.

***V. membranaceum*** Arbusto erecto ou levemente ascendente com uma altura entre 0,3-1,5 m. Apresenta uma baga deprimida de boa qualidade, possuindo uma cor compreendida entre a púrpura e o preto e acompanhada com uma ligeira flor ou mesmo sem ela.

***V. ovalifolium*** Arbusto disperso possuindo raminhos de quatro ângulos e casca esfoliante. Com uma altura compreendida entre os 0,3-1,7 m. As bagas são azuis com flor, apresentando muitas vezes um sabor desagradável para nós. Este arbusto dá-se bem em matas, florestas abertas, em encostas turfosas e às vezes também ascende em ravinas subalpinas.

***V. elliotti*** Arbusto disperso ou delgado vagamente ramificado com uma altura entre 1,3-5 m. Este arbusto dá-se bem em bosques, matas e pântanos. As bagas são de cor preta ou preta-roxa de diâmetro compreendido entre 5-8 mm.

***V. tenellum***

Arbusto anão colonial com uma altura compreendida entre 1-6 dm. A baga é pequena, muito seca e de coloração preta.



Foto gentilmente cedida por Jeffrey S. Pippen, Duke University, Carolina do Norte, EUA

***V. myrtilloides*  
ou *V. myrtillus***

Arbusto baixo com uma altura compreendida entre os 2-9 dm. As bagas têm um diâmetro entre 7-10 mm, cor azul e floração abundante e esbranquiçada. Estes arbustos são nativos da Eurásia e crescem em sub-bosques das florestas temperadas.

***V. vacillans***

Arbusto baixo com 3-9 dm de altura. As bagas são azuis escuras com diâmetro de 6-9 mm e são muito doces. Estes arbustos crescem em bosques ou matas abertas.

**V.  
*angustifolium***

Arbusto anão intricado, ramificado e deprimido com uma altura de 0,5-3,5 dm. A baga é azul, doce, com um diâmetro compreendido entre 5-8 mm e com floração abundante. O arbusto cresce em locais abertos, secos, turfosos e rochosos, e é nativo da América do Norte.



Foto gentilmente cedida por Jeffrey S. Phippen, Duke University, Carolina do Norte, EUA

**V. *corymbosum*  
(Highbush  
Blueberry)**

Arbusto com altura até 4 m e forma aglomerados compactos ou abertos. A baga tem um diâmetro de 6-12 mm, tem uma coloração que vai de azul para azul-preta e é doce e succulenta. Este arbusto cresce em pântanos, bosques baixos, matas densas e é nativo da América do Norte. Esta é a espécie cultivada na zona do médio Vouga, como Viseu, Sever do Vouga, Águeda, Albergaria-a-Velha e Vale de Cambra e comercializada em Portugal.



Mirtilo da espécie *V. Corymbosum*, proveniente da zona de Sever do Vouga (Portugal)

**V. *caesariense*  
(Highbush  
Blueberry,  
New Jersey  
Blueberry)**

Geralmente, o arbusto é menor do que o da espécie anterior, no entanto, este atinge uma altura máxima de 3 m. A baga tem uma coloração azul escura, tem de diâmetro 5-8 mm e possui flor. Este arbusto cresce em pântanos, matas turfosas sobre ou perto das planícies costeiras das cidades da costa leste dos Estados Unidos.

*V. atrococcum*

(**Black  
Highbush  
Blueberry**)

Este arbusto diferencia-se dos dois anteriores pelo facto de ter as folhas com muita penugem e também no tempo de florescimento. Baga preta de tamanho entre 5-8 mm de diâmetro, com flor (esbranquiçada) ou sem flor. Este arbusto dá-se em bosques baixos.

*V. crassifolium*

(**Creeping  
Blueberry**)

É um arbusto perene de folhas verde-escuro brilhante. A baga tem uma coloração preta ou preta-roxa, brilhante, suculenta, doce e suave, com sementes grandes. Este arbusto cresce em zonas áridas arenosas ou turfosas.

*V. vitis-idaea*

(**Moutain  
Cranberry,  
Cowberry,  
Lingberry**)

Arbusto perene rastejando com hastes e galhos delgados e ágeis. As bagas são vermelhas, ácidas e ligeiramente amargas. O lugar de origem deste arbusto são as florestas do Norte da Eurásia e da América do Norte.

*V.  
erythrocarpum*  
(**Moutain  
Cranberry,  
Bearberry**)

Arbusto arborizado divergentemente ramificado com uma altura de 0,3-2,5 m, apresentando uma casca esfoliante. A baga pode ir de vermelha a acastanhada ou mesmo preta. O sabor varia de insípido a adocicado.



Foto gentilmente cedida por Jeffrey S. Phippen, Duke University, Carolina do Norte, EUA

***V. oxycoccos*** O arbusto contém uma haste muito fina e rasteira e os ramos são quase capilares e ascendentes. As bagas possuem um diâmetro entre 5-8 mm. São de cor pálida e salpicadas e quando maduras tornam-se vermelhas ou esbranquiçadas. Esta espécie é nativa da América do Norte e Nordeste, Europa e Ásia.  
**(Small Cranberry)**

***V. macrocarpon*** Arbusto com haste normalmente mais robusta do que na espécie anterior, muito alongada e com bifurcação intrincada. Para além disso possui também ramos floridos ascendentes. A baga tem uma espessura de 1-2cm e é globosa, elipsóide e piriforme. Este arbusto é nativo da América do Norte.  
**(Large ou American Cranberry)**



Foto gentilmente cedida por Jeffrey S. Phippen, Duke University, Carolina do Norte, EUA

### **3. Componentes bioativos presentes nos mirtilos**

O mirtilo e seus produtos são conhecidos pela sua elevada concentração de polifenóis totais (Vinson *et al.*, 2008). Mais especificamente, estes são ricos em flavonóides, como as antocianinas, os flavonóis e os flavan-3-óis ou catequinas; taninos condensados (proantocianidinas, PAC) e hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos); e ácidos fenólicos (hidroxibenzoico e hidroxicinâmico e seus derivados) (Neto, 2007; Ruel & Couillard, 2007).

#### **3.1 Antocianinas**

As antocianinas são geralmente encontradas em frutos de baga vermelha, roxa ou azul. As suas concentrações nos alimentos tendem a aumentar à medida que o fruto amadurece e em resposta a alguns factores climáticos. As antocianinas consistem numa molécula de antocianidina ligada a uma ou mais unidades de açúcar. A glicosilação de antocianidinas ocorre preferencialmente na posição C3. As principais antocianinas presentes nos mirtilos são galactosídeos e arabinoses de cianidina e peonidina (Robards & Antolovich, 1997; Nijveldt *et al.*, 2001).

#### **3.2 Flavonóis**

Os flavonóis são encontrados em abundância em frutos derivados da família *Ericaceae*, tais como o mirtilo, existindo maioritariamente na pele destes frutos (Robards & Antolovich, 1997).

Os principais tipos de flavonóis são a isoramnetina, quenferol, miricetina e quercetina. Todos eles são caracterizados por serem isentos de qualquer substituição na posição C3 e, para além disso, são famosos pela sua estrutura planar devida à dupla ligação presente no anel aromático central. Os flavonóis são frequentemente encontrados na natureza como derivados acilados, envolvendo ligações entre os ácidos alifáticos e aromáticos e hidróxidos de açúcar. Os flavonóis glicosilados predominantes em frutas são os 3-O-

monoglicosídeos e ocorrem pela seguinte ordem de preferência de açúcares: glucose> galactose> rannose> ácido glucurónico (Côté *et al.*, 2010).

### **3.3 Flavan-3-óis (catequinas)**

Os flavan-3-óis ou catequinas são importantes constituintes dos frutos e a sua presença tem sido relatada no mirtilo. As catequinas partilham a mesma estrutura molecular dos flavonóis, mas não possuem o grupo carbonilo C4 (Côté *et al.*, 2010).

Através de reacções catalisadas pela luz, calor e oxigénio, os flavan-3-óis tendem a combinar com os ésteres do ácido gálico e elágico para formar compostos como elagitaninos e galotaninos (Robards & Antolovich, 1997).

### **3.4 Taninos**

Os taninos são componentes importantes dos frutos silvestres. São constituídos por taninos condensados não hidrolisáveis, as PAC e por taninos hidrolisáveis, como os ésteres do ácido gálico e elágico. No entanto, os taninos condensados são bem mais frequentes nestes frutos do que os taninos hidrolisáveis (Shahidi & Naczk, 2004).

Este componente desempenha um papel essencial na definição das propriedades sensoriais do fruto. Os taninos são responsáveis pelo sabor azedo e pelas alterações de cor nos frutos e nos sumos de fruta. Na fruta rica em antocianinas, como é o caso do mirtilo, os taninos ligam-se a estas formando co-polímeros, estabilizando-as (Shahidi & Naczk, 2004).

### **3.5 Ácidos fenólicos**

Os ácidos fenólicos contribuem para as características e para o sabor único das bagas dos mirtilos, das amoras, das framboesas e de outros frutos de baya vermelha, roxa ou azul (Vattem & Shetty, 2005).

Esta família de componentes inclui derivados do ácido hidroxicinâmico e do ácido hidroxibenzóico, apresentando estruturas moleculares muito similares (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2005). No mirtilo foram encontradas grandes quantidades do ácido ferúlico e quantidades significativas de ácido  $\rho$ -cumárico, sendo os dois pertencentes à família dos ácidos hidroxicinâmicos (Häkkinen *et al.*, 1999). Os compostos classificados na família do ácido hidroxicinâmico e do ácido hidroxibenzóico diferenciam-se pelo número e posições dos grupos metilo e hidroxilo ligados ao anel de fenol. Estes compostos raramente ocorrem na forma livre, estando normalmente associados a outros tipos de compostos. Quando aparecem como ácidos fenólicos simples, geralmente é consequência da passagem por alguns processos, como a contaminação por microorganismos ou transformação tecnológica (Cotê *et al.*, 2010).

#### **4. Propriedades antioxidantes do mirtilo**

É a capacidade de eliminar espécies reactivas de oxigénio (ROS) que define o mirtilo como um poderoso antioxidante. As principais ROS que são passíveis de ser eliminadas pelas diferentes espécies de mirtilo são o radical hidroxilo, o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH·), o radical 3-etilbenzotiazoline-6-sulfónico (ABTS), radicais superóxido e outras formas reactivas de oxigénio, como o peróxido de hidrogénio e o singlete de oxigénio (Szajdek & Borowska, 2008). Estima-se que cerca de 2-5% do oxigénio consumido por uma célula é subsequentemente convertido em radicais livres. Pelo simples facto de consumir oxigénio, o metabolismo celular, mesmo em situações basais, promove uma formação contínua de ROS, através da redução do oxigénio molecular com um, dois ou três electrões (Wickens, 2001; Floyd & Hensley, 2002). De todos os organelos presentes nas células, a mitocôndria é a principal fonte de ROS, já que se estima que consome cerca de 90% da totalidade do oxigénio consumido pelo organismo. No entanto, existem outras fontes celulares para a produção de ROS, estando algumas activas em funções fisiológicas basais, enquanto outras são activadas apenas em circunstâncias especiais, tais como durante o exercício físico exaustivo e inabitual. Para além das fontes intrínsecas de ROS também existem fontes extrínsecas

como, por exemplo, a radiação ultravioleta, produtos químicos tóxicos, a poluição e alguns fármacos.

A interação das ROS com outras moléculas biológicas é bastante lesiva para a estrutura e funcionalidade celular, sendo responsável por alterações estruturais nas moléculas de ADN, nas proteínas e por destruição das membranas. Consequentemente, estas alterações podem resultar em malefícios no organismo humano, como o envelhecimento e o cancro (Beckman & Ames, 1998).

A produção de ROS é normalmente compensada por sistemas de defesa celular. De facto, a maioria das células responde a estas espécies aumentando os níveis de antioxidantes, como a catalase, a superóxido dismutase e a glutathione (Khan, 2013). No entanto, cerca de 1% das ROS “foge” à eliminação diária, dando origem a danos celulares oxidativos. Este desequilíbrio entre a formação de ROS e a neutralização das mesmas por parte de sistemas de desintoxicação, é denominado de *stress* oxidativo (Berger, 2005). A extensão do *stress* oxidativo pode ser determinada experimentalmente através da quantificação de produtos finais de ácidos nucleicos danificados, peroxidação lipídica e de oxidação de proteínas (Junqueira *et al.*, 2004).

Como os sistemas de defesa celular não são completamente eficazes contra as ROS, há um interesse crescente sobre os efeitos benéficos da toma de antioxidantes para a saúde. Resultados de estudos apontam para as correlações entre o teor total de compostos fenólicos dos frutos vermelhos e a sua actividade antioxidante (Wang *et al.*, 1996; Kalt *et al.*, 1999), sendo que esta é determinada pela espécie, variedade, forma de cultivo, região geográfica, condições climáticas, estado de maturação, altura da colheita, tempo e condições de armazenamento (Skupien & Oszmianski, 2004).

É preciso, no entanto, ter em atenção que as ROS também têm funções importantes no nosso organismo, nomeadamente mediar vários processos de regulação e vias de sinalização, incluindo a proliferação e a activação ou inactivação de biomoléculas reguladoras. Para além disso, as ROS também participam na regulação de alguns genes e na iniciação e execução da apoptose. Deste modo, é importante o consumo racional de

antioxidantes para que se possa manter o equilíbrio entre estes e a concentração de ROS no organismo (Khan, 2013).

## 5. Propriedades anti-inflamatórias

Para além das propriedades antioxidantes, o mirtilo possui também propriedades anti-inflamatórias. A inflamação é uma série complexa de reacções executadas pelo organismo para prevenir danos nos tecidos e activar processos de reparação e de mecanismos de defesa contra doenças infecciosas. No entanto, se a inflamação for prolongada pode contribuir para a patogénese de doenças crónicas como a diabetes, doenças neurodegenerativas, cancro e doenças cardiovasculares (Wyss-Coray & Mucke, 2002; Blomhoff, 2005). Desta forma, a diminuição da inflamação pode retardar o desenvolvimento de tais doenças. Há estudos que mostram que a terapia com antioxidantes previne a lesão do tecido vivo durante a inflamação (Cuzzocrea *et al.*, 2001; Cuzzocrea *et al.*, 2004).

Alguns dos mediadores químicos presentes na inflamação são as citocinas, incluindo as interleucinas (IL) e o factor de necrose tumoral (TNF); as quimiocinas, como a RANTES, que é uma quimiocina expressa e segregada por linfócitos T, regulada na activação, e a MCP-1 (proteína quimiotáctica de monócitos); leucotrienos e as prostaglandinas (Wyss-Coray & Mucke, 2002).

No caso destas últimas, a enzima chave na sua biossíntese é a ciclooxigenase (COX). Esta enzima metaboliza o ácido araquidónico, dando origem aos prostanóides (prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos), conduzindo a várias funções fisiológicas, como o processo inflamatório e a activação e agregação das plaquetas. A isoenzima COX-1 está expressa constitutivamente em todas as células, enquanto que a expressão da COX-2 pode ser induzida em resposta a estímulos inflamatórios (Tzeng *et al.*, 1991).

Vários componentes presentes no mirtilo têm capacidade para inibir a COX, possuindo desta forma propriedades anti-inflamatórias (Seeram *et al.*, 2001). Existem vários estudos, tanto *in vitro* como *in vivo*, que indicam que o ácido ursólico e a quercetina têm capacidade para inibir a COX (Safayhi *et al.*, 1997; Ringbom *et al.*, 1998; Subbaramaiah *et al.*, 2000; Baricevic *et al.*, 2001). Num outro estudo observou-se que a cianidina pura era um inibidor eficaz da COX-2, reduzindo a actividade desta em cerca de 47%, tendo também uma actividade superior relativamente a outros tipos de antocianinas (Seeram *et al.*, 2003).

O factor de transcrição nuclear, NF- $\kappa$ B, é um complexo proteico que controla a expressão de genes envolvidos na expressão inflamatória e é activado pelo *stress* oxidativo e por outros estímulos de compostos pró-inflamatórios (Barnes & Karin, 1997). Os elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias e de proteínas de fase aguda têm sido associados ao aumento do risco de doença e ao mau prognóstico de doenças inflamatórias crónicas. Assim, a inibição da activação do NF- $\kappa$ B limita a resposta inflamatória, sendo possivelmente uma estratégia para a prevenção de doenças inflamatórias crónicas (Boos & Lip, 2006).

Realizaram-se vários estudos em modelos celulares e animais com o objectivo de modular a resposta inflamatória utilizando antocianinas, componente presente no mirtilo, nos quais se observou inibição da secreção de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-8, MCP-1, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  (Youdim *et al.*, 2002; Wang & Mazza, 2002; Tsuda *et al.*, 2002; Herath *et al.*, 2003; Atalay *et al.*, 2003). Também Karlsen e seus colaboradores (2007) demonstraram que a ingestão de antocianinas presentes na espécie *V. myrtillus* estava associada a efeitos anti-inflamatórios, pois observaram reduções consideráveis das concentrações plasmáticas de IL-8, RANTES, IFN- $\alpha$  e um decréscimo menos acentuado das citocinas Th2, IL-4 e IL-13. Portanto, verificaram reduções plasmáticas de quimiocinas pró-inflamatórias e de citocinas imunomoduladoras, dando origem a uma redução da activação do NF- $\kappa$ B. Num outro estudo, demonstraram também que o consumo diário de sumo da *V. myrtillus* diminuiu os níveis circulatórios de IL-6 e IL-15 e aumentou os níveis de TNF- $\alpha$  (Karlsen *et al.*, 2010). Estes estudos revelaram ainda que uma dieta rica em *V. myrtillus* tende a diminuir as concentrações plasmáticas de lipopolissacarídeos (LPS) (Karlsen *et al.*,

2007; Karlsen *et al.*, 2010). Este efeito pode eventualmente ter relevância clínica, pois existem estudos que indicam os LPS como sendo uma causa da inflamação, bem como, de ganho de peso, hiperglicemia e resistência à insulina (Cani *et al.*, 2007; Musso *et al.*, 2011). Para além destes, verificou-se em dois outros estudos que tanto o ácido ursólico como a quercetina, componentes presentes no mirtilo, inibem a activação do TNF- $\alpha$  dependente do NF- $\kappa$ B (Shishodia *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2005).

Um mecanismo possível para a inibição da activação do NF- $\kappa$ B diz respeito à capacidade das antocianinas, mais especificamente dos seus respectivos produtos de degradação ou dos seus metabolitos, servirem como tampões redox capazes de suprimir o *stress* oxidativo, diminuindo assim a resposta inflamatória. De qualquer das formas, serão necessários estudos futuros para comprovar esta hipótese, mas esta pode representar uma estratégia de prevenção ou tratamento de doenças inflamatórias crónicas (Karlsen *et al.*, 2007).

Apesar dos vários estudos que mostram as propriedades anti-inflamatórias de algumas espécies de mirtilos, existem outros nos quais não se verificaram efeitos significativos dos extractos de *V. corymbosum* sobre os níveis plasmáticos de alguns biomarcadores inflamatórios, como por exemplo, a IL-6, TNF-  $\alpha$  e MCP-1 (Curtis *et al.*, 2009; Basu *et al.*, 2010; Stull *et al.*, 2010).

## **6. Propriedades preventivas e terapêuticas**

A diversidade dos compostos bioactivos que se podem encontrar no mirtilo reflecte-se no amplo espectro das suas propriedades preventivas e terapêuticas (Szajdek & Borowska, 2008).

Tem sido estudada a utilização do mirtilo e seus suplementos na prevenção e tratamento de certas patologias que serão expostas de seguida.

## 6.1 Efeitos anticancerígenos

A evidência actual disponível a partir de experiências em culturas celulares sugere que muitos dos efeitos biológicos dos compostos presentes no mirtilo estão relacionados com a sua capacidade para modular as vias de sinalização celulares. As células são capazes de responder a uma variedade de diferentes sinais, aumentando ou diminuindo a disponibilidade de proteínas específicas. As cadeias complexas de eventos que levam a alterações na expressão de genes específicos são conhecidas como vias de sinalização celulares ou vias de transdução de sinal. Estas vias regulam numerosos processos celulares, incluindo crescimento, proliferação e morte (apoptose). A eficaz transdução de sinal requer enzimas, conhecidas como cinases, que catalisam a fosforilação de proteínas-alvo em locais específicos. As cascatas envolvem fosforilações ou desfosforilações específicas de proteínas de transdução de sinal, que podem afectar a actividade de factores de transcrição – proteínas que se ligam a elementos específicos de resposta no ADN, que irão promover ou inibir a transcrição de vários genes (Côté *et al.*, 2010). As ROS podem danificar o ADN e a divisão celular, originando mutações. Estas alterações, se aparecerem em genes críticos, como oncogenes ou genes supressores de tumor, o início ou a progressão de um tumor pode acontecer (Loft & Poulsen, 1996; Pryor, 1997). Acredita-se que os compostos fenólicos podem interferir em vários processos que conduzem ao desenvolvimento de tumores malignos, incluindo a inactivação de compostos cancerígenos e a inibição da expressão do gene mutante. Muitos estudos também têm demonstrado que os compostos fenólicos podem activar os sistemas enzimáticos de desintoxicação (fase II) e prevenir o dano oxidativo no ADN (Mitscher *et al.*, 1996; Halliwell, 1999; Vatter & Shetty, 2005). A apoptose é outro mecanismo importante através do qual os compostos fenólicos podem suprimir o cancro (Ramos *et al.*, 2005). Numerosos estudos com culturas de células demonstraram que os compostos fenólicos, através do seu efeito sobre as vias de sinalização celular e por inibição selectiva das cinases, podem alterar o factor de sinalização por inibição do receptor de fosforilação ou por bloqueio dos receptores de ligação a factores de crescimento (Côté *et al.*, 2010).

As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos da *cranberry* podem contribuir para as actividades anti tumorais observadas nos seus extractos, sendo que a actividade anticancerígena do fruto pode envolver uma variedade de mecanismos (Neto, 2007). A inibição de tumores por parte da *cranberry* é susceptível de derivar das actividades sinérgicas dos fitoquímicos presentes na mesma, incluindo os flavonóis (a quercetina principalmente), as PAC, o ácido ursólico e as antocianinas, uma vez que todos estes são capazes de inibir a proliferação individualmente (Neto, 2007; Neto *et al.*, 2008).

Os possíveis mecanismos de acção são a indução da apoptose em células cancerosas, a redução da invasão e metástases devido à inibição das metaloproteinases da matriz (MMP), a diminuição da expressão e actividade da ornitina descarboxilase (ODC) e a inibição de processos inflamatórios, incluindo a actividade da COX (Neto, 2007; Neto *et al.*, 2008).

### **6.1.1 Indução da apoptose**

Surgiram indícios de que a apoptose pode desempenhar um papel chave na capacidade da *cranberry* para limitar o crescimento de células tumorais. A indução da apoptose tem-se observado em células tumorais no cancro da mama e do cólon e é dependente da dose. Num estudo verificou-se que uma fracção anti-proliferativa da *V. macrocarpon* induziu a apoptose nas células do tumor da mama MDA-MB-435 (Ferguson *et al.*, 2004). Num outro estudo foi utilizado um extracto de *cranberry* para aumentar a apoptose em células da linhagem celular tumoral da mama (MCF-7) em cerca de 25% (Sun *et al.*, 2006). Na mesma linha, Griffin e seus colaboradores, compararam os efeitos de um extracto de polifenóis presente na *cranberry* sobre as taxas de apoptose em linhagens celulares da mama tumorais (MCF-7) e não tumorais (MCF-10A). Observaram um aumento da taxa de apoptose em 92% nas células MCF-7, contrariamente ao que ocorreu nas células MCF-10-A, nas quais não observaram quaisquer alterações na taxa de apoptose.

### **6.1.2 Redução da invasão e metástases devido à inibição das metaloproteinases da matriz**

Os fitoquímicos presentes na *cranberry* podem também agir contra o cancro limitando os processos envolvidos na invasão tumoral e metástases, particularmente na expressão das MMP envolvidas na remodelação da matriz extracelular (Pupa *et al.*, 2002). Tanto o extracto polifenólico da *V. macrocarpon* como o extracto que contém apenas a fracção das PAC inibiram a expressão das MMP, nomeadamente das MMP-2 e MMP-9, nas linhas celulares DU145 do tumor da próstata, de um modo dependente da dose. O extracto bruto foi mais eficaz, o que sugere que outros flavonóides presentes no fruto também contribuem para a actividade, juntamente com os oligómeros (Neto *et al.*, 2006). Actividade similar foi observada com um extracto rico em flavonóides da espécie *V. angustifolium*, no qual grande parte dessa actividade foi atribuída às PAC (Matchett *et al.*, 2006).

### **6.1.3 Diminuição da expressão e actividade da Ornitina Descarboxilase**

A biossíntese e o metabolismo das poliaminas espermina e espermidina, envolvidas na proliferação celular, são controlados por enzimas, tais como a ODC e a espermidina/espermina N1-acetiltransferase. A sobre-expressão destas enzimas é observada em modelos de cancro, indicando que podem desempenhar um papel regulador na transformação, invasão e angiogénese (Neto, 2007; Neto *et al.*, 2008). A angiogénese é o termo usado para descrever a formação de novos vasos, sendo indesejável em situações como a formação das veias varicosas e a formação de tumores. Este é um evento chave que alimenta o crescimento de tumores e metástases do cancro (Bagchi *et al.*, 2004). Extractos de *V. macrocarpon* contendo PAC e outros flavonóides inibiram claramente a actividade da ODC em células epiteliais de rato (ME-308) (Kandil *et al.*, 2002). Num outro estudo observou-se que os extractos de *cranberry* inibiram a expressão de ODC induzida por LPS, em modelos animais. Também se verificou que, quanto maior a dose utilizada, mais eficaz era a abolição da expressão de ODC (Matchett *et al.*, 2005).

#### **6.1.4 Inibição de processos inflamatórios**

Existem estudos que documentam que os medicamentos anti-inflamatórios não esteróides possuem um efeito quimiopreventivo contra o cancro do cólon, em modelos celulares e animais, uma vez que em alguns tumores se verifica a sobre-expressão das COX (Sheng *et al.*, 1997; Fournier *et al.*, 2000).

Como referido anteriormente, existe uma grande variedade de actividades anti-inflamatórias exercidas por parte dos componentes presentes no mirtilo. Como os processos inflamatórios estão envolvidos no aparecimento/desenvolvimento do cancro, ao actuar sobre os primeiros, consequentemente existe o efeito sobre os processos neoplásicos (Bottone *et al.*, 2004).

O'Leary e colegas (2004) verificaram no seu estudo que a quercetina, componente presente no mirtilo, reduz a expressão de RNA mensageiro da COX-2 em células Caco-2 do cancro do cólon.

#### **6.2 Efeitos cardioprotectores**

As doenças cardiovasculares (DCV), especialmente o acidente vascular cerebral e a doença coronária, são as principais causas de morte no mundo (WHO, 2011). Alguns factores genéticos e ambientais desempenham um papel importante na iniciação e progressão das DCV. Os bons hábitos alimentares e um estilo de vida saudável são as modificações recomendadas para diminuir o risco de DCV, mas também para reduzir as complicações associadas com estados metabólicos anormais. Basicamente deve-se efectuar uma dieta rica em frutos e vegetais e praticar exercício físico regularmente (Peredes-López *et al.*, 2010).

Um dos principais factores de risco para a DCV é efectuar uma dieta rica em gorduras saturadas devido aos seus efeitos sobre a aterosclerose, disfunção endotelial e hipertensão (Vogel, 1997; Hu & Willett, 2002). A disfunção endotelial é caracterizada por uma série de alterações fisiológicas, incluindo a diminuição da biodisponibilidade de derivados vasodilatadores no endotélio, principalmente óxido nítrico (NO), e o aumento dos níveis plasmáticos de derivados de factores de contracção no endotélio (Bonetti *et al.*, 2003). Estas alterações podem dar origem a uma disfunção da síntese de NO ao nível do endotélio, as quais são associadas ao desenvolvimento de aterosclerose em animais (Naruse *et al.*, 1994; Kuhlencordt *et al.*, 2001). As alterações endoteliais referidas anteriormente estão também associadas ao desenvolvimento de hipertensão (Celermajer *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2010).

Investigações médicas e epidemiológicas sugerem que alimentos ricos em flavonóides exercem benefícios para a saúde cardiovascular (Hertog *et al.*, 1995; Knekt *et al.*, 2002; Arts & Hollman, 2005). Existem muitos estudos que documentam efeitos benéficos do mirtilo ao nível do poder antioxidante, anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antidiabético, anti-obesidade, anti-hiperlipidemia, suportando assim a ideia de que o consumo de mirtilo pode ser cardioprotector (Ruel *et al.*, 2006; Erlund *et al.*, 2008; Persson *et al.*, 2009; DeFuria *et al.*, 2009). Com base nesses estudos, pode-se afirmar que o consumo de mirtilo pode alterar favoravelmente os componentes individuais da síndrome metabólica, sendo este um problema de saúde pública (Alberti *et al.*, 2009). A síndrome metabólica tem sido caracterizada pela adiposidade abdominal, hiperlipidemia, hipertensão arterial, intolerância à glucose, *stress* oxidativo elevado, inflamação e aumento do risco de diabetes do tipo 2 e aterosclerose (Haffner, 2006; Holvoet *et al.*, 2008; Alberti *et al.*, 2009).

### **6.2.1 Acção anti-hipertensora**

A hipertensão é definida como uma pressão sanguínea de 140/90 mmHg ou superior, sendo um importante factor de risco para o enfarte do miocárdio e para o acidente vascular cerebral e também a principal causa da insuficiência renal crónica. De uma forma geral, quanto mais elevada for a pressão sanguínea, maior é o risco (Heart & Stroke Foundation of Canada, 2003). Estratégias para controlar a hipertensão são

consideradas chave no controle da mortalidade por DCV e na redução da carga de fármacos anti-hipertensores, pois uma redução da pressão arterial de apenas 3 mmHg pode reduzir o risco de morte entre 5 e 8% (Padwal *et al.*, 2005). Além da intervenção farmacológica, a modificação do estilo de vida (alteração na dieta, por exemplo) é considerada fundamental para prevenir e tratar a hipertensão arterial (Padwal *et al.*, 2005).

Existem estudos, que serão apresentados de seguida, realizados em modelos animais, em células endoteliais humanas e mesmo em humanos que documentam efeitos benéficos de algumas espécies de mirtilo sobre a hipertensão.

Persson e colegas (2009) investigaram o efeito do *V. myrtillus* e dos seus polifenóis sobre a actividade da enzima conversora da angiotensina em células endoteliais humanas. O sistema renina-angiotensina é um dos mecanismos mais importantes do corpo sobre a regulação da pressão arterial e equilíbrio electrolítico, mantendo o volume de fluido extracelular e a pressão arterial, apesar da ingestão de grandes variações de electrólito. A enzima conversora da angiotensina, uma carboxipeptidase, converte rapidamente a angiotensina I (fisiologicamente inactiva) em angiotensina II, tendo esta a capacidade de aumentar a pressão arterial sistémica e a pressão de perfusão renal. No estudo referido, o extracto de *V. myrtillus* teve um efeito inibitório sobre a actividade da enzima conversora da angiotensina, podendo esta ser uma explicação para os efeitos anti-hipertensores do mirtilo (Persson *et al.*, 2009). Outros mecanismos que podem explicar a melhoria da hipertensão com o consumo de mirtilo, poderão ser o aumento significativo da síntese dos níveis de NO endotelial, a diminuição da vasoconstrição via NO ou a diminuição do *stress* oxidativo renal (Shaughnessy *et al.*, 2009; Kalea *et al.*, 2009).

Em estudos realizados em ratos espontaneamente hipertensos, nos quais se utilizaram extractos de *V. angustifolium* ou *blueberry* foi observada uma redução da pressão arterial (Shaughnessy *et al.*, 2009; Elks *et al.*, 2011). Da mesma forma, em ratos normotensos verificou-se igualmente uma redução significativa da pressão arterial (Rodriguez-Mateos *et al.*, 2012). Basu e colaboradores (2010) observaram que o consumo de *blueberry* é capaz de reduzir a pressão arterial sistólica e diastólica em

cerca de 6% e 4%, respectivamente, em indivíduos com síndrome metabólica. Em humanos saudáveis e também em pacientes possuindo factores de risco cardiovascular observou-se a redução da pressão arterial sistólica e diastólica após suplementação com mirtilo (Ruel *et al.*, 2008; Erlund *et al.*, 2008).

### 6.2.2 Propriedades antidislipidémicas

Outro factor de risco associado à DCV é a dislipidemia, ou seja, a presença de níveis elevados ou anormais de lípidos e/ou lipoproteínas na corrente sanguínea. A hipercolesterolemia e a hipertrigliceridemia são dois importantes factores na patogénese das DCV de natureza aterosclerótica. A hipercolesterolemia é definida como níveis elevados de colesterol total, de LDL (lipoproteínas de baixa densidade), VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade), IDL (lipoproteínas de densidade intermédia) e níveis baixos de HDL (lipoproteínas de alta densidade) (Kim *et al.*, 2010).

Um regime alimentar com elevado teor de gordura (principalmente gorduras saturadas e monoinsaturadas) leva a uma redução significativa do relaxamento dependente do endotélio, aumento dos níveis plasmáticos de triglicédeos, do colesterol total e do colesterol LDL e uma diminuição do colesterol HDL (Kim *et al.*, 2010).

Os componentes polifenólicos provenientes do mirtilo podem influenciar o perfil lipídico em casos de pacientes com síndrome metabólica, tendo como efeito o aumento da concentração das HDL plasmáticas, suportando a ideia de que o consumo de alimentos ricos em flavonóides pode ser cardioprotector (Cravotto *et al.*, 2010). Nesta linha, Ruel e colegas (2006) estudaram o consumo diário de doses de um *cocktail* de sumo de *V. macrocarpon* no perfil lipídico de homens com obesidade abdominal, verificando que houve um aumento significativo da concentração das HDL plasmáticas, sem variação dos níveis das LDL e das VLDL. Já num estudo sobre o efeito da suplementação com *V. corymbosum* em homens e mulheres obesos com síndrome metabólica, concluiu-se que os níveis plasmáticos de LDL diminuam comparativamente com os grupos controlo (Basu *et al.*, 2010). Em modelos animais (porcos) foram obtidos os mesmos resultados documentados no estudo anterior (Kalt *et al.*, 2008).

Os benefícios das propriedades presentes no mirtilo sobre a hipercolesterolemia podem ser explicados recorrendo a vários mecanismos fisiológicos, embora a maioria deles necessitem de ser confirmados. Uma das teorias para o aumento das HDL é precisamente a diminuição dos triglicerídeos, já que estes estão metabólica e inversamente relacionados. Contudo, uma análise estatística multivariada mostra que a variação dos triglicerídeos no plasma representa apenas 16% da variação dos níveis de HDL no plasma (Austin, 1991). Outra forte associação encontrada foi a elevação da concentração de HDL juntamente com a de apolipoproteína A-I, já que esta explica cerca de metade da variação da concentração de HDL. Além destas associações, também se notou ao nível do plasma a diminuição de NO e de *stress* oxidativo, apesar de menos significativas (Ruel *et al.*, 2006). Estes efeitos do mirtilo parecem ter muitos benefícios na doença cardíaca, principalmente ao nível da doença arterial coronária, pois há uma diminuição de fenómenos ateroscleróticos em consequência da diminuição da hipercolesterolemia e dos triglicerídeos (Nijveldt *et al.*, 2001). De facto, Hertog e os colegas (1995) verificaram que a ingestão de flavonóides diminui a longo prazo o risco de morte por doença arterial coronária em homens idosos.

No entanto, existem outros estudos realizados em humanos e em ratos, nos quais os resultados obtidos não foram muito favoráveis, pois verificaram que a suplementação de ratos com *blueberry*, não alterou os perfis lipídicos dos mesmos (Wu *et al.*, 2010; Prior *et al.*, 2010; Rodriguez-Mateos *et al.*, 2012). Nesta mesma linha, Duthie e seus colegas (2006), estudaram o efeito do sumo de *cranberry* rico em antocianinas na actividade antioxidante no plasma e na actividade de biomarcadores envolvidos no *stress* oxidativo em mulheres saudáveis. Estes investigadores verificaram que os níveis de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos não sofreram alterações significativas com a toma do sumo.

### **6.2.3 Acção anti-agregante plaquetária**

A agregação plaquetária contribui tanto para a aterosclerose como para a formação de trombos, podendo por conseguinte originar tromboembolismo arterial. Desta forma, os antagonistas das funções plaquetárias previnem oclusões tromboembólicas agudas da circulação arterial, por inibirem a agregação das plaquetas, na sequência de uma

disfunção endotelial (Nijveldt *et al.*, 2001). Neste sentido, existem estudos que documentam que o mirtilo tem capacidade anti-trombótica, como o de Erlund e seus colegas (2008), que verificaram que o consumo de frutos vermelhos em quantidades moderadas inibe significativamente a função plaquetária. Os flavonóides, componentes presentes no mirtilo, são potentes agentes anti-trombóticos, como foi confirmado quer *in vitro*, quer *in vivo*, sendo o seu efeito devido à inibição da actividade da COX, e, conseqüentemente, à inibição da formação do tromboxano A2 (Nijveldt *et al.*, 2001).

#### **6.2.4 Propriedades antidiabéticas**

A incidência de diabetes *mellitus* tipo II, a mais comum, atingiu proporções epidémicas nos países ocidentais e em desenvolvimento e continua a aumentar rapidamente (International Diabetes Federation, 2005). Indivíduos com diabetes tipo II e com deficiente controlo glicémico estão mais associados ao risco de doença microvascular, doença vascular periférica, amputações, enfarte do miocárdio, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca. A resistência periférica à insulina é uma característica fundamental destes doentes e resulta de uma combinação de sedentarismo, hábitos alimentares pouco saudáveis e predisposição genética (Skyler, 2004). Actualmente, as opções de medicamentos para o tratamento da diabetes são um pouco limitadas, têm muitos efeitos colaterais e muitas vezes são prescritos em associação (Cheng & Fantus, 2005). Devido a este facto, começaram a utilizar-se produtos naturais de forma a complementar ou mesmo substituir os medicamentos existentes. Desde então, iniciaram-se vários estudos clínicos de forma a encontrar plantas que possuam actividade hipoglicemiante (Yeh *et al.*, 2003). Uma pesquisa recente identificou a *V. angustifolium* como uma das plantas antidiabéticas mais recomendadas e, no Canadá, extractos desta planta estão disponíveis no mercado como produto natural concebido para tratamento complementar da diabetes (Haddad *et al.*, 2003). Martineau e os seus colegas (2006) realizaram um estudo com o objectivo de verificar se a *V. angustifolium* possuía propriedades antidiabéticas utilizando bioensaios celulares, concluindo que os extractos desta planta possuíam propriedades semelhantes à insulina e à glitazona, bem como actividade citoprotectora. Relativamente ao aumento da actividade da glitazona, este ocorreu através de um mecanismo que envolve a activação do PPAR $\gamma$  (receptor gama activado pelo proliferador peroxissomal), no qual se verifica, nos ensaios de

adipogénese, agonismo e potencial de sensibilização à insulina. Quanto ao efeito citoprotector presente nos extractos, os mecanismos que estão por detrás não são claros, no entanto, podem ocorrer devido à diminuição da peroxidação lipídica, oxidação proteica e/ou glicação, de acordo com as propriedades antioxidantes que lhes são concedidas (Martineau *et al.*, 2006).

DeFuria e colegas (2009) relataram também efeitos favoráveis do mirtilo sobre a diabetes tipo II em modelos animais. Verificaram que em ratos alimentados com elevadas doses de gordura e suplementados com *V. corymbosum* houve uma diminuição da resistência à insulina, redução da morte de adipócitos e também de sequelas inflamatórias, comparativamente com os ratos apenas alimentados com uma dieta rica em gordura. Stull e colaboradores (2010) também concluíram que o consumo diário de bioactivos de *V. corymbosum* numa população de alto risco para desenvolver diabetes tipo II melhorava a sensibilidade à insulina, em comparação com o grupo de controlo. Estes resultados sugerem que a adição do mirtilo aumenta a captação de glucose pelas células através de um mecanismo dependente da insulina. De qualquer modo, mais estudos serão necessários para explicar o mecanismo celular envolvido na melhoria da sensibilidade à insulina.

No entanto, também existem estudos onde não se observaram quaisquer benefícios no consumo de mirtilo relativamente a pacientes com diabetes tipo II (Chambers & Camire, 2003; Basu *et al.*, 2010).

### **6.3 Efeitos sobre as infecções do tracto urinário**

O sumo de *cranberry* ou arando vermelho (*V. macrocarpon*) tem sido consumido para a prevenção das infecções do trato urinário. A sua capacidade para proteger o trato urinário da adesão das bactérias uropatógenicas, como a *Escherichia coli* (e outros

patogêneos), têm levado os médicos a recomendar beber o sumo de *cranberry* como tratamento de vários tipos de infecções urinárias e prostáticas (Jepson & Craig, 2008).

A infecção do trato urinário (ITU) é frequentemente considerada uma doença menor, no entanto, pode causar grande desconforto (Møller *et al.*, 2000). As ITU têm uma alta incidência em todo o mundo e uma parte substancial do orçamento da saúde pública é gasto no seu tratamento. Em geral, todas as mulheres sofrem de ITU bacteriana pelo menos uma vez em toda a sua vida e as ITU recorrentes ocorrem em cerca de 25% de todas as mulheres idosas (Johnson, 2003). A bactéria *E. coli* provoca ITU mais simples. A urovirulência é fortemente definida pelas fímbrias bacterianas que medeiam a firme adesão ao tecido hospedeiro. Esta adesão é obtida através da ligação de lectinas, expostas à superfície das fímbrias, aos hidratos de carbono presentes no tecido hospedeiro (Johnson, 2003). Existem fímbrias tipo 1, P e S. As fímbrias P ligam-se a um dissacarídeo específico da galactose presente nas células uroepiteliais (Gaffney *et al.*, 1995).

Portanto, a adesão das fímbrias é um evento chave na ITU, pois apenas após a adesão poderá ocorrer colonização bacteriana no tecido do hospedeiro. Posto isto, a adesão é claramente o alvo promissor para a intervenção terapêutica (Johnson, 2003).

Vários produtos contendo a espécie *V. macrocarpon*, como sumos ou comprimidos, têm sido estudados clinicamente e têm demonstrado resultados positivos relativamente à prevenção de ITU (Howell, 2002; Griffiths, 2003). O material não dialisável de alto peso molecular (NDM) e as PAC presentes na *cranberry* possuem propriedades de anti-adesão contra fímbrias P da *E. coli*. A análise química da fracção NDM revelou que contém cerca de 65% de PAC e uma quantidade muito inferior de antocianidinas (0,35%) (Bodet *et al.*, 2006a). As PAC da *cranberry* são únicas na medida em que as moléculas oligoméricas são do tipo A, enquanto que as PAC oligoméricas presentes nos outros frutos são maioritariamente do tipo B, que é desprovido de actividade anti-adesão (Howell *et al.*, 2005).

Esta capacidade da *V. macrocarpon* foi testada em estudos *in vitro*, nos quais se observou a abolição da expressão das fímbrias P da *E. coli*, aquando da adição ao meio

de cultura bacteriana (Ahuja, 1998). Já Di Martino e colaboradores (2006) realizaram um estudo da eficácia do consumo de sumo de *V. macrocarpon* considerando a presença de actividade de anti-adesão bacteriana *in vitro* na urina de voluntários saudáveis, observando uma diminuição significativa, dependente da dose, na adesão bacteriana associada ao consumo do sumo contra as diferentes espécies uropatogénicas de *E. coli* na urina, comparativamente com o placebo.

Também existem estudos clínicos a testar a profilaxia da *cranberry* sobre as ITU recorrentes. Stothers (2002) comparou a eficácia profiláctica de comprimidos e do sumo de *cranberry* contra as infecções do trato urinário em mulheres adultas e concluiu que tanto os comprimidos como o sumo levaram a uma diminuição estatisticamente significativa do número de pacientes que experienciaram pelo menos uma ITU sintomática por ano, em comparação com o placebo. Num outro estudo examinaram a capacidade de uma preparação concentrada de *V. macrocarpon* para evitar ITU em mulheres com antecedentes de infecções recorrentes, sendo que após doze semanas, não observaram ITU em nenhuma paciente, tendo concluído que a preparação, contendo fenólicos de alto peso molecular, pode prevenir totalmente as ITU nas mulheres com infecções recorrentes (Bailey *et al.*, 2007). Da mesma forma, Jepson e colegas (2008) realizaram um estudo com mulheres jovens e de meia-idade que sofriam de ITU recorrentes, concluindo que o sumo de *cranberry* diminuía o número de mulheres com ITU sintomáticas.

Já Avorn e colegas (1994) avaliaram o efeito da ingestão regular de sumo de *cranberry* na bacteriúria e piúria em mulheres idosas e verificaram uma redução na incidência de bacteriúria com piúria.

Doentes com defeitos anatómicos ou no funcionamento normal do trato urinário, como bexiga neuropática devida, por exemplo, a lesões na espinal medula, estão predispostos a ITU crónicas, muitas vezes com bactérias multirresistentes, devido ao cateterismo. Desta forma, realizaram um estudo em doentes com a patologia indicada, tendo verificado que a ingestão de sumo de *cranberry* reduzia significativamente a carga de biofilme bacteriano na bexiga em comparação com os valores basais, reduzindo o risco de infecção (Reid *et al.*, 2001).

## 6.4 Efeitos na saúde oral

### 6.4.1 Cárie dentária

A *V. macrocarpon* tem mostrado um efeito inibitório contra bactérias envolvidas na cárie dentária e na doença periodontal (Bodet *et al.*, 2008). A cárie dentária é uma infecção endógena que provoca lesões pela acção de bactérias sobre os glicanos disponíveis, dando origem a polissacarídeos insolúveis bioadesivos, através da enzima glucosiltransferase (GTF). Esta placa formada medeia a acumulação de *Streptococcus mutans*, permitindo-lhe aderir firmemente à superfície dentária. O *S. mutans* produz ácidos orgânicos (principalmente ácido láctico) que induz a desmineralização do esmalte, tornando o dente mais susceptível a ser atacado por invasores secundários, que conseguem penetrar os tecidos mais profundos originando a cárie (Gazzani *et al.*, 2012). Os agentes etiológicos mais comuns na cárie dentária são o *S. mutans* e o *Streptococcus sobrinus*, e também o *Lactobacillus spp* e o *Actinomyces spp*, apesar de menos frequentes (Gazzani *et al.*, 2012).

Nos últimos anos têm-se realizado alguns estudos com certos constituintes do mirtilo que têm demonstrado capacidade para limitar a cárie dentária através, por exemplo, da inibição da produção de ácidos orgânicos pelas bactérias cariogénicas, a formação de biofilmes por *S. mutans* e *S. sobrinus* e a adesão e congregação de um número considerável de outras espécies de *Streptococcus* presentes na mucosa oral (Bodet *et al.*, 2008; Bonifait & Grenier, 2010).

#### 6.4.1.1 Inibição da adesão de *S. mutans*

Na adesão e formação de biofilmes dentários *in vitro* observa-se a capacidade de várias espécies de *Streptococcus*, pré-tratadas em saliva, para aderirem a sedimentos de hidroxiapatite (mineral presente no esmalte). Yamanaka e colaboradores (2004), aquando da adição de sumo de *cranberry*, verificaram uma diminuição significativa na adesão das bactérias aos sedimentos de hidroxiapatite e que a fracção de NDM presente no sumo inibiu entre 80-95% a formação de biofilme com as espécies de *Streptococcus* estudadas (*S. sobrinus*, *mutans*, *criceti*, *sanguinis*, *oralis* e *mitis*). Num outro estudo

clínico sobre a saúde oral, foi investigada a utilização de um colutório suplementado com a fracção de NDM de *cranberry*. Após seis semanas de uso diário deste, observou-se uma redução significativa de toda a microflora bucal, nomeadamente de *S. mutans* (Weiss *et al.*, 2004). Neste mesmo estudo e apoiando os resultados obtidos *in vivo*, efectuaram-se também estudos *in vitro*, aplicando uma técnica muito idêntica à explicada anteriormente, nos quais se observou que a fracção de NDM de *cranberry* inibiu a adesão de *S. sobrinus*, pré-tratado em saliva, a uma superfície com hidroxiapatite, mas na presença de sacarose (Weiss *et al.*, 2004). Portanto, estes estudos revelam que a fracção de NDM de *cranberry* tem um efeito inibidor muito significativo na formação de biofilme (Weiss *et al.*, 2004; Yamanaka *et al.*, 2004).

Uma forma de obter uma redução na formação da massa de biofilme é diminuindo a produção de polissacarídeos. Isto pode ser possível devido às excelentes propriedades de anti-adesão presentes nos componentes da *cranberry*. Mas há outras formas de conseguir uma diminuição da produção de polissacarídeos. Aquando da explicação da cárie dentária foi referido ser necessária a enzima GTF para realizar a síntese de polissacarídeos. Assim sendo, a inactivação da enzima GTF resulta numa diminuição de polissacarídeos e posteriormente numa menor massa de biofilme. Steinberg e os colegas (2004) mostraram que extractos de *V. macrocarpon* também inibem significativamente a actividade desta enzima.

Outra maneira de conseguir a redução da massa de biofilme é através da inibição das proteínas que têm como função efectuar a ligação dos glicanos à superfície dos *Streptococcus*. Num estudo realizado *in vitro*, onde se utilizou uma superfície de hidroxiapatite, pré-tratada com glicanos, observou-se bloqueios significativos à adesão de *S. mutans* aos locais de ligação dos glicanos na presença do sumo de *cranberry*, reduzindo assim a massa de biofilme (Koo *et al.*, 2006).

Em suma, de uma forma geral, os extractos de NDM presentes na espécie *V. macrocarpon* reduzem a adesão bacteriana aos biofilmes, a massa de biofilmes e ainda a produção de polissacarídeos pelo *S. mutans* (Steinberg *et al.*, 2005).

Por último, em relação à cárie dentária, a *V. macrocarpon* ainda poderá ter a vantagem de inibir a produção de ácidos orgânicos pelo *S. mutans*, apesar de neste caso em particular ainda serem necessários mais estudos complementares, pois, os estudos indicam que na presença de extractos da espécie *V. macrocarpon* contendo PAC, o valor de pH é mais elevado comparativamente com a ausência dos mesmos. No entanto, mesmo na presença dos extractos o valor do pH permanece abaixo do valor crítico (aproximadamente 5,5), ocorrendo a desmineralização do esmalte do dente e posterior formação de cavidade de cárie. Apesar de tudo, ocorre uma diminuição da acidogenicidade proveniente da bactéria residente no biofilme, contribuindo de forma positiva para o efeito anti-cárie (Duarte *et al.*, 2006).

## **6.4.2 Doença periodontal**

As doenças periodontais são infecções multifactoriais causadas por um grupo específico de bactérias Gram-negativas anaeróbias que conduzem à destruição dos tecidos de suporte do dente, incluindo o osso alveolar e o ligamento periodontal. Na patogénese da periodontite estão envolvidos dois grandes factores. O primeiro é o factor microbiano, nomeadamente a acumulação de bactérias periodontopatogénicas na placa subgingival, que posteriormente irão danificar o tecido periodontal através das moléculas que produzem, incluindo as enzimas proteolíticas (Eley & Cox, 2003). O segundo factor é a resposta do hospedeiro aos periodontopatogéneos, nomeadamente o excesso de produção de mediadores inflamatórios (citoquinas pró-inflamatórias e prostanóides) e das MMP (Offenbacher *et al.*, 1993; Birkedal-Hansen, 1993; Okada & Murakami, 1998). Os extractos de *cranberry* têm efeitos benéficos sobre estes dois factores, como referido de seguida.

### **6.4.2.1 Efeitos sobre os periodontopatogéneos**

#### **6.4.2.1.1 Adesão e formação de biofilme**

Duas espécies de bactérias associadas à periodontite crónica, a *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, foram inibidas de formar biofilme aquando da presença de fracções NDM de *cranberry* (Haffajee & Socransky, 1994; Labrecque *et*

*al.*, 2006; Yamanaka *et al.*, 2007). Estas também inibem a adesão de *P. gingivalis* a várias proteínas, incluindo o colagénio tipo I, podendo desta forma reduzir a co-agregação bacteriana que envolve as bactérias periodontopatogénicas (Weiss *et al.*, 2004; Labrecque *et al.*, 2006).

Em suma, as propriedades polifenólicas dos extractos de *cranberry* podem inibir a formação de biofilme e a adesão das bactérias periodontopatogénicas.

#### **6.4.2.1.2 Enzimas proteolíticas**

As fortes actividades proteolíticas do considerado complexo vermelho de bactérias, *P. gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*, são importantes na destruição do tecido periodontal (Socransky *et al.*, 1998). O estudo da fracção NDM de *cranberry* sobre as três bactérias evidenciou a inibição das actividades proteolíticas das mesmas. Mais especificamente, os polifenóis agiram sobre a actividade da gingipaína, secretada pela *P. gingivalis*, sobre a actividade de uma enzima do tipo tripsina, proveniente da *T. forsythia*, e também sobre uma enzima com uma actividade muito semelhante à quimotripsina, da *T. denticola* (Bodet *et al.*, 2006b; Yamanaka *et al.*, 2006). A fracção NDM presente no mirtilo exibe propriedades muito promissoras contra as proteinases dos periodontopatogénicos, inibindo-as, resultando numa redução da patogenicidade bacteriana e da destruição dos tecidos de suporte do dente (Grenier *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2003; Kadowaki *et al.*, 2004).

#### **6.4.2.2 Efeitos sobre a resposta do hospedeiro**

##### **6.4.2.2.1 Propriedades anti-inflamatórias**

A presença das bactérias periodontopatogénicas desencadeia uma produção elevada e contínua de citocinas, incluindo as  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), IL-6, IL-8 e o TNF- $\alpha$ , por parte das células hospedeiras. Esta produção, muitas vezes descontrolada, contribui significativamente para a destruição dos tecidos de suporte dos dentes (Paquette & Williams, 2000). Como descrito no capítulo 5, tem sido relatado que a *cranberry* contém moléculas com propriedades anti-inflamatórias. Os polifenóis presentes na

*cranberry* reduzem a TNF- $\alpha$  induzida pela regulação da produção de vários mediadores inflamatórios através das células endoteliais microvasculares humanas (Youdim *et al.*, 2002). Noutros estudos mais recentes foi descoberto que as fracções de NDM da espécie *V. macrocarpon* inibem a produção das citocinas pró-inflamatórias mencionadas anteriormente, mediada pelos macrófagos hospedeiros, que são estimulados a produzi-las pelos LPS de periodontopatogéneos reconhecidos, como por exemplo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia* (Bodet *et al.*, 2006a; Bodet *et al.*, 2007a). Nos dois estudos acima mencionados concluiu-se que a *V. macrocarpon* pode limitar as respostas inflamatórias provocadas por periodontopatogéneos provenientes tanto de macrófagos como de fibroblastos gengivais.

#### **6.4.2.2.2 Inibição de enzimas que degradam o tecido hospedeiro**

A doença periodontal é caracterizada por possuir uma elevada concentração das MMP, secretadas pelas células do hospedeiro, no fluido das fendas gengivais, o que vai originar uma perda de colagénio gengival, degradação do ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar (Sorsa *et al.*, 2006). As fracções de NDM da espécie *V. macrocarpon* inibem a secreção das MMP-3 e MMP-9 pelos fibroblastos gengivais e pelos macrófagos, após estimulação dos LPS. Portanto, estas fracções afectam a fosforilação e expressão de várias proteínas intracelulares implicadas na produção das MMP (Bodet *et al.*, 2007b). Estes autores concluíram que com baixas concentrações de NDM da *V. macrocarpon* consegue-se inibir a expressão de enzimas que estão envolvidas na destruição da matriz extracelular, mais precisamente as MMP-3, MMP-9 e as elastases (Bodet *et al.*, 2007b).

## 6.5 Efeitos antivirais

Na espécie *V. macrocarpon*, mais precisamente nas fracções de PAC e NDM, foi encontrada capacidade para inibir a infecciosidade de alguns vírus (*Influenza* e alguns vírus entéricos, como, por exemplo, o norovírus murine, o calicivírus felino, o bacteriófago MS2, o rotavírus e o reovírus) em linhas de células alvo (Lipson *et al.*, 2007a e b; Su *et al.*, 2010a e b).

Recentemente têm-se efectuado alguns estudos sobre os efeitos dos constituintes do sumo de *cranberry* sobre vírus de origem alimentar, normalmente associados a gastroenterites, como é o caso do norovírus humano. Os sintomas associados a infecções por norovírus são náuseas, vómitos, diarreia, dor abdominal e febre baixa (Widdowson *et al.*, 2004). Existem poucos estudos com o norovírus humano devido à sua incapacidade de propagação em culturas celulares, dificultando assim o desenvolvimento de ensaios para estudar a infecciosidade do mesmo (Duizer *et al.*, 2004). Desta forma, os estudos realizados têm sido feitos com vírus substitutos, como é o caso do calicivírus felino, do norovírus murino, do bacteriófago MS2 e do bacteriófago  $\Phi$ -X174, já que actuam de forma idêntica e com infecciosidade muito semelhante (Steinmann, 2004; Dawson *et al.*, 2005; Wobus *et al.*, 2006; Charles *et al.*, 2009). Su e colaboradores (2010a) concluíram no seu estudo que o sumo de *cranberry* possui efeitos antivirais contra os referidos substitutos de vírus entéricos humanos. Ainda neste estudo fizeram uma descoberta muito interessante, já que há uma redução praticamente instantânea na infecciosidade do norovírus murino. Em suma, os resultados indicam que os constituintes presentes no sumo de *cranberry* parecem ser bastante promissores como alternativa para prevenir ou reduzir as infecções de norovírus.

Lipson e os colegas (2007a) estudaram os efeitos antivirais de vários sumos, incluindo o sumo da espécie *V. macrocarpon*, em espécies virais diferentes, demonstrando que a actividade antiviral do sumo não é específica. O efeito antiviral sobre o bacteriófago T2 e, em menor grau, sobre o bacteriófago T4, resultou numa perda superior a 90% da infecciosidade do vírus. Verificou-se que este efeito foi rápido e dependente da dose e pareceu estar relacionado com a fase de adsorção do ciclo de replicação do vírus. Neste

mesmo estudo, também se abordou a actividade antiviral do sumo de *V. macrocarpon* sobre o rotavírus símio SA-11, sendo este um agente etiológico da gastroenterite em primatas. O rotavírus tratado com o sumo não conseguiu desenvolver infecção produtiva nas culturas de células hospedeiras de primatas, devido ao facto do sumo inibir a reacção de hemaglutinação (Lipson *et al.*, 2007a). Também foi realizado um estudo comparando a capacidade de um cocktail contendo sumo de *V. macrocarpon*, de sumo puro de *V. macrocarpon*, de PAC isoladas e de NDM da mesma espécie para reduzir a infecciosidade do reovírus em cultura de células epiteliais de macaco verde africano. Neste estudo concluiu-se que os sumos reduziram a infecciosidade do reovírus nas culturas de células, apesar de os extractos de PAC e NDM apresentarem maior redução na infecção viral. Esta redução da infecciosidade viral pode ser explicada pelo efeito sobre a superfície da célula hospedeira, havendo possivelmente uma alteração nos locais dos receptores virais (Lipson *et al.*, 2007b).

Weiss e os colegas (2005) realizaram um estudo no qual mostraram que os constituintes do sumo de *V. macrocarpon* inibem a adesão e infecciosidade do vírus Influenza numa cultura de células. O NDM presente no sumo provavelmente exerce o seu efeito através da prevenção da adsorção viral sobre as células, uma vez que inibe a hemaglutinação viral que é mediada pela hemaglutinina específica do ácido siálico. Para além disso, o seu efeito sobre a infecciosidade do vírus foi mais pronunciado quando o sumo foi adicionado várias vezes após a infecção. Isto indica que também impediu a adsorção da descendência viral liderada pelas células infectadas em novas células (Weiss *et al.*, 2005).

Em suma, são necessários mais estudos para elucidar o(s) mecanismo(s) de inibição da infecciosidade dos vírus por parte dos constituintes de *cranberry* e também evoluir para estudos *in vivo*.

## 6.6 Efeitos sobre o tracto gastrointestinal

As úlceras gástricas, pépticas e duodenais são patologias fortemente associadas com a presença da bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) na mucosa. Esta é uma bactéria gram-negativa e é uma das mais comuns nas doenças infecciosas crónicas no homem. Mais de metade da população está infectada no início da vida (quase sempre antes dos dez anos de idade) e, na ausência de antibioterapia, geralmente persiste por toda a vida (Dunn *et al.*, 1997; Dorell *et al.*, 1998).

A *H. pylori* contém adesinas específicas para as fímbrias S. A expressão destas adesinas pode depender das condições de crescimento dos organismos e a sua detecção é afectada pelas condições do ensaio relativamente ao substrato alvo. A capacidade que a *H. pylori* tem para expressar várias combinações de adesinas com especificidades distintas determina se ela se vai anexar ao epitélio ou permanecerá no muco (Dorell *et al.*, 1998). Tal como acontece com outros agentes patogénicos, a adesão da *H. pylori* às células epiteliais tem sido reconhecida como uma etapa essencial do processo infeccioso (Lingwood *et al.*, 1992).

Os constituintes de *cranberry* têm mostrado ter capacidade de inibir a adesão de diferentes bactérias com especificidades diferentes. Desta forma, existem alguns autores que argumentam que o sumo de *cranberry* poderá ser um potencial candidato para a terapia de infecções por *H. pylori* através das suas qualidades anti-adesivas (Burger *et al.*, 2000; Burger *et al.*, 2002). De facto, Zhang e colaboradores (2005) demonstraram que o consumo regular do sumo da *V. macrocarpon* pode suprimir a infecção por *H. pylori* em populações endémicas afectadas.

Estudos recentes *in vitro* indicam que a presença de NDM de *cranberry* pode inibir a adesão da estirpe *H. pylori* às fímbrias S no muco humano, eritrócitos e culturas de células epiteliais gástricas. Esta acção contra a *H. pylori* é conhecida por ter um potencial inibitório contra o desenvolvimento de úlceras pépticas e cancro no estômago (Burger *et al.*, 2000; Burger *et al.*, 2002). Por outro lado, Shmuely e colaboradores (2007) concluíram no seu estudo que a combinação de antibióticos e de uma preparação de *cranberry* pode melhorar a erradicação de *H. pylori*.

## 6.7 Efeitos na patologia ocular

Há umas décadas atrás surgiu a ideia de que o mirtilo poderia ser usado para melhorar a visão noturna, ganhando maior relevo quando aviadores da *British Royal Air Force* relataram comer geleia da espécie *V. myrtillus* durante a segunda guerra mundial para melhorar precisamente este tipo de visão (revisto em Muth *et al.*, 2000). Esta ideia seria excelente, já que melhorar a visão noturna é importante para um grande número de pessoas, como motoristas, pilotos, militares, idosos, míopes e ainda para pessoas que sofrem de várias doenças degenerativas oculares (revisto em Canter & Ernst, 2004).

Estudos dos anos 70/80 indicam que ratos tratados com *V. myrtillus* apresentavam mais rodopsina na retina em comparação com os ratos não tratados e para além disso adaptavam-se mais rapidamente ao escuro (revisto em Canter & Ernst, 2004). Os possíveis mecanismos de acção sobre o aparelho visual seriam a síntese acelerada de rodopsina, a modulação da actividade enzimática da retina e melhoramento da microcirculação (Zadok *et al.*, 1997; revisto em Muth *et al.*, 2000 – O).

Zadok e colegas (1999) avaliaram o efeito de múltiplas doses orais de antocianosídeos presentes na espécie *V. myrtillus* relativamente a três factores directamente relacionados com a capacidade em seres humanos de identificar alvos durante a noite: campo total do limiar absoluto da visão escotópica da retina, taxa de adaptação ao escuro de campo total e sensibilidade mesópica ao contraste. No entanto, estes autores não conseguiram provar quaisquer efeitos benéficos destes antocianosídeos nos factores referidos. Também Muth e colaboradores (2000) investigaram o efeito da espécie *V. myrtillus* sobre a acuidade visual noturna e sobre a sensibilidade ao contraste noturna, não tendo conseguido demonstrar uma melhoria significativa em nenhum deles.

Estes resultados obtidos mais recentemente contrastam com os dos estudos realizados há 40-50 anos atrás, provavelmente por causa dos diferentes tipos de estudos e populações utilizados.

Relativamente a patologias oculares, existem ensaios não controlados que relatam efeitos benéficos do extracto de *V. myrtillus* em pacientes que sofrem de degeneração

tapeto-retinal, miopia e glaucoma, os quais necessitam de estudos futuros (revisto em Canter & Ernst, 2004). Para além destes benefícios, o extracto de *V. myrtillus* é consumido na Coreia e no Japão para aliviar a fadiga ocular induzida pelo computador e também para retardar a angiopatia da retina que ocorre aquando da degeneração macular e da retinopatia diabética (Kalt & Dufour, 1997; Trevithick & Mitton, 1999).

## 6.8 Efeitos nas doenças neurológicas

Os declínios do desempenho motor e cognitivo acompanham o envelhecimento normal do corpo humano (Joseph *et al.*, 2005). Estes declínios estão amplificados em doenças neuro-degenerativas relacionadas com a idade, tais como, a esclerose lateral amiotrófica, a doença de Alzheimer ou doença de Parkinson (de Rijk *et al.*, 1997; Ascherio *et al.*, 2005; Maxwell *et al.*, 2005; Dai *et al.*, 2006). De acordo com a teoria dos radicais livres do Dr. Denham Harman, o envelhecimento é o acumular de danos oxidativos nas células e tecidos ao longo do tempo. Desta forma, tem sido sugerido que os défices comportamentais e neuronais observados na população idosa são o resultado do aumento da vulnerabilidade aos danos provocados pelos radicais livres (Floyd, 1999; Martin *et al.*, 2002). Esta teoria tem fomentado muitas investigações ao nível dos componentes polifenólicos presentes nas frutas e vegetais, já que exibem potentes actividades antioxidantes e anti-inflamatórias. Portanto, uma suplementação rica em frutas e vegetais pode ser benéfica tanto na prevenção como na reversão dos efeitos deletérios do envelhecimento sobre a comunicação neuronal e comportamental (Youdim *et al.*, 2004; Joseph *et al.*, 2005).

O cérebro é particularmente susceptível ao *stress* oxidativo, pelas seguintes razões: utiliza cerca de 20% do consumo total de oxigénio; é rico em ácidos gordos poliinsaturados prontos a sofrerem peroxidação; possui níveis muito baixos de enzimas endógenas antioxidantes, como, por exemplo, a catalase, a superóxido dismutase e a glutathione peroxidase; possui níveis elevados de ferro e ascorbato, sendo estes os

principais catalisadores da peroxidação lipídica; excepto algumas regiões restritas do cérebro, as células neuronais são pós-mitóticas e tendem a acumular o dano oxidativo (Beckman & Ames, 1998; Gilissen *et al.*, 1999; Savory *et al.*, 1999).

O envelhecimento normal do cérebro também está associado a níveis elevados de neuroinflamação (Gordon *et al.*, 1997; Rozovsky *et al.*, 1998). Esta está também ligada ao reforço da transdução de sinal que conduz à activação de genes, os quais vão induzir a síntese de sintase de óxido nítrico, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e NF- $\kappa$ B (Yoon *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2002; Klein & Ackerman, 2003; Mrazek & Griffin, 2005). A inflamação está intimamente ligada ao aumento da produção de ROS (Grimble, 2003; McGeer & McGeer, 2003; Lane, 2003; Emerit *et al.*, 2004). Desta forma, tem sido também associada a inflamação mediada pelo *stress* oxidativo a perturbações neurodegenerativas, incluindo as doenças de Parkinson e de Alzheimer (Hensley *et al.*, 1995; Hensley *et al.*, 1998; Esch *et al.*, 2002).

Joseph e colegas (1999) verificaram que em ratos suplementados com *blueberry* ocorreu uma reversão dos défices relativos à idade, avaliados por vários parâmetros neuronais e comportamentais. Num outro estudo em que utilizaram também ratos como modelo animal, mas sendo estes transgénicos para a doença de Alzheimer, demonstraram que os suplementados com *blueberry* obtiveram um grande aumento de desempenho relativamente aos ratos de controlo (Joseph *et al.*, 2003). Os níveis da proteína cinase regulada por sinais extracelulares (ERK) e da proteína cinase C foram elevados nos ratos suplementados com *blueberry*, o que leva a justificar o aumento do desempenho destes ratos com alterações nas vias de sinalização (Joseph *et al.*, 2003). Além disso, as duas enzimas referidas são muito importantes na mediação da função cognitiva, especialmente a conversão da memória de curto-prazo para longo-prazo (Micheau & Riedel, 1999; Mazzucchelli *et al.*, 2002). Shukitt-Hale e colaboradores (2003) realizaram um estudo de forma a poder consolidar o mecanismo apresentado anteriormente, no qual correlacionaram os comportamentos dos ratos suplementados com mirtilo e as alterações induzidas em eventos de sinalização. E, de facto, os resultados obtidos sugerem que o desempenho motor está ligado ao aumento da via da sinalização neuronal.

De forma a dissecar outro mecanismo possível subjacente ao efeito benéfico da *blueberry* sobre o desempenho dos ratos, estes também foram testados quanto à sua memória de trabalho. Os resultados indicaram que houve um aumento da plasticidade do hipocampo e do desempenho cognitivo, através de mecanismos envolvendo também a neurogênese, apesar de esta capacidade ir diminuindo ao longo do envelhecimento (Casadesus *et al.*, 2004).

Em suma, de acordo com os estudos apresentados, a suplementação com *blueberry* pode atenuar o envelhecimento cerebral e o declínio no desempenho comportamental relacionado com a idade dos roedores. A suplementação com *blueberry* confere protecção significativa contra os decréscimos no desempenho e também induz a libertação factores em circulação que proporcionam protecção contra estímulos como o *stress* oxidativo (Duffy *et al.*, 2008).

## **7. Suplementação e consumo**

O mirtilo, tal como outras frutas, não está disponível apenas fresco, mas também em várias formas processadas termicamente (chás, geleias, compotas, sumos, enlatados e purés) (exemplos nas Figuras 2 e 3). Os métodos de processamento variam no número de etapas, temperatura de aquecimento e duração e podem afectar significativamente o teor de polifenóis e a capacidade antioxidante do mirtilo (Srivastava *et al.*, 2007). Nesta linha de trabalho, Kalt e colaboradores (2000) relataram que vários produtos comerciais de *blueberry* variavam significativamente na capacidade antioxidante, mas as fontes das frutas, formulações e técnicas de processamento eram desconhecidas. Já num estudo envolvendo produtos comerciais da mesma variedade de mirtilo, obtidos através de processamento térmico, verificou-se que estes mantiveram a maior parte da actividade antioxidante e componentes fenólicos totais. No entanto, as actividades anti-proliferativas estavam muito diminuídas (Schmidt *et al.*, 2005).

Por outro lado, Brownmiller e colegas (2008) relataram que o processamento de *blueberry* em várias formas resultou em perdas significativas de antocianinas monoméricas (28-59%) e de capacidade antioxidante (53-71%). As antocianinas monoméricas foram extensivamente degradadas durante o armazenamento em todos os produtos processados termicamente. Os valores da capacidade antioxidante baixaram muito aquando dos processamentos térmicos, mas durante todo o período de armazenamento não sofreram praticamente alterações (Brownmiller *et al.*, 2008). Num outro estudo verificou-se também que o armazenamento prolongado do extracto de *V. corymbosum* à temperatura ambiente reduz significativamente os compostos fenólicos. O estudo mostrou também que o congelamento ou o armazenamento a baixas temperaturas é o ideal para manter os componentes bioactivos do fruto (Srivastava *et al.*, 2007). Desta forma, conclui-se que as condições de aquecimento e armazenamento podem afectar de forma significativa os compostos fenólicos e as suas actividades biológicas.

O total de polifenóis presentes é distinto nos vários produtos derivados da espécie *V. macrocarpon* e na literatura está descrito que a quantidade destes componentes é maior no fruto congelado, seguido do sumo com concentração a 100%, do fruto seco, do sumo com concentração a 27%, da compota e da geleia (Côté *et al.*, 2010).

Ainda assim, na literatura a informação é limitada sobre como diferentes métodos de processamento e armazenamento a longo prazo afectam a qualidade nutricional da *blueberry* ou outras variedades de mirtilo e seus produtos, partindo da mesma matéria-prima, pelo que é necessário realizar mais estudos nesta área.

Na literatura, os dados relativos à ingestão de bioactivos presentes nos frutos vermelhos são limitados. Isto deve-se, parcialmente, às dificuldades em estimar a quantidade de fitoquímicos presentes nos alimentos, devido à sua ampla diversidade estrutural, estruturas mal definidas e à indisponibilidade das normas comerciais (Seeram, 2008b). Para além disso, está documentado que, em geral, se ingere uma grande variabilidade de compostos fenólicos, com base nas variações alimentares preferenciais de cada um (Seeram, 2008b).

Assim sendo, não existem estudos relativamente ao consumo médio, nem ao consumo aconselhável de mirtilo. Apenas existem pesquisas específicas de determinados componentes biológicos presentes no mirtilo, como os flavonóis. Verificou-se que o consumo médio de flavonóis era de 20-25 mg/dia em diferentes regiões do mundo, como EUA, Dinamarca e Holanda (Hertog *et al.*, 1993; Justesen *et al.*, 1997; Sampson *et al.*, 2002). No entanto, em países como a Finlândia, onde se consome grandes quantidades de frutos silvestres, os valores são muito superiores (Seeram, 2008b).

Um teor demasiado elevado de polifenóis, especialmente de taninos, pode ter efeitos adversos, pois estes inibem a biodisponibilidade de ferro, tiamina e de enzimas digestivas do tracto gastrointestinal. Os compostos fenólicos também podem limitar a biodisponibilidade de proteínas com as quais eles formam complexos insolúveis no tracto gastrointestinal (Szajdek & Borowska, 2008).

De acordo com a investigação clínica, a biodisponibilidade de antioxidantes naturais não excede a dos suplementos farmacêuticos correspondentes, como cápsulas, comprimidos e saquetas (exemplos nas Figuras 4 e 5) (Szajdek & Borowska, 2008). No estudo de Stothers (2002), no qual compararam o efeito do sumo de *cranberry* e da suplementação por cápsulas na prevenção de ITU, estes investigadores defendem que as últimas apresentam melhor relação custo-benefício.



Figura 2. Compota de Mirtilo.



Figura 3. Chá de Mirtilo.



Figura 4. Cápsulas de arando vermelho contendo Vitamina C.



Figura 5. Saquetas em pó constituídas por PAC, provenientes de *V. macrocarpon*.

### **III. Conclusão**

O mirtilo é um fruto com numerosas espécies, distribuído por uma ampla área geográfica e, actualmente vem conquistando uma posição importante na dieta alimentar de vários povos, não só pelas suas propriedades organolépticas, mas também por todas as aplicações que vêm sendo corroboradas por diversos estudos científicos. A evolução do conhecimento é constante e o mirtilo ainda está numa fase de afirmação no domínio do consumo alimentar e da suplementação.

Uma das propriedades que se destaca como impulsionadora do mirtilo é a actividade antioxidante, conferida pela presença de compostos bioactivos na constituição deste fruto, como os flavonóides, os taninos e os ácidos fenólicos. Também é de destacar a sua actividade anti-inflamatória, conferida por alguns dos seus constituintes, como o ácido ursólico, a quercetina e as antocianinas.

As suas aplicações estendem-se a diversas patologias, no domínio da prevenção e da terapêutica, destacando-se a sua acção nas infecções do tracto urinário, infecções da cavidade oral, infecções virais, patologias gastrointestinais, neurológicas, cardiovasculares e cancerígenas.

O consumidor pode encontrar o fruto disponível na sua forma fresca, congelada ou seca, estando também disponíveis formas processadas do fruto, como sumos, geleias, compotas e iogurtes. Também se encontram comercializados suplementos alimentares obtidos através do fruto ou de componentes específicos deste, na forma de comprimidos, cápsulas e chás.

Futuramente deveriam ser realizados mais estudos nesta área, de modo a fornecer informação útil para os consumidores que desejam incorporar mais compostos bioactivos na sua dieta.

## IV. Bibliografia

Ahuja, S., Kaack, B. e Roberts, J. (1998). Loss of fimbrial adhesion with the addition of *Vaccinium macrocarpon* to the growth medium of p-fimbriated *E. coli*. *J Urol*, 159, pp. 559-562.

Alberti, K. G. *et al.* (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120, pp. 1640-1645.

Arts, I. C. e Hollman, P. C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*, 81, pp. 317-325.

Ascherio, A. *et al.* (2005). Vitamin E intake and risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 57 (1), pp. 104-110.

Atalay, M. *et al.* (2003). Anti-angiogenic property of edible berry in a model of hemangioma. *Febs Lett*, 544, pp. 252-257.

Austin, M. A. (1991). Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler Thromb*, 11, pp. 2-14.

Avorn, J. *et al.* (1994). Reduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry and blueberry juices. *J Am Med Assoc*, 271, pp. 751-754.

Bagchi, D. *et al.* (2004). Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry*, 69(1), pp. 75-80.

Bailey D. T. *et al.* (2007). Can a concentrated cranberry extract prevent recurrent urinary tract infections in women? *Phytomedicine*, 14, pp. 237-241.

Baricevic, D. *et al.* (2001). Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officianalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *J Ethnopharmacol*, 75, pp. 125-132.

Barnes, P. J. e Karin, M. (1997). Nuclear factor- $\kappa$ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*, 336, pp. 1066-1071.

Basu, A. *et al.* (2010). Blueberries decrease cardiovascular risk factors in obese men and women with metabolic syndrome. *J Nutr*, 140, pp. 1582-1587.

Beckman, K. B. e Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*, 78, pp. 547-581.

Berger, M. M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clin Nutr*, 24, pp. 172-183.

Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*, 64, pp. 474-484.

Blomhoff, R. (2005). Dietary antioxidants and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*, 16, pp. 47-54.

Bodet, C., Chandad, F. e Grenier, D. (2006a). Anti-inflammatory activity of a highmolecular-weight cranberry fraction on macrophages stimulated by lipopolysaccharides from periodontopathogens. *J Dent Res*, 85(3), pp. 235-239.

Bodet, C. *et al.* (2006b). Inhibition of periodontopathogen- derived proteolytic enzymes by a high-molecular-weight fraction isolated from cranberry. *J Antimicrob Chemother*, 57(4), pp. 685-690.

Bodet, C., Chandad, F. e Grenier, D. (2007a). Cranberry components inhibit interleukin-6, interleukin-8, and prostaglandin E<sub>2</sub> production by lipopolysaccharide-activated gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci*, 115(1), pp. 64-70.

Bodet, C., Chandad, F. e Grenier, D. (2007b). Inhibition of host extracellular matrix destructive enzyme production and activity by a high-molecular-weight cranberry fraction. *J Periodontal Res*, 42(2), pp. 159-168.

Bodet, C. *et al.* (2008). Potential oral health benefits of cranberry. *Crit Rev Food Sci*, 48, pp. 672-680.

Bonetti, P. O., Lerman, L. O. e Lerman, A. (2003). Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23, pp. 168-175.

Bonifait, L. e Grenier, D. (2010). Cranberry polyphenols: potencial benefits for dental caries and periodontal disease. *J Can Dent Assoc*, 76, p. 130.

Boos, C. J. e Lip, G.Y. (2006). Is hypertension an inflammatory process? *Curr Pharm Des*, 12, pp. 1623-1635.

Bottone, F. G., *et al.* (2004). Gene modulation by Cox-1 and Cox-2 specific inhibitors in human colorectal carcinoma cancer cells. *Carcinogenesis*, 25, pp. 349-357.

Brownmiller, C., Howard, L. R. e Prior, R. L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *J Food Sci*, 73(5), pp. 72-79.

Burger, O. *et al.* (2000). A high molecular mass constituent of cranberry juice inhibits *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucus. *Fems Immunol Med Mic*, 29, pp. 295-301

Burger, O. *et al.* (2002). Inhibition of *H. pylori* adhesion to human gastric mucus by a high-molecular-weight constituent of cranberry juice. *Crit Rev Food Sci*, 42, pp. 279-284.

Cani, P. D. *et al.* (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56, pp. 1761-1772.

Canter, P. H. e Ernst, E. (2004). Anthocyanosides of *Vaccinium myrtillus* (bilberry) for night vision – a systematic review of placebo-controlled trials. *Surv Ophthalmol*, 49(1), pp. 38-50.

Casadesus, G. *et al.* (2004). Modulation of hippocampal plasticity and cognitive behavior by short-term blueberry supplementation in aged rats. *Nutr Neurosci*, 7, pp. 309-316.

Celermajer, D. S. *et al.* (1996). Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med*, 334, pp. 150-154.

- Chambers, B. K. e Camire, M. E. (2003) Can cranberry supplementation benefit adults with type 2 diabetes? *Diabetes Care*, 26, pp. 2695-2696.
- Charles, K. J. *et al.* (2009). Assessment of the stability of human viruses and coliphage in groundwater by PCR and infectivity methods. *J Appl Microbiol*, 106, pp. 1827-1837.
- Cheng, A. e Fantus, I. (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Can Med Assoc J*, 172, pp. 213-226.
- Côté, J. *et al.* (2010). Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. *Crit Rev Food Sci*, 50 (7), pp. 666-679.
- Cravotto, G. *et al.* (2010). Phytotherapeutics: an evaluation of the potential of 1000 plants. *J Clin Pharm Ther*, 35, pp. 11-48.
- Curtis, P. J. *et al.* (2009). Cardiovascular disease risk biomarkers and liver and kidney function are not altered in postmenopausal women after ingesting an elderberry extract rich in anthocyanins for 12 weeks. *J Nutr*, 139, pp. 2266-2271.
- Cuzzocrea, S. *et al.* (2001). Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/ reperfusion injury. *Pharmacol Rev*, 53, pp. 135-159.
- Cuzzocrea, S., Thiemermann, C. e Salvemini, D. (2004). Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation. *Curr Med Chem*, 11, pp. 1147-1162.
- Dai, Q. *et al.* (2006). Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: the Kame Project. *Am J Med*, 119 (9), pp. 751-759
- Dawson, D. J. *et al.* (2005). Survival of viruses on fresh produce, using MS2 as a surrogate for norovirus. *J Appl Microbiol*, 98, pp. 203-209.
- DeFuria, J. *et al.* (2009). Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J Nutr*, 139, pp. 1510-1516.

Del Rio, D., Borges, G. e Crozier, A. (2010). Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. *Br J Nutr*, 104, pp. 67-90.

de Rijk, M. C. *et al.* (1997). Dietary antioxidants and Parkinson disease. The Rotterdam study. *Arch Neurol*, 54 (6), pp. 762-765.

Di Martino, P. *et al.* (2006). Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebocontrolled cross-over trial. *World J Urol*, 24, pp. 21-27.

Dorell, N., Crabtree, J. E. e Wren, B. W. (1998). Host-bacterial interactions and the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Trends Microbiol*, 6, pp. 379-381.

Duarte, S. *et al.* (2006). Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. *Fems Microbiol Lett.*, 257, pp. 50-56.

Duffy, K. B. *et al.* (2008). A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainite-induced learning impairment in rats. *Neurobiol Aging*, 29, pp. 1680-1689.

Duizer, E. *et al.* (2004). Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J Gen Virol*, 85, pp. 79-87.

Dunn, B. E., Cohen, H. e Blaser, M. J. (1997). *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*, 10(4), pp. 720-741.

Duthie, S. J. *et al.* (2006). The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. *Eur J Clin Nutr*, 45, pp. 113-122.

Eley, B. M. e Cox, S. W. (2003). Proteolytic and hydrolytic enzymes from putative periodontal pathogens: characterization, molecular genetics, effects on host defenses and tissues and detection in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 31, pp. 105-124.

Elks, C. M. *et al.* (2011). A blueberry enriched diet attenuates nephropathy in a rat model of hypertension via reduction in oxidative stress. *Plos one*, 6(9), e24028.

- Emerit, J., Edeas, M. e Bricaire, F. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed Pharmacother*, 58, pp. 39-46.
- Erlund, I. *et al.* (2008). Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr*, 87, pp. 323-331.
- Esch, T. *et al.* (2002). Stress-related diseases – a potential role for nitric oxide. *Med Sci Monit*, 8, pp. 103-118.
- Ferguson, P. *et al.* (2004). A flavonoid fraction from cranberry extract inhibits proliferation of human tumor cell lines. *J Nutr*, 134, pp. 1529-1535.
- Fernald, M. L. (1950). *Gray's manual of botany*. Eighth edition. American Book Company, New York.
- Floyd, R. A. (1999). Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc Soc Exp Biol Med*, 222, pp. 236-245.
- Floyd, R. A. e Hensley, K. (2002). Oxidative stress in brain aging. Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging*, 23, pp. 795-807.
- Foo, L. Y. *et al.* (2000). A-type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic p-fimbriated *E. coli*. *J Nat Prod*, 63, pp. 1225-1228.
- Fournier, D. B. e Gordon, G. B. (2000). COX-2 and colon cancer: potential targets for chemoprevention. *J Cell Biochem*, 77, pp. 97-102.
- Gaffney, R.A. *et al.* (1995). Effect of vaginal fluid on adherence of type 1 piliated *E. coli* to epithelial cells. *J Infect Dis*, 172, pp. 1528-1535.
- Gazzani, G., Daglia, M. e Papetti, A. (2012). Food components with anticaries activity. *Curr Opin Biotech*, 23, pp. 153-159.
- Gilissen, E. P., Jacobs, R. E. e Allman, J. M. (1999). Magnetic resonance microscopy of iron in the basal forebrain cholinergic structures of the aged mouse lemur. *J Neurol Sci*, 168, pp. 21-27.

Gordon, M. N. *et al.* (1997). Exaggerated astrocyte reactivity after nigrostriatal deafferentation in the aged rat. *J Comp Neurol*, 388, pp. 106-119.

Grenier, D. *et al.* (2002). Inhibition of proteolytic, serpinolytic, and progelatinase-b activation activities of periodontopathogens by doxycycline and the non-antimicrobial chemically modified tetracycline derivatives. *J Periodontol*, 73, pp. 79-85.

Griffin, L. *et al.* (2005). Induction of apoptosis in tumor cell lines by polyphenolic compounds isolated from *Vaccinium macrocarpon*. *American Society for Cell Biology*.

Griffiths, P. (2003). The role of cranberry juice in the treatment of urinary tract infections. *Br J Commun Nurs*, 8(12), pp. 557-561.

Grimble, R. F. (2003). Inflammatory response in the elderly. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 6, pp. 21-29.

Haddad, P. S., *et al.* (2003). Comparative study on the medicinal plants most recommended by traditional practitioners in Morocco and Canada. *J Herbs Spices Med Plants*, 10, pp. 25-45.

Haffajee, A. D. e Socransky, S. S. (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 5, pp. 78-111.

Haffner, S. M. (2006). The metabolic syndrome: inflammation, diabetes mellitus, and cardiovascular disease. *Am J Cardiol*, 97, pp. 3-11.

Häkkinen, S. *et al.* (1999). Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res Int*, 32, pp. 345-353.

Halliwell, B. (1999). Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutr Rev*, 57, pp. 104-113.

Heart and Stroke Foundation of Canada. (2003). The Growing Burden of Heart Disease and Stroke in Canada. [Em linha]. Disponível em <<http://www.cvdinbase.ca/cvdbook/>>. [Consultado em 10/4/2013].

Hensley, K. *et al.* (1995). Brain regional correspondence between Alzheimer's disease histopathology and biomarkers of protein oxidation. *J Neurochem*, 65, pp. 2146-2156.

Hensley, K. *et al.* (1998). Electrochemical analysis of protein nitrotyrosine and dityrosine in the Alzheimer brain indicates region-specific accumulation. *J Neurosci*, 18, pp. 8126-8132.

Herath, H. M., Takano-Ishikawa, Y. e Yamaki, K. (2003). Inhibitory effect of some flavonoids on tumor necrosis factor-alpha production in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage cell line J774.1. *J Med Food*, 6, pp. 365-370.

Hertog, M. G. L. *et al.* (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nut Cancer*, 20, pp. 21-29.

Hertog, M. G. *et al.* (1995). Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med*, 155, pp. 381-386.

Holvoet, P. *et al.* (2008). Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome. *J Am Med Assoc*, 299, pp. 2287-2293.

Howell, A. B. (2002). Cranberry proanthocyanidins and the maintenance of urinary tract health. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 42, pp. 273-278.

Howell, A. B. *et al.* (2005). A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry*, 66(18), pp. 2281-2291.

Hu, F. B. e Willett, W. C. (2002). Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *J Am Med Assoc*, 288, pp. 2569-2578.

International Diabetes Federation. (2005). IDF – International Diabetes Federation – Prevalence. [Em linha]. Disponível em <<http://www.idf.org>>. [Consultado em 22/04/2013].

Jepson, R. G. *et al.* (2008). Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*, 23:CD001321.

Johnson, J. R., *et al.* (2003). Identification of urovirulence traits in *E. coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. *J Clin Microbiol*, 41, pp. 337-345.

Joseph, J. A. *et al.* (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach or strawberry dietary supplementation. *J Neurosci*, 19, pp. 8114-8121.

Joseph, J. A. *et al.* (2003). Blueberry supplementation enhances signaling and prevents behavioral deficits in an Alzheimer disease model. *Nutr Neurosci*, 6, pp. 153-162.

Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B. e Casadesus, G. (2005). Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. *Am J Clin Nutr*, 81, pp. 313-316.

Junqueira, V. B. *et al.* (2004). Aging and oxidative stress. *Mol Aspects Med*, 25, pp. 5-16.

Justesen, U., Knuthsen, P. e Leth, T. (1997). Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Lett*, 114, pp. 165-167.

Kadowaki, T. *et al.* (2004). Suppression of pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* by newly developed gingipain inhibitors. *Mol Pharmacol*, 66, pp. 1599-1606.

Kalea, A. Z. *et al.* (2009). Vascular reactivity is affected by dietary consumption of wild blueberries in the Sprague-Dawley rat. *J Med Food*, 12, pp. 21-28.

Kalt, W. e Dufour, D. (1997). Health functionality of blueberries. *Hort Technol*, 7, pp. 216-222.

Kalt, W. *et al.* (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J Agric Food Chem*, 47, pp. 4638-4644.

Kalt, W. *et al.* (2008). Effect of blueberry feeding on plasma lipids in pigs. *Br J Nutr*, 100, pp. 70-78.

Kalt, W., McDonald, J. E. e Donnor, H. (2000). Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. *J Food Sci*, 65, pp. 390-393.

Kandil, F. E. *et al.* (2002). Composition of a chemopreventive proanthocyanidin rich fraction from cranberry fruits responsible for the inhibition of TPA-induced ODC activity. *J Agric Food Chem*, 50, pp. 1063-1069.

Karlsen, A. *et al.* (2007). Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappaB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of proinflammatory mediators in healthy adults. *J Nutr*, 137, pp. 1951-1954.

Karlsen, A. *et al.* (2010). Bilberry juice modulates plasma concentration of NF-kappaB related inflammatory markers in subjects at increased risk of CVD. *Eur J Nutr*, 49, pp. 345-355.

Keren, G. *et al.* (1988). Failure of influenza vaccination in the aged. *J Med Virol*, 25(1), pp. 85-89.

Khan, S. R. (2013). Reactive oxygen species as the molecular modulators of calcium oxalate kidney stone formation: evidence from clinical and experimental investigations. *J Urol*, 189, pp. 803-811.

Kim, H. *et al.* (2005). Metabolic and pharmacological properties of rutin, a dietary quercetin glycoside, for treatment of inflammatory bowel disease. *Pharm Res*, 22, pp. 1499-1509.

Kim, B. H., Akoh, C. C. e Lee, B. Y. (2010). The effects of high dietary lard on hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *J Med Food*, 13, pp. 1263-1272.

Klein, J. A. e Ackerman, S. L. (2003). Oxidative stress, cell cycle, and neurodegeneration. *J Clin Invest*, 111, pp. 785-793.

Knekt, P. *et al.* (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr*, 76, pp. 560-568.

Koo, H. *et al.* (2006). Influence of cranberry juice on glucan-mediated processes involved in *Streptococcus mutans* biofilm development. *Caries Res*, 40, pp. 20-27.

Kuhlencordt, P. J. *et al.* (2001). Genetic deficiency of inducible nitric oxide synthase reduces atherosclerosis and lowers plasma lipid peroxides in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation*, 103, pp. 3099-3104.

Labrecque, J. *et al.* (2006). Effects of a high-molecularweight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *J Antimicrob Chemother*, 58(2), pp. 439-443.

Lane, N. (2003). A unifying view of ageing and disease: the double-agent theory. *J Theor Biol*, 225, pp. 531-540.

Lipson, S. M. *et al.* (2007a). Antiviral effects on bacteriophages and rotavirus by cranberry juice. *Phytomedicine*, 14, pp. 23-30.

Lipson, S. M. *et al.* (2007b). Cranberry cocktail juice, cranberry concentrates, and proanthocyanidins reduce reovirus infectivity titers in African green monkey kidney epithelial cell cultures. *Mol Nutr Food Res*, 51, pp. 752-758.

Loft, S. e Poulsen, H. E. (1996). Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med*, 74, pp. 297-312.

Martin, A. *et al.* (2002). Effects of fruits and vegetables on levels of vitamins E and C in the brain and their association with cognitive performance. *J Nutr Health Aging*, 6, pp. 392-404.

Martineau, L. C. *et al.* (2006). Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. *Phytomedicine*, 13, pp. 612-623.

Matchett, M. D. *et al.* (2006). Inhibition of matrix metalloproteinase activity in DU145 human prostate cancer cells by flavonoids from lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*): Possible roles for protein kinase C and mitogen activated protein kinase mediated events. *J Nutr Biochem*, 17, pp. 117-125.

- Matchett, M. D., *et al.* (2005). Lipopolysaccharide, cranberry flavonoids and regulation of ornithine decarboxylase (ODC) and spermidine/ spermine N1-acetyltransferase (SSAT) expression in Hras transformed cells. *J FASEB*, 19, p. 825.
- Maxwell, C. J. *et al.* (2005). Supplemental use of antioxidant vitamins and subsequent risk of cognitive decline and dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 20 (1), pp. 45-51.
- Mazzucchelli, C. *et al.* (2002). Knockout of ERK1 MAP kinase enhances synaptic plasticity in the striatum and facilitates striatal-mediated learning and memory. *Neuron*, 34, pp. 807-820.
- McGeer, E. G. e McGeer, P. L. (2003). Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27, pp. 741-749.
- Micheau, J. e Riedel, G. (1999). Protein kinases: which one is the memory molecule? *Cell Mol Life Sci*, 55, pp. 534-548.
- Mitscher, L. A. *et al.* (1996). Natural antimutagenic agents. *Mutat Res-Fund Mol M*, 350, pp. 143-152.
- Møller, L.A., Lose, G. e Jørgensen, T. (2000). The prevalence and bothersomeness of lower urinary tract symptoms in women 40–60 years of age. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 79, pp. 298-305.
- Mrak, R. E. e Griffin, W. S. (2005). Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging*, 26, pp. 349-354.
- Musso, G., Gambino, R. e Cassader, M. (2011). Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes. *Annu Rev Med*, 62, pp. 361-380.
- Muth, E. C. *et al.* (2000). The effect of bilberry nutritional supplementation on night visual acuity and contrast sensitivity. *Altern Med Rev*, 5(2), pp. 164-173.
- Naruse, K. *et al.* (1994) Long-term inhibition of NO synthesis promotes atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. PGH2 does not contribute to impaired endothelium-dependent relaxation. *Arterioscler Thromb*, 14, pp. 746-752.

Neto, C. C. *et al.* (2006). MALDI-TOF MS characterization of proanthocyanidins from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. *J Sci Food Agric*, 86, pp. 18-25.

Neto, C. C. (2007). Cranberry and its phytochemicals: a review of in vitro anticancer studies. *J Nutr*, 137, pp. 186-193.

Neto, C. C., Amoroso, J. W. e Liberty, A. M. (2008). Anticancer activities of cranberry phytochemicals: an update. *Mol Nutr Food Res*, 52, pp. 18-27.

Nijveldt, R. J. *et al.* (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 74, pp. 418-425.

Offenbacher, S., Heasman, P. A. e Collins, J. G. (1993). Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol*, 64, pp. 432-444.

Okada, H. e Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9, pp. 248-266.

O'Leary, K. *et al.* (2004). Effect of flavonoids and Vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutat Res*, 551, pp. 245-254.

Padwal, R., Campbell, N. e Touyz, R. M. (2005). Applying the 2005 canadian hypertension education program recommendations: 3. Lifestyle modifications to prevent and treat hypertension. *Can Med Assoc J*, 173, pp. 749-751.

Paquette, D.W. e Williams, R. C. (2000). Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 24, pp. 239-252.

Peredes-López, O. *et al.* (2010). Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life-a review. *Plant Foods Hum Nutr*, 65, pp. 299-308.

Perry, S. W. *et al.* (2002). Tumor necrosis factor-alpha in normal and diseased brain: conflicting effects via intraneuronal receptor crosstalk. *J Neurovirol*, 8, pp. 611-624.

Persson, I. A.-L., Persson, K. e Andersson, R. G. G. (2009). Effect of *Vaccinium myrtillus* and its polyphenols on angiotensin-converting enzyme activity in human endothelial cells. *J Agric Food Chem*, 57, pp. 4626-4629.

Prior, R. L. *et al.* (2010). Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. *J Agric Food Chem*, 58, pp. 3970-3976.

Pryor, W. A. (1997). Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ Health Perspect*, 105, pp. 875-882.

Pupa, S. M. *et al.* (2002). New insights into the role of extracellular matrix during tumor onset and progression. *J Cell Physiol*, 192, pp. 259-267.

Puupponen-Pimiä, R. *et al.* (2005). Bioactive berry compounds-novel-tools against human pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*, 67, pp. 8-18.

Reid, G. *et al.* (2001). Cranberry juice consumption may reduce biofilms on uroepithelial cells: pilot study in spinal cord injured patients. *Spinal Cord*, 39, pp. 26-30.

Ringbom, T. *et al.* (1998). Ursolic acid from *Plantago major*, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. *J Nat Prod*, 61, pp. 1212-1215.

Robards, K. e Antolovich, M. (1997). Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: a review. *Analyst*, 2, pp. 11-34.

Rodriguez-Mateos, A. *et al.* (2012). Blueberry intervention improves vascular reactivity and lowers blood pressure in high-fat, high-cholesterol-fed rats. *Brit J Nutr*, 1, pp. 1-9.

Rozovsky, I., Finch, C. E. e Morgan, T. E. (1998). Age-related activation of microglia and astrocytes: *in vitro* studies show persistent phenotypes of aging, increased proliferation, and resistance to down-regulation. *Neurobiol Aging*, 19, pp. 97-103.

Ruel, G. *et al.* (2006). Favourable impact of low-calorie cranberry juice consumption on plasma HDL-cholesterol concentrations in men. *Br J Nutr*, 96, pp. 357-364.

Ruel, G. e Couillard, C. (2007). Evidences of the cardioprotective potential of fruits: the case of cranberries. *Mol Nutr Food Res*, 51, pp. 692-701.

Ruel, G. *et al.* (2008). Low-calorie cranberry juice supplementation reduces plasma oxidized LDL and cell adhesion molecule concentrations in men. *Br J Nutr*, 99, pp. 352-359.

Safayhi, H. e Sailer, E. R. (1997). Anti-Inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta Med*, 63, pp. 487-493.

Sampson, L. *et al.* (2002). Flavonol and flavone intakes in US health professionals. *J Am Diet Assoc*, 102, pp. 1414-1420.

Savory, J. *et al.* (1999). Age-related hippocampal changes in Bcl-2:Bax ratio, oxidative stress, redoxactive iron and apoptosis associated with aluminum-induced neurodegeneration: increased susceptibility with aging. *Neurotoxicology*, 20, pp. 805-817.

Schmidt, B. M., Erdman, J. W. e Lila, M. A. (2005). Effects of food processing on blueberry antiproliferation and antioxidant activity. *J Food Sci*, 70, pp. 389-394.

Seeram, N. P. *et al.* (2001). Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomedicine*, 8, pp. 362-369.

Seeram, N. P., Zhang, Y. e Nair, M. G. (2003). Inhibition of proliferation of human cancer cells and cyclooxygenase enzymes by anthocyanidins and catechins. *Nutr Cancer*, 46, pp. 101-106.

Seeram, N. P. *et al.* (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J Agric Food Chem*, 54, pp. 9329-9339.

Seeram, N. P. (2008a). Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem*, 56, pp. 627-629.

- Seeram, N. P. (2008b). Berry fruits for cancer prevention: current status and future prospects. *J Agric Food Chem*, 56, pp. 630-635.
- Shahidi, F. e Naczk, M. (2004). Phenolic compounds in fruits and vegetables. *Phenol Food Nutr*, pp. 131-156.
- Shaughnessy, K. S. *et al.* (2009). Diets containing blueberry extract lower blood pressure in spontaneously hypertensive stroke-prone rats. *Nutr Res*, 29, pp. 130-138.
- Sheng, H. *et al.* (1997). Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2. *J Clin Invest*, 99, pp. 2254-2259.
- Shishodia, S. *et al.* (2003). Ursolic acid inhibits nuclear factor- $\kappa$ B activation induced by carcinogenic agents through suppression of I $\kappa$ B $\alpha$  kinase and p65 phosphorylation: correlation with down-regulation of cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 9, and cyclin D1. *Cancer Res*, 63, pp. 4375-4383.
- Shmueli, H. *et al.* (2007). Effect of cranberry juice on eradication of *H. pylori* in patients treated with antibiotics and a proton pump inhibitor. *Mol Nutr Food Res*, 51, pp. 746-751.
- Shukitt-Hale, B. *et al.* (2003). Mechanisms involved in blueberry enhancements of motor and cognitive function in young and old rats. *Soc Neurosci Abs*, 29, pp. 633.14.
- Skupien, K. & Oszmianski, J. (2004). Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria ananassa*) grown in northwest Poland. *Eur Food Res Technol*, 219, pp. 66-70.
- Skyler, J. (2004). Diabetes mellitus: pathogenesis and treatment strategies. *J Med Chem*, 47, pp. 4113-4117.
- Socransky, S. S. *et al.* (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25(2), pp. 134-144.
- Song, S. E. *et al.* (2003). Inhibitory effect of procyanidin oligomer from elm cortex on the matrix metalloproteinases and proteases of periodontopathogens. *J Periodontal Res*, 38, pp. 282-289.

- Sorsa, T. *et al.* (2006). Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*, 38(5), pp. 306-321.
- Srivastava, A. *et al.* (2007). Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. *J Agric Food Chem*, 55, pp. 2705-2713.
- Steinberg, D. *et al.* (2004). Effect of a highmolecular- weight component of cranberry on constituents of dental biofilm. *J Antimicrob Chemother*, 54, pp. 86-89.
- Steinberg, D. *et al.* (2005). Cranberry high molecular weight constituents promote *Streptococcus sobrinus* desorption from artificial biofilm. *Int J Antimicrob Agents*, 25, pp. 247-251.
- Steinmann, J. (2004). Surrogate viruses for testing virucidal efficacy of chemical disinfectants. *J Hosp Infect*, 56, pp. 49-54.
- Stothers, L. (2002). A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectiveness of naturopathic cranberry products as prophylaxis against urinary tract infection in women. *Can J Urol*, 9, pp. 1558-1562.
- Stull, A. J. *et al.* (2010). Bioactives in blueberries improve insulin sensitivity in obese, insulin-resistant men and women. *J Nutr*, 140, pp. 1764-1768.
- Subbaramaiah, K. *et al.* (2000). Ursolic acid inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells. *Cancer Res*, 60, pp. 2399-2404.
- Sun, J. e Liu, R. H. (2006). Cranberry phytochemical extracts induce cell cycle arrest and apoptosis in human MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Lett*, 241, pp. 124-134.
- Su, X. *et al.* (2010a). The effect of cranberry juice and cranberry proanthocyanidins on the infectivity of human enteric viral surrogates. *Food Microbiol*, 27, pp. 535-540.
- Su, X. *et al.* (2010b). Antiviral effect of cranberry juice and cranberry proanthocyanidins on foodborn viral surrogates. A time dependence study in vitro. *Food Microbiol*, 27, pp. 985-991.

Szajdek, A. e Borowska, E. J. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods Hum Nutr*, 63, pp. 147-156.

Trevithick, J.R. e Mitton, K.P. (1999). Antioxidants and diseases of the eye, in Pappas AM: antioxidant status, diet, nutrition and health. *Boca Raton, FL, CRC Press*, pp. 545-565.

Tsuda T., Horio F. e Osawa T. (2002). Cyanidin 3-O-beta-D-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 48, pp. 305-310.

Tzeng, S. H. *et al.* (1991). Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb Res*, 64, pp. 91-100.

Vattem, D. A. e Shetty, K. (2005). Functional phytochemicals from cranberries: their mechanism of action and strategies to improve functionality. *Food Biotechnol*, 2, pp. 789-823.

Vinson, J. A. *et al.* (2008). Cranberries and cranberry products: powerful in vitro, ex vivo, and in vivo sources of antioxidants. *J Agr Food Chem*, 56, pp. 5884-5891.

Vogel, R. A. (1997). Coronary risk factors, endothelial function, and atherosclerosis: a review. *Clin Cardiol*, 20, pp. 426-432.

Wang, H., Cao, G. e Prior R. L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem*, 44, pp. 701-705.

Wang, J. e Mazza, G. (2002). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/ IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem*, 50, pp. 4183-4189.

Weiss, E. I. *et al.* (2004). A high molecular mass cranberry constituent reduces mutans streptococci level in saliva and inhibits in vitro adhesion to hydroxyapatite. *Fems Microbiol Lett*, 232(1), pp. 89-92.

Weiss, E. I. *et al.* (2005). Cranberry juice constituents affect influenza virus adhesion and infectivity. *Antivir Res*, 66, pp. 9-12.

WHO. (2011). Cardiovascular diseases. [Em linha]. Disponível em <[www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html)>. [Consultado em 20/2/2013]

Wickens, A. P. (2001). Ageing and the free radical theory. *Respir Physiol*, 128, pp. 379-391.

Widdowson, M. A. *et al.* (2004). Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus - United States, 2002. *J Infect Dis*, 190, pp. 27-36.

Wobus, C. E., Thackray, L.B. e Virgin, H.W. (2006). Murine norovirus: a model system to study norovirus biology and pathogenesis. *J Virol*, 80, pp. 5104-5112.

Wu, X. *et al.* (2010). Dietary blueberries attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by upregulating antioxidant enzyme expression. *J Nutr*, 140, pp. 1628-1632.

Wyss-Coray, T. e Mucke, L. (2002). Inflammation in neurodegenerative disease: a double-edged sword. *Neuron*, 35, pp. 419-432.

Yamanaka, A. *et al.* (2004). Inhibitory effects of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation. *Oral Microbiol Immunol*, 19(3), pp. 150-154.

Yamanaka, A. *et al.* (2006). Inhibitory effect of cranberry polyphenol on proteases of periodontopathic bacteria. *J Dent Res*, 85 (Special issue A), Abstract 1078.

Yamanaka, A. *et al.* (2007). Inhibitory effect of cranberry polyphenol on biofilm formation and cysteine proteases of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res*, 42(6), pp. 589-592.

Yang, Y. M. *et al.* (2010). Transactivation of genes encoding for phase II enzymes and phase III transporters by phytochemical antioxidants. *Molecules*, 15, pp. 6332-6348.

Yeh, G. Y. *et al.* (2003). Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care*, 26, pp. 1277-1294.

Yoon, S. O., Yun, C. H. e Chung, A. S. (2002). Dose effect of oxidative stress on signal transduction in aging. *Mech Ageing Dev*, 123, pp. 1597-1604.

Youdim, K. A. *et al.* (2002). Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *J Nutr Biochem*, 13, pp. 282-288.

Youdim, K. A., Shukitt-Hale, B. e Joseph, J. A. (2004). Flavonoids and the brain: interactions at the blood-brain barrier and their physiological effects on the central nervous system. *Free Radic Biol Med*, 37, pp. 1683-1693.

Zadok, D. *et al.* (1997). The effect of anthocyanosides on night vision tests. *Invest Ophthal Vis Sci*, 38, p. 633 [abstract].

Zadok, D., Levy, Y. e Glovinsky, Y. (1999). The effect of anthocyanosides in a multiple oral dose on night vision. *Eye*, 13, pp. 734-736.

Zhang, L. *et al.* (2005). Efficacy of cranberry juice on *H. pylori* infection: a double blind, randomized placebo-controlled trial. *Helicobacter*, 10, pp. 139-145.