

# AS PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIAS DO CACAU NO PROCESSO ATEROSCLERÓTICO – REVISÃO

Silva SC<sup>I</sup>, Santos AP<sup>II</sup>, Cruz RS<sup>III</sup>

## Resumo

*A inflamação é um processo que se encontra na base da doença aterosclerótica. O cacau é uma fonte rica de polifenóis. Estes compostos têm influência no processo inflamatório, sendo esta acção demonstrada por numerosos estudos, maioritariamente in vitro. Estes indicam que os flavonóides têm a capacidade de modificar a produção de citocinas pró-inflamatórias, a activação de plaquetas e mecanismos mediados pelo óxido nítrico, ou seja, indicam que estes compostos parecem possuir uma marcada acção anti-inflamatória e anti-ateromatosa. No entanto, a carência de estudos in vivo limita a aplicação destas descobertas ainda que existam investigações em humanos que sugerem que tanto o consumo regular como ocasional de alimentos ricos em cacau exercem efeitos benéficos sobre a pressão arterial, resistência à insulina, danos vasculares e stress oxidativo.*

*Os dados de biodisponibilidade disponíveis são, muitas vezes, controversos, e devem ainda ser considerados diversos factores tais como a presença de vários constituintes no cacau e chocolate utilizados, bem como os processos de confecção e consequentes variações no teor de polifenóis. Assim, são necessários novos estudos no sentido de determinar rigorosamente qual a eficiência do consumo de cacau enquanto intervenção a longo prazo e também para estabelecer o padrão alimentar recomendado para o efeito pretendido.*

*Palavras-chave:*

*Aterosclerose, inflamação, cacau, chocolate, polifenóis.*

## Abstract

*Inflammation is a process that lies at the base of atherosclerosis. Cocoa is a rich source of polyphenols. These compounds play an important role in inflammatory process as demonstrated by several studies, mostly in vitro. These results indicate that flavonoids have the ability to modify the production of proinflammatory cytokines, platelet activation and mechanisms mediated by nitric oxide, in other words, these compounds seem to exhibit anti-inflammatory and anti-atherogenic activity. However, the lack of in vivo studies limit the application of these findings despite the existence of studies in humans suggesting that both occasional and regular consumption of cocoa rich foods exert benefic effects on blood pressure, insulin resistance, vascular damage and oxidative stress.*

*The available bioavailability data is often controversial and several factors should be further considered. Factors such as the presence of various ingredients used in cocoa and chocolate, manufacturing processes and consequent changes in polyphenol contents. Therefore, more studies are required to determine exactly how effective is the consumption of cocoa while long-term interventions and also to establish the recommended eating patterns for the desired effect.*

*Key-words:*

*Atherosclerosis, inflammation, cocoa, chocolate, polyphenols.*

## INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte e incapacidade nos países desenvolvidos<sup>1</sup>. A aterosclerose está na origem das manifestações clínicas de eventos cardiovasculares<sup>2</sup>. A doença aterosclerótica é caracterizada pelo desenvolvimento de depósitos de gordura associados à formação e acumulação de placas

<sup>I</sup> Aluna do curso de Farmácia da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra.

<sup>II</sup> Docente da Unidade Curricular Nutrição da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra.

<sup>III</sup> Coordenador de Investigação e Titular da Disciplina de Investigação Aplicada da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra.

sarsil\_@hotmail.com

na parede arterial interna (íntima), bem como por um processo inflamatório subsequente<sup>3</sup>. Apesar de comum, algumas das suas características fundamentais são ainda pouco conhecidas e compreendidas<sup>3</sup>.

Na origem das típicas lesões endoteliais poderão estar vários factores desencadeantes tais como a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL – acrónimo anglosaxónico para *low-density lipoprotein*)<sup>3,4</sup>, agentes infecciosos, toxinas, forças mecânicas que actuam sobre a parede arterial e tensões de parede<sup>3</sup>.

A acumulação de lipoproteínas na camada íntima da artéria resulta no recrutamento de leucócitos e formação de células espumosas<sup>5</sup>. Na superfície das células endoteliais arteriais são expressos receptores de adesão para leucócitos como, por exemplo, a molécula 1 de adesão celular vascular (VCAM-1 – acrónimo anglosaxónico para *vascular cell adhesion molecule-1*), molécula 1 de adesão intracelular (ICAM-1 – acrónimo anglosaxónico para *intercellular adhesion molecule-1*) e a selectina P, que se encontram, provavelmente, envolvidos neste recrutamento<sup>3,5</sup>.

Os macrófagos modificados podem produzir citocinas pró-inflamatórias tais como a interleucina (IL) -1, IL-6 e factor de necrose tumoral (TNF – acrónimo anglosaxónico para *tumor necrosis factor*)  $\alpha^6$  cuja exposição a longo-prazo, está associada a efeitos deletérios para o miocárdio e a um prognóstico desfavorável na insuficiência cardíaca crónica<sup>7</sup>. Estas células alteradas podem ainda dar origem a espécies reactivas de oxigénio (ROS – acrónimo anglosaxónico para *reactive oxygen species*) que vão activar a expressão do gene inflamatório por meio do sistema de controlo do factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B – acrónimo anglosaxónico para *nuclear factor kappa B*), bem como diminuir o efeito do óxido nítrico (NO – acrónimo anglosaxónico para *nitric oxide*)<sup>8</sup>.

O NO é um mediador anti-inflamatório e vasodilatador com papel importante na manutenção do tónus vascular<sup>4</sup>, embora a sua superprodução tenha sido associada a condições de inflamação crónica<sup>9</sup>. As diferentes isoformas da óxido-nítrico sintetase (NOS – acrónimo anglosaxónico para *nitric oxide synthase*) exercem as suas funções de forma induzida (iNOS) ou constitutiva (NOS endotelial, eNOS) mostrando diferenças a nível funcional e de impacto subcelular<sup>7</sup>.

Algumas citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) induzem a produção de moléculas de adesão e mediadores bioquímicos como factores de crescimento, eicosanóides, NO e proteína C reactiva (CRP – acrónimo anglosaxónico para *C-reactive protein*), aumentando o risco trombogénico<sup>7</sup>.

Diversos estudos indicam que o consumo regular de alimentos ricos em polifenóis está associado a efeitos protectores a nível do sistema cardiovascular, tanto em humanos como em animais<sup>7,9-12</sup>.

Os potenciais mecanismos mediados pelos polifenóis do cacau envolvidos na saúde vascular contemplam: captação de radicais livres, modificação da produção de mediadores pró-inflamatórios e síntese de eicosanóides, inibição da agregação plaquetária, inibição da actividade da lipoxigenase e aumento da actividade da óxido-nítrico sintetase<sup>4,9</sup>.

Neste trabalho de revisão pretende-se avaliar qual é a acção dos polifenóis do cacau e qual a sua associação, nos mecanismos inflamatórios típicos do processo aterosclerótico em estudos experimentais realizados em culturas de células, em animais de laboratório e em humanos, publicados nos últimos cinco anos.

O objectivo é reunir e reproduzir as informações obtidas, bem como reconhecer temas que necessitam de evidência e identificar possíveis direcções de futuras investigações.

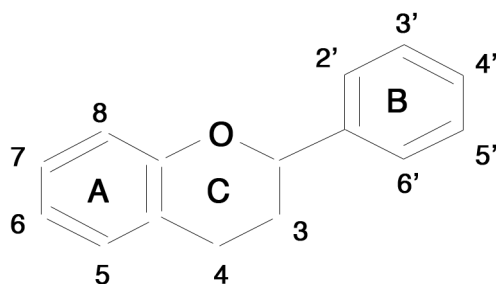
### **Polifenóis presentes no cacau e em produtos à base do cacau**

Os flavonóides são compostos que possuem uma estrutura química base (Fig. 1) e pertencem a uma família designada polifenóis<sup>13</sup>. Os polifenóis aparecem nas plantas como metabolitos secundários<sup>13</sup>.

O cacau (*Theobroma cacao*) e os seus derivados (chocolate) têm sido identificados como alimentos ricos em polifenóis<sup>14-17</sup>.

Os flavonóides presentes no cacau incluem: antocianinas, flavonas, flavanóis e flavonóis. Os flavanóis são a classe de flavonóides mais abundante no cacau e compreende flavanóis monoméricos, as (+)-catequinas e (-)-epicatequinas<sup>14</sup>, e flavanóis oligoméricos, as procianidinas<sup>7,9,13,18</sup>.

Figura 1 — Estrutura básica dos flavonóides<sup>13</sup>



## METODOLOGIA

A revisão da literatura foi realizada por meio de um levantamento bibliográfico, mediante consulta à base de dados Medline/Pubmed e a livros. A disponibilidade de consulta e restrições na aquisição, bem como respectivo ano de publicação e idioma dos artigos foram critérios considerados na pesquisa e triagem efectuadas.

A selecção de todos os artigos foi, numa fase inicial, efectuada através da leitura dos respectivos títulos e resumos (*abstracts*) recorrendo-se ainda à pesquisa das listagens de referências de estudos identificados. No total, 46 artigos foram submetidos a esta análise, dos quais acabaram por ser incluídos apenas 35 que reuniam os critérios considerados. Estes foram seleccionados de acordo com a sua fiabilidade e validade, tendo em conta os responsáveis pelo conteúdo da informação recolhida - quem é o autor, de onde provém a informação e para quem se dirige.

Assim, a procura limitou-se a artigos dactilografados a inglês e publicados entre 2005 e 2010. Foram seleccionadas publicações científicas identificadas pela presença dos seguintes termos: *atherosclerosis, endothelial dysfunction, vascular health, inflammation, anti-inflammatory, inflammatory mediators, cocoa, chocolate, polyphenols, flavanols, flavonols, catechins, epicatechins, procyanidins*.

Após leitura e sumarização dos artigos incluídos, a informação extraída foi reunida e compilada através da execução de tabelas. Nestas tabelas foram colocados os principais aspectos de cada um desses estudos (metodologia, procedimentos e resultados obtidos) sendo estes apresentados de uma forma simplificada para permitir a análise dos mesmos.

## Possíveis benefícios dos polifenóis do cacau no processo aterosclerótico

Trabalhos recentes demonstraram efeitos benéficos associados ao cacau sobre a pressão arterial, resistência à insulina e funções vascular e plaquetária<sup>18</sup>.

Uma revisão de Schini-Kerth et al. (2010) concluiu que existem evidências de que as fontes ricas de polifenóis possuem a capacidade de melhorar ou restaurar a protecção vascular podendo ainda reduzir o stress oxidativo da parede arterial<sup>19</sup>.

Porém, Ried et al. (2009) avaliaram a ingestão diária de chocolate rico em flavonóides numa amostra de indivíduos pré-hipertensos a longo-prazo e verificaram que não foi obtida uma redução significativa da pressão arterial, sugerindo que este alimento poderá não ser uma opção terapêutica aceitável para alguns indivíduos<sup>20</sup>.

## Estudos *in vitro* e em culturas de células

Vários ensaios *in vitro* indicam que os compostos polifenólicos do cacau têm a capacidade de interferir em mecanismos inflamatórios envolvidos na fisiopatologia da aterosclerose (Tabela 1)<sup>6,17,21,22</sup>.

Estudos sugerem que os polifenóis do cacau exibem actividade anti-inflamatória por conduzirem a uma diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$ , bem como uma diminuição da produção de proteína quimiotáctica de monócitos-1 (MCP-1 – acrónimo anglosaxónico para *monocyte chemoattractant protein-1*)<sup>6,17,22</sup>. Os polifenóis do cacau demonstraram capacidade de modificar os mecanismos

ligados à imunidade adquirida através da modulação da activação de linfócitos T e inibição de marcadores característicos da fase inicial desta resposta (Tabela 1)<sup>17</sup>.

Tabela 1 — Estudos *in vitro* e em culturas de células utilizando polifenóis do cacau

TIPO DE CÉLULAS	PROCEDIMENTO	RESULTADOS	ANO	REFERÊNCIA
PBMC Humanas	Fracções de flavanóis de cadeia curta e de cadeia longa (20 µg/ml) <i>vs</i> controlo	↑ Mediadores inflamatórios (IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α) ↑ Expressão de marcadores de células B (CD69 e CD83)	2007	(21)
Macrófagos RAW264.7 de Murino estimulados por LPS	Extracto de cacau (5-100 µg/mL polifenóis totais) <i>vs</i> epicatequina (60-120 µg/mL polifenóis totais)	↓ NO induzível	2005	(6)
Macrófagos NR8383 de Rato estimulados por LPS	Extracto de cacau (10–50 µg/mL de polifenóis totais) <i>vs</i> epicatequina (30–60 µg/mL de polifenóis totais)	↓ Mediadores pró-inflamatórios (TNF-α, MCP-1, IL-1α, IL-6)	2005	(6)
Linfócitos EL4BOU6 de Murino	Extracto de cacau (5–80 µg/mL de polifenóis totais) <i>vs</i> epicatequina (60–120 µg/mL de polifenóis totais)	↓ Secreção de IL-2 ↓ Expressão de IL-2Rα (CD25) em células activadas ↑ Libertação de IL-4 ↓ Activação de linfócitos T	2005	(17)
Linhas de células epidérmicas JB6 P+ de Rato	CPE (5-20 µg/ml)	Inibição da <i>up-regulation</i> do VEGF induzida por TNF-α	2010	(22)

PBMC (acrónimo anglosaxónico para peripheral blood mononuclear cells), Células mononucleares do sangue periférico; IL, Interleucina; TNF-α, Factor de necrose tumoral α; LPS, Lipopolissacarídeos; NO, Óxido nítrico; MCP-1, Proteína quimiotática de monócitos-1; IL-2Rα, Receptor α da interleucina-2; CPE (acrónimo anglosaxónico para *cocoa polyphenol extract*), Extracto de polifenóis do cacau; VEGF, Factor de crescimento endotelial vascular.

Ramiro et al. (2005) verificaram que o cacau evidencia capacidade de diminuir a secreção de MCP-1 e TNF-α e de reduzir a produção de NO, de forma dose-dependente<sup>6</sup>.

Os flavonóides demonstraram capacidade de diminuir a expressão do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA – acrónimo anglosaxónico para *messenger Ribonucleic Acid*) associado a várias citocinas pró-inflamatórias, sugerindo que o efeito inibitório sobre a sua secreção é produzido, em parte, ao nível do processo de transcrição<sup>6</sup>. Contudo, o extracto de cacau mostrou-se mais efectivo na inibição de MCP-1, quando comparado com o uso de apenas epicatequina, o que se pode dever a um sinergismo dos componentes do extracto de cacau avaliado<sup>6</sup>. As procianidinas poderão ter contribuído para este resultado, uma vez que são compostos que também têm evidenciado acção anti-inflamatória e anti-ateromatosa<sup>4,23</sup>.

Os polifenóis do cacau exibiram também potencial quimiopreventivo e anti-inflamatório ao serem associados à redução da expressão do factor de crescimento endotelial vascular (VEGF – acrónimo anglosaxónico para *vascular endothelial growth factor*) e à diminuição da activação dos factores de transcrição NF-κB e proteína activadora 1 (AP-1 – acrónimo anglosaxónico para *activator protein 1*)<sup>22</sup>. Muitas proteínas inflamatórias são

expressas através da activação de NF- $\kappa$ B e AP-1<sup>22</sup>. O VEGF é um factor multifuncional com papel crucial na regulação da angiogénese, sendo, por isso, associado a situações patológicas a nível cardiovascular<sup>22</sup>.

Por outro lado, Kenny et al. (2007) observaram que os flavanóis do cacau, dependendo da concentração de oligómeros de cadeia curta ou longa, podem potenciar respostas associadas à imunidade inata e também a eventos iniciais da imunidade adquirida<sup>21</sup>. Verificaram que estes compostos poderão induzir a proliferação de macrófagos, aumentar a expressão de marcadores de activação celular (CD69 e CD83) e a síntese de mediadores<sup>21</sup>. Este estudo coloca a hipótese de que o consumo de cacau pode estar associado a uma mais rápida e eficiente resposta a um estímulo imunitário<sup>21</sup>. No entanto, este apresenta importantes limitações, nomeadamente o facto de existirem oligómeros de flavanóis que demonstraram ter reduzida biodisponibilidade *in vivo*<sup>21</sup>.

### Estudos *in vivo* desenvolvidos em animais de laboratório

De uma forma geral, os resultados obtidos *in vitro* apresentam-se concordantes com os demonstrados *in vivo*, embora nestes se tenham considerado um menor número de dados disponíveis (Tabela 2).

Um estudo efectuado em coelhos hipercolesterolémicos submetidos à administração de licor de polifenóis de cacau (CPL - acrónimo anglosaxónico para cacao liquor polyphenols) sugere que esta intervenção originou uma diminuição da concentração plasmática de substâncias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS – acrónimo anglosaxónico para thiobarbituric acid reactive substances) um mês após o início da administração de cacau, ou seja, o cacau parece contribuir para a diminuição deste índice de peroxidação lipídica<sup>24</sup>. Este estudo mostra também que o grupo que recebeu os polifenóis do cacau apresentou uma menor área de lesões ateroscleróticas na aorta relativamente ao grupo controlo<sup>24</sup>. No entanto, o desenvolvimento da aterosclerose foi suprimido sem que existisse uma alteração concomitante do perfil lipídico<sup>24</sup>, o que significa que a redução das lesões pode dever-se, em parte, a uma acção anti-inflamatória dos polifenóis do cacau.

Tabela 2 — Estudos *in vivo* em animais de laboratório utilizando polifenóis do cacau

ESPÉCIES	DURAÇÃO EXPERIMENTAL (SEMANAS)	PROCEDIMENTO	RESULTADOS	ANO	REFERÊNCIA
Coelhos hiper- colesterolémicos	24	Dieta com CLP a 1% (m/m) vs grupo controlo	↓ TBARS no plasma ↑ Intervalo de tempo de oxidação das LDL ↓ Área de lesões ateroscleróticas na aorta	2005	(24)
Ratos jovens	3	Cacau (4% ou 10% dos alimentos ingeridos) contendo 32 mg flavonóides/g vs grupo controlo	↓ Secreção de TNF- $\alpha$ pelos macrófagos peritoneais ↑ Proliferação de linfócitos ↓ Citocinas relacionadas com Th2 ↓ Secreção de Ig	2007	(25)

CLP, Licor de cacau com polifenóis; TBARS, Substâncias reactivas de ácido tiobarbitúrico; LDL, Lipoproteínas de baixa densidade; TNF- $\alpha$ , Factor de necrose tumoral  $\alpha$ ; Th2, Células T auxiliares 2; Ig, Imunoglobulinas.

Uma investigação de Ramiro-Puig et al. (2007) evidenciou que uma dieta rica em cacau favorece a redução da secreção de TNF- $\alpha$  pelos macrófagos, da secreção de citocinas relacionadas com linfócitos T auxiliares (Th – acrónimo anglosaxónico para *T helper*) 2 e da segregação de imunoglobulinas (Ig)<sup>25</sup>. As células Th2 estão envolvidas na proliferação e diferenciação de células B, através da secreção de, sobretudo, IL-4<sup>25</sup>. Assim, o cacau, quando proporcionado em elevada quantidade, demonstrou efeitos favoráveis na modulação da resposta imunitária<sup>25</sup>,

o que se traduz numa influência positiva nas doenças inflamatórias, como a aterosclerose. Por outro lado, neste estudo verificou-se um aumento da proliferação de células T, bem como da secreção de IL-2 pelas células Th<sup>25</sup>, contrariamente ao demonstrado num estudo anterior de investigadores da mesma Universidade<sup>17</sup>. Este revelou que o extracto de cacau usado conduziu a uma diminuição da activação de linfócitos T na linhagem usada<sup>17</sup>. Estas diferenças podem dever-se às condições em que cada estudo foi efectuado, tendo ainda em conta que os resultados obtidos *in vitro* podem não se verificar quando efectuados *in vivo*<sup>25</sup>. É, portanto, necessário considerar que *in vivo*, o cacau ingerido sofre alterações no teor de flavonóides que se considerou inicialmente, além de que existe variabilidade na composição do cacau ou chocolate usado em cada estudo realizado<sup>25</sup>.

Perante as incoerências encontradas, ressaltam duas observações: dietas com baixo teor em cacau poderão apresentar um efeito sub-terapêutico<sup>25</sup> e existe a possibilidade dos polifenóis agirem como anti-inflamatórios ou pró-inflamatórios dependendo da sua concentração<sup>15</sup>.

Em células endoteliais, os polifenóis do cacau parecem inibir a expressão do mRNA da arginase-2 e os seus níveis de actividade, o que resulta num aumento da disponibilidade de óxido nítrico na parede vascular<sup>26</sup>. A arginase compete com a NOS por um substrato comum (L-arginina), logo a inibição da actividade da arginase associa-se a uma elevação dos níveis de NO<sup>26</sup>. Estes resultados são consistentes com os que foram obtidos *in vivo*, em que os flavanóis parecem diminuir a actividade da arginase renal em ratos<sup>26</sup>.

### Estudos em humanos usando cacau e chocolate

Os resultados verificados em animais e *in vitro* são também sustentados pelo facto dos flavanóis terem reduzido a actividade da arginase em eritrócitos, em humanos saudáveis, após intervenção dietética com cacau<sup>26</sup>.

Um estudo de Grassi et al. (2005) realizado em indivíduos com hipertensão essencial não tratada demonstrou que a ingestão de chocolate negro rico em flavonóides parece levar a efeitos benéficos a nível da vasodilatação dependente do NO, da pressão arterial e das concentrações séricas de colesterol LDL nestes indivíduos (Tabela 3)<sup>27</sup>. No entanto, neste mesmo estudo, não se verificaram alterações significativas na circulação de proteína C reactiva de elevada sensibilidade (hsCRP) ou da ICAM-1<sup>27</sup>. Níveis elevados da proteína de fase aguda CRP têm sido associados a um aumento do risco de eventos cardiovasculares<sup>28</sup>, sendo considerada um indicador independente de doença coronária<sup>15</sup>.

Em humanos, o cacau demonstrou ter capacidade de reduzir a pressão arterial e melhorar a função endotelial, tendo-se, no entanto, verificado uma possível atenuação destes benefícios quando existe uma adição de açúcar ao cacau ingerido<sup>30</sup>.

Uma investigação em indivíduos saudáveis sugere que o consumo regular de baixas doses de chocolate negro favorece a redução da inflamação, nomeadamente através da redução das concentrações séricas de CRP (Tabela 3)<sup>15</sup>. No entanto, a possível baixa exatidão da metodologia de quantificação do consumo e o facto de não se poder excluir a possibilidade de estilos de vida saudáveis estarem também na base dos resultados obtidos apresentam-se como grandes limitações apontadas a este estudo<sup>15</sup>.

Hamed et al. (2008) verificaram uma modelação da inflamação e diminuição dos níveis de hsCRP apenas num grupo restrito de indivíduos, as mulheres (Tabela 3), embora o estudo tenha sido efectuado com uma reduzida amostra e durante um curto período de tempo<sup>28</sup>.

A modelação da agregação plaquetária após consumo de chocolate negro tem sido também alvo de estudo, existindo a evidência de que os polifenóis conseguem inibir a agregação plaquetária induzida pelas tensões de cisalhamento<sup>29</sup>, bem como reduzir a expressão da glicoproteína IIB/IIIa, um complexo de integrina que auxilia a activação plaquetária<sup>28</sup>.

Numa amostra de indivíduos com elevado risco de doença cardiovascular (CVD), o consumo de polifenóis do cacau evidenciou também ter efeitos na expressão de moléculas de adesão solúveis e citocinas pró-inflamatórias (Tabela 3) relacionadas com os eventos iniciais da aterosclerose<sup>5</sup>.



Tabela 3 — Estudos em humanos utilizando cacau e chocolate

Nº SUJEITOS	FAIXA ETÁRIA (ANOS)	PROCEDIMENTO	TEOR EM POLIFENÓIS	RESULTADOS	ANO	REFERÊNCIA
20*	25-60	Fase 1: sem ingestão de cacau (7 dias) Fase 2: 100 g DC/ dia ou placebo (15 dias) Fase 3 = Fase 1 Fase 4: cruzamento	88mg por 100g DC	Melhor FMD ↓ Níveis séricos de colesterol LDL ↓ BP	2005	(27)
2141	≥35	Consumo médio de 5,7g DC/ dia vs não consumidores	-	↓ Concentrações séricas de CRP	2008	(15)
28	18-60	Ingestão de 100g DC/ dia (durante 7 dias)	700mg por 100g DC	Melhor perfil lipídico ↓ Reactividade plaquetária ↓ Inflamação (nas mulheres) ↓ hsCRP em mulheres pré-menopáusicas	2008	(28)
20	-	40g DC (74% cacau) vs 40g chocolate branco (4% cacau)	-	Melhor FMD ↓ Adesão plaquetária ↑ Actividade antioxidante	2006	(29)
42* **	>55	40g de cacau com 500ml de leite (C + M) ou apenas 500ml de leite (M) durante 2 períodos de 4 semanas	495,2mg por 40g cacau	↓ Expressão de VLA-4, CD40 e CD36 nos monócitos ↓ Concentrações séricas de selectina-P e ICAM-1	2009	(5)

DC (acrónimo anglosaxónico para *dark chocolate*), Chocolate negro; EH (acrónimo anglosaxónico para *essential hypertension*), Hipertensão essencial; FMD (acrónimo anglosaxónico para *flow-mediated dilation*), Dilatação fluxo-mediada; LDL, Lipoproteínas de baixa densidade; CRP, Proteína C reactiva; BP (acrónimo anglosaxónico para *blood pressure*), Pressão arterial; hsCRP (acrónimo anglosaxónico para *high-sensitive C-reactive protein*), Proteína C-reativa de elevada sensibilidade; CVD (acrónimo anglosaxónico para *cardiovascular disease*), Doença cardiovascular; VLA-4 (acrónimo anglosaxónico para *very late activation antigen-4*), Antígeno 4 de activação muito tardia; ICAM-1, Molecúla-1 de adesão intracelular.

\* Pacientes com EH

\*\* Pacientes em elevado risco de CVD

Todos os dados se referem a indivíduos saudáveis, salvo indicação em contrário.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Vários estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão de flavonóides presentes em frutas e vegetais está associado à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares<sup>31</sup>. Estudos em humanos demonstraram que o consumo de chocolate tem efeitos benéficos sobre alguns mecanismos patogénicos da doença cardíaca, tais como a função endotelial e a pressão arterial<sup>32</sup>.

Por outro lado, o chocolate é um alimento que se apresenta muitas vezes associado a um elevado teor de gordura saturada que parece contribuir para a crença de que o seu consumo aumenta o risco de doença cardíaca<sup>32</sup>. O efeito dos produtos do cacau sobre as alterações lipídicas é considerado controverso<sup>33</sup> sendo necessários futuros estudos no sentido de determinar os efeitos do consumo moderado de cacau sobre o perfil lipídico a longo prazo e em indivíduos com factores de risco cardio-metabólicos associados<sup>33</sup>.

Ainda que a influência dos flavonóides no processo inflamatório tenha sido demonstrada em vários estudos *in vitro*<sup>7</sup>, os efeitos anti-inflamatórios destes compostos são ainda pouco conhecidos e sem demarcada sus-

tentação em humanos<sup>5</sup>. Assim, são necessárias futuras investigações rigorosamente controladas, realizadas em humanos e com acompanhamento adequado, para ser possível determinar com clareza os efeitos dos flavanóis na saúde cardiovascular<sup>7</sup>, bem como estudos para estabelecer a dose mais eficaz e o padrão alimentar recomendado<sup>34</sup>.

Outro aspecto importante é o facto de não existirem evidências científicas que sustentem que os flavonóides do cacau são convenientemente absorvidos, de que estes são, de facto, bioactivos, e de que são os únicos responsáveis pelos benefícios cardiovasculares associados ao consumo regular de cacau<sup>35</sup>. Além disso, é necessário considerar que os polifenóis do cacau podem comportar-se tanto como antioxidantes como pró-oxidantes dependendo da sua concentração<sup>15</sup>.

Os flavonóides do cacau existem numa infinidade de configurações estereoquímicas diferentes, dando origem a uma mistura única e complexa de compostos. Assim, a relação entre a estrutura química dos flavanóis e algumas das suas acções têm sido alvo de discussão, mas ainda se encontra por esclarecer, assim como os mecanismos que estão na base dessas mesmas acções<sup>6,24</sup>. O teor de flavonóides do cacau é também difícil de estabelecer porque depende da natureza deste, ou seja, de factores como o clima, geografia, as condições de armazenamento e o próprio processo de fabrico<sup>17</sup>.

Apesar de todas estas restrições, os flavanóis têm revelado capacidades de modulação e activação de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e de alterar a produção de citocinas e quimiocinas<sup>21</sup>. Como tal, a inserção de cacau na dieta de pacientes com doenças inflamatórias caracterizadas por uma hiperactividade do sistema imunitário parece ser uma opção promissora<sup>6</sup>.

## REFERÊNCIAS

- 1 Schmitt CA, Dirsch VM. Modulation of endothelial nitric oxide by plant-derived products. *Nitric Oxide*. 2009 Sep;21(2):77-91.
- 2 Rao VS, Kadarinarasimhiah NB, John S, Hebbagodi S, Shanker J, Kakkar VV. Usefulness of C-reactive protein as a marker for prediction of future coronary events in the asian Indian population: Indian atherosclerosis research study. *Int J Vasc Med*. 2010;2010:389235.
- 3 Dennis L, Kasper EB, Anthony S, Fauci, Stephen L, Hauser, Dan L, Longo, J, Larry Jameson. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16 ed. United States of America: McGraw-Hill - Medical Publishing Division; 2005.
- 4 Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jan;81(1 Suppl):304S-12S.
- 5 Monagas M, Khan N, Andres-Lacueva C, Casas R, Urpi-Sarda M, Llorach R, et al. Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2009 Nov;90(5):1144-50.
- 6 Ramiro E, Franch A, Castellote C, Perez-Cano F, Permanyer J, Izquierdo-Pulido M, et al. Flavonoids from *Theobroma cacao* down-regulate inflammatory mediators. *J Agric Food Chem*. 2005 Nov 2;53(22):8506-11.
- 7 Selmi C, Cocchi CA, Lanfredini M, Keen CL, Gershwin ME. Chocolate at heart: the anti-inflammatory impact of cocoa flavanols. *Mol Nutr Food Res*. 2008 Nov;52(11):1340-8.
- 8 Mehta JL, Sanada N, Hu CP, Chen J, Dandapat A, Sugawara F, et al. Deletion of LOX-1 reduces atherogenesis in LDLR knockout mice fed high cholesterol diet. *Circ Res*. 2007 Jun 8;100(11):1634-42.
- 9 Rimbach G, Melchin M, Moehring J, Wagner AE. Polyphenols from cocoa and vascular health-a critical review. *Int J Mol Sci*. 2009 Oct;10(10):4290-309.
- 10 Ramirez-Sanchez I, Maya L, Ceballos G, Villarreal F. (-)-epicatechin activation of endothelial cell endothelial nitric oxide synthase, nitric oxide, and related signaling pathways. *Hypertension*. 2010 Jun;55(6):1398-405.
- 11 Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, et al. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jan 24;103(4):1024-9.
- 12 Steffen Y, Schewe T, Sies H. Myeloperoxidase-mediated LDL oxidation and endothelial cell toxicity of oxidized LDL: attenuation by (-)-epicatechin. *Free Radic Res*. 2006 Oct;40(10):1076-85.
- 13 Galleano M, Oteiza PI, Fraga CG. Cocoa, chocolate, and cardiovascular disease. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009 Dec;54(6):483-90.
- 14 Chang AS, Yeong BY, Koh WP. Symposium on Plant Polyphenols: Nutrition, Health and Innovations, June 2009. *Nutr Rev*. 2010 Apr;68(4):246-52.
- 15 di Giuseppe R, Di Castelnuovo A, Centritto F, Zito F, De Curtis A, Costanzo S, et al. Regular consumption of dark chocolate is associated with low serum concentrations of C-reactive protein in a healthy Italian population. *J Nutr*. 2008 Oct;138(10):1939-45.
- 16 Jalil AM, Ismail A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: is there a link between antioxidant properties and health? *Molecules*. 2008;13(9):2190-219.
- 17 Ramiro E, Franch A, Castellote C, Andres-Lacueva C, Izquierdo-Pulido M, Castell M. Effect of *Theobroma cacao* flavonoids on immune activation of a lymphoid cell line. *Br J Nutr*. 2005 Jun;93(6):859-66.
- 18 Corti R, Flammer AJ, Hollenberg NK, Luscher TF. Cocoa and cardiovascular health. *Circulation*. 2009 Mar 17;119(10):1433-41.
- 19 Schini-Kerth VB, Auger C, Kim JH, Etienne-Selloum N, Chataigneau T. Nutritional improvement of the endothelial control of vascular tone by polyphenols: role of NO and EDHF. *Pflugers Arch*. 2010 May;459(6):853-62.



- 20 Ried K, Frank OR, Stocks NP. Dark chocolate or tomato extract for prehypertension: a randomised controlled trial. *BMC Complement Altern Med*. 2009;9:22.
- 21 Kenny TP, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME. Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007 Feb;232(2):293-300.
- 22 Kim JE, Son JE, Jung SK, Kang NJ, Lee CY, Lee KW, et al. Cocoa polyphenols suppress TNF-alpha-induced vascular endothelial growth factor expression by inhibiting phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and mitogen-activated protein kinase kinase-1 (MEK1) activities in mouse epidermal cells. *Br J Nutr*. 2010 Oct;104(7):957-64.
- 23 Chen DM, Cai X, Kwik-Urbe CL, Zeng R, Zhu XZ. Inhibitory effects of procyanidin B(2) dimer on lipid-laden macrophage formation. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006 Aug;48(2):54-70.
- 24 Kurosawa T, Itoh F, Nozaki A, Nakano Y, Katsuda S, Osakabe N, et al. Suppressive effects of cacao liquor polyphenols (CLP) on LDL oxidation and the development of atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*. 2005 Apr;179(2):237-46.
- 25 Ramiro-Puig E, Perez-Cano FJ, Ramirez-Santana C, Castellote C, Izquierdo-Pulido M, Permanyer J, et al. Spleen lymphocyte function modulated by a cocoa-enriched diet. *Clin Exp Immunol*. 2007 Sep;149(3):535-42.
- 26 Schnorr O, Brossette T, Momma TY, Kleinbongard P, Keen CL, Schroeter H, et al. Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in human endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo. *Arch Biochem Biophys*. 2008 Aug 15;476(2):211-5.
- 27 Grassi D, Necozione S, Lippi C, Croce G, Valeri L, Pasqualetti P, et al. Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension*. 2005 Aug;46(2):398-405.
- 28 Hamed MS, Gambert S, Bliden KP, Bailon O, Singla A, Antonino MJ, et al. Dark chocolate effect on platelet activity, C-reactive protein and lipid profile: a pilot study. *South Med J*. 2008 Dec;101(12):1203-8.
- 29 Hermann F, Spieker LE, Ruschitzka F, Sudano I, Hermann M, Binggeli C, et al. Dark chocolate improves endothelial and platelet function. *Heart*. 2006 Jan;92(1):119-20.
- 30 Faridi Z, Njike VY, Dutta S, Ali A, Katz DL. Acute dark chocolate and cocoa ingestion and endothelial function: a randomized controlled crossover trial. *Am J Clin Nutr*. 2008 Jul;88(1):58-63.
- 31 Mulvihill EE, Huff MW. Antiatherogenic properties of flavonoids: implications for cardiovascular health. *Can J Cardiol*. 2010 Mar;26 Suppl A:17A-21A.
- 32 Vinson JA, Proch J, Bose P, Muchler S, Taffera P, Shuta D, et al. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model, and a significant contributor to antioxidants in the European and American Diets. *J Agric Food Chem*. 2006 Oct 18;54(21):8071-6.
- 33 Jia L, Liu X, Bai YY, Li SH, Sun K, He C, et al. Short-term effect of cocoa product consumption on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2010 Jul;92(1):218-25.
- 34 Davison K, Berry NM, Misan G, Coates AM, Buckley JD, Howe PR. Dose-related effects of flavanol-rich cocoa on blood pressure. *J Hum Hypertens*. 2010 Sep;24(9):568-76.
- 35 Kwik-Urbe C, Bektash RM. Cocoa flavanols - measurement, bioavailability and bioactivity. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17 Suppl 1:280-3.