



Ana Mónica Jardim Fernandes

# INVESTIGAÇÃO CLÍNICA COM NUTRACÊUTICOS

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Farmacologia Aplicada, sob orientação do Professor Doutor Carlos Alberto Fontes Ribeiro, e da Professora Doutora Maria Dulce Maria Ferreira Cotrim, apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

## **Dissertação de Mestrado em Farmacologia Aplicada**

### **Investigação Clínica com Nutracêuticos**

#### **Dissertação orientada por:**

Professor Doutor Carlos Alberto Fontes Ribeiro  
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

#### **Dissertação co-orientada por:**

Professora Doutora Maria Dulce Ferreira Cotrim  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**Ana Mónica Jardim Fernandes**

## **Agradecimentos**

O pequeno espaço disponível para os agradecimentos, não me permite agradecer como gostaria a todos aqueles que, direta ou indiretamente, me ajudaram neste percurso e contribuíram para que chegasse a este momento-chave da minha formação académica. Desta forma, deixo algumas palavras de reconhecimento àqueles que foram os meus grandes pilares neste percurso:

Indubitavelmente, em primeiro lugar, um enorme agradecimento aos meus pais e à minha irmã. Aqueles que tornaram tudo possível desde o início, que sempre me deram o apoio e força necessários, que nunca falharam os momentos mais importantes e que sempre acreditaram em mim! Para vocês, um obrigado será sempre insuficiente!

Ao Sérgio, por seres a minha maior força, pelo apoio incondicional, por seres o meu porto de abrigo nos momentos de desespero e em todos os outros momentos também! Obrigada por tornares tudo mais fácil!

Aos meus avós, pelo interesse e por terem acompanhado de perto todo este percurso.

A toda a minha restante família, por terem estado sempre lá quando foi preciso! Uma palavra especial à Sofia, por ouvires sempre os meus desabafos e, no meio do pouco tempo que tens, arranjar sempre forma de nunca falhar! E à Sara, prima, mas acima de tudo uma grande amiga, por teres sido a minha grande companheira no primeiro ano de mestrado, pelo apoio e por todo o interesse que sempre demonstraste!

Aos meus amigos, àqueles que sempre se preocuparam e tiveram sempre uma palavra de incentivo para mim! Um agradecimento especial à Inês, minha amiga de sempre e para sempre, por seres minha companheira nesta luta e viveres comigo mais esta aventura! E também à Sara: mesmo depois de teres seguido o teu sonho, estiveste sempre comigo e foste minha colega até ao fim!

Aos meus colegas de mestrado, principalmente ao Renato, à Patrícia e à Raquel. Companheiros de aulas, de almoços, de trabalhos e de lamentações! Fazer este mestrado teve outro sabor por poder partilhá-lo convosco!

Ao professor Dr. Carlos Fontes Ribeiro, pela orientação neste projeto, pela dedicação e por todos os ensinamentos que me foi transmitindo! Muito obrigada pelo profissionalismo e pela disponibilidade que sempre revelou para comigo.

À professora Dra. Dulce Ferreira Cotrim, minha co-orientadora e coordenadora do Mestrado em Farmacologia Aplicada, pelo seu aconselhamento e auxílio na realização deste trabalho!

A todos os professores do Mestrado, por nos terem enriquecido com os seus conhecimentos, agradeço a partilha do saber e as valiosas contribuições para a minha vida pessoal e profissional!

Agradeço também aos meus colegas de trabalho deste último ano, pelo companheirismo, compreensão e ajuda que me deram na concretização deste trabalho!

## Siglas Usadas

- **ALP:** Fosfatase Alcalina
- **ALT:** Alanina aminotransferase
- **ANA:** American Nutraceutical Association
- **ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- **ASAE:** Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
- **BPC:** Boas Práticas Clínicas
- **CB:** Composto Bioativos
- **CE:** Comissão Europeia
- **CSFAN:** Centro para a Segurança dos Alimentos e Nutrição
- **DCV:** Doença Cardiovascular
- **DGAV:** Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
- **DL:** Decreto-Lei
- **DSHEA:** Dietary Supplement Health and Education Act
- **EAS:** European Atherosclerosis Society
- **EC:** Ensaio Clínico
- **EFSA:** European Food Safety Authority
- **ESC:** European Society of Cardiology
- **EUA:** Estados Unidos da América
- **FDA:** Food and Drug Administration
- **FDC:** Food, Drugs and Cosmetics
- **FIM:** Foundation for Innovation in Medicine
- **FOFUSE:** Functional Food Science in Europe
- **FOSHU:** Food for Specified Health Uses
- **GRAS:** Generally recognized as safe
- **HDL:** High Density Lipoprotein
- **IDL:** Intermediate Density Lipoprotein
- **IMC:** Índice de Massa Corporal
- **ITT:** Intenção de Tratar
- **LDL:** Low Density Lipoprotein
- **LIC:** Lei da Investigação Clínica
- **MAFF:** Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries
- **MHRA:** Medicines and Healthcare products Regulatory Agency
- **MNSRM:** Medicamento não sujeito a receita médica
- **MSRM:** Medicamento sujeito a receita médica
- **NREA:** Nutraceutical Research and Education Act
- **OMS:** Organização Mundial de Saúde
- **QMDA:** Quality Deer Management Association
- **RR:** Risco Relativo
- **SGOT:** Transaminase glutâmico-oxalacética
- **UE:** União Europeia
- **UNESCO:** Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Fatores impulsionadores e limitantes do crescimento do mercado europeu dos nutracêuticos.	23
<b>Tabela 2.</b> Valores recomendados para o Colesterol definidos pela Fundação Portuguesa de Cardiologia.	28
<b>Tabela 3.</b> Resumo de um pedido de parecer científico à EFSA e resposta relativamente à fundamentação científica de uma alegação de saúde relacionada com capacidade dos esteróis vegetais em diminuir o colesterol e consequente, o risco de desenvolvimento de doenças coronárias.	42
<b>Tabela 4.</b> Comparação dos níveis de regulamentação dos nutracêuticos entre EUA, Reino Unido e Índia.	52
<b>Tabela 5.</b> Categoria regulamentar na qual se inserem os nutracêuticos em diferentes países.	56
<b>Tabela 6.</b> Variação de definições e regulamentos para os Nutracêuticos em todo o mundo	56
<b>Tabela 7.</b> Ensaios Clínicos registados envolvendo nutracêuticos.	67
<b>Tabela 8.</b> Ensaios Clínicos registados envolvendo nutracêuticos e colesterol.	67
<b>Tabela 9.</b> Comparação entre estudos de coorte e estudos clínicos randomizados: fatores semelhantes e principais diferenças.	70
<b>Tabela 10.</b> Cálculo do risco relativo num estudo de coorte.	77

## Índice de Gráficos e Figuras

### Gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Crescimento do mercado dos nutracêuticos desde 1999 até 2010.	21
<b>Gráfico 2.</b> Estimativa do crescimento do mercado nutracêutico, por região, entre 2015 e 2020.	22
<b>Gráfico 3.</b> Artigos de investigação na área dos nutracêuticos/alimentos funcionais de 1989 a 2009. (ISI Web of Knowledge, Copyright 2010 Thomson Reuters)	26

### Figuras

<b>Figura 1.</b> Ilustração do termo “Nutracêutico”	14
<b>Figura 2.</b> Esquema representativo do modo como os fitoesteróis bloqueiam a incorporação do colesterol em micelas.	31
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática das fronteiras existentes no universo dos nutracêuticos	34
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática da fronteira entre alimento funcional e nutracêutico	44
<b>Figura 5.</b> Evolução do efeito fisiológico de acordo com diferentes categorias de produtos.	44
<b>Figura 6.</b> Representação Esquemática dos objetivos principais do estudo <i>Brassica</i> .	60
<b>Figura 7.</b> <i>Design</i> proposto para o estudo a realizar.	64
<b>Figura 8.</b> <i>Design</i> temporal dos estudos observacionais.	65
<b>Figura 9.</b> Diagrama resumo do design do Ensaio Clínico inicialmente proposto.	69

## Índice Geral

<b>Introdução</b> .....	13
<b>Enquadramento Teórico</b> .....	19
<b>A “Revolução” dos Nutracêuticos</b> .....	20
<b>Nutracêuticos e Dislipidémias</b> .....	27
<b>Nutracêuticos e Alimentos Funcionais</b> .....	34
<b>Nutracêuticos e Suplementos Alimentares</b> .....	46
<b>Regulamentação e Nutracêuticos</b> .....	50
<b>Estudo Brassica</b> .....	58
<b>Metodologia</b> .....	61
<b>Conclusões</b> .....	78
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	81



## Resumo

A evolução que acompanhou os últimos anos veio confirmar algo que já se afirmava há vários séculos: existe uma relação evidente entre a nossa alimentação e o nosso estado de saúde. Vivemos num mundo em que nos preocupamos cada vez mais com o nosso estado de saúde e a utilização de medicamentos é cada vez maior, particularmente a automedicação, o que se pode tornar num problema de saúde pública. Paralelamente, a nossa dieta também tem sido alvo de alterações, devido ao estilo de vida cada vez mais agitado e stressante. Muitas vezes surge a necessidade de compensar erros que cometemos ou suprir necessidades, aumentando também o recurso a suplementos alimentares, alimentos funcionais e nutracêuticos, agentes que vou definir e diferenciar ao longo deste trabalho. A emergência dos nutracêuticos surgiu assim num ambiente proporcionado por diversos fatores, que quando adotados em conjunto tornam-no atraente e convidativo para novos produtos que solucionem questões relacionadas com a saúde. O primeiro fator, já anteriormente referido, relaciona-se com os avanços na compreensão da relação entre nutrição e saúde, também a nível molecular, que conduziu a novas abordagens. Consequentemente, a preocupação crescente dos consumidores com a saúde, bem como o aumento da sua credibilidade para com estes novos agentes, constitui o segundo fator. Depois, a oportunidade de regulamentação de novos produtos de saúde e por último, mas não menos importante, o interesse crescente de empresas alimentícias, farmacêuticas e de biotecnologia que procuram novas oportunidades de crescimento.

Os Nutracêuticos representam uma área onde a pesquisa biomédica tem crescido bastante. Um nutracêutico pode ser resumidamente definido como uma substância que possui benefício fisiológico ou fornece proteção contra doenças crónicas. Possuem múltiplas propriedades terapêuticas, podendo ser utilizados para melhorar a saúde, retardar o processo de envelhecimento, prevenir doenças crónicas, aumentar a esperança de vida, ou suportar a estrutura ou função do corpo humano. É uma categoria de produtos pouca regulamentada, com definições não consensuais, mas que tem sido alvo de grande pesquisa, representando um segmento de mercado com rápido crescimento. Os nutracêuticos não se inserem facilmente nas categorias jurídicas de alimentos ou medicamentos, e por isso, muitas vezes acabam por cair numa espécie de buraco negro entre ambos. As suas propriedades funcionais e capacidade de contribuir na prevenção e/ou tratamento de uma determinada doença (benefícios fisiológicos), bem como na redução do aparecimento de doenças crónicas, fazem

com que sejam um alvo apetecível para novos estudos. Apesar de se terem registado muitos avanços nos últimos anos, há ainda muito mais por descobrir.

Por essa razão, neste trabalho proponho-me a fazer uma abordagem sobre o estado de arte da investigação clínica com nutracêuticos, começando com uma referência aos pontos que os distinguem quer dos suplementos alimentares, quer dos alimentos funcionais. A lista de nutracêuticos que está a ser estudada está continuamente a mudar, refletindo a evolução do mercado, da investigação e o aumento do interesse do consumidor. É absolutamente imperativo que se realizem mais estudos para justificar o uso seguro e eficaz dos nutracêuticos. Nesse sentido, o meu principal objetivo é responder como se pode fazer um estudo clínico com um nutracêutico.

No meu trabalho, irei abordar particularmente um estudo, resultado de uma parceria entre a Universidade de Aveiro e Universidade de Coimbra, denominado *Brassica*. O termo representa uma espécie de plantas que inclui vários vegetais como couves brancas e vermelhas, brócolos, couve-flor ou couves de Bruxelas, com teores elevados de uma grande gama de compostos bioativos (CB). O cultivo e processamento industrial destas plantas produz uma elevada quantidade de resíduos orgânicos, em particular no caso dos brócolos e couve-flor, visto que só uma pequena parte é utilizada. O principal objetivo do projeto é agregar valor à produção de culturas de *Brassica* e explorar formas de valorização das partes não utilizadas, nomeadamente raízes, caules e folhas, convertendo-os em produtos de valor. Simultaneamente, iremos estar a contribuir para a redução da pegada ecológica e da descarga de resíduos em aterros. Como tal, este projeto apresenta-se também como uma mais-valia em termos de proteção ambiental. O que se pretende é então aproveitar as partes não utilizadas destas espécies de plantas e delas extrair os compostos bioativos passíveis de exercerem ação. Posteriormente, desenvolver-se-á um produto nutracêutico, com potencial para ser utilizado em doentes dislipidémicos devido à capacidade de reduzir os níveis de colesterol nestes doentes. A eficácia e segurança deste produto terão de ser devidamente avaliadas num estudo clínico com um *design* apropriado. *Brassica* será o meu estudo de caso, e o resultado a apresentar será um protocolo de estudo, definindo como se pode fazer a investigação clínica dos componentes do estudo *Brassica*, tendo em vista testar a sua eficácia, mas também a sua segurança.

O meu trabalho irá também tentar descrever como deverão ser estudados este tipo de compostos, tentando responder qual o estudo clínico que será mais indicado para testar extratos de alimentos. Como deverão os extratos de alimentos, que também são

nutracêuticos, ser estudados no Homem? Quando deixam de ser considerados nutracêuticos e passam a ser considerados medicamentos? Estas são algumas das questões que irei tentar responder, tendo em conta as considerações éticas aplicáveis a esta situação. A fraca regulamentação na área, contrastante com a forte permeabilidade entre estas diferentes categorias são fatores limitativos na pesquisa realizada com nutracêuticos e na sua colocação no mercado com uma determinada alegação de saúde. Todas estas condições fazem dos nutracêuticos e da investigação clínica que os visa, um tema atual com elevado interesse e grandes perspectivas no futuro.

## **Abstract**

The evolution that accompanied the last few years has confirmed something that has been said for centuries: there is a clear relationship between our diet and our health. We live in a world where we constantly care about our health and the use of drugs is increasing, particularly self-medication, which can become a serious public health problem. At the same time, our diet has also suffered changes due to an increasingly hectic and stressful lifestyle. Sometimes there is a need to compensate the mistakes we have made or to meet needs, which leads to an increment of the use of dietary supplements, functional foods and nutraceuticals. The use of nutraceuticals has thus emerged in an environment provided by several factors that, when adopted together, make it attractive to the development of new products that address health issues. The first factor, mentioned earlier, is related to advances in people's knowledge of the relationship between nutrition and health, as well as at the molecular level, leading to new approaches. Consequently, the growing consumer concern with health and the increasing credibility of these new agents, is the second factor. Then the opportunity of regulating new health products and last, but not least, the growing interest evinced by food companies, pharmaceutical and biotechnology companies seeking new growth opportunities.

Nutraceuticals represent an area where biomedical research has considerably grown. A nutraceutical can be briefly defined as a substance possessing physiological benefit or which provides protection against chronic diseases. They have multiple therapeutic properties and can be used to improve health, slow the aging process, prevent chronic diseases, increase life expectancy, or support the structure or function of the human body. It's a product category weakly regulated, with no agreed definitions, but that has been subject of many researches, representing a fast growing market segment. Nutraceuticals cannot easily fall in the legal categories of food and medicine, and so often they end up falling into a kind of grey area between them. The properties and their functional ability to contribute to the prevention and / or treatment of a disease (physiological benefits), as well as reducing the appearance of chronic diseases, make them an attractive target for further studies. Although there have been many advances in recent years, there is still much more to discover.

For this reason, in this work I propose to make an approach on the state of the art of clinical research with nutraceuticals, beginning with a reference to the points that distinguish them from food supplements or functional foods. The nutraceuticals that are being studied are continually changing, reflecting the evolution of the market, research and the increasing interest of consumers. It's absolutely imperative further research to justify the use of safe and

effective nutraceuticals. In this sense, my main goal is to demonstrate how we can make a clinical study with a nutraceutical.

In my work, I will particularly address a study, that results from a partnership between the University of Aveiro and the University of Coimbra, called *Brassica*. The term defines a kind of plants that includes many vegetables like white and red cabbage, broccoli, cauliflower and Brussels sprouts, which contain high levels of a wide range of bioactive compounds. The cultivation of these plants and industrial processing produces large amounts of organic waste, in particular in the case of broccoli and cauliflower, since only a small part is used. The main objective of the project is to add value to the production of Brassica crops and explore ways to make a good use of the unused parts, including roots, stems and leaves, turning them into valuable products. At the same time, we will be contributing to the reduction of the ecological footprint and the discharge of waste into landfills. As such, this project is also presented as an asset in terms of environmental protection. The idea is to take advantage of the unused parts of these plant species and draw the bioactive compounds likely to exert action. Then we will develop a nutraceutical product, with the potential to be used in dyslipidemic patients, because of its ability to reduce cholesterol levels in these patients. The efficacy and safety of this product have to be properly evaluated in a clinical study with an appropriate design. *Brassica* will be my case study, and the expected result is a study protocol, defining how a clinical research to study Brassica components should be made, in order to test not only its effectiveness, but also its safety.

My work will also describe how this type of compounds should be studied, trying to determine what type of clinical study will be most suitable for testing food extracts. How should food extracts, which are also nutraceuticals, be studied in humans? When are they no longer considered nutraceuticals and should be treated as drugs? These are some of the questions that I will try to answer, taking into account ethical considerations applicable to this situation. The regulation in the area is clearly weak, contrasting with the strong permeability between the different categories of the products; these are limiting factors in nutraceutical research as well as in nutraceutical market placement with a particular health claim. All these conditions make nutraceuticals and related medical research a current topic of high interest and great prospects in the future.

## Introdução

À medida que o mundo gira, a sociedade evolui, o conhecimento é cada vez maior e o acesso à informação mais facilitado. Esse acesso facilitado à informação, muito devido aos *media* e à internet, é um dos vários fatores que contribui para esta evolução. O aumento da literacia e o aumento da escolaridade também são relevantes. Consequentemente, vivemos num mundo em que cada vez nos preocupamos mais com o nosso estado de saúde e a utilização de medicamentos é cada vez maior, particularmente a automedicação. Muitas vezes isto torna-se um problema com grande impacto na saúde pública. Simultaneamente, também a nossa dieta tem evoluído e sofrido alterações, sendo que o padrão de consumo da sociedade se tem vindo a alterar, tentando acompanhar as alterações do estilo de vida.

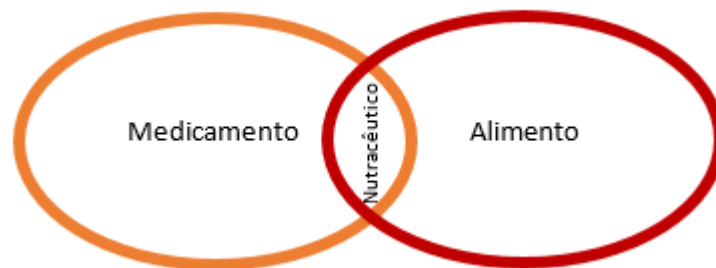
Da mesma forma que aumentou o conhecimento sobre medicamentos verificou-se também um aumento do conhecimento sobre os alimentos, o seu processamento e as insuficiências que cometemos na alimentação, por falta de tempo ou apenas por descuido. Os indivíduos recorrem cada vez mais frequentemente a suplementos alimentares e aos nutracêuticos numa tentativa de compensação, esquecendo-se que o seu uso continuado pode afetar o normal metabolismo do corpo humano.

O acesso aos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) é cada vez mais fácil, criando muitas vezes o hábito do seu consumo, o que vai ter um efeito indireto sobre o consumo dos nutracêuticos. Como os suplementos alimentares e os nutracêuticos são também de acesso livre e, uma vez que são vendidos sob formas farmacêuticas (xaropes, cápsulas, comprimidos, ...), existe uma grande confiança nestes produtos por parte dos consumidores. Existe assim uma fronteira muito permeável que divide medicamentos e alimentos, onde os nutracêuticos podem, em muitas situações, substituir os medicamentos com vantagens na prevenção de doenças e na melhoria do estado de saúde.

Os nutracêuticos representam uma área de grande crescimento da pesquisa biomédica. Ainda assim, a sua definição não reúne consenso na comunidade. A ciência da nutrição tem evoluído ao longo do tempo e cada vez se sabe mais acerca da ação de cada nutriente no nosso organismo. Para além dos nutrientes, reconhece-se ainda que os alimentos são constituídos por algumas substâncias consideradas CB, que podem ser importantes na redução do risco de algumas doenças.

O termo surge da junção das palavras “*Nutrition*” e “*Pharmaceutical*” e foi apresentado pela primeira vez em 1989, pelo Dr. Stephen De Felice, fundador da Fundação para a Inovação em

Medicina. Em 1992, este definiu um nutracêutico como sendo qualquer substância que pode ser considerada um alimento, ou parte de um alimento e fornece benefícios médicos ou de saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças.<sup>1</sup> Apesar de serem entidades completamente distantes, trata-se de um conceito que é utilizado no sentido de mostrar o alimento com ação de medicamento, como se pretende demonstrar esquematicamente na Figura 1. Os nutracêuticos podem ir desde nutrientes isolados, suplementos dietéticos, alimentos produzidos por engenharia genética, produtos à base de plantas e produtos processados, como cereais, sopas e bebidas.<sup>2</sup> É indiscutível que muitas destas substâncias têm funções fisiológicas e atividades biológicas essenciais ao bom funcionamento do nosso organismo.<sup>3</sup>



**Figura 1.** Ilustração do termo “Nutracêutico”. Adaptado de: *Gulati & Ottaway, 2006*

Muito antes ainda do desenvolvimento da disciplina científica da nutrição, já médicos e filósofos como Hipócrates reconheciam a clara relação existente entre os alimentos e a saúde, realçando o importante papel da dieta na saúde individual e pública. Em 460-370 AC, Hipócrates referia “Deixe o alimento ser o seu remédio e o remédio o seu alimento”, afirmando também que as diferenças entre doenças eram o espelho da nutrição e alimentação de cada um.<sup>4</sup> A noção de que os alimentos podiam prevenir ou curar certas doenças foi transversal a diversas culturas e civilizações. Mesmo no tempo dos navegadores, estes usavam citrinos e legumes frescos como arma de combate ao escorbuto, ou apenas para a sua prevenção. Na altura, existia ainda pouca distinção entre alimentos e medicamentos, principalmente devido ao elevado uso de produtos alimentares naturais no tratamento das diversas enfermidades, como acontecia nas antigas culturas gregas, chinesas, indianas e egípcias. A maioria dos conhecimentos que existiam foram sendo adquiridos empiricamente. As primeiras provas científicas surgiram apenas no século XX, quando se isolaram as chamadas vitaminas de vários alimentos. Hoje em dia sabemos que, na sua maioria, as vitaminas são obtidas através dos alimentos, uma vez que o organismo não é capaz de as sintetizar (com

exceção da vitamina K, vitamina D e biotina). Esta descoberta veio dar ainda mais apoio à crença popular do valor terapêutico de alguns alimentos.

As definições de nutracêuticos são muitas e muito variadas. A literatura diz-nos que são CB apresentados na forma farmacêutica (ex.: cápsulas, comprimidos, etc.). Em 1999, Zeisel afirmava que se tratavam de suplementos alimentares que contêm a forma concentrada de um CB de alimento, apresentado separadamente da matriz alimentar e utilizado com a finalidade de melhorar a saúde, em doses que excedem as que poderiam ser obtidas de alimentos.<sup>5</sup> Outras definições propostas dizem-nos que é um produto ou ingrediente, isolado ou purificado a partir de algum tipo de matriz (por exemplo plantas ou alimentos) e que é geralmente disponibilizado como princípio ativo de um medicamento, suplemento alimentar, ou integrado na formulação de alimentos funcionais. São produtos que incorporam com frequência extratos produzidos a partir de alimentos, substâncias sintetizadas ou de vegetais, obtendo-se um produto isolado e/ou purificado a partir de alimentos, que é apresentado ao consumidor com aspeto de medicamento. Desta forma, os indivíduos são expostos a uma maior dose de CB do que aqueles presentes numa dieta normal. De forma simplificada, os nutracêuticos são produtos que contêm uma ou várias substâncias que podem ser usadas na alimentação, mas que após serem isoladas, purificadas e concentradas, são apresentadas ao consumidor com aspeto de medicamentos.<sup>6</sup> De um ponto de vista institucional, a única definição oficial para o conceito de nutracêuticos é a da Farmacopeia do Canadá, que os define como um produto alimentar isolado ou purificado, geralmente vendida sob a forma de produtos farmacêuticos não associadas com os alimentos, e que deve ter benefícios fisiológicos comprovados ou fornecer proteção contra doenças crónicas.<sup>7</sup> Já mais recentemente, em 2005, *Wrick* definia um nutracêutico como sendo “qualquer substância considerada um alimento ou parte de um alimento que tenha um efeito médico ou benéfico na saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças e incluem nutrientes isolados, suplementos alimentares, alimentos geneticamente modificados, suplementos botânicos, e alimentos processados.”<sup>8</sup> Apesar da grande diversidade de definições existentes para este termo, existem dois requisitos essenciais para que possamos considerar que um determinado alimento é um nutracêutico: contribuiu na prevenção e/ou tratamento de uma determinada doença (benefícios fisiológicos) e reduz o aparecimento de doenças crónicas.

Para além de estarmos perante uma grande variedade de definições para os Nutracêuticos, temos ainda a problemática de haver grandes diferenças entre os vários países, sendo uma categoria de produtos com muitos sinónimos usados internacionalmente. Para dificultar mais



ainda a situação, trata-se de um setor em que não há nenhuma legislação aplicável diretamente aos nutracêuticos, fazendo com que na Europa, acabem por ser considerados medicamentos, alimentos funcionais ou suplementos alimentares, dependendo do fabricante e do modo de colocação do produto no mercado. A comercialização de nutracêuticos e suplementos alimentares não se processa de igual modo nos diferentes países, verificando-se diferentes graus de exigência. Existem países que exigem a comprovação de determinada ação fisiológica através de ensaios clínicos, o que faz com que a sua avaliação seja semelhante à dos medicamentos, exigindo-se uma aprovação para que possam ser comercializados. Noutros, apenas é exigido o registo do produto junto das autoridades competentes, como é o caso de Portugal. Não obstante, para serem comercializados, tem de haver forma de provar a sua eficácia, segurança e qualidade, parâmetros igualmente exigidos nos medicamentos. Por outro lado, existem diferenças acentuadas entre ambos: os medicamentos são utilizados para curar ou melhorar uma determinada patologia, na maioria das vezes, específica. Os nutracêuticos são usados geralmente com menor especificidade de efeito, com uma duração de utilização diferente e é comum serem consumidos concomitantemente aos medicamentos com o intuito de melhorar o bem-estar do indivíduo. Torna-se também imperativo tentar uniformizar e harmonizar a regulamentação existente na área, contribuindo para a proteção dos consumidores ao permitir-lhes fazer uma escolha informada, mas auxiliando também os próprios profissionais de saúde. Assim, assegurar-se-ia também que os profissionais na área tinham as informações necessárias sobre benefícios, riscos e qualidade, sendo capazes de aconselhar os pacientes de forma adequada sobre as alegações de saúde enunciadas nos produtos.<sup>9</sup>

No meu trabalho irei assumir uma definição simplificada de nutracêutico. Nutracêutico é um alimento, com funções fisiológicas no organismo, que contribui na prevenção ou no tratamento de uma doença e que reduz o aparecimento de doenças crónicas, devido ao seu uso com carácter preventivo. Apesar de ser um produto isolado ou purificado a partir de um alimento, é um produto que pode ser apresentado ao consumidor sob outras formas, até mesmo farmacêuticas.

Certo é que estamos perante uma era de novos produtos que prometem novas soluções para diversos problemas de saúde, prevendo-se que tenham um papel importante no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Por esta razão, tem surgido um grande interesse nestas substâncias devido ao potencial nutricional, de segurança e efeitos terapêuticos. A investigação desenvolvida em diversas áreas, por diferentes profissionais,

comprova os efeitos terapêuticos e farmacológicos de alguns componentes dos alimentos, incentivando a sua utilização. Seja uma multinacional farmacêutica, uma empresa ligada à nutrição, uma multinacional de alimentos ou uma pequena empresa dedicada à venda de vitaminas, todas elas reconhecem as novas tendências e estão cientes da crescente preocupação do consumidor com a sua saúde. Verifica-se assim a proliferação destes produtos de valor agregado voltados não só para ajudar o consumidor a manter-se saudável, mas também auxiliando na prevenção/tratamento de várias doenças que variam desde doenças cardiovasculares a outras como o cancro.

Estudos recentes têm mostrado resultados promissores para estes compostos em várias complicações, mas há ainda um longo caminho a percorrer neste sentido. *De Felice* estimava “que apenas um por cento dos produtos agora no mercado foram testados em ensaios clínicos”.<sup>10</sup> Este problema agrava-se ainda com os resultados contraditórios que se verificam em diferentes estudos. Muitas vezes, devido à falta de evidência clínica de estudos em animais e humanos é impossível os consumidores compreenderem as alegações funcionais que acompanham a embalagem de muitos nutracêuticos. Para além disso, muitos fabricantes não têm os recursos necessários para suportar os custos da investigação e dos ensaios clínicos, nem lhes compensa por terem uma margem de lucro muito menor do que no caso dos medicamentos e porque estes produtos geralmente podem ser comercializados sem a aprovação dos órgãos que regulam os medicamentos.

Torna-se então imperativo falar sobre o conceito de investigação clínica. A investigação clínica, segundo a definição do *National Institute of Health* (NIH), é a investigação que envolve diretamente uma determinada pessoa ou grupo de pessoas, ou que utiliza materiais de seres humanos, tais como o seu comportamento ou amostras de seus tecidos.<sup>11</sup> Existem diversos tipos de investigação clínica, sendo todos eles abrangidos pela Lei nº 21/2014, de 16 de abril (Lei da Investigação Clínica- LIC). De acordo com a LIC, um estudo clínico é “qualquer estudo sistemático, conduzido no ser humano ou a partir de dados de saúde individuais, destinado a descobrir ou a verificar a distribuição ou o efeito de fatores de saúde, de estados ou resultados em saúde, de processos de saúde ou de doença, do desempenho e, ou, segurança de intervenções ou serviços de saúde, através de aspetos biológicos, comportamentais, sociais ou organizacionais” incluindo, nomeadamente, estudos clínicos de regimes alimentares ou estudos clínicos de terapêutica não convencional.<sup>12</sup> Os estudos clínicos de regimes alimentares compreendem estudos destinados a “testar o efeito, aceitabilidade e segurança na saúde da intervenção com regimes alimentares, incluindo alimentos, nutrientes e suplementos,

processos de fabrico, processamento, transporte, armazenamento e distribuição, padrões e práticas de consumo, conhecimento e educação”. Sabemos também que os estudos clínicos que melhor evidência fornecem são os Ensaio Clínicos (EC): “investigação conduzida no ser humano, destinada a descobrir ou a verificar os efeitos clínicos, farmacológicos ou outros efeitos farmacodinâmicos de um ou mais medicamentos experimentais, ou a identificar os efeitos indesejáveis de um ou mais medicamentos experimentais, ou a analisar a absorção, a distribuição, o metabolismo e a eliminação de um ou mais medicamentos experimentais, a fim de apurar a respetiva segurança ou eficácia”.<sup>12</sup> O facto de não haver uma legislação que regule diretamente os nutracêuticos faz com que seja difícil estabelecer alguns limites e saber que evidência é suficiente ou não para suportar a alegação que fazemos para o nosso produto. Para além disso, existem ainda outras barreiras à investigação clínica com estas substâncias.

Apesar dos recentes avanços nesta área, ainda não existe prova suficiente de alguns efeitos terapêuticos, nem conhecimento dos mecanismos de ação subjacentes. Assim, este é um tema que gera ainda muita controvérsia na sociedade. Como tal, neste trabalho irei apresentar uma visão geral do estatuto atual dos nutracêuticos e da forma como se inserem no mercado alimentar e/ou farmacêutico. No final, deverei ser capaz de responder qual a melhor forma de realizar investigação clínica com um nutracêutico, apresentando um estudo de caso, o estudo *Brassica*. A partir deste estudo, irei demonstrar como se pode fazer investigação clínica dos componentes do estudo *Brassica*, com vista a comprovar a sua eficácia e segurança.

## Enquadramento Teórico

Os nutracêuticos são, na sua maioria, componentes de plantas. As plantas produzem diversos metabolitos, sendo que para explicar a ação farmacológica de alguns nutracêuticos, importa focarmo-nos nos metabolitos secundários. Estes pertencem a diferentes grupos químicos e possuem propriedades farmacológicas, muitas vezes com interesse. De entre os vários metabolitos, destacam-se alguns, como os flavonóides, tocotrienóis, fitoesteróis, componentes de crucíferas, fitoestrogénios, carotenóides, entre outros.

Os componentes dos alimentos têm sido alvo de vários estudos científicos, publicados em revistas de renome que demonstram os efeitos farmacológicos de alguns deles. Assim sendo, estas substâncias acabam por ser úteis em diversas situações patológicas, nomeadamente aterosclerose, doenças cardiovasculares, cancro, entre outros.

Como tal, os nutracêuticos têm sido um alvo crescente na investigação clínica. A propósito deste tema, irei incluir dados de um estudo, denominado *Brassica*, realizado com compostos extraídos de brócolos e couves para serem testados em doentes com dislipidémia. O termo que dá nome ao estudo representa uma espécie de plantas que inclui vários vegetais como couves brancas e vermelhas, brócolos, couve-flor ou couves de Bruxelas, com teores elevados de uma grande gama de CB. O cultivo e processamento industrial destas plantas produz uma elevada quantidade de resíduos orgânicos, em particular no caso dos brócolos e couve-flor, visto que só uma pequena parte é utilizada. O principal objetivo do projeto é agregar valor à produção de culturas de *Brassica* e explorar formas de valorização das partes não utilizadas, nomeadamente raízes, caules e folhas, convertendo-os em produtos de valor. Simultaneamente, iremos estar a contribuir para a redução da pegada ecológica e da descarga de resíduos em aterros. Como tal, este projeto apresenta-se também como uma mais-valia em termos de proteção ambiental. O que se pretende é então aproveitar as partes não utilizadas destas espécies de plantas e delas extrair os CB passíveis de exercerem ação. Posteriormente, desenvolver-se-á um produto nutracêutico, com potencial para ser utilizado em doentes dislipidémicos devido à capacidade de reduzir os níveis de colesterol nestes doentes. A eficácia e segurança deste produto terão de ser devidamente avaliadas num estudo clínico com um *design* apropriado.

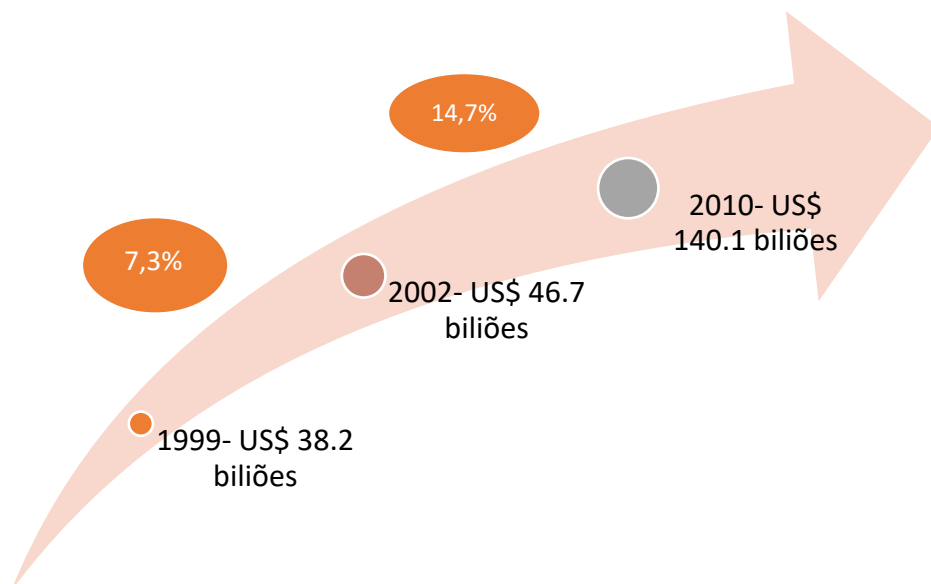
## A “Revolução” dos Nutracêuticos

A revolução dos nutracêuticos ocorreu por volta de 1980, como resultado do maior reconhecimento da ligação entre saúde e nutrição, envolvendo o conceito dos nutracêuticos. Para além disso, os riscos associados aos medicamentos levaram a que se considerasse que os nutracêuticos e alimentos funcionais eram alternativas seguras e úteis na manutenção do estado de saúde. Foi nesta altura que se verificou igualmente um aumento significativo da publicação de estudos clínicos em revistas médicas que comprovavam os benefícios de compostos como cálcio, fibra, óleo de peixe, entre outros. Surgiu assim uma nova era da Medicina, em que, pela primeira vez, os próprios médicos começaram a incentivar e informar os colegas e consumidores sobre estas substâncias através dos media. Esta revolução marcou assim a entrada dos nutracêuticos na prática clínica, dando origem a uma necessidade cada vez mais urgente de racionalizar o desenvolvimento científico e médico desses produtos, a sua disponibilidade comercial e a comunicação de informações sobre os mesmos aos médicos e consumidores.<sup>1, 13</sup>

Historicamente, a utilização de alimentos com objetivo de redução do risco de doenças teve início no Japão em 1980, por incentivo de cientistas do Ministério da Saúde e Bem-Estar. Em 1990, criou-se uma nova categoria de alimentos, denominada FOSHU (*Foods for Specified Health Use*), que englobava alimentos com um efeito específico sobre a saúde devido aos seus constituintes químicos, sem riscos de saúde ou higiene. O objetivo era promover alimentos que contribuíssem para a saúde da população, sendo definidos como “alimentos projetados para suprir funções relacionadas aos mecanismos de defesa do organismo, controlo do ritmo corporal e prevenção e recuperação de doenças”.<sup>14</sup> De acordo com o Ministério da Saúde e Bem-Estar Japonês, os FOSHU são alimentos dos quais se espera um determinado efeito na saúde devido aos seus componentes relevantes ou alimentos, dos quais os alérgenos foram removidos ou alimentos, onde o efeito de tal adição ou remoção foi cientificamente avaliadae foi concedida permissão para fazer reivindicações, a respeito dos seus efeitos benéficos para a saúde.<sup>15</sup> O interesse do Japão nos alimentos funcionais despoletou também o interesse nestes produtos por toda a Europa.

Surgiu assim uma nova geração de alimentos, que fez com que a interface entre alimentos e medicamentos se tornasse cada vez mais permeável. A força crescente dos mercados forçou, posteriormente, os governos a aprovarem leis relacionadas com as alegações.

Em relação à dimensão do mercado, o total do mercado alimentar dos Estados Unidos da América (EUA) em 1992 representava \$ 503 000 000 000, que ultrapassava em muito o mercado farmacêutico e o mercado dos MNSRM. Cerca de 50% do mercado alimentar inclui alimentos que são usados pelos consumidores por razões nutracêuticas. A partir destes dados, previa-se que o mercado dos nutracêuticos nos EUA alcançasse os \$250 000 000 000.<sup>1</sup> Só na última década, as maiores indústrias do setor cresceram 20%, trazendo muitos novos produtos para o mercado.<sup>16</sup> Em 2002, os nutracêuticos representavam o segmento de crescimento mais rápido da indústria dos alimentos. Estimava-se que o mercado representasse 30 bilhões de dólares, crescendo 5% a cada ano.<sup>17</sup> De 1999 a 2002, a indústria dos nutracêuticos cresceu a uma média Taxa de Crescimento Anual de 7,3%, enquanto entre 2002 e 2010, essa taxa duplicou para 14,7%.<sup>18</sup> A Figura abaixo pretende representar esse crescimento, que é exepetável que se mantenha comparável.<sup>19</sup>



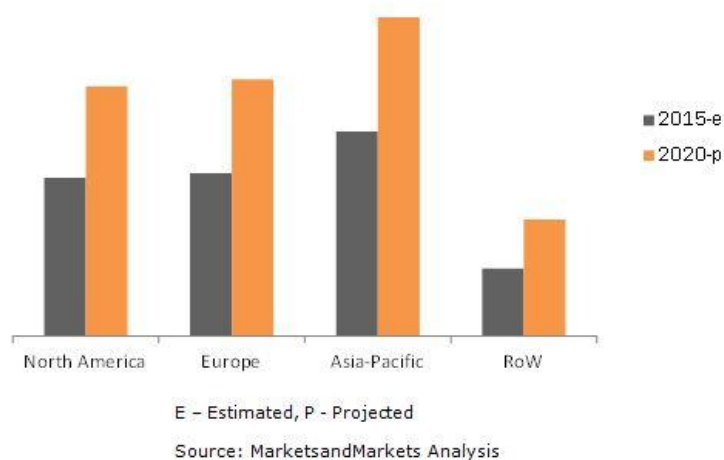
**Gráfico I.** Crescimento do mercado dos nutracêuticos desde 1999 até 2010. Adaptado de: *Frost & Sullivan (2011). Global Nutraceutical Industry: Investing in Healthy Living.*

Em 2001, uma pesquisa realizada pela *Harris Interactive* nos EUA, revelou resultados surpreendentes quanto a estes novos agentes da nutrição. Segundo o estudo, 72% dos inquiridos nos EUA tomam suplementos para se sentir melhor, 67% para prevenir patologias, 50% para aumentar o tempo de vida, 37% para aumentar musculação e força, 12% para manutenção do peso corporal e 33% por aconselhamento de um profissional.<sup>10</sup> Adicionalmente, 53% dos inquiridos indicou ainda que os nutracêuticos ofereciam benefícios não alcançáveis através de medicamentos, enquanto 56% referiram que estes ofereciam

benefícios comparáveis com os medicamentos, mas com menos efeitos adversos (*Dietary Supplement Education Alliance, 2001*).<sup>10</sup>

Em 2007, as estimativas das vendas em todo o mundo rondavam US \$ 200 bilhões com um crescimento entre 10 a 15% por ano.<sup>20</sup> Na sua maioria, o mercado dos nutracêuticos localiza-se na Europa, EUA e Japão, no entanto, a percentagem de mercado da Índia tem verificado também grande crescimento. Um relatório de março de 2012, previa que só neste país o mercado crescesse para US \$ 2.731 milhões em 2016 com uma taxa anual de crescimento de 13%, enquanto em 2011 se situava apenas nos \$ 1.480 milhões. No mercado nutracêutico indiano incluem-se também os alimentos funcionais e suplementos alimentares, sendo que segundo outro relatório, os alimentos funcionais serão a categoria com crescimento mais rápido, seguidos dos suplementos, que atualmente representam a maior categoria do mercado, com 64%.<sup>21</sup> Uma empresa que efetua estudos de mercado (*Market&Market*), prevê que o mercado dos nutracêuticos atinja cerca de US \$ 38,7 bilhões, com uma taxa de crescimento anual de cerca de 7,2% entre 2015 e 2020. O gráfico abaixo representa o crescimento previsto durante esses 5 anos em diferentes continentes.<sup>22</sup>

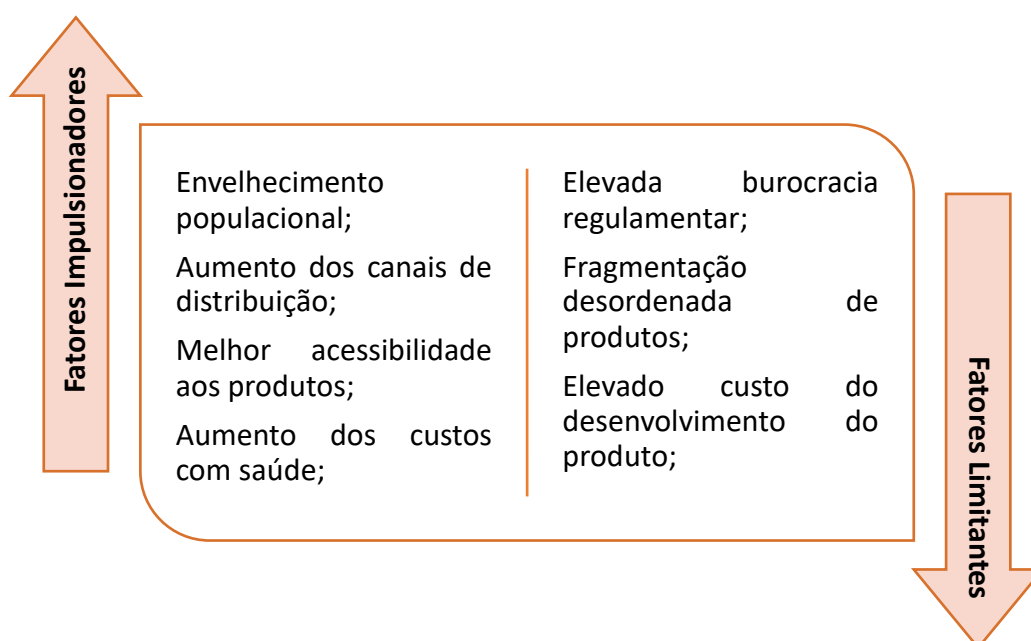
Nutraceutical Ingredients Market Size, by Region, 2015–2020 (USD Million)



**Gráfico 2-** Estimativa do crescimento do mercado nutracêutico, por região, entre 2015 e 2020.

O crescimento do mercado não é comum a todos os países, sendo possível diferenciar geograficamente alguns países como fatores motores para o desenvolvimento. O EUA e Japão são a força motriz atual no sector, observando-se cada vez mais a emergência de países como a China, Índia e Brasil.<sup>18</sup> A nível europeu, a tendência de crescimento também tem sido positiva, com fatores impulsionadores e condicionantes, como demonstrado na tabela abaixo. Alemanha, França e Itália são os mercados chave, seguindo-se o Reino Unido e

Suíça. Os restantes países ocupam 24% do mercado, totalizando em 2010 cerca de US \$ 35 bilhões.<sup>19</sup> Falando mais especificamente do mercado português, facilmente percebemos que é um mercado mais pequeno relativamente a outros países europeus. Em 2006, a ASAE realizou um estudo populacional que forneceu alguns dados sobre o consumo dos suplementos alimentares no nosso país.<sup>23</sup> Segundo estes dados, 81% dos inquiridos consumia à data ou já tinha consumido algum tipo de suplemento alimentar, 72% dos quais havia consumido no último ano. Mais de metade, cerca de 55%, havia tomado conhecimento dos mesmos através dos profissionais de saúde, seguindo-se colegas/família e os media. À data, o local preferencial de compra eram as farmácias.



**Tabela I.** Fatores impulsionadores e limitantes do crescimento do mercado europeu dos nutracêuticos. Adaptado de: *Frost & Sullivan (2011). Global Nutraceutical Industry: Investing in Healthy Living.*<sup>23</sup>

Não é possível determinar a dimensão exata destes mercados, uma vez que, por exemplo, os suplementos alimentares são muitas vezes considerados como parte do universo dos nutracêuticos. Independentemente dos números exatos, observa-se que o interesse nos nutracêuticos está a crescer rapidamente em todo o mundo. Há uma década atrás, a maioria das pessoas tomava medicamentos ou suplementos, verificando-se agora um *crossover* crescente entre ambos, onde até os médicos recomendam muitas vezes produtos naturais como primeira opção antes de prescrever medicamentos. Esta alteração de pensamento e opção dos consumidores justifica-se pelo aumento da sua preocupação com a saúde e bem-estar, bem como pela deceção com as alternativas terapêuticas que lhes são propostas. Dado o enorme interesse do consumidor em produtos nutracêuticos, não é de estranhar que seja



um tema com cada vez mais intervenientes: indústrias farmacêuticas, empresas de biotecnologia, investigadores académicos, empresas de alimentação saudável e indústrias alimentares.

Esta revolução levou a que a indústria alimentar também se tornasse mais orientada para a investigação, ganhando características que a assemelham mais à indústria farmacêutica. Nos EUA, a indústria alimentar atualmente gasta menos de 0,5% do seu produto interno bruto em investigação e desenvolvimento, ao passo que a indústria farmacêutica tem gastos superiores a 10%.

Consequentemente, surgiram ainda outros conceitos importantes, cada vez mais presentes. A **nutrigenómica**, que se dedica ao estudo da interação dos componentes dietéticos com o genoma, bem como das alterações proteómicas e metabólicas resultantes. Paralelamente, surge o conceito de **nutrigenética**, que se dedica à compreensão das diferenças na resposta a componentes da dieta, baseadas nos genes. A área da nutrigenómica tem vindo a expandir-se na última década, devido à disponibilidade de técnicas que podem dissecar a interação dos nutrientes com o genoma, consequentemente modulando o seu efeito através de fatores de transcrição ou fenómenos relacionados com a membrana. Com esta nova ciência, é possível o desenvolvimento de nutracêuticos compatíveis com a resposta de cada um.<sup>24</sup> Assim, no futuro, vamos ver a emergência de sopas nutracêuticas, carne, pão e salsichas nutracêuticas processadas, sendo que muitos desses alimentos podem ser geneticamente produzidos.<sup>3</sup> Não obstante, são também necessários mais estudos nesta área.

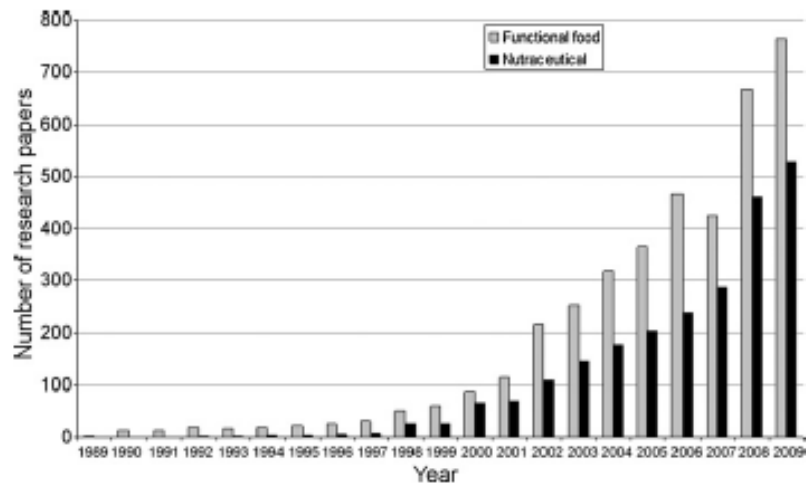
Muitos consumidores acreditam que os produtos de origem natural são efetivos e são alternativas mais seguras do que os medicamentos. Este raciocínio nem sempre é fácil de compreender, uma vez que continua a haver uma dicotomia ilusória nos critérios e evidência necessários para a aprovação e monitorização de um fármaco, em comparação com um produto natural de saúde. Os critérios necessários para que um fármaco seja colocado no mercado nem são comparáveis aos exigidos a novos agentes da nutrição, por não se aplicarem graus semelhantes de escrutínio e controlo. Este ponto é atraente para os fabricantes, que assim podem vender um produto com benefícios de saúde implícitos sem ter que obter a evidência científica que seria necessária se fosse vendido como um medicamento. No entanto, como em tudo há também o reverso da moeda. Os consumidores iludem-se muito ao pensar que um produto, só por ser natural, vai ser mais seguro e não provocar efeitos adversos. A indústria aproveita-se muito desta fragilidade para incutir-lhes ainda mais esta linha de pensamento. No entanto, sabemos que por mais benéfico que um composto possa ser para o

nosso organismo, potencialmente este pode levar a efeitos secundários prejudiciais e alterar o metabolismo do corpo humano no caso de não ser usado com consciência.

Apesar de serem vistos como agentes bastante promissores na melhoria do estado de saúde, a maioria alega benefícios terapêuticos que não estão comprovados cientificamente. Assim, no que diz respeito à promessa dos nutracêuticos, eles são geralmente reconhecidos de duas maneiras: nutracêuticos potenciais e nutracêuticos estabelecidos, tendo em conta se existe ou não evidência que comprove a sua ação. Assim, os nutracêuticos estabelecidos têm dados clínicos suficientes para demonstrar os benefícios prometidos ou rotulados. Um nutracêutico potencial constitui uma promessa de um benefício médico ou de saúde em particular e só se tornará um nutracêutico estabelecido quando tivermos dados clínicos suficientes para se comprovar tal benefício.<sup>1</sup> A esmagadora maioria dos nutracêuticos ainda se encontram na categoria dos potenciais, esperando tornar-se estabelecidos quando dispuserem dos dados clínicos necessários. Este facto mostra, uma vez mais, a necessidade de aumentar a investigação na área, principalmente a investigação clínica. A crescente investigação que já se verifica nos últimos anos, tem já dado suporte científico não só a novos nutracêuticos, mas também a compostos já comercializados sob o pressuposto de serem benéficos.

Para poder acompanhar a revolução nutracêutica, a indústria alimentar terá que dar um passo gigante nesta área desconhecida, com uma melhor avaliação e investigação clínica nestes novos produtos. Nos EUA, em 1994, a Fundação para a Inovação na Medicina apresentou uma proposta de um Ato para a Investigação e Desenvolvimento de Nutracêuticos (*Nutraceutical Research and Development Act- NRDA*), tentando responder aos novos problemas económicos e regulamentares que emergiram com a revolução. Este ato inclui um mecanismo para criar direitos exclusivos para reivindicações médicas ou de saúde para as empresas que investem na pesquisa e desenvolvimento de nutracêuticos, bem como a criação de meios adequados para a revisão, aprovação e regulação destes novos produtos e das suas alegações. De um ponto de vista económico compreendemos que as indústrias têm um grande interesse em fazer alegações de saúde de forma a aumentar as suas vendas e confiança dos seus clientes.<sup>1</sup>

O crescente interesse neste campo, acompanha o crescimento exponencial dos trabalhos de pesquisa que lidam com nutracêuticos e alimentos funcionais nos últimos 20 anos, como mostrado no gráfico abaixo.



**Gráfico 3.** Artigos de investigação na área dos nutracêuticos/alimentos funcionais de 1989 a 2009. (ISI Web of Knowledge, Copyright 2010 Thomson Reuters)

## **Nutracêuticos e Dislipidémias**

Uma das características dos nutracêuticos e o principal fator que os torna atraentes aos olhos dos consumidores é a sua utilidade na redução dos fatores de risco associados a várias doenças crónicas. Esse risco está muitas vezes associado à ocorrência de metabolitos secundários não-nutrientes (fitoquímicos) que têm capacidade de exercer atividades biológicas relevantes, metabolitos esses obtidos através de alimentos de origem vegetal. Apesar de terem baixa potência como CB quando comparados com produtos farmacêuticos, através da sua ingestão regular e em quantidades significativas através da dieta podem, a longo prazo, ter um efeito fisiológico perceptível. Esses efeitos estão fortemente relacionados com as suas propriedades antioxidantes, ou seja, a capacidade de remover os radicais livres prejudiciais. A maioria das doenças degenerativas, relacionadas com a idade, estão associadas com processos oxidativos, nos quais os radicais livres são os atores principais. A aterosclerose é um exemplo, onde os radicais livres desempenham um papel determinante ao oxidarem o colesterol LDL e contribuírem assim para o desenvolvimento de uma placa aterosclerótica.<sup>25</sup>

O papel dos nutracêuticos em diversas patologias cardiovasculares tem já sido alvo de vários estudos e publicações. Estima-se que as três principais causas de morte nos países civilizados a nível global incluam hipertensão, tabaco e hipercolesterolemia, todos eles fatores de risco para a doença cardiovascular. Talvez por isso esta seja considerada a principal causa de morte globalmente, conduzindo a 17,5 milhões de morte em 2012, o que representam 31% das mortes a nível global.<sup>26</sup> Em Portugal, os dados mais recentes da Fundação Portuguesa de Cardiologia indicam que em 2013, 31505 pessoas, na sua maioria mulheres, morreram devido a doenças do aparelho circulatório, principal causa de morte no nosso país.<sup>27</sup> Prevê-se que epidemiologicamente a situação piore com o envelhecimento da população, o aumento da obesidade e a insuficiente aplicação de estratégias de prevenção e educação da população, podendo atingir proporções pandémicas.<sup>28</sup> Trata-se de uma doença progressiva que se inicia por um ou vários fatores de risco, que numa fase mais avançada da doença se traduzem na lesão de órgãos, falência dos mesmos e morte. Assim, percebemos que existem duas importantes formas de atuar contra esta doença: intervindo em alguma parte da cadeia de eventos, quebrando o processo patofisiológico e conferindo proteção cardiovascular ou fazendo uma avaliação e tratamento do conjunto de fatores de risco de cada doente, não considerando cada fator isoladamente. Os fatores de risco vão desde hipertensão, obesidade, diabetes mellitus a outros fatores como uma alimentação fraca em fruta e vegetais, dislipidémias, tabaco, stress e sedentarismo. 70% das pessoas em risco apresenta múltiplos

fatores, que atuam sinergicamente no aumento do risco para a doença. É notório o crescente interesse principalmente nos flavonóides, fitoquímicos fenólicos, presentes em muitas frutas, vegetais e cereais. Estes compostos possuem propriedades anticancerígenas e antiinflamatórias, bem como efeitos benéficos em doenças neurodegenerativas e cardiovasculares. Para além disso têm elevada capacidade antioxidante, protegendo as células dos efeitos das espécies reativas de oxigénio e contribuindo para a manutenção do equilíbrio redox intracelular. Os valores de referência para o colesterol são ligeiramente variáveis entre fontes, mas nunca com grandes discrepâncias. Abaixo apresenta-se uma tabela com os valores de referência estabelecidos pela Fundação Portuguesa de Cardiologia.<sup>29</sup>

Parâmetro	Valores Recomendados pela Fundação Portuguesa Cardiologia
Colesterol Total	< 190 mg/dl
Colesterol LDL	< 115 mg/dl
Colesterol HDL	>40 mg/dl (homem) e > 45 mg/dl (mulher)
Triglicéridos	< 150 mg/dl

**Tabela 2.** Valores recomendados para o Colesterol definidos pela Fundação Portuguesa de Cardiologia.

Dislipidémia é o termo que designa todas as anomalias quantitativas ou qualitativas dos lípidos (gorduras) no sangue. As dislipidémias podem ser de vários tipos, podendo manifestar-se por um aumento dos triglicéridos, por um aumento do colesterol, por uma combinação dos dois fatores anteriores- dislipidémia mista- e ainda por uma redução dos níveis de HDL (o chamado “bom” colesterol). Nos dias que correm, a dislipidémia é um dos mais importantes fatores de risco da aterosclerose e outras doenças cardiovasculares, a principal causa de morte dos países desenvolvidos, incluindo Portugal. Qualquer tipo de dislipidémia representa, por esta razão, um importante fator de risco cardiovascular, uma vez que a gordura acumulada nas paredes das artérias pode levar à obstrução parcial ou total do fluxo sanguíneo que chega ao coração e ao cérebro.<sup>29</sup>

A dislipidémia é um tipo de hiperlipoproteinemia resultante de alterações metabólicas que envolvem aumentos das lipoproteínas de transporte. Estas lipoproteínas são partículas esféricas de elevado peso molecular presentes no plasma. Uma vez que os lípidos não se

misturam facilmente no plasma, as lipoproteínas são as responsáveis pelo seu transporte. A parte proteica é chamada de apoproteína, enquanto o núcleo contém a parte lipídica, que é formada por colesterol, triglicerídeos e fosfoglicerídeos.

O plasma humano contém 5 lipoproteínas diferentes, que diferem umas das outras na composição lipídica, nas apoproteínas, tamanho, densidade e na mobilidade eletroforética. São as seguintes:<sup>30</sup>

- Quilomicra: Têm como função transportar do intestino para o fígado a gordura de origem alimentar. Possuem muito mais lípidos do que proteínas, o que as torna menos densas do que o plasma sanguíneo, flutuando nesse líquido (1-2% proteínas; 85% de triacilgliceróis).
- VLD (*very low density*): São lipoproteínas de grande tamanho, porém menores do que as quilomicra, sintetizadas no fígado. Este tipo de lipoproteína tem como função transportar os triglicerídeos endógenos e o colesterol para os tecidos periféricos, onde serão armazenados ou utilizados como fontes de energia.
- IDL (*low intermediate density lipoprotein*): São lipoproteínas de densidade intermédia, resultantes do metabolismo das VLD, razão pela qual são também chamadas de VLD remanescentes.
- LDL (*low density lipoprotein*): as LDL representam um dos tipos de colesterol que pode ser mais prejudicial ao organismo. Tratam-se de uma classe de lipoproteínas de baixa densidade compostas majoritariamente por ésteres de colesterol. São o maior reservatório de colesterol das células extra-hepáticas, que através de recetores fazem endocitose das LDL. Depois, o colesterol é utilizado pelos diferentes órgãos para produzir hormonas, ácidos biliares e na síntese de membranas de colesterol. Estas levam o colesterol onde ele é necessário, porém, se for transportado mais colesterol do que as células necessitam e este não for utilizado, acaba por ser depositado nas artérias sob a forma de placa. Esta placa pode causar bloqueios e leva ao endurecimento das artérias, provocando um quadro de aterosclerose. Por esta razão, as LDL são conhecidas como “mau colesterol”. A apoproteína B-100 é o principal constituinte proteico desta lipoproteína, sendo que é a responsável pelo transporte dos lípidos para a parede das artérias, contribuindo para o aparecimento de aterosclerose.
- HDL (*high density lipoprotein*): as HDL são uma classe de lipoproteínas de alta densidade, que transportam o colesterol, nomeadamente o excesso de colesterol das células do

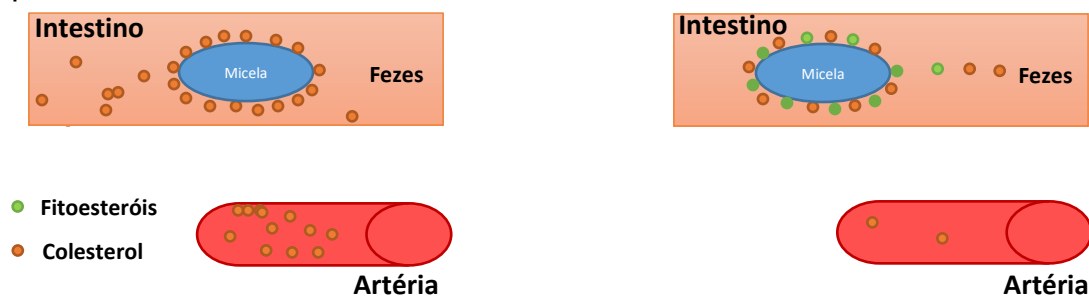
organismo para o fígado, onde depois é processado e eliminado. Têm assim como principal função a remoção do colesterol das células periféricas. São conhecidas como “bom colesterol”, porque contrariamente às LDL, níveis elevados de HDL podem reduzir a deposição de placa arteriosclerótica nas artérias. A apoproteína A-I é o principal constituinte proteico desta lipoproteína.

Facilmente percebemos que a redução do colesterol, e principalmente do volume de LDL no plasma sanguíneo, é uma forma de prevenir patologias cardiovasculares. O aumento das LDL pode ser resultado de diversas condições, como a *diabetes mellitus*, obesidade, mas também do comportamento do ser humano, nomeadamente no que respeita a erros alimentares e ao sedentarismo cada vez mais acentuado.

Os nutracêuticos podem também desempenhar um papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares, particularmente em doentes com dislipidémias. O maior fator de risco é o colesterol LDL, com 25% da população adulta a apresentar níveis fora dos valores de referência. O risco de desenvolver doença cardiovascular é diretamente proporcional aos níveis de LDL no sangue.<sup>28</sup> Uma meta-análise de *Baigen et al.* demonstrou que a redução de 1,0 mmol/L de LDL corresponde a uma diminuição de 22% da morbidade e mortalidade por doenças CV.<sup>31</sup> As *guidelines* atuais salientam a importância de uma intervenção no estilo de vida das pessoas que sofrem de dislipidémias, nomeadamente ao nível da sua alimentação, mas também no combate ao sedentarismo. As alterações ao nível da dieta deverão passar pela redução na quantidade de nutrientes que afetem negativamente o perfil lipídico, ao mesmo tempo que se incentiva o consumo de alimentos que o favoreçam. Esses nutrientes podem ser naturalmente ingeridos na nossa dieta através do aumento do consumo de alimentos, tais como peixes, nozes, legumes e frutas, mas para uma ingestão "terapêutica" de nutrientes saudáveis, por vezes é útil complementar a nossa dieta com alimentos enriquecidos ou nutracêuticos.<sup>32</sup> Segundo a literatura, existem mais de 40 nutracêuticos com suposto efeito benéfico sobre o metabolismo lipídico. Apesar disso, nem sempre os estudos realizados com esses nutracêuticos têm as metodologias mais adequadas em termos de *design*, população e seleção de *endpoints*.<sup>33</sup> Derivados de soja, fibras, fitoesteróis e fitoestanois, policosanol, levedura vermelha do arroz ou berberina são algumas das várias substâncias já estudadas em doentes com disfunções nos níveis de colesterol. Sabemos que o tratamento base para doentes com esta condição deve passar por uma intervenção não-farmacológica e assim sendo, os nutracêuticos com capacidade de baixar o colesterol parecem encontrar um lugar na manutenção da saúde destes doentes. Para além disso, os nutracêuticos podem ser usados

como recurso de segunda linha quando o tratamento farmacológico não está recomendado, mas também como uma primeira opção em doentes que ainda apresentam um risco cardiovascular reduzido, ou como alternativa em doentes que são intolerantes a Estatinas, o primeiro recurso nesta patologia.

Os fitoesteróis são agentes com ação comprovada na redução do colesterol. Os esteróis vegetais vão bloquear a absorção do colesterol a nível intestinal, o que leva a que uma maior quantidade de colesterol seja eliminada pelo organismo, conforme mostra a figura abaixo apresentada.



**Figura 2.** Esquema representativo do modo como os fitoesteróis bloqueiam a incorporação do colesterol em micelas.

Tal como indicado por *Haslam* numa referência aos fitoquímicos, “houve um grande aumento no interesse na nossa capacidade de compreender a importância dos polifenóis em áreas tão diversas como a agricultura, a ecologia e seleção de alimentos, alimentos e nutrição, bebidas, medicamentos naturais, pigmentação oral, colas e vernizes naturais e os métodos antigos para o fabrico de couro”. As diversas indústrias afetadas por um maior conhecimento de fitoquímicos são delineadas nesta citação.<sup>34</sup> Estes compostos ocorrem naturalmente em algumas plantas e são muito usados em medicina e também na área dos produtos cosméticos. Podemos encontrar fitoesteróis em alimentos como as nozes, semente de girassol, soja, canola, trigo, milho, feijões, abacate, legumes e verduras como os brócolos e as couves, usadas no desenvolvimento do produto-teste no estudo *Brassica*. A sua ação ao nível da redução do colesterol ocorre porque estes eliminam a sua absorção e facilitam a eliminação fecal, quando ingeridos numa dose superior a 0,15g por dia. Numa dieta normal consomem-se 200-400mg de esteróis vegetais por dia, enquanto num regime vegetariano o consumo sobe para cerca de 800mg diariamente. O uso de esteróis vegetais foi aprovado em 2000 pela União Europeia (EU), pela *Food & Drug Administration* (FDA) nos EUA e também noutros locais como o Brasil, Nova Zelândia e Austrália.<sup>35</sup> Do colesterol alimentar que diariamente ingerimos, sensivelmente 50% é absorvido e o restante é



excretado. Para ser absorvido, o colesterol forma micelas em conjunto com lipoproteínas que facilitam a sua absorção. Os esteróis vão ocupar na micela o espaço destinado ao colesterol, levando à sua precipitação e conseqüente excreção. Os esteróis absorvidos através das micelas são rapidamente excretados, permanecendo muito pouco tempo no organismo. Vários estudos comprovam já os seus benefícios: um estudo realizado em dupla ocultação recorreu a doentes hipercolesterolémicos divididos em dois grupos, no qual um dos grupos ingeria margarina enriquecida com fitoesteróis (3g/dia) e o outro uma margarina não adicionada. Passadas oito semanas, mediram-se novamente os níveis de colesterol, sendo que o LDL diminuiu 0,24g/l no grupo com a margarina adicionada, enquanto no outro grupo a redução foi de apenas 0,1g/l. O colesterol total sofreu uma redução de 0,27g/l e 0,11g/l, respetivamente. Outro estudo semelhante envolvendo 152 doentes demonstrou uma redução de 8% no colesterol LDL. Com maior força de evidência, uma meta-análise incluindo 23 ensaios assinalou uma redução de 10% do colesterol LDL após ingestão de fitostanóis numa dose de 2,5g/dia ou uma dose média de 2,3g/dia. Acima desse valor não se verificou uma redução adicional do colesterol LDL, sendo que os primeiros efeitos foram detetáveis a partir de uma dose de 0,9g/dia. Se o alimento enriquecido em estudo for diferente, também os resultados e a quantidade de redução é diferente. No caso de um leite enriquecido com fitoesteróis, por exemplo, verifica-se uma redução de 8,7% no colesterol total e de 15,6% no LDL. As doses que aqui referimos de fitoesteróis são superiores àquelas que iríamos ingerir numa dieta normal, pelo que se requerem algumas precauções no sentido de evitar efeitos secundários indesejados. Até 2g/dia e baseado nos estudos existentes, não é expetável a ocorrência de reações graves, recomendando-se uma ingestão inferior a 3g diários. Em doentes com outras patologias recomenda-se um cuidado maior pela sua maior vulnerabilidade, como é o caso dos doentes com sitosterolemia familiar homozigótica. A administração destes agentes está mesmo desaconselhada em grávidas, latentes e crianças por serem populações não estudadas e mais suscetíveis.<sup>36</sup>

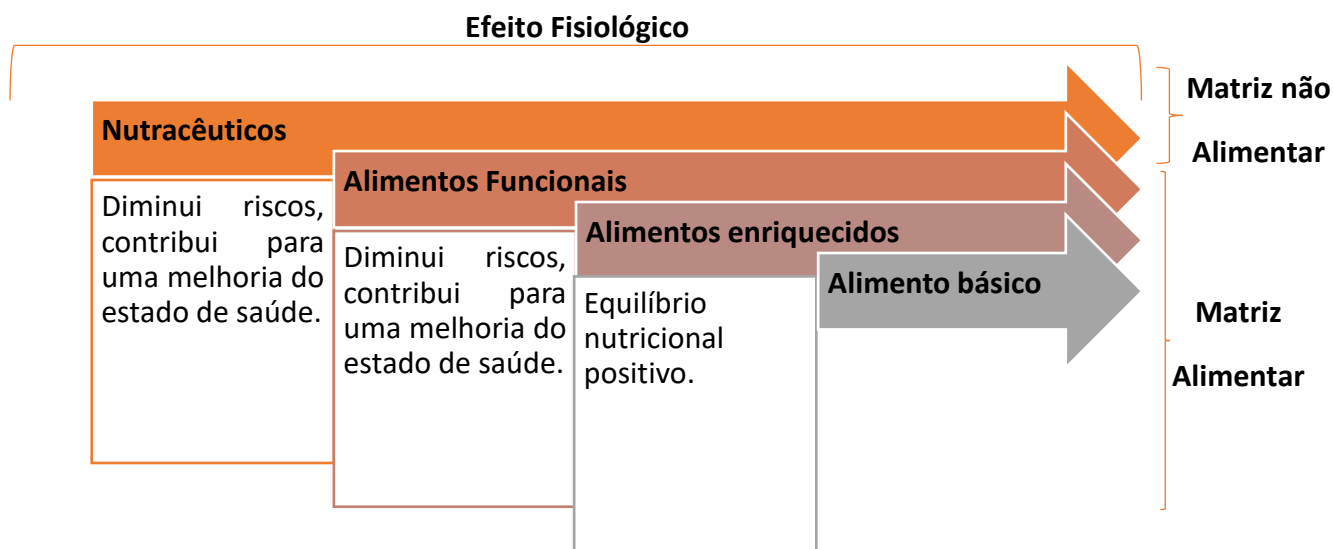
Estudos epidemiológicos recentes promovem a noção de que um aumento do consumo de produtos vegetais é um fator importante na redução do risco de doenças degenerativas, tais como a doença cardíaca coronária. Esses efeitos preventivos estão intrinsecamente relacionados com a presença de fitoquímicos, especialmente compostos fenólicos. Como possuem atividade antioxidante, os compostos fenólicos podem contribuir para a inativação das espécies que reagem com o oxigénio. Consequentemente,

uma quimioprevenção fornecendo as quantidades adequadas de polifenóis (como partes de alimento ou substratos isolados) pode ser uma inovadora abordagem na terapia dietética e nutricional.<sup>37</sup>

Na UE, é a *European Food Safety Authority* (EFSA) quem regula os nutracêuticos, que permite a rotulagem de produtos alimentares com alegações de saúde. Ao colocar uma alegação, o fabricante deve também indicar qual a população alvo, a quantidade que deve ser consumida para se atingir o efeito pretendido, bem como se existe alguma população que deva evitar o consumo do produto (por exemplo, crianças, grávidas, latentes, entre outros). A EFSA elabora pareceres científicos e é da sua responsabilidade avaliar e comunicar os riscos a nível europeu, enquanto que a gestão desses riscos cabe à Comissão Europeia, a quem compete legislar e fiscalizar o setor alimentar europeu.

## Nutracêuticos e Alimentos Funcionais

Salientei anteriormente a comprovação da importância que a alimentação tem na saúde, sendo que se tem verificado que uma dieta rica em determinados alimentos pode constituir um fator de proteção no desenvolvimento de doenças crônicas, muitas vezes causadas por dietas desequilibradas. Essas doenças representam atualmente uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos, resultado de fatores de risco que podemos quase sempre controlar. Todos estes aspetos contribuíram para o surgir de uma nova era onde se incluem os alimentos funcionais, os quais se distanciam dos nutraceuticos através de uma fronteira curta e, por vezes, permeável. Os conceitos de nutraceutico, suplemento alimentar e alimento funcional estão separados por uma barreira que é, muitas vezes, transponível. A evidência científica suporta a hipótese de que, por modulação de uma função-alvo específica no corpo, a dieta pode ter efeitos fisiológicos e psicológicos benéficos, para além dos efeitos nutricionais adequados. Essa evidência é já apoiada por dados científicos que mostram que tanto componentes nutritivos, como não nutritivos presentes nos alimentos têm o potencial para modular funções alvo no corpo que são relevantes para o bem-estar e saúde e/ou redução do risco de doença. O esquema abaixo apresentado pretende representar a permeabilidade inerente às fronteiras no universo dos nutraceuticos.<sup>38</sup>



**Figura 3.** Representação esquemática das fronteiras existentes no universo dos nutraceuticos. Adaptado de: *Palthur et al. (2010). Nutraceuticals: A Conceptual Definition.*

Os alimentos funcionais não podem ser uma entidade única e bem definida e a sua definição é muitas vezes sobreponível com a dos nutraceuticos ou dos suplementos

alimentares, sendo usadas na indústria e pelos consumidores de forma indistinta. Assim, não existe e provavelmente nunca existirá uma definição simples e universalmente aceita para alimento funcional. Mas seja qual for a definição escolhida, 'alimento funcional' surge como um conceito bastante singular que merece uma categoria própria, diferente de nutracêuticos e uma categoria que não inclua suplementos alimentares. De realçar que se trata de um conceito que pertence ao ramo da nutrição e não à farmacologia, uma vez que os alimentos funcionais são e devem ser alimentos e não fármacos. Uma das definições mais completas, proposta por Sgarbieri e Pacheco, diz-nos que se trata de “qualquer alimento, natural ou preparado, que contenha uma ou mais substâncias, classificada como nutrientes ou não nutrientes, capazes de atuar no metabolismo e na fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos para a saúde, podendo retardar o desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas e melhorar a saúde e expectativa de vida das pessoas”.<sup>39</sup> De acordo com o *Food and Nutrition of the Institute of Medicine*, um alimento funcional é "qualquer alimento ou ingrediente que pode fornecer um benefício de saúde além dos nutrientes que tradicionalmente contém".<sup>40</sup> O *International Life Science Institute* definiu que um alimento será considerado funcional desde que, quando consumido regularmente exerça um efeito benéfico específico na saúde, para além das suas propriedades nutricionais, sendo que este efeito tem de ser cientificamente comprovado.<sup>41</sup> Existe uma definição que reuniu consenso científico publicada em 1999, resultado do “*Scientific Concepts of Functional Foods*” que indica que “um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções-alvo do corpo, para além de possuir os adequados efeitos nutricionais, de maneira que seja relevante para o estado de saúde e bem-estar, como para a redução do risco de doença. Os alimentos funcionais devem ser alimentos convencionais, que demonstrem os seus efeitos nas quantidades usualmente consumidas na dieta normal. Não se tratam de comprimidos ou cápsulas, mas sim alimentos normalmente incluídos nos padrões alimentares quotidianos”.<sup>42</sup> Os principais aspetos dessa definição de trabalho são: a natureza alimentar dos alimentos funcionais - não são um comprimido, uma cápsula ou qualquer outra forma de suplemento alimentar; a demonstração de efeitos para a satisfação da comunidade científica; os efeitos benéficos sobre as funções do corpo, para além dos adequados efeitos nutricionais e o consumo como parte de um padrão alimentar normal. Os alimentos funcionais dão ao corpo a quantidade suficiente de vitaminas, gorduras, proteínas, hidratos de carbono, necessários à sobrevivência. Devem estar na forma de alimento comum, ser consumidos na dieta e produzir benefícios específicos à saúde (redução de risco de doenças e manutenção do bem-estar físico e mental). Para além das propriedades nutricionais básicas, devem apresentar propriedades

benéficas, daí se adicionar o termo “funcional”, que significa que proporcionam um benefício fisiológico adicional. Este tipo de alimento contém um ou mais compostos fisiologicamente ativos em quantidade suficiente e adequada para promover o bem-estar e saúde, contribuindo para a redução de fatores de risco subjacentes à maioria das doenças crônicas. Isto significa que não é por si só suficiente se um alimento contiver certas substâncias com propriedades fisiológicas para que seja logo classificado como funcional. Um alimento pode ser tornado funcional mediante a aplicação de qualquer funcionalidade tecnológica ou biotecnológica para aumentar a concentração e adicionar, remover ou modificar um componente, bem como para melhorar a sua biodisponibilidade desde que o componente tenha demonstrado ter efeitos funcionais. O desenvolvimento de alimentos funcionais é um desafio científico que exige pesquisa interdisciplinar e colaboração entre investigadores académicos e da indústria.<sup>43</sup>

Sintetizando, os alimentos funcionais podem ser definidos como produtos alimentares que foram modificados ou enriquecidos com ingredientes que aumentam os efeitos benéficos na saúde, para além do valor nutricional original desses produtos alimentares (por exemplo: leite enriquecido com ômega-3 ou iogurtes com *bifidus* ativos). O processo anteriormente referido é chamado de “nutrificação”, que repõe o conteúdo de nutrientes de um alimento nos níveis normais antes de ele ser processado. As modificações mais comuns incluem alimentos com menor teor calórico ou alimentos com teor de gordura reduzido, por exemplo. Temos assim a oportunidade de combinar produtos alimentares com moléculas biologicamente ativas, no sentido de corrigir distúrbios metabólicos, resultando na redução de fatores de risco de algumas doenças.<sup>44</sup>

De uma forma geral, este tipo de alimentos tem sempre de apresentar as seguintes propriedades:<sup>45</sup>

- a) São alimentos naturais, consumidos na dieta normal/usual;
- b) Devem ser constituídos por componentes naturais, algumas vezes, em concentrações mais elevadas ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- c) Devem ter efeitos benéficos para além do valor básico nutritivo, promovendo benefícios à saúde, ao mesmo tempo que melhoram a qualidade de vida, com repercussões no desempenho físico, psicológico e comportamental;
- d) A alegação de uma propriedade funcional deve ser cientificamente fundamentada;

e) Pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido, adicionado ou modificado;

g) Pode ser um alimento onde a natureza e/ou bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada;

h) Combinação de uma das possibilidades acima mencionada.

Os alimentos funcionais podem ser derivados de diferentes substâncias, nomeadamente um macronutriente essencial com efeito fisiológico específico, um micronutriente essencial com benefício especial por ingestão de doses acima das *Dietary Reference Intakes* ou não nutrientes com efeito fisiológico.<sup>4</sup> Para além disso, os compostos biologicamente ativos encontrados nos alimentos funcionais podem ser classificados em diferentes classes. Uma das classes engloba as fibras alimentares, associadas a efeitos benéficos no organismo, nomeadamente ao nível do trato gastrointestinal. Na sua maioria pertencem ao grupo dos hidratos de carbono e dividem-se em solúveis e insolúveis. Noutra classe incluem-se os probióticos e prebióticos, conhecidos pelo seu importante papel na manutenção da flora intestinal. Os probióticos são definidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como “organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, exercem efeitos benéficos à saúde do hospedeiro”. Os óleos representam outra classe de alimentos funcionais, de onde fazem parte os ácidos gordos polinsaturados e os isoprenóides (carotenóides, tocoferol/vitamina E e esteróis). Adicionalmente, temos a classe dos fitoquímicos, que integram diversos metabolitos secundários encontrados em plantas, que vão desde compostos sulfurados, a nitrogenados e oxigenados. As proteínas e péptidos compõem mais uma classe de alimentos funcionais, que finalizam com a classe dos minerais, que desempenham funções extremamente essenciais ao bom funcionamento do organismo.<sup>46</sup>

Para além disso, os próprios alimentos funcionais podem ser classificados de duas formas distintas: quanto à sua fonte, animal ou vegetal, ou quanto aos benefícios que oferecem, tendo em consideração a área do organismo onde vão atuar, destacando-se seis diferentes áreas: sistema gastrointestinal; sistema cardiovascular; metabolismo de substratos; crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular; funções fisiológicas e antioxidantes.<sup>47</sup>

Uma vez que os efeitos fisiológicos dos alimentos funcionais são alcançados através do seu consumo numa dieta usual, geralmente estes podem ser utilizados de forma segura sem que haja uma necessidade de supervisão médica, o que os torna ainda mais atrativos. Não obstante, as doses ingeridas devem ser ponderadas, tendo em consideração que uma dose demasiado

elevada pode conduzir a efeitos tóxicos, da mesma forma que uma dose demasiado reduzida poderá não produzir o efeito desejado. A dieta mais comum em Portugal, denominada dieta mediterrânica é rica em alimentos funcionais, sendo uma dieta saudável e adequada para prevenir doenças resultantes de uma alimentação excessiva ou desequilibrada. É uma dieta onde se recorre abundantemente ao azeite, caracterizada por um elevado consumo de cereais, legumes, fruta, peixe, laticínios e vinho, ao contrário do consumo de carne que é mais reduzido. Está mesmo comprovada a capacidade desta dieta variada no auxílio na prevenção de doenças cardiovasculares, declaração feita pelo Comité Científico da *American Heart Association*.<sup>48</sup> Em dezembro de 2013, a dieta mediterrânica foi classificada como Património Mundial e Imaterial da Humanidade pela Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura (UNESCO).

O Japão foi o primeiro país a produzir e comercializar alimentos funcionais e criar legislação adequada, na década de 80, através de um programa de governo já referido anteriormente que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida. Em 1991, surgiu assim um processo de regulação específico para os mesmos onde eram denominados de “alimentos para uso específico de saúde”, os FOSHU já anteriormente referidos. Para poderem ser comercializados, passam por um controlo adequado de qualidade e só assim podem ostentar um selo de aprovação do Ministério da Saúde e Previdência Social Japonês. Já nos anos 90, convencionou-se que os FOSHU passariam a chamar-se de alimentos funcionais, apresentando como primeira definição serem “aqueles que melhoram ou afetam a função corporal, além do seu valor nutricional normal”.<sup>14</sup>

Já nos EUA, estes alimentos não são legalmente reconhecidos. Existem, ainda assim alimentos fortificados e modificados que são considerados alimentos funcionais pela *American Dietetic Association*. Muitas outras associações têm também demonstrado interesse neste crescente mercado e apresentado definições para os alimentos funcionais, mas os termos nutracêutico e alimento funcional têm sido usados conforme a definição estabelecida, persistindo a difícil regulamentação dos mesmos.

No Reino Unido, os alimentos funcionais estão sobre a alçada do Ministério da Agricultura, Pesca e Alimentos (MAFF), que os define como “alimentos cujo componente incorporado oferece benefício fisiológico e não apenas nutricional”.<sup>49</sup>

No Brasil, os alimentos funcionais possuem legislação específica desde 1999, com quatro resoluções da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) onde existe um conjunto de

normas e procedimentos para estes serem introduzidos no mercado. Poderão ser feitas alegações funcionais ou de saúde a estes alimentos desde que aprovadas pela ANVISA.<sup>50</sup>

Em 1996, a pedido da Comissão Europeia criou-se um projeto intitulado FOFUSE (*Functional Food Science in Europe*) com a finalidade de desenvolver e estabelecer uma ciência baseada na aproximação para os conceitos emergentes no desenvolvimento de alimentos funcionais. Anos mais tarde, em 2001, surgiu outro projeto denominado PASSCLAIM, abreviatura para “processo de avaliação com base científica das alegações acerca dos alimentos”, que pretendia estabelecer princípios para avaliar a evidência que suporta as alegações.<sup>51</sup>

Em termos regulamentares, um alimento funcional não tem nenhuma definição reconhecida pela *Food Drugs and Cosmetics* (FDC). Uma vez que este tipo de alimento nem sempre consegue ser legalmente reconhecido, muitas vezes opta-se por seguir outra via, nomeadamente a das alegações de saúde. A FDA, que regula os medicamentos e alimentos nos EUA, aprova este tipo de alegações em alguns alimentos. Esta entidade regula os alimentos funcionais, baseada no uso que se pretende dar ao produto, na descrição presente nos rótulos ou nos ingredientes do produto. O Regulamento Europeu sobre as alegações de saúde para alimentos estipula que estas devem ser verdadeiras e baseadas em provas científicas da relação entre dieta e saúde, devendo basear-se na totalidade de dados científicos disponíveis.<sup>52</sup> É da responsabilidade da EFSA avaliar e harmonizar as alegações de saúde nos estados membros europeus, dando o devido aconselhamento científico à comissão europeia. A partir destes critérios, a FDA classificou os alimentos funcionais em cinco categorias: alimento, suplementos alimentares, alimento para usos dietéticos especiais, alimento-medicamento ou medicamentos. O primeiro alimento com alegação foi a Aveia, em janeiro de 1997. Como fundamento científico desta alegação foram apresentados resultados de 37 ensaios clínicos, que demonstravam a capacidade da aveia em reduzir o colesterol total e LDL em doentes hipercolesterolémicos.

Na Europa, o recurso a alegações de saúde é possível desde janeiro de 2007, após implementação do Regulamento (CE) n° 1924/2006, aplicável a alegações nutricionais e de saúde sobre todos os alimentos destinados a um consumidor final, sendo óbvio que para podermos fazer uma determinada alegação, a mesma tem de ter uma base científica sólida e bem fundamentada.

O efeito fisiológico ou nutricional de alguns nutrientes ou substâncias presentes nos alimentos, têm sido amplamente utilizados para que possam ser feitas alegações. Ainda assim,



para que isso seja possível, estes têm de estar presentes numa quantidade suficiente para que produzam o efeito desejado. O Regulamento (CE) nº 1924/2006 define uma alegação como sendo “qualquer mensagem ou representação (...) que declare, sugira ou implique que um alimento possui características particulares”. O Regulamento distingue ainda o que é uma alegação nutricional de uma alegação de saúde. Uma alegação nutricional é “qualquer alegação que declare, sugira ou implique que um alimento possui propriedades nutricionais benéficas particulares devido: à energia que fornece, fornece com valor reduzido ou aumentado, ou não fornece; ou aos nutrientes ou outras substâncias que contém, contém em proporção reduzida ou aumentada ou não contém”. Já uma alegação de saúde define-se como sendo “qualquer alegação que declare, sugira ou implique a existência de uma relação entre uma categoria de alimentos, um alimento ou um dos seus constituintes e a saúde”. Segundo o mesmo regulamento, as alegações de saúde podem ainda dividir-se em “alegações de saúde que não refiram a redução de um risco de doença ou o desenvolvimento e a saúde das crianças” e “alegações relativas à redução de doença e alegações relativas ao desenvolvimento e à saúde das crianças”. Uma alegação de redução de um risco de doença entende-se como “qualquer alegação de saúde que declare, sugira ou implique que o consumo de uma categoria de alimentos, de um alimento ou de um dos seus constituintes reduz significativamente um fator de risco de aparecimento de uma doença humana”. Este Regulamento tem como principal objetivo assegurar que as alegações feitas sejam claras e baseadas em evidência científica.<sup>53</sup> As alegações de saúde têm a capacidade de fornecer informação útil aos consumidores acerca dos benefícios de saúde dos produtos e a legislação que lhes é aplicável pretende proteger os consumidores de informação falsa e confusa. As reivindicações alimentares devem ser fundamentadas em provas científicas e redigidas de forma que sejam compreendidas de forma confiável pelos consumidores. As reivindicações podem ser fundamentadas de uma de duas maneiras: selecionar ou combinar “alegações genéricas” autorizadas para vitaminas, minerais e para um número limitado de outras substâncias (artigo 13.1) - a Comissão Europeia (CE) publicou um registo de mais de 2000 “alegações genéricas” que podem ser utilizadas sempre que necessário, sem recorrer à investigação suplementar. Para além disso, podem testar o produto através de um ensaio/estudo clínico e apresentar um pedido de alegação de saúde própria. A CE também publicou um registo de mais de 2000 alegações nutricionais que são permitidas, sem investigação extra, e 'alegações de saúde' que são permitidas, rejeitadas ou pendentes.

O Regulamento (CE) no 1924/2006 estabelece os diferentes tipos de alegações de saúde disponíveis:

a) Papel de um nutriente ou de outra substância no crescimento, desenvolvimento ou funcionamento do organismo;

b) Papel de um nutriente ou de outra substância no que respeita a funções psicológicas ou comportamentais;

c) Papel de um nutriente ou de outra substância no que respeita ao emagrecimento, ao controlo do peso, à redução do apetite, ao aumento da sensação de saciedade ou à redução do valor energético do regime alimentar;

d) Papel de um nutriente ou de outra substância no que respeita ao desenvolvimento e à saúde das crianças (e/ou alegações genéricas usadas em géneros alimentícios exclusivamente destinados a crianças);

**e) Papel de um nutriente ou de outra substância no que respeita à redução de riscos de doença;**

f) Alegações que incluem um pedido de proteção de dados de propriedade industrial;

Para que possamos ostentar uma alegação de saúde, teremos em primeiro lugar de identificar se essa alegação consta ou não da lista de alegações autorizadas. Depois, é necessário verificar se o alimento cumpre as condições de uso da alegação. A própria redação da alegação não é feita ao acaso e terá de obedecer a um grau de flexibilidade também estabelecido. É obrigatório o cumprimento das condições previstas no artigo 10.º do Regulamento (CE) n.º 1924/2006. O texto autorizado para uso em alegações de saúde encontra-se expresso nas listas de alegações autorizadas pela UE e baseia-se no parecer emitido EFSA, refletindo a fundamentação científica da alegação. O texto pode sempre ser adaptado, desde que não altere o significado do texto original. As alegações relativas à redução do risco de uma doença declaram, sugerem ou implicam que o consumo de uma categoria de alimentos, alimento ou de um dos seus constituintes reduz significativamente o fator de risco do desenvolvimento de uma doença humana, conforme referido no artigo 2.º do Regulamento. Quando um fator de risco específico de desenvolvimento de uma doença é identificado, pode optar-se por não se identificar a doença no texto da alegação. No entanto, para cumprir o artigo 14.º 2., a rotulagem do produto ou a sua publicidade deve ostentar uma indicação esclarecendo que a doença à qual a alegação diz respeito tem múltiplos fatores de risco

(incluindo o referido na alegação), e que alterar um destes fatores pode, ou não, ter efeitos benéficos.<sup>54</sup> Na tabela 3 apresentamos a fundamentação científica da EFSA para uma alegação de saúde relacionada com a relação do colesterol por fitoesteróis vegetais, tal como no caso do nosso molho para saladas. Importa também referir que as alegações relativas à redução do risco de uma doença não devem também contrariar o disposto no artigo nº2- 1. b) do Decreto-Lei n.º 560/99 que proíbe mencionar na rotulagem dos géneros alimentícios quaisquer propriedades curativas, bem como referir o tratamento ou cura de doenças. As alegações de saúde devem sempre referir-se à redução do fator de risco de uma doença e não pode incluir uma referência direta à redução do risco de uma doença. Este Decreto-Lei constitui a legislação base aplicável à rotulagem dos géneros alimentícios, definidos como “toda a substância, seja ou não tratada, destinada à alimentação humana, englobando as bebidas e produtos do tipo das pastilhas elásticas, com todos os ingredientes utilizados no seu fabrico, preparação e tratamento”.<sup>55</sup>

<b>Base Legal</b>	Artigo 14.º I.a) Alegações relativas à redução do risco de doença
<b>Nutriente/Alimento</b>	Fitoesteróis
<b>Alegação</b>	Foi demonstrado que os fitoesteróis baixam/reduzem o colesterol no sangue. Colesterol elevado é um fator de risco no desenvolvimento de doenças coronárias.
<b>Condições de uso</b>	Podemos alcançar uma diminuição clinicamente significativa do colesterol-LDL de cerca de 9%, através de uma ingestão diária de 2-2,4 g de fitosteróis num alimento apropriado (por exemplo esteróis de plantas adicionados aos alimentos à base de gorduras- manteiga- e alimentos com baixo teor de gordura, como leite e iogurte). A magnitude do efeito de redução do colesterol pode ser diferente quando noutras matrizes alimentares.
<b>Refª EFSA</b>	Q-2008-085

**Tabela 3.** Resumo de um pedido de parecer científico à EFSA e resposta relativamente à fundamentação científica de uma alegação de saúde relacionada com capacidade dos esteróis vegetais em diminuir o colesterol e consequente, o risco de desenvolvimento de doenças coronárias.<sup>56</sup>

Segunda uma estimativa de 2010, na UE, os custos da fundamentação científica necessária para o processo de alegações de saúde variam entre os € 4,51 para € 7,65 milhões, sem ter em conta os ensaios clínicos e outros custos necessários para fornecer os dados científicos para apoiar aplicações à EFSA.<sup>57</sup> O Japão e os EUA foram os primeiros países a desenvolver um quadro regulamentar para as alegações de saúde no início de 1990 e a harmonização

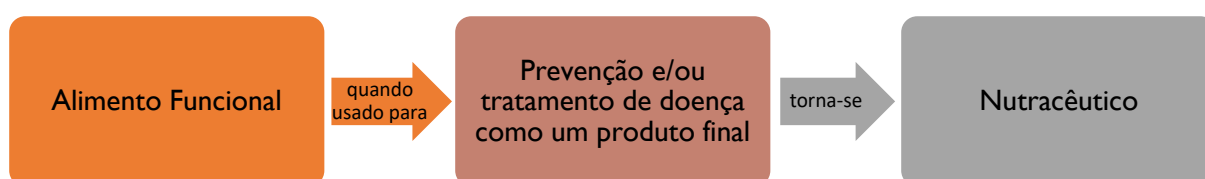
internacional destes regulamentos é influenciada pelo Codex Alimentarius. No que diz respeito à UE, a regulamentação foi moldada pelos projetos FUFOSE e PASSCLAIM que forneceram uma visão sobre o desenvolvimento e fundamentação científica para estas alegações.

Nos EUA, Europa e Brasil, é aceite que um alimento funcional possa ser classificado como alimento, desde que apresente primeiramente a função nutricional e sensorial e como função terciária a sua funcionalidade.<sup>58, 59</sup>

Facilmente nos apercebemos que existem aspetos que distinguem os alimentos funcionais dos nutracêuticos e dos suplementos alimentares. A diferenciação entre os dois conceitos é também muito importante devido ao pouco conhecimento destes conceitos pela população, e da forte relação entre dieta e saúde. Se os consumidores estiverem mais informados sobre os efeitos benéficos dos alimentos e os efeitos maléficos causados pela exposição a inúmeras substâncias inerentes à vida moderna, poderão conferir maior importância a estes alimentos, o que irá contribuir para a sua melhor aceitação. Apesar disso, em Portugal, um nutracêutico acaba por ser tratado como um alimento funcional, devido à falta de legislação específica para o mesmo e à proximidade entre os dois conceitos. De uma forma simplista, quando um alimento funcional ajuda na prevenção e/ou tratamento de uma doença e/ou desordem, com exceção da anemia, é chamado nutracêutico, mas existem muitas outras características que os diferenciam. A anemia apresenta-se como exceção, uma vez que a maioria dos alimentos funcionais atua de uma maneira ou de outra como antianémico. A prevenção e o tratamento de doenças são relevantes para os nutracêuticos, enquanto nos alimentos funcionais apenas a redução do risco da doença é importante, como se pretende demonstrar na Figura 4. Para além disso, os nutracêuticos incluem suplementos alimentares (vendidos em formas que são semelhantes aos medicamentos) e outros tipos de alimentos, tendo já frisado anteriormente que os alimentos funcionais devem estar sempre na forma de um alimento comum, relacionando-se com a venda e consumos dos mesmos sob forma de alimento, enquanto os nutracêuticos são ingredientes funcionais isolados consumidos sob diferentes formas.<sup>60</sup> Em termos gerais, os alimentos funcionais e fortificados são aqueles com uma aparência semelhante aos seus homólogos tradicionais, enquanto os nutracêuticos são componentes que são muitas vezes consumidos em formas de dose unitária tais como comprimidos, cápsulas ou líquidos e vulgarmente conhecido como alimentos/suplementos alimentares.<sup>15</sup> Ao contrário dos suplementos alimentares que podem reivindicar apenas benefícios gerais de saúde, os alimentos funcionais por serem considerados parte da dieta,

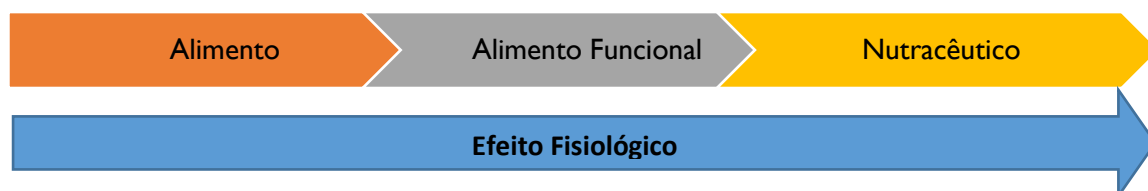
podem reivindicar benefícios de saúde específicos.<sup>61</sup> Os alimentos funcionais são projetados para permitir aos consumidores comer alimentos enriquecidos mas na sua forma natural, ao invés de tomar suplementos alimentares fabricados em formas farmacêuticas. Facilmente nos apercebemos que esse fator distingue claramente os suplementos alimentares dos alimentos funcionais, cuja premissa básica é este ser consumido como parte de uma dieta normal na forma de um alimento convencional. No entanto, nos EUA, os suplementos alimentares são considerados alimentos funcionais já que segundo a legislação deste país, um alimento funcional pode ser definido como qualquer alimento ou ingrediente que traga algum benefício à saúde além da função nutricional básica. Contrariamente, as legislações aplicáveis no Japão e UE consideram que um ingrediente por si só não pode ser considerado um alimento funcional, uma vez que pode chegar ao consumidor na mesma forma de veda de um medicamento.

A Figura 4 representa esquematicamente a fronteira entre os alimentos funcionais e os nutracêuticos. Os alimentos funcionais quando são usados para prevenir e/ou tratar doenças, mas sob a forma de um produto final e não sob forma de alimento, passam a ser considerados nutracêuticos. O termo nutracêutico abrange os suplementos alimentares e os alimentos funcionais, uma vez que os alimentos funcionais quando tomados sob uma forma matriz não alimentar, tornam-se nutracêuticos.



**Figura 4.** Representação esquemática da fronteira entre alimento funcional e nutracêutico.

Outra coisa que distingue os conceitos é a intensidade funcional, medida pelo efeito fisiológico e concentração do componente ativo obtida pela toma. Esta é maior num nutracêutico, comparativamente aos alimentos funcionais, como demonstrado na figura abaixo.<sup>62</sup>



**Figura 5.** Evolução do efeito fisiológico de acordo com diferentes categorias de produtos.

É indiscutível a importância dos alimentos funcionais no aumento da expectativa de vida da população, podendo considerar-se que são agentes promotores da saúde. Legalmente,

verificamos que persiste a necessidade de uma melhor regulamentação dos termos, de forma a manter-se a sua diferenciação, algo que é fundamental. A maioria das vezes, como não existe um quadro regulamentar distinto para os alimentos funcionais ou para os nutracêuticos, estes acabam por ser regulados como alimentos.<sup>63</sup>

## Nutracêuticos e Suplementos Alimentares

Já percebemos quais os aspetos mais importantes que distinguem os alimentos funcionais dos nutracêuticos e dos suplementos alimentares, chegando agora a altura de salientar as diferenças mais importantes entre estes e os nutracêuticos.

Se tentarmos distinguir os conceitos de alimento funcional, nutracêutico e suplemento alimentar vamos partir sempre de um componente alimentar que depois vai ou não estar sob a forma de uma matriz alimentar. Quando numa matriz alimentar, se têm ação na redução do risco de doença ou na melhoria do estado de saúde, são considerados alimentos funcionais, enquanto que quando a sua função é meramente nutricional, são alimentos. Quando encontramos um componente alimentar numa matriz não alimentar, também com ação na redução do risco de doença ou na melhoria do estado de saúde, estamos perante um nutracêutico ou um suplemento alimentar.

Os suplementos alimentares ganharam grande projeção em 1994 quando o Congresso dos EUA realizou o *Dietary Supplement Health and Education Act* (DSHEA). Este ato define um suplemento alimentar como qualquer produto, com exceção do tabaco, com o qual se pretenda, tal como o próprio nome indica, suplementar a dieta. A definição indica ainda que um suplemento alimentar ostenta ou contém um ou mais dos seguintes ingredientes dietéticos: uma vitamina, um mineral, uma erva ou outra planta, um aminoácido e substâncias como enzimas, tecidos de órgãos ou metabolitos.<sup>64</sup> Nesta lei estão também definidos os parâmetros de eficácia, a necessidade de aplicação contínua das boas práticas de fabrico, quais os locais de venda permitida, especificações de rotulagem e mecanismos de notificação de novos ingredientes antes da sua comercialização. De acordo com os requisitos da DSHEA, os fabricantes são os responsáveis pela garantia da segurança dos suplementos, apesar de não ser obrigatório o seu registo e aprovação. A nível nacional, algo de semelhante ocorre, sendo apenas necessária a notificação de venda do suplemento à Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV). Se após esta notificação as autoridades considerarem que o produto e os seus constituintes podem acarretar riscos ao consumidor, devem agir de acordo com a lei nacional aplicável. Podem, por exemplo, ser solicitados estudos de qualidade, estabilidade e segurança dos suplementos alimentares, de forma a comprovar a sua eficácia e segurança. Convém realçar que, apesar dos suplementos alimentares estarem sob alçada da DGAV, a sua fiscalização compete à Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), que deve garantir que todas a legislação aplicável é cumprida. A ASAE é a autoridade nacional responsável pelos contactos com a EFSA.

O objetivo dos suplementos é complementar, corrigir ou adaptar dietas para cada indivíduo. São geralmente apresentados sob formas farmacêuticas variadas que podem ir desde comprimidos, a cápsulas e xaropes. Têm obrigatoriamente de ser rotulados como suplemento alimentar, contendo sempre o aviso legal: "Este produto não se destina a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença. Para além disso, esta categoria inclui ainda produtos como novos fármacos, antibióticos certificados ou biológicos autorizados que eram comercializados como suplementos antes da aprovação. Por outro lado, os nutracêuticos não devem apenas suplementar a dieta, mas também auxiliar na prevenção e/ou tratamento de uma dada doença. A FDA define suplemento alimentar como “[...] um produto tomado oralmente que contém um componente alimentar com o objetivo de complementar uma dieta. Os componentes alimentares destes produtos podem incluir: vitaminas, minerais, ervas ou outros botânicos, aminoácidos, e substâncias como enzimas, tecidos orgânicos, e metabolitos. Os suplementos alimentares podem também ser extratos ou concentrados, e podem assumir várias formas, tais como comprimidos, cápsulas [...] ou pós. Podem também apresentar-se em outras formas, tais como barras, mas caso assim seja, a informação do rótulo não deve apresentar o produto como um alimento convencional [...]”.<sup>65</sup> A diferença que se realça logo ao comparar alimentos funcionais com suplementos alimentares é o facto dos primeiros se apresentarem na forma convencional de um alimento e serem consumidos de forma natural na dieta, enquanto os segundos são considerados alimentos, mas são consumidos sob outras formas (comprimidos, cápsulas,...).

O Decreto-Lei (DL) n° 136/2003 define os suplementos alimentares no seu terceiro artigo como sendo “géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida”.<sup>66</sup> Este DL surge da transposição da Diretiva n° 2002/46/CE<sup>67</sup>, contendo a legislação comunitária aplicável aos suplementos alimentares. Outra legislação aplicável é o DL n° 560/99 de 18 de Dezembro<sup>68</sup>, transposto da Diretiva 2000/13/CE, que aborda as regras a que deve obedecer a rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios.<sup>69</sup> Entretanto, o DL n° 136/2003 foi já alterado pelo DL n° 296/2007 cujas principais diferenças incluem a alteração da lista de vitaminas e minerais constantes do Anexo II, bem como a



alteração da autoridade competente a quem deve ser enviado o rótulo dos suplementos antes dos mesmos serem colocados no mercado. De acordo com a Diretiva 2002/46/EC, a definição proposta para os suplementos alimentares indica que se tratam de “géneros alimentícios que se destinam a complementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinados nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, estremes ou combinados, comercializados em forma doseada, ou seja, as formas de apresentação como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida”.<sup>67</sup>

Para estarmos perante um suplemento alimentar, existem alguns pontos que se têm obrigatoriamente de verificar. Os suplementos alimentares têm de ser um género alimentício e serem fontes concentradas de nutrientes ou substâncias com efeito nutricional fisiológico. São sempre comercializados numa forma doseada e consumidos em unidades de medida de quantidade reduzida (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária- DGAV- estabeleceu um valor máximo de 25mg ou 25 ml).<sup>70</sup>

Um estudo da FDA demonstrou que em 2000 foram consumidos suplementos alimentares por 158 milhões de americanos, valor que representa mais de metade da população dos EUA.<sup>71</sup> Já em 1997, outro estudo afirmava que 83 milhões de pessoas recorriam a terapias médicas alternativas. A venda de suplementos alimentares nos EUA duplicou após passagem do DSHEA, em 1994, para \$ 17100000000 antecipava-se que continuasse a aumentar 10% por ano.

A FDA estabeleceu um Centro de Segurança Alimentar e Nutrição Aplicada (CFSAN) responsável pela fiscalização de novos suplementos, incluindo a comercialização dos produtos claramente identificados e de composição e intensidades conhecidas. Um novo suplemento alimentar é revisto pela FDA, aplicando-se as mesmas boas práticas de fabrico regulamentares que se aplicam a alimentos convencionais. Ainda assim, o fabricante é o responsável por garantir que o suplemento alimentar é seguro antes de ser comercializado, sendo que a FDA tem os poderes necessários para tomar medidas contra qualquer produto deste tipo que seja inseguro depois de entrar no mercado.

A nível regulamentar, os suplementos alimentares são muito difíceis de posicionar, uma vez que existe uma vasta variedade de regulamentos nos diferentes países. A maioria dos estados membros da UE regulam as vitaminas e minerais como alimentos se disponibilizados

dentro das recomendações dietéticas diárias, enquanto em outros países são considerados medicamentos ou produtos naturais de saúde. Do ponto de vista legal em Portugal, os suplementos alimentares são tutelados pelo Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, enquanto os medicamentos são tutelados pelo Ministério da Saúde.

## Regulamentação e Nutracêuticos

Como já fui referindo ao longo deste trabalho, não existe qualquer legislação destinada especificamente a regular os nutracêuticos. Como tal, a forma como estes são legislados varia muito de país em país, o que dificulta a sua integração no mercado e limita em muito as suas potencialidades. Muitas vezes, acabam por cair na alçada dos regulamentos para alimentos ou suplementos alimentares, dificultando ainda mais a sua diferenciação de outros produtos nutricionais semelhantes. Apesar dos regulamentos serem alvo de constante revisão e serem introduzidos melhoramentos ao longo dos anos, o crescimento explosivo da indústria nutracêutica foi de tal forma rápido que a atualização regulamentar não foi capaz de o acompanhar. Os órgãos reguladores de cada país vão, devido ao não reconhecimento dos nutracêuticos, enquadrar estes compostos de diferentes formas. O facto de representarem uma interseção única da indústria farmacêutica e da indústria alimentar vem dificultar ainda mais esta situação, uma vez que não há uma fronteira que demarque claramente a diferença entre os nutracêuticos e os medicamentos, mas a legislação impõe que essa distinção seja feita.<sup>72</sup> Existe ainda um longo caminho a percorrer tanto na legislação destes compostos, como no âmbito da harmonização conceitual. Ao contrário dos medicamentos, fortemente regulados, os nutracêuticos acabam por não ter um enquadramento jurídico apropriado.

Os nutracêuticos claramente não são fármacos. Um nutracêutico é um nutriente que não só mantém, apoia e normaliza qualquer fisiológica ou metabólica, mas que também pode potenciar, antagonizar ou modificar funções fisiológicas ou metabólicas.<sup>17</sup> É referido em alguns artigos, que os nutracêuticos são conhecidos como “foods for specialdietary use”, ou seja, alimentos para uso dietético especial na Índia, suplementos alimentares nos EUA e suplementos alimentares na UE. Para os suplementos alimentares, na UE, o enquadramento legal é bastante complexo, pois este tipo de produtos é abrangido por mais do que uma diretiva legal, devido à grande variedade de categorias em que podem ser inseridos os componentes dos suplementos. Apesar de todas as tentativas de harmonização, o cenário é ainda bastante confuso e desigual entre estados membros. A necessidade de uma maior harmonização administrativa é também extremamente importante para os próprios consumidores, contribuindo para uma maior segurança dos mesmos. A Diretiva 2002/46/CE foi o mais próximo de harmonização que se obteve até à data, contendo uma definição clara de suplementos alimentares, nem como a lista dos mineiras e vitaminas permitidos e doses máximas e mínimas aplicáveis. No entanto, todas as outras substâncias passíveis de inclusão nos suplementos alimentares não se encontram abrangidas, pelo que de país para país pode ou não ser permitida a sua utilização. Para além disso, verifica-se também o caso em que alguns

extratos botânicos são usados tanto em suplementos alimentares como em medicamentos e considerados com estatutos diferentes em diferentes países. Um exemplo é a Ginkgo Biloba, considerada um suplemento alimentar no Reino Unido, um MNSRM na Alemanha e em França, enquanto na Irlanda já é um Medicamento sujeito a receita médica (MSRM).<sup>15</sup>

O objetivo máximo da legislação em torno deste tipo de produtos é assegurar que as alegações que são feitas são cientificamente fundamentadas e visam proteger o consumidor. A EFSA torna-se num agente principal a este nível, uma vez que emite pareceres sobre a informação científica apresentada, estando envolvida também na tomada de decisão sobre a sua autorização e comercialização.

Até mesmo nos organismos oficiais, as definições existentes são infundáveis e distintas. Nos EUA, a FDA definiu em 2015 os nutracêuticos como sendo um produto que suplementa a alimentação que contém um ou mais ingrediente e que é tomado sob formas farmacêuticas como comprimidos, cápsulas, etc. No mesmo país, a *American Nutraceuticals Association* (ANA) define os nutracêuticos como sendo “qualquer substância que é um alimento ou parte de um alimento com benefícios médicos ou de saúde. Tais produtos abrangem desde nutrientes isolados, suplementos alimentares, a alimentos geneticamente modificados, produtos à base de plantas e alimentos processados”.<sup>73</sup> Na UE, a definição legal mais aplicável é a da EFSA, que os define como sendo uma forma concentrada de nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico cujo objetivo é complementar uma dieta normal.”. Recentemente, foi feito um estudo de modo a tentar unificar as várias interpretações e aplicações dos termos existentes. Este estudo teve em conta 25 diferentes definições. A partir desta análise, *Palthur* criou a seguinte definição: “Nutracêutico é um alimento, ou parte de um alimento para administração oral com benefícios de saúde e segurança demonstrados para além das funções básicas nutricionais da suplementação alimentar, apresentando-se em matrizes não alimentares ou em formas alimentares não convencionais, em tal quantidade que exceda aquela que pode ser obtida nos alimentos normais na frequência requerida para atingir tais propriedades, é designado de nutracêutico”.<sup>38</sup> No entanto, enquanto não existe consenso, o correto é utilizar a definição constante dos pressupostas legais de cada país.

Os produtos nutracêuticos representam uma excelente oportunidade de crescimento, mas as empresas devem tomar as medidas apropriadas para desenvolver, preservar e proteger os seus direitos de propriedade intelectual, a fim de manterem competitivas.<sup>74</sup> A forma como são avaliados distingue-os também de forma clara dos medicamentos, uma vez que a sua utilização baseia-se numa avaliação objetiva da evidência clínica e de uma avaliação quase

sempre subjetiva dos riscos, benefícios, custos económicos e potencial para interações com medicamentos. Os custos de introdução de um nutracêutico no mercado não são nem comparáveis com os custos associados a todo o processo de investigação, desenvolvimento e patenteamento de um medicamento. A indústria nutracêutica tem-se apresentado como uma indústria dinâmica e com excelentes oportunidades quanto a descobertas científicas de alimentos benéficos para a saúde. O maior desafio continua a permanecer nas arenas reguladoras, uma vez que a terminologia e enquadramento regulamentar existentes são insuficientes para resolver o escopo completo dos benefícios e oportunidades que os nutracêuticos prometem oferecer.

Muitos países têm optado por diferentes abordagens para desenvolver e/ou aplicar as definições e regulamentos existentes para esta área, sendo que muitos acabam por não definir formalmente o que são nutracêuticos, nem os regulam diretamente. Na sua maioria, optam por regulá-los através de alegações de saúde, geralmente aceite como a medida mais apropriada. A tabela abaixo apresentada mostra uma breve comparação dos níveis de regulamentação dos nutracêuticos entre os EUA, Reino Unido e Índia.<sup>16</sup>

Nos EUA, sob alçada da FDA, o CFSAN é a autoridade que analisa as aplicações e concede a permissão para fabrico ou importação de suplementos alimentares. O *Federal Drug Food and Cosmetic Act*<sup>75</sup>, que regula todos os alimentos e aditivos alimentares, bem como o DSHEA, que abrange suplementos e os seus ingredientes. Não é necessária uma autorização/aprovação pela FDA para a venda destes produtos. Os requisitos são o registo das instalações de serviço e novos ingredientes alimentares. Na UE, a legislação aplicável aos alimentos está em grande parte harmonizada no âmbito da EFSA e pela Agência Reguladora de Medicamentos e Produtos de Saúde (MHRA).<sup>76</sup>

<b>Termo comparação</b>	<b>EUA</b>	<b>Reino Unido</b>	<b>Índia</b>
<b>Autoridade reguladora</b>	CSFAN sob alçada da FDA	Food Standards Agency (FSA)	Food Safety and Standards Authority of India
<b>Nutracêuticos referidos como</b>	Suplementos dietéticos	Suplementos Alimentares	Alimentos funcionais/ Nutracêuticos/ Suplementos dietéticos

<b>Leis e Regulamentos aplicáveis</b>	DSHEA Food Drugs & Cosmetic Act Food Safety Modernization Act of 2013	Regulamento (CE) N° 258/97 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO relativo a novos alimentos e ingredientes alimentares Diretiva 2002/46/CE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes aos suplementos alimentares The food for particular Nutritional uses (Addition of substances for specific Nutritional purposes) (England) (amendment)regulations 2004	Food safety standards act 2006 Food safety standards regulations 2011
<b>Ensaio Clínicos</b>	Requisito não específico, mas recomendado quando informação de segurança é insuficiente.	Não	Não

**Tabela 4.** Comparação dos níveis de regulamentação dos nutracêuticos entre EUA, Reino Unido e Índia.

O facto de não haver uma legislação diretamente aplicável aos nutracêuticos traz muitos entraves ao avanço desta nova categoria de produtos. Apesar do mercado continuar a crescer, a inexistência de definições consensuais e de regulamentação são fatores limitativos para os consumidores e para a própria indústria. Os consumidores acabam por não ser capazes de perceber a que categoria pertence realmente um determinado produto, nem quais os benefícios específicos que irão obter ao optar por um nutracêutico em detrimento de outro produto. Para as firmas, é também um obstáculo, pois dificulta a sua colocação no mercado, bem como a sua exportação para outros países, dado o pouco consenso internacional sobre a definição adequada de um nutracêutico e a heterogeneidade entre mercados. Estes fatores limitativos devem-se principalmente aos desafios na classificação destes produtos, à ausência de uma adequada categoria regulamentar para estes produtos híbridos e também aos pontos de vista diferentes sobre o que é considerado uma prova científica suficiente para comprovar a funcionalidade de um nutracêutico.<sup>77</sup> Tendo em conta o atual quadro regulamentar, os nutracêuticos parecem não se encaixar bem nem no âmbito dos medicamentos, nem no

âmbito dos alimentos convencionais, tendo assim um ajuste estranho.<sup>78</sup> Facilmente nos apercebemos que existem pontos que distinguem claramente a regulamentação aplicável aos medicamentos e aquela que se direciona aos alimentos. Ainda assim, há um número de produtos no mercado compostos por nutrientes em níveis que são suscetíveis de exceder os limites máximos de segurança publicados. Este fator conduz a que sejam feitas pesquisas sobre as propriedades farmacológicas desses nutrientes. De acordo com a Diretiva 2002/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes aos suplementos alimentares, esta diz-nos que: se um nutriente é tomado fora da dieta normal, pode ser farmacologicamente ativo e deve ser regulamentado como um medicamento, não como um alimento. O clamor da indústria nutracêutica é evidente e destacam-se dois desafios: a incerteza regulatória, marcada por uma encruzilhada de diversos regulamentos, muitas vezes conflitantes, e a credibilidade das alegações feitas na rotulagem.<sup>79</sup>

Em diferentes países, vemos os nutracêuticos ficar sob alçada de diferentes regulamentos. Por exemplo nos EUA estes são regulamentados como suplementos alimentares, uma categoria especial de produtos classificadas sob a égide geral dos alimentos. Após o DSHEA em 1994, ficou definido que cada empresa é responsável por garantir a segurança dos suplementos que fabrica e/ou distribui, não tendo os mesmos de ser submetidos para aprovação da FDA antes de serem comercializados, a não ser que se tratem de novos compostos. É nesta conjuntura que, nos EUA, os nutracêuticos são parcialmente enquadrados como suplementos alimentares, devido às características semelhantes entre ambos. Já na UE, aplica-se o princípio de que um alimento não pode ser apresentado como um agente restaurador ou modificador de funções fisiológicas, nem figurar no tratamento de doenças. A categorização regulamentar dos nutracêuticos baseia-se nos efeitos que este tem no corpo. Assim, considerando a definição de nutracêutico, este seria muitas vezes classificado como medicamento. Se a substância contribui apenas para a manutenção de tecidos e órgãos saudáveis, pode ser considerado um ingrediente de um alimento. No entanto, se mostra potencial para modificar um ou mais processos fisiológicos, poderá ser considerada uma substância ativa.<sup>15</sup> De acordo com a legislação aplicável aos medicamentos na UE, um nutracêutico pode ser considerado um medicamento se for apresentado para prevenção, tratamento ou cura de uma condição/doença ou se poder ser administrado com intuito de recuperar, corrigir ou modificar uma função fisiológica do organismo. Se considerarmos a definição original de nutracêutico de acordo com a legislação aplicável na Europa há uma elevada probabilidade de que grande parte das substâncias seja considerada medicamento.

Ainda assim, mesmo dentro da UE existem diferentes variações entre países, de acordo com as práticas governamentais de cada um e também devido à influência histórica e cultural. Assim, cada país da UE enquadra um nutracêutico como um alimento ou como um medicamento, dependendo das práticas legislativas que adotou.<sup>15</sup> Indubitavelmente nos apercebemos que um dado produto pode ser comercializado em Portugal como um nutracêutico e noutra país europeu ser considerado um medicamento. Estes fatores são bastante desconcertantes para os consumidores por se depararem com uma vasta variedade de categorias jurídicas. Existem preocupações óbvias sobre esta confusão e relativamente à exposição do consumidor geral a esta amorfa “fronteira” entre medicamentos e produtos alimentares. Consequentemente, têm surgido novas iniciativas regulamentares na Europa, novas diretivas sobre produtos à base de plantas e suplementos alimentares, destinados a forçar os fabricantes a escolher entre uma ou outra categoria.<sup>7</sup>

A fim de introduzir uma categoria que regule diretamente os nutracêuticos é necessário compreender todas as suas funcionalidades e propriedades que os distinguem de outros agentes com definições aceites internacionalmente e com regulamentos aplicáveis. Em diferentes países, vamos ver os nutracêuticos inseridos em diferentes categorias regulatórias, sendo dados alguns exemplos nas Tabelas 5 e 6. Importa também formular um regulamento que se aplique ao produto numa fase precoce à sua entrada no mercado, fazendo uma correta avaliação da sua segurança e eficácia, mas também numa fase após o nutracêutico já se encontrar no mercado, nomeadamente quanto à sua segurança, gestão de risco, entre outros. No entanto, avaliar a segurança e eficácia de um nutracêutico irá depender da forma como os produtos são definidos e/ou classificados. Se forem regulados da mesma forma que são os medicamentos, certamente que os padrões de segurança a que terão de obedecer serão mais rígidos do que se forem categorizados como alimentos funcionais. Níveis de controlo e regulamentação como os que são praticados na indústria farmacêutica iriam aumentar os custos e reduzir o acesso dos doentes a novos produtos, mas por outro lado também iria maximizar a relação benefício/risco dos mesmos. A avaliação da eficácia, segurança e qualidade destes produtos apresenta-se também como um dos maiores desafios à comunidade científica. Quanto à qualidade não existem métodos analíticos validados para esta classe de compostos, nem informação disponível com procedimentos para avaliação da qualidade desses produtos. Relativamente à segurança, muitas vezes é esquecido que o uso de nutracêuticos não pode ser feito ilimitadamente, por tempo indeterminado e sem supervisão de um profissional. A avaliação da segurança passará por delimitar a composição analítica do produto, conhecer o



mecanismo de ação, o seu potencial toxicológico e realizar estudos científicos, saber o histórico de utilização e fazer o estudo de interações com outros componentes.<sup>80</sup>

País	Posição Regulamentar dos Nutraceuticos	Categoria jurídica sobre a qual os nutraceuticos são regulados
USA	Sem estatuto legal e sem definição oficial.	Suplemento Dietético como definido no DSHEA
Canadá		“Produtos naturais de Saúde” como definido pelo <i>Natural Health Products Regulations of the Food and Drugs Act</i>
EU		Suplemento Alimentar como definido na Diretiva n° 2002/46/CE
Japão		Alimento com Alegações de Saúde incluindo os FOSHU
CODEX		Vitaminas e Suplementos minerais

**Tabela 5.** Categoria regulamentar na qual se inserem os nutraceuticos em diferentes países. (adaptado de *PALTHUR et al, 2010*)

País	Categoria Produto	Definição	Autoridade Competente
EUA	Suplementos Alimentares	Qualquer vitamina, mineral, plantas ou extratos botânicos, aminoácidos e concentrados ou extratos que tenham um efeito nutricional benéfico.	FDA
EU	Suplementos Alimentares	Fontes concentradas de nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional benéfico.	EFSA
Índia	Foods for special dietary use	Plantas/Extratos botânicos; Minerais, Vitaminas, Aminoácidos, Enzimas e Substâncias de origem animal.	Food Safety and Standards Act
Japão	Foods for special health use- FOSHU	Qualquer alimento que possa providenciar e/ou suplementar a nutrição, satisfação sensorial ou ter um efeito fisiológico benéfico.	Japan Health and Nutrition Food Association
China	Alimentos Saudáveis	Qualquer alimento que possa ser fornecido a diferentes grupos de indivíduos, seja ajustável às funções do organismo e não tenha como finalidade curar doenças nem causar danos agudos, subagudos ou crónicos ao corpo humano.	State Food and Drug Administration

**Tabela 6.** Variação de definições e regulamentos para os Nutraceuticos em todo o mundo. Adaptado de: *Frost & Sullivan (2011). Global Nutraceutical Industry: Investing in Healthy Living.*

Para criar um ambiente regulamentar estável e transparente, é preciso que este incida sobre as alegações da rotulagem, a proteção intelectual dos produtos, a segurança, mas

também na contínua educação dos profissionais e consumidores, de forma a manter o crescimento deste setor do mercado.

Já percebemos que os medicamentos e os géneros alimentícios são categorias de produtos completamente diferentes e que, portanto, se regem por regras igualmente distintas. A colocação no mercado de um medicamento é um processo mais moroso e burocrático do que a colocação de outros produtos, como os suplementos alimentares, para os quais apenas se exige notificação da rotulagem à autoridade competente. Ainda assim, no caso dos novos alimentos e géneros alimentícios com alegações de redução de risco de doença ou relacionadas com o desenvolvimento e a saúde das crianças a colocação no mercado também não é assim tão simples. A existência de produtos na fronteira entre medicamentos e suplementos alimentares ou outros géneros alimentares baralha muito os consumidores, que nem sempre conseguem facilmente clarificar de que tipo de produto se trata. Não só a colocação no mercado distingue estes dois produtos, mas também outros aspetos ao longo do seu ciclo de vida, tais como os preços, publicidade, formas/locais de venda, possibilidade de circulação livre em todos os países da UE (após prévia notificação), bem como as expectativas dos profissionais e consumidores têm nesse produto.

## Estudo Brassica

*Brassica* foi a designação dada a um estudo, resultado de uma parceria entre a Universidade de Aveiro e a Universidade de Coimbra. Este vai ser o estudo caso que vou abordar para tentar demonstrar como deverão ser estudados os compostos de *Brassica*, de forma a testar a sua eficácia e segurança. O termo *Brassica* representa uma espécie de plantas que inclui vários vegetais como couves brancas e vermelhas, brócolos, couve-flor ou couves de Bruxelas, com teores elevados de uma grande gama de compostos bioativos. O cultivo e processamento industrial destas plantas produz uma elevada quantidade de resíduos orgânicos, em particular no caso dos brócolos e couve-flor, visto que só uma pequena parte é utilizada. O principal objetivo do projeto é agregar valor à produção de culturas de *Brassica* e explorar formas de valorização das partes não utilizada, nomeadamente raízes, caules e folhas, convertendo-os em produtos de valor. Simultaneamente, iremos estar a contribuir para a redução da pegada ecológica e da descarga de resíduos em aterros. Como tal, este projeto apresenta-se também como uma mais-valia em termos de proteção ambiental.

*Brassica oleracea* é uma espécie de plantas, incluindo muitas variedades que são comuns e os principais vegetais, tais como couves brancas e vermelhas, brócolos, couve-flor e couve de Bruxelas. A produção anual total de repolho branco na Europa é de cerca de 3,5 milhões de toneladas, de couve-flor e brócolos é de 2,5 milhões e a de couves de Bruxelas fica-se pelos 0,2 milhões de toneladas. Estes valores são ainda mais altos na China, onde as produções de couve-flor e brócolos atingem cerca de 9,1 milhões de toneladas e a produção global é de 31,7 milhões de toneladas (dados de 2013, as estatísticas da FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura). Assim sendo, a produção anual total de couve branca, couve-flor, brócolos e couve de Bruxelas na Europa ultrapassa as 6,3 milhões de toneladas. Na China, estes valores atingiram as 31,7 milhões de toneladas em 2013. O cultivo e processamento de *Brassica* produz uma enorme quantidade de resíduos, principalmente agrícolas (70%) e também de subprodutos industriais (50% do material que entra na indústria). A composição fitoquímica de *Brassica* torna-os particularmente adequado para uma cadeia de produção de alimentos saudáveis. *Brassica* vai explorar o uso de resíduos agrícolas desta espécie e subprodutos industriais para desenvolver práticas agrícolas sustentáveis, adsorventes derivados da biomassa de poluentes no meio do ar ou da água, ingredientes alimentares novos e saudáveis de produtos bioativos e biomateriais para embalagens de alimentos.

Este projeto tem diferentes objetivos dos quais podemos destacar os seguintes:

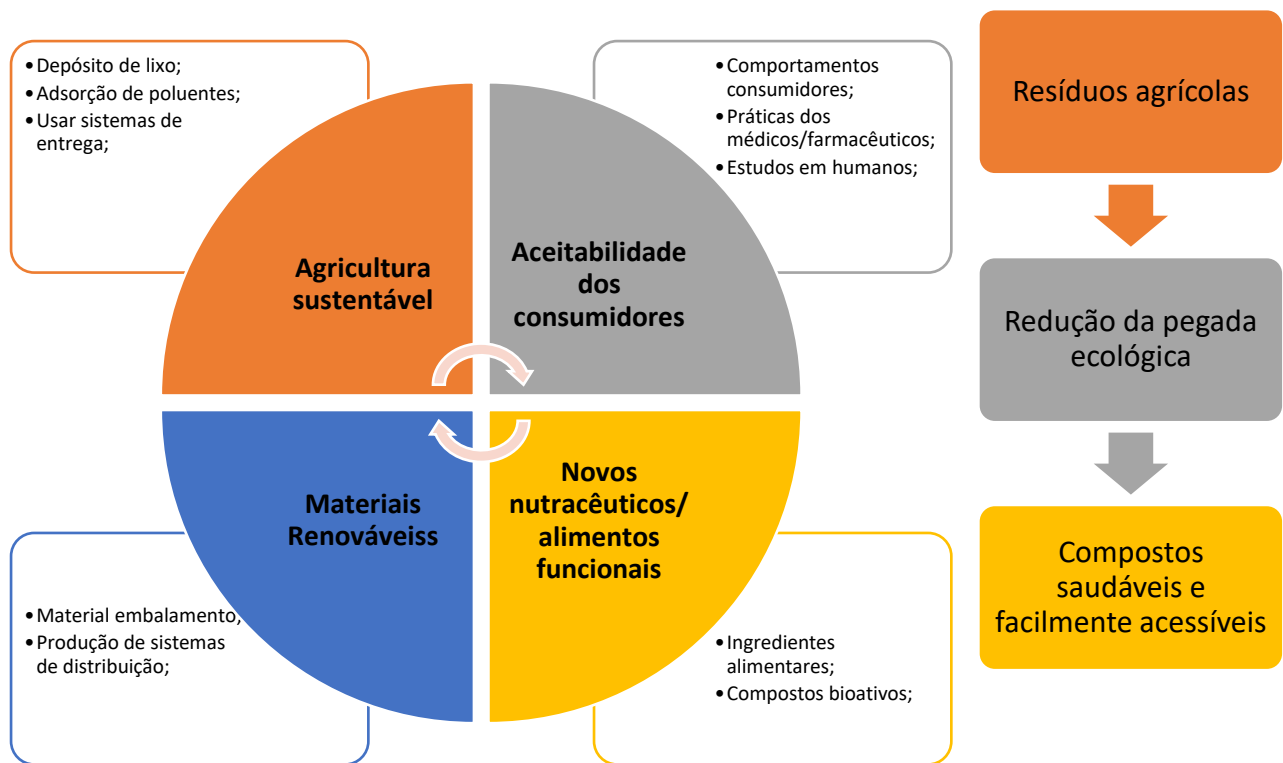
- 1) Minimização dos efeitos colaterais no ambiente, resultantes da produção de *Brassica*;
- 2) Definir novas aplicações para a utilização económica desta biomassa como matéria-prima para novos produtos e novas utilizações;**
- 3) Definir metodologias de pré-tratamento e fracionamento integrados a partir de resíduos agrícolas e subprodutos industriais para aplicação em escala piloto;
- 4) Desenvolver novos materiais e produtos à base de resíduos *Brassica*;
- 5) Explorar os ingredientes alimentares, os novos alimentos funcionais e nutracêuticos com base nos compostos fitoquímicos extraídos a partir de resíduos agrícolas de *Brassica*;**
- 6) Investigar as atitudes do consumidor e das partes interessadas na aceitação de produtos *Brassica* desenvolvidos a partir dos seus resíduos;
- 7) Avaliar o potencial valor económico do fluxo de valorização dos resíduos *Brassica* e as condições de execução com base na interação com as partes interessadas da indústria, a fim de construir um mercado para uma produção alimentar e cadeia de processamento de valor acrescentado.

O objetivo número 2, mas principalmente o objetivo 5, são aqueles que mais importam focar neste trabalho, uma vez que são aqueles que se relacionam com a criação de um novo produto, neste caso um nutracêutico, com base nos compostos bioativos extraídos dos resíduos de *Brassica*. Para atingir os objetivos propostos será feita uma abordagem multidisciplinar com diversos parceiros dos setores público e privado. Os utilizadores finais (por exemplo, os agricultores e consumidores) e as partes interessadas (por exemplo, sociedade civil e organizações intergovernamentais) também serão envolvidos no desenvolvimento dos produtos. Além disso, *Brassica* irá desenvolver extensas atividades de comunicação e sensibilização, a fim de promover a aceitação e utilização de produtos à base de *Brassica*. Foi ainda criado um consórcio internacional para combinar competências multidisciplinares do meio académico, da agricultura e do setor privado, composto por 19 parceiros de 9 países.

Este estudo será também capaz de impulsionar o uso económico e social de compostos recicláveis. Os resíduos *Brassica* principalmente originados através da produção agrícola e processamento industrial de *Brassica Oleracea* (por exemplo, couve, couve-flor, brócolos e couve de Bruxelas) são usados neste projeto como um estudo de caso na reutilização e recuperação de matérias-primas. Cumprindo o conceito de agricultura

sustentável, a ação *Brassica* inicia-se nos campos agrícolas, onde as matérias-primas são produzidas e onde o objetivo final é minimizar a eliminação de resíduos, fornecer materiais alternativos para adsorção de poluentes e para os sistemas de entrega para o controlo de pragas e incorporação de fertilizantes. Parte deste projeto engloba também a compreensão dos comportamentos dos consumidores e da sua sensibilização. Hoje em dia, os consumidores estão cada vez mais recetivos a comidas e componentes alimentares com benefícios para a saúde comprovados com dados clínicos.

*Brassica* vai estudar o potencial dos resíduos de tratamento agrícolas e industriais para o desenvolvimento de ingredientes inovadores para produtos alimentares, nutracêuticos, bem como produtos bio-sustentáveis e sem implicações no ambiente, para aplicações não-alimentares. O que se pretende é então aproveitar as partes não utilizadas destas espécies de plantas e delas extrair os compostos bioativos passíveis de exercerem ação. Posteriormente, desenvolver-se-á um produto nutracêutico, com potencial para ser utilizado em doentes dislipidémicos devido à capacidade de reduzir os níveis de colesterol nestes doentes. A eficácia e segurança deste produto terão de ser devidamente avaliadas num estudo clínico com um design apropriado. A figura abaixo dá-nos uma representação esquemática dos objetivos principais do estudo *Brassica*.



**Figura 6.** Representação Esquemática dos objetivos principais do estudo *Brassica*.

## Metodologia

A questão que aqui se coloca é: como devem estes compostos extraídos ser estudados para podermos obter evidência sobre a sua eficácia? Em primeiro lugar, teremos de concluir sobre se terá de ser um EC ou outro tipo de estudo clínico. Os estudos clínicos podem ser divididos em estudos qualitativos ou quantitativos. Dentro dos estudos qualitativos podem ainda ser estudos descritivos ou comparativos. Os estudos comparativos fornecem melhor nível de evidência do que os descritivos e podem ser observacionais, no caso de serem estudos de coorte ou estudos de caso-controlo, ou ser experimentais, no caso dos ensaios clínicos comparativos. Neste caso, uma vez que as plantas do género *Brassica* são de ampla utilização na alimentação animal e humana, vamos considerar que a sua segurança já está comprovada. Ainda mais, na quantidade em que irão ser utilizadas na constituição do molho, não serão expectáveis quaisquer efeitos adversos, caso seja respeitado o modo de utilização indicado. Relatórios anteriores sugerem que a ingestão de vegetais da família *Brassica* reduzem o risco de doenças crónicas, como a doença cardiovascular, sendo que as propriedades benéficas desses vegetais têm sido atribuídas ao alto teor de fitoquímicos bioativos, tais como fitoesteróis, compostos fenólicos, fibras dietéticas, vitaminas e minerais.<sup>81</sup> Alguns estudos com animais e pequenos estudos clínicos têm provado que a família *Brassica* tem efeitos na redução do colesterol em indivíduos saudáveis e em pacientes com hipercolesterolemia, mas para podermos comprovar a eficácia do nosso molho, teremos de realizar um estudo em que este será o produto testado.

Relativamente à toxicidade destes compostos, sabemos que todos os vegetais do género *Brassica* são capazes de formar quantidades tóxicas de SmCo (samário cobalto), um produto químico que pode causar anemia hemolítica no gado. No geral, estes vegetais amplamente utilizados são seguros para consumo humano. Podem ocorrer alguns casos de intoxicação de gado quando usados quase exclusivamente como alimento para estes animais. Os glucosinolatos contidos na couve, repolho e brócolos (*Brassica Oleracea*) podem também causar bócio, sendo responsáveis por menos de 5% dos casos em seres humanos. Os produtos químicos causam uma redução no desempenho dos animais jovens, especialmente suínos e aves.<sup>82</sup> Apesar disso, a frequência de toxicidade diminuiu drasticamente durante as últimas décadas. Os investigadores mudaram a quantidade de compostos tóxicos em todas as espécies do género *Brassica*, criando novos cultivos com quantidades inferiores destes produtos químicos. A ameaça de envenenamento de algumas das plantas diminuiu ou desapareceu

praticamente em alguns cultivos.<sup>83</sup> É verdade que plantas do género *Brassica* podem conter grandes quantidades de alcalóides tóxicos, glucosinolatos e SmCo que estão ligados a várias doenças, tais como anemia, bócio, envenenamento por nitrato, inchaço, diarreia, doença respiratória e outras. Ed Spinozola, conhecido como “Mr. Brassica” e membro do *Quality Deer Management Association* (QMDA), referiu recentemente que a toxicidade de Brassica é uma preocupação, mas que um veado teria de consumir mais 75% do que na realidade consome para que ocorresse um efeito adverso. Este afirmou que “se a toxicidade de Brassica fosse um problema assim tão sério, o povo do Sul teria de parar de comer nabo e couve; os Índios teriam de parar de pastar os seus rebanhos nos campos de cultivo (como fazem há 300 anos) e na Nova Zelândia, os líderes mundiais de produção de carne e chifres de veado, juntamente com produção de carneiros, teria que parar a alimentação e desenvolvimento dos produtos *Brassica*.”<sup>84</sup>

Apesar destas informações, não existe na literatura científica informação específica e detalhada sobre o perfil toxicológico de *Brassica*. Um estudo publicado em 2015, avaliou a toxicidade em roedores após administração de um extrato metanólico de *Brassica Oleracea*. A extração foi realizada por 2 diferentes métodos: extração de Soxhlet ou maceração a frio. Foram usados no total 60 ratos albinos da estirpe Wistar divididos em 12 grupos de 5 ratos, 3 do sexo feminino e 2 do sexo masculino. Desses 12 grupos, 6 foram avaliados com um método de extração e os restantes 6 com o outro. O primeiro grupo serviu de controlo (80% metanol: 0.5 ml/kg/peso), enquanto aos restantes 5 foram administradas doses diárias por intubação durante 14 dias: 100, 200, 300, 400 e 500 mg/kg/peso, respetivamente. Foram feitas recolhas de sangue no dia 7 e no último dia, no qual os animais foram sacrificados e o fígado foi removido para análise histológica. Através do sangue, foram avaliados os níveis de Transaminase glutâmico-oxalacética (SGOT), Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina (ALP). As enzimas ALP e SGOT catalisam a inter-conversão de aminoácidos e ácidos  $\alpha$ -ceto através da transferência de um grupo amina. Estas enzimas são índices de confiança muito sensíveis para avaliar danos ao nível do fígado ou efeitos curativos de vários compostos. A fosfatase alcalina é produzida pelo osso, fígado, intestino e placenta e é excretado pela biliar. Na ausência de doença nos ossos e durante a gravidez, existe um aumento dos níveis séricos desta enzima devido ao aumento da produção de ALP pelas células do parênquima ou ducto hepático. Os produtos resultantes da degradação de glucosinolatos, como os isotiocianatos que têm efeitos benéficos devido, por exemplo à sua atividade antibacteriana, antifúngica e anticancerígena, também são responsáveis pela toxicidade ao nível da tiroide, pois aumentam o risco de bócio. Estas substâncias parecem interferir com a absorção de iodo, especialmente

onde o iodo é ingerido em pouca quantidade na dieta, e têm sido associados à formação de bócio. No final do estudo, todos os animais dos grupos em tratamento e dos grupos controlo sobreviveram. Alguns sinais clínicos observáveis incluíam contrações abdominais, atividade reduzida e uma postura mais arqueada. Os níveis de SGOT, ALT e ALP aumentaram em todos os grupos com os 2 diferentes métodos de extração. O aumento foi mais notório após a dose de 300 mg/kg. Com o aumento da concentração administrada verificou-se também, a nível histológico, o aumento da inflamação, necrose e desordem lobular nos hepatócitos, demonstrando deterioração a nível do fígado. Os resultados sugerem que a administração de *Brassica oleracea capitata* L.var a uma concentração de 300 mg/kg/peso, demonstrou ser um potencial inibidor do stress intracelular, revelando assim que uma dose inferior pode ser usada como prevenção terapêutica. Prevalece ainda a necessidade de novos estudos para estabelecer a relação entre glucosinolatos e doenças como o cancro (pâncreas, próstata, mama), pneumonia, apendicite, artrite e diabetes em que as plantas deste género podem ser usadas como um suplemento preventivo e terapêutico.<sup>85</sup>

Alguns estudos evidenciam alguns efeitos adversos, mas na maioria dos casos e nas doses recomendadas, os esteróis vegetais parecem ser bem tolerados. A FDA considerou os esteróis vegetais como seguros (*Generally Recognized as Safe- GRAS*) e autorizou a utilização da menção de saúde “esteróis vegetais podem reduzir o risco de DCV”. A nível Europeu, desde 2004, a regulamentação relativa à rotulagem de alimentos e ingredientes alimentícios com adição de esteróis e estanois vegetais exige que os rótulos indiquem que o produto contém esteróis vegetais e que este se destina exclusivamente a pessoas que pretendem diminuir os níveis de colesterol no sangue. Para além disso, deve ser feita menção de que não devem ser ingeridos esteróis vegetais em doses diárias superiores a 3. Além disso, os rótulos devem indicar a quantidade de fitoesteróis presentes, em percentagem, em g/100g ou em g/100ml do produto. Deve também ficar expresso que os indivíduos que fazem medicação hipolipidemiante só devem ingerir o produto se aconselhados por um médico e sob vigilância médica. Este tipo de produtos não é aconselhado a grávidas, lactantes e a crianças com idade inferior a cinco anos. O rótulo destes produtos deve informar também acerca da possibilidade da redução dos níveis de  $\beta$ -caroteno e aconselhar a ingestão de frutas e hortícolas.<sup>86</sup> A eficácia dos fitoesteróis na redução de níveis de colesterol total e do LDL-colesterol não é a mesma para os diferentes alimentos fortificados. Os esteróis vegetais incorporados em maionese, molhos para saladas, leite e iogurtes provocaram diminuições nos níveis de colesterol LDL superiores aos registados noutros produtos alimentícios, como o sumo de laranja, pão e cereais.<sup>87</sup>



Assim sendo, vamos assumir que a quantidade de Brassica inserida no molho não será passível de exercer qualquer efeito secundário. Partindo deste pressuposto, não será necessário efetuar um EC que, no seu todo, envolveria um custo maior e a necessidade de mais tempo e de uma maior população, entre outros aspetos. No entanto, justifica-se realizar-se um estudo comparativo, para obtermos um resultado mais fidedigno. Poderemos então optar entre um estudo de caso-controlo ou um estudo de coorte. Num estudo de caso-controlo, estabelece-se a associação entre a presença de uma doença e a exposição a um fator de risco. Geralmente, este tipo de estudo é muito usado quando estamos a estudar uma doença rara. É um estudo retrospectivo, que avalia a exposição ao fator de risco em análise. Por outro lado, num estudo de coorte, partimos da identificação de 2 grupos, no qual um é exposto ao fator de risco em análise e outro que não é exposto, sendo que depois se avalia a ocorrência de doença nos 2 grupos, mas de modo prospetivo. A coorte é formada por um conjunto de indivíduos que não apresentam o *outcome* esperado, mas que podem vir a apresentá-lo. Neste caso concreto, o estudo de coorte parece ser adequado e facilmente adaptável ao estudo que pretendemos fazer. Nesse sentido, escolheríamos uma amostra da população com a doença (neste caso, doentes com dislipidémia). Depois, iríamos ter duas coortes, a dos doentes expostos e a dos doentes não-expostos. Aqui, vamos ter populações expostas não a um fator de risco, mas sim ao molho para saladas, que se prevê que tenha capacidade de diminuir o colesterol nestes doentes. No final, avaliaremos então a eficácia ou não do molho em diminuir os níveis de colesterol. O estudo irá obedecer ao esquema abaixo apresentado, no qual da população iremos retirar uma amostra de doentes com dislipidémia dividida em dois grupos, eu que ao longo do tempo um deles será exposto ao molho em estudo e o outro não, nem receberá qualquer tratamento adicional.



**Figura 7.** Design proposto para o estudo a realizar.

Neste caso, estamos perante um estudo de coorte prospetivo, uma vez que dentro deste tipo de estudo, poderemos ter estudos prospetivos (grego derivado do prefixo "pro", que significa "antes, na frente de") e retrospectivos (latim derivado do prefixo "retro" que significa "para trás"). A diferença está na direção que a investigação toma, tendo em conta o tempo. No caso dos estudos de coorte prospetivo, o estudo inicia-se no presente e decorre durante um determinado tempo que terminará no futuro, como representado no esquema abaixo.



**Figura 8.** Design temporal dos estudos observacionais. Adaptado de: Song et al (2010) *Observational Studies: Cohort and Case-Control Studies*

Os estudos de coorte são a melhor alternativa aos estudos experimentais, que se tornam muitas vezes inviáveis em investigação biomédica. Estes estudos seguem a mesma lógica que os ensaios clínicos, permitindo concluir que um determinado fator pode ser uma causa do resultado esperado, ou seja que a diminuição do colesterol é resultado da exposição ao molho. Contudo, estes tipos de estudos também apresentam algumas desvantagens, nomeadamente o facto de estarem sujeitos a um maior número de viés ou erros sistemáticos, uma vez que não se controla diretamente a exposição ao fator em estudo. Um exemplo facilmente explicativo é o das pessoas que são expostas ao molho, provavelmente serem diferentes do grupo de não expostos com que são comparados em muitos outros fatores para além daquele que se pretende estudar. Outro dos grandes obstáculos à apresentação de conclusões válidas num estudo de coorte deve-se às perdas de seguimento (*follow-up*) dos participantes. Numa situação ideal, todos os indivíduos devem ser observados ao longo de todo o estudo ou até atingirem o resultado esperado, uma vez que as causas das desistências podem estar também relacionadas com os maus resultados do estudo e, nesse caso, as conclusões ficarão enviesadas.<sup>89</sup> Quaisquer diferenças sistemáticas relacionadas com o resultado ou com a exposição ao molho entre os que desistem e aqueles que permanecem no

estudo devem ser examinados, se possível, comparando indivíduos que permanecem no estudo com aqueles em que houve perda de seguimento ou desistiram.

Como já constatei anteriormente, uma alegação de saúde só pode ser feita quando existe uma prova específica que declare, sugira ou implique a existência de uma relação entre uma categoria de alimentos ou dos seus constituintes com a saúde. Segundo as *guideline* existentes, para que seja feita uma alegação relativa à saúde cardiovascular, é necessária uma prova específica. A evidência científica para a fundamentação destas alegações de saúde, pode ser obtida através de estudos com intervenção em humanos (3-4 semanas) com o alimento/constituente em estudo *versus* o alimento/constituente que é neutro em relação ao efeito alegado ou nenhum tratamento. Neste estudo em específico, poderemos avaliar o efeito do uso do molho contra o efeito de não usar o molho, ou seja, teremos um grupo controle com uma dieta habitual onde o molho não será incluído. Para demonstrar efeitos a longo prazo, o estudo teria de ter uma duração superior, por exemplo 8 semanas ou mais.

A população exigida neste tipo de estudo, para fazer uma alegação de redução do colesterol, pode ser, por exemplo, um grupo de doentes hipercolesterolémicos tratados com uma mudança do estilo de vida e com ou sem nutracêutico. Para realizar a extrapolação dos resultados para doentes em tratamento farmacológico com estatinas ou fibratos teria de se considerar cada caso de forma individual.<sup>87</sup>

É possível também realizar ensaios clínicos para avaliar os efeitos de nutracêuticos, no entanto, os custos são muito maiores e, por vezes, não se justificam. A base de dados *ClinicalTrials.gov* é atualmente a maior base de dados de ensaios clínicos contendo 211,489 estudos registados, em março de 2016. Esses ensaios eram realizados em mais de 193 países por todo o mundo. Numa pesquisa realizada no início do ano de 2016 foi possível detetar 150 estudos registados no site que envolviam nutracêuticos.<sup>90</sup> Cruzando os estudos envolvendo nutracêuticos com aqueles que estavam relacionados com colesterol, foi possível encontrar 50 estudos.<sup>91</sup>

Esta base de dados inclui estudos que se encontram em diferentes estados, nomeadamente a nível de término, recrutamento, entre outros. As tabelas que são de seguida apresentadas dividem os estudos encontrados para as duas diferentes pesquisas realizadas, tendo em conta o estado em que se encontram.

Pesquisa ClinicalTrials.Gov: Nutraceuticals	
Estado do Estudo	Número de Estudos
Completo	70
Completo com resultados	3
Desconhecido	15
Retirado	9
Recrutar	22
Ainda sem recrutamento	12
Terminado	2
Suspenso	2
Ativo, sem recrutamento	14
Terminado e com resultados	1

**Tabela 7.** Ensaio Clínico registado envolvendo nutracêuticos.

Pesquisa ClinicalTrials.Gov: NutraceuticalsandCholesterol	
Estado do Estudo	Número de Estudos
Completo	25
Completo com resultados	1
Desconhecido	3
Retirado	2
Recrutar	8
Ainda sem recrutamento	4
Terminado	0
Suspenso	0
Ativo, sem recrutamento	5
Terminado e com resultados	0

**Tabela 8.** Ensaio Clínico registado envolvendo nutracêuticos e colesterol.

O meu objetivo é construir um protocolo adequado para estudar este molho de salada em doentes hipercolesterolémicos. Como tal, existem vários pontos a definir: população, critérios de inclusão e de exclusão, *endpoints* primários, *endpoints* secundários, entre outros.

A população terá de incluir doentes diagnosticados com dislipidémia. O diagnóstico é feito através da medição, no plasma sanguíneo, dos níveis de triglicéridos e dos diferentes tipos de colesterol. Estes doseamentos devem efetuar-se em jejum para maximizar o seu rigor. Os sinais que caracterizam a doença ou a presença de complicações podem fornecer uma primeira pista para o diagnóstico. Em alguns casos podem ser importantes a história pessoal

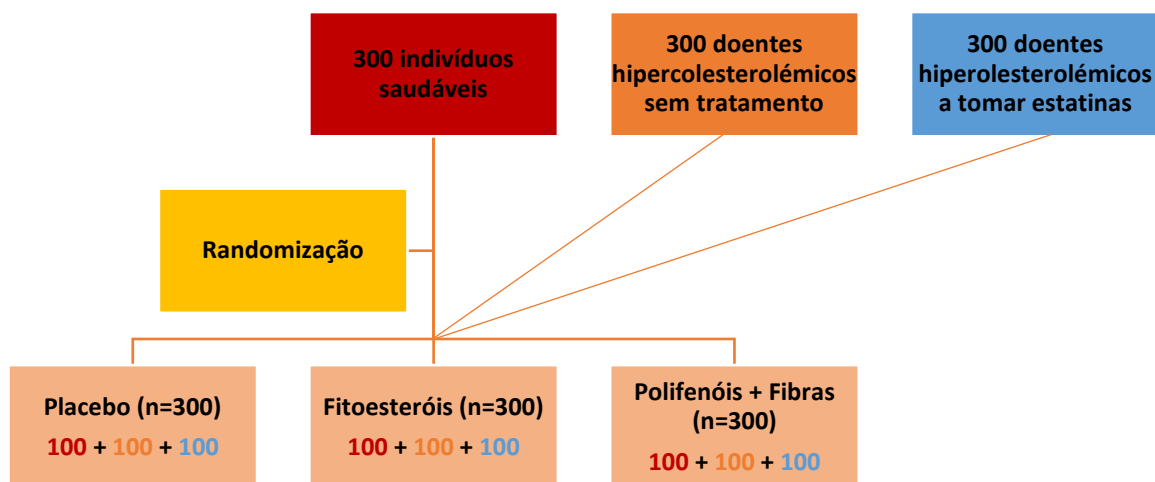
ou familiar de aterosclerose precoce – por exemplo, a existência de doença cardíaca coronária antes dos 55 anos no homem ou 65 anos na mulher. Deve enquadrar-se esta avaliação no contexto da presença de outros fatores de risco cardiovascular como o tabagismo, a hipertensão, a diabetes ou a obesidade. Nalgumas situações particulares, pode equacionar-se a utilização de outros testes – como o doseamento da lipoproteína A, a proteína C reativa ou a homocisteína – que permitem aferir com maior detalhe o risco de cada indivíduo. Nas pessoas a quem se diagnostica uma dislipidémia deve sistematicamente procurar-se a presença de doenças que a possam explicar ou de outros fatores de risco que possam agravá-la, realizando para tal os testes que, em cada situação concreta, se revelem mais adequados.<sup>92</sup> Segundo as recomendações da *European Society of Cardiology (ESC)/ European Atherosclerosis Society (EAS)* para a abordagem clínica das dislipidémias, a identificação dos alvos terapêuticos das dislipidémias baseou-se principalmente em resultados de ensaios clínicos. Em quase todos os ensaios de redução lipídica, o C-LDL foi utilizado como indicador de resposta à terapêutica. Assim, o C-LDL mantém-se como alvo terapêutico primário na maioria das estratégias de abordagem clínica às dislipidémias. Uma meta-análise recente realizada pelo *Cholesterol Treatment Trialists' Collaboration (CTT)*, contendo vários estudos que envolviam mais de 170.000 doentes, confirmou que a redução na DCV era dose-dependente em relação à diminuição do C-LDL. Os níveis da apolipoproteína B também têm vindo a ser medidos como resultado de ensaios, em paralelo com o C-LDL, uma vez que a apolipoproteína B pode funcionar como substituta do C-LDL. Também parece existir uma menor margem de erro na determinação da apolipoproteína B do que na do C-LDL, particularmente em doentes com hipertriglicidémia. Contudo, esta apolipoproteína não é atualmente analisada em todos os laboratórios clínicos, o que dificulta a sua quantificação.<sup>89</sup>

Inicialmente, a equipa envolvida nesta investigação, tinha delineado realizar um estudo controlado com placebo, duplamente oculto, randomizado e de grupos paralelos. Esse estudo foi concebido com o objetivo de determinar se a suplementação da dieta com uma matriz de alimentos ricos em fitoesteróis, ou com uma matriz alimentar de polifenóis e rica em fibras, obtida a partir da família *Brassica oleracea*, influencia o perfil lipídico. A comparação era feita com o tratamento com placebo. O estudo envolveria 600 doentes com diagnóstico de hipercolesterolemia, estando 300 deles sob tratamento com Estatinas e outros 300 sem qualquer tratamento farmacológico aplicado. Adicionalmente, teríamos ainda 300 indivíduos saudáveis. Os doentes elegíveis seriam distribuídos aleatoriamente para três braços:

- 1) aqueles que receberiam a matriz rica em fitoesteróis;

- 2) aqueles que iriam receber a matriz rica em fibras e polifenóis, duas vezes por dia durante todos os dias da semana, mantendo a dieta normal;
- 3) aqueles que receberiam placebo, durante 6 meses.

No início do estudo (*baseline*) e após 3 e 6 meses, seriam feitas algumas análises a todos os participantes, nomeadamente: hemograma completo, ureia, creatinina e eletrólitos, perfil função fígado, hemoglobina glicada, glicemia em jejum e colesterol (incluindo de baixa densidade e níveis de lipoproteínas de alta densidade, bem como, triglicéridos e apolipoproteína A e B), proteína C-reativa, altura, peso corporal, circunferência da cintura e pressão arterial. Além disso, seria realizada uma análise de urina tipo II, que tem como objetivo excluir problemas urinários e metabólicos. As comparações primárias seriam feitas através de uma análise da intenção de tratamento (*intention-to-treat- ITT*) no mês 3 e 6. Uma análise por ITT é aquela em que todos os participantes de todos os grupos são seguidos até o fim, independentemente do que ocorra com cada um deles e se realizaram ou não todo o estudo como indicado. A exclusão de pacientes não-aderentes ao tratamento da análise destrói a comparação sem erros sistemáticos, proporcionada pela randomização. Essa estratégia preserva o benefício da randomização, permitindo que o efeito observado seja realmente devido ao tratamento designado. De forma resumida, o estudo obedeceria ao diagrama abaixo apresentado:



**Figura 9.** Diagrama resumo do *design* do ensaio clínico inicialmente proposto.

Este projeto foi submetido à Comissão de Ética local para aprovação, sob compromisso de ser realizado em conformidade com a Declaração de Helsínquia. No entanto, a comissão de ética impôs algumas limitações e o estudo não conseguiu obter aprovação.

Assim sendo, vamos apresentar uma hipótese alternativa, não recorrendo a um EC, mas sim a outro tipo de estudo mais simples.

Como referido e justificado anteriormente, o estudo escolhido foi um estudo observacional de coortes, prospetivo, cujo protocolo apresentaremos de forma resumida. O protocolo do estudo é o documento base que descreve todos os objetivos, desenho, metodologia, considerações estatísticas e organização do ensaio, tendo como princípios gerais a proteção dos participantes e no qual se pretende prever todas as situações que possam ocorrer.<sup>93</sup> O foco de qualquer estudo de coorte é a comparação individual entre um grupo de intervenção e um grupo de comparação numa população bem definida. Um estudo bem escrito deve conter uma clara definição da forma como foram selecionados os dois grupos e como eles foram definidos. Esta informação é essencial para avaliação da relevância clínica e potencial de viés de seleção.<sup>94</sup>

Os estudos de coorte e os ensaios clínicos são muito similares, na medida em que comparam os resultados em grupos que receberam e não receberam uma determinada intervenção. Algumas das principais diferenças podem ser consultadas na tabela abaixo apresentada.

	<b>Estudo Coorte</b>	<b>EC Randomizado</b>
<b>População em estudo</b>	Vários grupos de doentes observados numa variedade de fatores.	Populações selecionadas e recrutadas com base em critérios detalhados.
<b>Alocação</b>	Baseada em decisões dos doentes ou dos profissionais envolvidos.	Baseada numa possibilidade e controlada pelos investigadores.
<b>Outcomes</b>	Podem ser definidos após a intervenção e pode incluir eventos raros ou inesperados.	Outcomes primários determinados antes dos doentes entrarem no estudo. Focados nos riscos e benefícios esperados.
<b>Follow-up</b>	A maioria tem como base experiência existente (estudos retrospectivos) e pode providenciar uma oportunidade longa de follow-up.	Estudos prospetivos. A maioria das vezes têm follow-up curto, devido aos custos e pressão para produzir evidência num curto espaço de tempo.
<b>Análise</b>	Podem ser necessárias técnicas para lidar com os fatores de confusão.	Análise simples.

**Tabela 9.** Comparação entre estudos de coorte e estudos clínicos randomizados: fatores semelhantes e principais diferenças. Adaptado de: *Gurwitz, Jerry H et al. BMJ 2005.*<sup>94</sup>

Vamos então considerar uma população de homens e mulheres até aos 65 anos de idade, uma vez que com o aumento da idade existe também uma maior probabilidade de sofrerem simultaneamente de outras enfermidades. Os doentes serão escolhidos para uma das coortes em estudo, sendo essa escolha determinada pelo investigador. Uma poderosa estratégia para minimizar o viés de seleção é restringir a inclusão no estudo, para aqueles com um diagnóstico definido ou restringir as características dos escolhidos.<sup>95</sup> Vamos então considerar os seguintes critérios de inclusão e de exclusão:<sup>91</sup>

**Critérios de inclusão:**

- Diagnóstico de dislipidemia (conforme anteriormente explicado);
- Todos os indivíduos terão de estar a fazer a sua dieta habitual;
- Os indivíduos não podem ter consumido medicamentos para redução de colesterol, durante pelo menos dois meses;
- Os indivíduos também não poderão estar a tomar nenhum suplemento alimentar ou vitaminas que tenham efeito no colesterol ou que contenham qualquer um dos constituintes também existente na formulação em estudo durante este período de tempo;
- Peso corporal estável, num intervalo de cerca de 2kg, durante 6 meses antes do início do estudo;
- Indivíduos com índice de massa corporal (IMC) entre 22 e 32 kg/m<sup>2</sup>.
- Indivíduos com capacidade de entender os procedimentos alimentares e procedimentos de exercício e que sejam considerados como cumpridores e motivados pelos investigadores.

**Critérios de Exclusão:**

- Enfarte do miocárdio prévio, diabetes, doença vascular periférica, história de hepatite ou elevação inexplicável das transaminases, doença renal terminal ou insuficiência renal; historial de fraqueza ou dor a nível músculo-esquelético, nomeadamente artrite, miosite, mialgia, fibromialgia, polimialgia reumática, entre outros. No fundo, historial ou evidência clínica de qualquer doença concomitante grave que possa comprometer a segurança do indivíduo ou a sua possibilidade de realizar o estudo;
- Incapacidade de fornecer consentimento informado;
- Mulheres na pré-menopausa, devido à flutuação de lípidos no sangue durante o ciclo menstrual;



- Mulheres grávidas, que tenham pretensão de engravidar ou estejam a amamentar serão excluídas, uma vez que não se conhecem os possíveis efeitos dos nutracêuticos sobre o feto ou sobre o recém-nascido;
- História atual ou anterior de abuso de drogas ou álcool (> 2 bebidas/dia);
- Participantes com quaisquer alergias alimentares/intolerâncias, restrições alimentares por razões médicas, religiosas ou filosóficas- incluindo consumidores de alimentos *kosher* (obedecem à lei judaica); praticantes de veganismo ou vegetarianismo; consumidores de dietas altas em proteínas, baixas em hidratos de carbono ou baixo fósforo, entre outros. Resumidamente, todos os que sigam planos diferentes daquele geralmente defendido pela *American Heart Association* (baixo teor de sódio, colesterol baixo, gordura reduzida, etc.), serão excluídos.
- Praticantes de atividade física (> 5 horas/semana);
- Participantes ou indivíduos com intenção de participar noutro estudo de investigação clínica durante o mesmo período deste estudo;
- Fumadores regulares (> 1 por dia) de cigarros ou charutos;
- Indivíduos que tenham qualquer plano de viagem que possa afetar a conformidade com o protocolo do estudo;
- História de alergia ou sensibilidade prévia a qualquer um dos componentes da salada;
- Indivíduos que tomem medicamentos como os seguintes, ou que estejam intimamente relacionados: ciclosporina, fibratos, antifúngicos, antibióticos macrólidos, antiarrítmicos, nefazodona, inibidores da protease, varfarina, fenitoína, anticorpos sistémicos, entre outros.
- Doentes que tenham sofrido enfarte agudo do miocárdio, revascularização do miocárdio, ou outros grandes procedimentos cirúrgicos nos últimos seis meses.
- Não incluir doentes com início recente de angina, insuficiência cardíaca congestiva, doença inflamatória do intestino, pancreatite ou doença gastrointestinal, renal, pulmonar, hepática, doenças das vias biliares, ou cancro (evidência de lesões ativas, quimioterapia ou cirurgia no último ano).

De seguida, e tendo sempre em conta os objetivos do estudo, vou definir os *outcomes*, ou seja, os resultados que vamos medir para verificar se o produto está ou não a ser eficaz. É importante definir claramente qual será o *endpoint* primário do estudo, bem como quais os *endpoints* secundários, se aplicável. O *endpoint* primário deve ser a variável que é mais clinicamente relevante e capaz de dar a melhor evidência. Esta variável deve estar diretamente

relacionada com o objetivo primário do ensaio. Idealmente deve haver apenas um *outcome* primário, explicitamente indicado no protocolo, assim como a altura do estudo em que será avaliado (por exemplo, o período de tempo durante o qual é medido). Os *outcomes* secundários são medições de apoio relacionados com os objetivos primários ou medições primárias de efeitos relacionados com os objetivos secundários. A sua definição no protocolo também é importante, bem como uma explicação de sua importância relativa e papéis na interpretação dos resultados dos testes. Geralmente, o número de variáveis de desfecho secundárias deve ser limitada e deve ser relacionado com a pergunta a que o estudo tenta responder.<sup>96</sup> Para este estudo optei por definir os seguintes *outcomes* primários e *outcomes* secundários.

**Outcomes primários:**

- Redução do colesterol LDL;
- **Outcomes secundários:**
- Redução do colesterol total;
- Variação dos níveis do colesterol HDL;

As medições dos *outcomes* não serão feitas ao acaso, num qualquer dia do estudo. Para minimizar as variações e o viés dos resultados, tudo estará devidamente estabelecido antes do início do estudo. A escolha do *outcome* primário é óbvia e necessita de pouca justificação. Já referi anteriormente que o colesterol LDL é considerado o “mau” colesterol e que é este o ator principal no desenvolvimento de doença aterosclerótica e, conseqüentemente, de doenças do foro cardiovascular. Como tal, este é o parâmetro laboratorial com uma relação mais direta com a diminuição do colesterol e que deve ser avaliado para avaliar a eficácia do molho. Como *outcomes* secundários, selecionei a redução do colesterol total, que também está dependente do *outcome* primário. As variações dos níveis do colesterol HDL poderão ser também medidas importantes, uma vez que níveis demasiado baixos deste “bom” colesterol, também não serão vantajosos.

O estudo só se iniciará após entrevista prévia a todos os candidatos a participantes. Nessa primeira entrevista, todo o estudo será explicado em linguagem adequada e de uma maneira compreensível, de forma a que todos os indivíduos sejam capazes de perceber todos os objetivos associados ao estudo, bem como o modo como terão de proceder durante a sua participação. Nesta entrevista será também salientado o facto de todos os indivíduos poderem desistir do estudo a qualquer momento, se assim entenderem. Nesse caso, a desistência do participante não irá acarretar nenhum prejuízo para o próprio, nem lhe poderão ser negados

quaisquer cuidados de saúde que possa necessitar após sair do estudo. Deverá sempre tentar perceber-se qual o motivo da renúncia do doente e, no caso de estar diretamente relacionado com o estudo (efeitos adversos, não concordância com alguma situação no decorrer do mesmo, entre outros), estes motivos deverão ser mencionados no relatório final do estudo. Em qualquer momento desta entrevista, o doente pode ser forçado a participar no estudo se esta não for a sua vontade própria. Não deverão ser oferecidos quaisquer abonos ou vantagens em troca da participação. Se um indivíduo demonstrar vontade em fazer parte do estudo, para efetivar a sua participação, terá de assinar um consentimento informado e esclarecido de acordo com a Declaração de Helsínquia e a Convenção de Oviedo. Este documento deve, no mínimo, conter uma breve descrição do estudo e o título do mesmo, bem como uma declaração final em como o participante leu e concorda com tudo o que acima se apresenta, seguindo-se o seu nome, assinatura e data. Neste caso, uma vez que só vamos considerar pessoas com capacidade para dar o seu consentimento, não se aplicará a hipótese de ser um representante legal a consentir em seu nome.

Tudo isto ocorrerá na primeira visita dos doentes ao centro do estudo, a chamada visita de *screening*. Antes de qualquer ato relacionado com a participação no estudo, os doentes já terão de ter assinado o consentimento informado.

Na visita de *screening*, todos os participantes serão sujeitos a análises clínicas, de forma a determinar parâmetros como: hemograma completo, ureia, creatinina e eletrólitos, perfil função fígado, hemoglobina glicada, glicemia em jejum e colesterol (incluindo de baixa densidade e níveis de lipoproteínas de alta densidade, bem como, triglicéridos, apo-lipoproteína A e B) e proteína C-reativa. Estas medições bioquímicas serão os biomarcadores utilizados para verificar se atingimos ou não os *endpoints* clínicos pretendidos. Outros parâmetros clínicos como a altura e peso corporal, para determinação do IMC, bem como medição da circunferência da cintura e pressão arterial serão também registados no dia em que o estudo inicia.

Na conferência da *Foundation for Innovation in Medicine*(FIM) 1996, intitulada "*How to Develop, Make Claims On and Market Medical Foods*", foram dadas algumas orientações para padronizar os dados clínicos necessários para conseguir alegações de saúde para os nutracêuticos. Em primeiro lugar, deve haver dados clínicos suficientes para apoiar a alegação, sendo que os estudos não precisam de ser duplamente cegos. Depois, ao invés de *endpoints* clínicos, poderemos usar biomarcadores, como por exemplo, uma medicação bioquímica. É desejável que existam dados clínicos aceitáveis que apoiem a função do produto ou o seu mecanismo de ação, mas nem sempre é necessário. Todos os dados pertinentes devem ser

publicados em revistas médico-científicas conceituadas. Adicionalmente, deve ser obtido um parecer independente ou uma opinião de um grupo médico especialista. Por último, mas não menos importante, existe a necessidade da vigilância pós-comercialização, com maior ênfase na segurança do produto.<sup>97</sup>

Será dada indicação para utilizar o molho obrigatoriamente 1 vez por dia, sendo indiferente a refeição do dia escolhida pelo participante para utilizar o molho na salada. Toda a restante alimentação dos participantes deverá manter-se normal, ou seja, não devem alterar os seus anteriores hábitos alimentares. O facto de ter escolhido apenas uma utilização por dia, e não nas duas refeições, prende-se com o aumento da probabilidade de esquecimento por parte dos participantes, bem como pelo facto de nem sempre a refeição ser acompanhada por salada. Para além disso, aparentemente não existem vantagens em ingerir esteróis vegetais várias vezes ao dia, pois estes parecem permanecer algum tempo no intestino, o que torna suficiente uma ingestão diária única. No entanto, a hora do dia é importante, devendo ser ingerido em uma refeição principal. O efeito na diminuição do colesterol é visível ao final da terceira semana e requer, para isso, um consumo regular, pois a cessação da suplementação com esteróis vegetais pode levar a um aumento dos valores de colesterol LDL. A síntese endógena de colesterol atinge o seu pico máximo por volta das 6h da manhã. A produção de ácidos biliares tem um ritmo diurno, oposto ao da produção de colesterol. Uma vez que a síntese e a absorção de colesterol estão inversamente relacionadas, algumas investigações sugerem que a absorção de colesterol possa apresentar um ritmo circadiano contrário ao da produção de colesterol.<sup>96</sup>

A quantidade de molho a utilizar é sempre a mesma, tendo definido que seria de 15ml, o correspondente a uma colher de sopa ou 3 colheres de chá. Estes serão os valores de referência expressamente indicados, não sendo permitida qualquer alteração para valores inferiores ou superiores. A utilização da quantidade referida e com a frequência indicada, deverá ser realizada durante 3 meses. Após esses 3 meses, serão feitas comparações primárias em relação a todos os valores medidos na *baseline*. As análises serão realizadas no mesmo laboratório e segundo os mesmos procedimentos aplicados no início do estudo. No final do estudo, o doente deverá trazer o frasco que lhe foi entregue com o molho, de forma a podermos também a avaliar a *compliance* de cada participante e a influência que pode ou não ter nos resultados obtidos.

A escolha duração do estudo teve como base a “*Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health*” da EFSA, que indica como mínimo 8 semanas para verificação de efeitos a longo-prazo, estando por isso a

considerar-se cerca de 12 semanas. De acordo com essa guideline, quando queremos realizar uma alegação que comprove o efeito benéfico de um alimento, quando utilizado em substituição de um outro alimento com um papel independente no aumento da concentração de LDL-colesterol, a fundamentação pode ser feita de diferentes formas. Pode basear-se em evidência que comprove o papel independente do componente alimentar que foi substituído no aumento da concentração de C-LDL, em conjunto com a evidência para a falta de efeito ou efeito reduzido do componente alimentar que é utilizado na substituição. No que se refere à população do estudo, segundo a guideline, os resultados de estudos realizados em indivíduos hipercolesterolémicos tratados com medidas de estilo de vida única (por exemplo, da dieta) pode ser usado como base científica destas reivindicações, sendo esta a população que estamos a considerar. No entanto, a lógica para a extrapolação dos resultados obtidos em doentes hipercolesterolémicos que estejam sob tratamento farmacológico com medicamentos para baixar o colesterol (estatinas), por exemplo, à população-alvo da alegação deve ser fornecida, e será considerada tendo como base cada caso individual (por exemplo, ter em conta evidência de interação entre a comida e os medicamentos utilizados no alegado efeito).<sup>89</sup> Neste caso, vamos mesmo verificar qual a eficácia do alimento substituto, o molho, ao invés de outros temperos na salada, em reduzir o colesterol-LDL.

Se no decorrer dos 3 meses, o participante notar qualquer evento que considere anormal e que possa ser considerado um efeito adverso resultante da administração do molho, deve contactar de imediato o investigador responsável pelo estudo.

O estudo será realizado em plena conformidade com as Boas Práticas Clínicas (BPC).<sup>98</sup> As BPC estarão presentes desde o desenho do estudo, até à sua condução, registo, monitorização, auditorias e análise, comunicação e publicação dos resultados. O cumprimento das BPC garantirá resultados credíveis e fiáveis, ao mesmo tempo que se respeitam os princípios éticos e o princípio da integridade e confidencialidade. Os direitos, a segurança e o bem-estar dos participantes devem sempre prevalecer sobre os interesses da ciência e da Sociedade. Só desta forma conseguiremos garantir a credibilidade, idoneidade e fiabilidade dos resultados obtidos.

Após a segunda medição será feita uma análise estatística dos resultados calculando a significância estatística da diferença entre os valores medidos na *baseline* e no final do estudo. Na análise estatística de estudos de coorte, os fatores de confusão podem ser um problema, uma vez que algumas características basais podem não ser igualmente distribuídas entre o grupo ao qual será administrado o nosso molho e o grupo ao qual será dado um molho normal. Ao avaliar estudos de coorte é importante identificar estes potenciais fatores de confusão e

avaliar a sua distribuição no grupo exposto e controlo, para minimizar o viés. Os fatores mais comuns são maioritariamente demográficos (por exemplo, idade e sexo), médicos (por exemplo, doenças concomitantes), a exposição anterior ou atual a medicamentos e fatores sociais/comportamentais (por exemplo, hábitos, exercício e dieta).<sup>96</sup>

A análise estatística deste tipo de estudos pretende produzir estimativas do efeito do tratamento, que é o contraste entre os resultados nos grupos que estamos a comparar. Estes contrastes entre grupos devem obedecer a um intervalo de confiança, normalmente de 95%, para a estimativa do efeito, o que indica uma gama central da incerteza para o verdadeiro efeito do tratamento. Os resultados do estudo também podem ser avaliados em termos da sua "significância estatística".<sup>96</sup> O *p-valor* representa a probabilidade de os dados observados poderem ter surgido por acaso e não serem devidas aos fatores que estão a ser estudados.

Uma vez que se trata de um teste de coortes, poderemos também utilizar a fórmula do Risco Relativo (RR), que neste caso não vai representar um risco, mas sim a melhoria nos doentes expostos ao molho.

		Doença	
		Melhoria	Sem melhoria
Expostos	Expostos ao Molho	A	B
	Não expostos ao Molho	C	D

$$RR = \frac{A/(A + B)}{C/(C + D)}$$

**Tabela 10.** Cálculo do risco relativo num estudo de coorte.

Existem ainda duas estratégias que podemos utilizar para avaliar e reduzir a influência dos fatores de confusão nos resultados finais obtidos: regressão e estratificação. O método da regressão usa os dados recolhidos para estimar como é que os fatores de confusão estão relacionados com o resultado, produzindo uma estimativa do efeito ajustada da intervenção. É o método mais vulgarmente utilizado para a redução da confusão nos estudos de coorte. O desfecho de interesse é a variável dependente e as medidas das características basais e a intervenção são variáveis independentes. A estratificação é um processo em que a amostra é dividida em subgrupos ou estratos, com base em características que parecem ser fatores de confusão. O objetivo da estratificação é criar subgrupos que são mais equilibrados em termos de fatores de confusão, resultando em estimativas menos enviesadas do efeito da intervenção.<sup>99</sup>

## Conclusões

O avanço tecnológico, o desenvolvimento científico, o aumento do conhecimento e o desenvolvimento de novas disciplinas como a farmacogenómica e a nutrigenómica, têm contribuído para um aumento da consciencialização dos consumidores e da sua preocupação com a qualidade de vida. Consequentemente, assiste-se a um aumento do consumo de alimentos funcionais, nutracêuticos e suplementos alimentares. O aumento cada vez mais notável da informação disponibilizada aos consumidores e o aumento geral da literacia têm contribuído para tornar os indivíduos cada vez mais esclarecidos e capazes de tomar decisões sobre a sua dieta. Paralelamente, é cada vez maior a preocupação em tentar prevenir ou minimizar o risco de desenvolver certas doenças cada vez mais comuns, particularmente do foro cardiovascular ou outras como cancro ou diabetes, nas quais a dieta é um fator com grande peso. Por esta razão, assistimos a uma alteração de conceitos, em que a diferenciação entre medicamentos e alimentos será cada vez menor, pelo papel importante que ambos desempenham na prevenção e redução de risco de algumas doenças.

Os nutracêuticos precisam ainda de um maior apoio de estudos científicos que comprovem que exercem os seus efeitos, acarretando efeitos colaterais reduzidos. Esta base científica poderia ser conseguida por meio da promulgação do *Nutraceutical Research & Education Act* (NREA), à semelhança do DSHEA existente para os suplementos alimentares. O NREA foi proposto pela FIM há mais de 10 anos e incluiria a criação de uma Comissão Nutracêutica (NUCOM) específica para a revisão e aprovação dos nutracêuticos, para além da criação de um programa de bolsas de investigação nutracêutica especificamente para a investigação clínica.<sup>100</sup> Este documento iria estabelecer o mecanismo de exclusividade que é essencial para a criação de uma indústria baseada numa investigação responsável. Poderia assim estabelecer-se um canal apropriado para a apresentação, avaliação e regulamentação destes novos produtos, bem como das alegações que podem ou não ostentar. O NREA iria simplificar e facilitar a investigação e desenvolvimento adequados dos nutracêuticos, o que iria contribuir para uma utilização mais segura e adequada, proporcionado aos consumidores o acesso a informações precisas e suficientes acerca destes produtos.<sup>101</sup> A adoção destas reformas económicas e regulamentares iria ter um impacto positivo na saúde pública e aumentar a contínua competitividade global existente entre as indústrias alimentares e farmacêuticas.

A escassez de nutracêuticos que possuam uma boa evidência científica torna-se numa oportunidade atraente para que as indústrias e as instituições académicas criem protocolos e se unam no sentido de fazer investigação na área. Seria também útil inserir uma estratégia de

propriedade intelectual logo desde o início do desenvolvimento do produto, de forma a poder protegê-lo e garantir um maior retorno financeiro numa fase mais avançada.

Cumprir a promessa de criar novos produtos nutricionais que exerçam efeito preventivo, terapêutico e que influenciem positivamente a qualidade de vida, pode aumentar a confiança dos consumidores num setor visto com desconfiança, até pela comunidade médica. Para além disso, são produtos cada vez mais atraentes para as indústrias, que podem conseguir grandes receitas e ativos intelectuais. No entanto, para os nutracêuticos serem ainda mais sustentáveis e criarem mais valor, torna-se imperativa uma harmonização e padronização da evidência científica necessária. Adicionalmente, é essencial uma maior homogeneidade entre os elementos reguladores, sendo necessária a criação de uma definição oficial para esta categoria de produtos, bem como de legislação que mantenha claro o seu estatuto no mercado. Do ponto de vista legal, conclui-se que persiste a dificuldade de regulamentação dos termos, pois deve ser mantida a diferença fundamental que distingue os nutracêuticos dos alimentos funcionais, dos suplementos alimentares e até dos medicamentos.

Termino fazendo uma análise do enquadramento atual dos nutracêuticos, partindo da identificação dos seus pontos fortes e pontos fracos. Só assim poderemos ter um panorama geral e identificar as oportunidades e as ameaças para esta categoria de produtos. Por um lado, temos fatores impulsionadores, como a crescente preocupação dos consumidores, o aumento do interesse com o estado de saúde, o envelhecimento da população e as mudanças no estilo de vida. Contrastante com estes fatores temos o fraco conhecimento acerca dos nutracêuticos por parte dos consumidores, médicos e farmacêuticos. Apesar da conjuntura económica atual e do elevado custo que os nutracêuticos podem apresentar em comparação com os medicamentos, é um mercado em crescimento, que responde às necessidades atuais da população. Os nutracêuticos parecem responder às necessidades da população, sendo produtos de qualidade, que trazem confiança para o consumidor. Se houver um aumento da educação dos profissionais de saúde acerca destes agentes, o próprio farmacêutico poderá aproveitar e aconselhar melhor os utentes no ato farmacêutico, bem como aproveitar até para realizar o *cross-selling* de um nutracêutico quando existe prescrição para um determinado medicamento.

Por último, a necessidade que se impõem em aumentar a investigação clínica na área que possa fornecer evidência científica que suporte as funções dos nutracêuticos e que possa também aumentar a confiança nestes produtos. Os nutracêuticos representam um desafio



normativo, num mundo subjetivo e de claras contradições características da zona cinzenta e não delimitada onde se inserem. Apesar dos claros avanços e da imposição destes produtos no mercado atual, é importante valorizá-los ainda mais e criar mais provas científicas que sustentem os claros benefícios que podem trazer, com efeitos colaterais reduzidos!

## Referências Bibliográficas

1. DEFELICE, L Stephen. The nutraceutical revolution, its impact on food industry. *Trends in Food Sci. and Tech.* 6 (1995): 59-61.
2. RISHI, R. K. Nutraceutical: borderline between food and drug. *PharmaReview* 2006. Disponível em: <http://www.kppub.com/articles/herbal-safety-pharma-review-004/nutraceuticals-borderline-between-food-and-drugs.html> (acesso em Março 2016)
3. ANDLAUER, W.; FURTS, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and Outlook. *Food Research International* 35 (2002): 171-176.
4. COZZOLINO, Sílvia. Nutracêuticos: o que significa? *Abeso* (2002): 55-7.
5. ZEISEL, Steven H. Regulation of “Nutraceuticals” *Science* 17, Vol 285, Issue 5435 (1999) 1853-1855. DOI: 10.1126/science.285.5435.1853
6. KALRA, Ekta K. Nutraceutical - Definition and Introduction. *AAPS PharmSci5* (3) (2003) Article 25
7. HEALTH CANADA- Nutraceuticals / Functional Foods and Health Claims on Foods: Policy Paper. (2013) Therapeutic Products Programme and the Food Directorate from the Health Protection Branch
8. WRICK, K. L. The Impact of Regulations on the Business of Nutraceuticals in the United States: Yesterday, Today, and Tomorrow. (2005) Disponível em: Hasler, C. M., Ed., Regulation of Functional Foods and Nutraceuticals, A Global Perspective, Blackwell Publishing, Iowa: 3-36.
9. MACDONALD, N. et al. No regulatory double standard for natural health products. *CMAJ* December 13 (2011) 183(18). DOI:10.1503/cmaj.111739.
10. BROWER, Vicki. A Nutraceutical a day may keep the doctor away- *Science & Society. EMBO Reports*, Vol 6, No 8(2005): 708–711. DOI:10.1038/sj.embor.7400498.
11. Resources for Clinical Investigation: Report of a Study by a Committee of the Institute of Medicine Institute of Medicine (US) Division of Health Sciences Policy. Washington (DC): National Academies Press (US) (1988).
12. Lei nº 21/2014 de 16 de abril- Aprova a lei da investigação clínica. Disponível em:[http://www.aprefar.pt/pdf/036-BI\\_Lei\\_21\\_2014.pdf](http://www.aprefar.pt/pdf/036-BI_Lei_21_2014.pdf)
13. MANNION, Michael. Nutraceutical revolution continues at foundation for innovation in medicine conference. *Am J Nat Med* 5 (1998): 30-3.
14. BINNS, N. & HOWLETT, J. Functional Foods in Europe: international developments in science and health claims: Summary report of an international symposium held 9–11 May 2007, Portomaso, Malta. *Eur. J. Nutr.* 48 (2009) S3-S13. DOI: 10.1007/s00394-009-0070-6
15. GULATI, O.P. & BERRY OTTAWAY, P. Legislation relating to nutraceuticals in the European Union with a particular focus on botanical-sourced products. *Toxicology* 221 (2006): 75-87.

16. BAGCHI, D. Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. *Toxicology* 221 (2006): 1-3.
17. HARDY, G. Nutraceuticals and Functional foods: Introduction and meaning. *Nutrition* 16 (2000): 688-689.
18. *Frost & Sullivan. Global Nutraceutical Industry: Investing in Healthy Living. (2011)*
19. AHMAD, Md. Faruque et al. Nutraceutical Market and its Regulation. *American Journal of Food Technology* 6 (2011): 342-347.
20. RIDINGER, M. H. Nutraceuticals: miracle or meme? *Clin Pharmacol Ther* 82(4) (2007): 352-356.
21. YADAV, S. K.; PATIL, S. M.; GUPTA, S. K. Nutraceutical- A Bright Scope and Opportunity of Indian Healthcare Market. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences* Vol. 2 No.4 (2013): 478-481
22. Nutraceutical Ingredients Market worth 38.7 Billion USD by 2020. Disponível em: <http://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/nutraceutical-ingredient.asp> (acesso em janeiro de 2016)
23. FELÍCIO, J. Estudo de Mercado – Consumo de Suplementos Alimentares em Portugal. Centro de Estudos de Gestão do Instituto Superior de Economia e Gestão. (2006)
24. SUBBIAH, M. T. Nutrigenetics and nutraceuticals: the next wave riding on personalized medicine. *Transl Res.* 149(2) (2007): 55-61.
25. ESPIN, J. C.; GARCIA-CONESA, M. T.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry* 68 (2007): 2986-3008.
26. World Health Organization- Cardiovascular diseases (CVDs). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> (acesso em novembro de 2015)
27. Fundação Portuguesa de Cardiologia- Estatísticas. Disponível em: <http://www.fpcardiologia.pt/estatisticas/> (acesso em novembro de 2015)
28. DAHLÖF, B. Cardiovascular disease risk factors: epidemiology and risk assessment. *Am J Cardiol* 105(1 Suppl.) (2010) 3A–9A
29. Fundação Portuguesa de Cardiologia- Dislipidemia. Disponível em: <http://www.fpcardiologia.pt/saude-do-coracao/factores-de-risco/dislipidemia/> (acesso em novembro de 2015)
30. CROOK, Martin A. Plasma Lipids and Lipoproteins. *Clinical Biochemistry and Metabolic Medicine* (2012)
31. BAIGENT, C. et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: ameta-analysis of data from 170000 participants in 26 randomized trials. *Lancet* Nov 13, 376(9753) (2010): 1670–81.
32. MANNARINO, M. R.; MINISRINI, S.; PIRRO, M. Nutraceuticals for the treatment of hypercholesterolemia. *European Journal of Internal Medicine* 25 (2014): 592-599.

33. HOUSTON, M. The role of nutraceutical supplements in the treatment of dyslipidemia. *J Clin Hypertens* 14 (2012): 121–32.
34. HASLAM, E. *Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action*, Cambridge University Press, Cambridge, UK (1998). Disponível em: <https://books.google.com/?hl=pt-PT>
35. WILDMAN, R., *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, CRC Press, 2001. Disponível em: <https://books.google.com/?hl=pt-PT>
36. Aliment enrichisenphytostérols et phytostanols. Petite baisse de la LDL-cholestérolémie, maisaucuneévaluationclinique à long terme. *La Revue Prescrire (Prescrire)*, Volumen 25, 763-8, 2005
37. STEHLE, Peter. Adequate provision of nutraceuticals: an adequate measure to prevent and cure degenerative diseases. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic care* 3 (2000): 425-426.
38. PALTHUR, M. et al. Nutraceuticals: A conceptual definition. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(3) (2010): 19–27.
39. SGARBIERI, C.; PACHECO, M. “Revisão: alimentos funcionais fisiológicos”, *Braz J Food Technol* 2 (1-2) (1999): 7-19.
40. CONTOR, L. Functional Food Science in Europe. *NutrMetabCardiovasc Dis. Aug;11(4 Suppl)* (2001): 20-3.
41. ESPIN, J. C., et al. Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochemistry* 68(22-24) (2007): 2986-3008
42. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. *British Journal of Nutrition* 81 (1999): SI-S27
43. ROBERFROID, M. What is beneficial for health? The Concept of Functional Food. *Food and Chemical Toxicology* 37 (1999): 1039-1041.
44. MARTINS, F. PINHO, O. FERREIRA, I. ALIMENTOS FUNCIONAIS: CONCEITOS, DEFINIÇÕES, APLICAÇÕES E LEGISLAÇÃO. *Revista da SPCNA- Alimentação Humana Vol 10 N°2* (2004)
45. ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*. v. 34, Suppl. 2, p. 105-110, 2002.
46. João F. Pinto- *Nutracêuticos e Alimentos Funcionais*. Edição 2010. Lidel. ISBN: 9789727576241
47. SOUZA, P. H. et al. Componentes funcionais nos alimentos. *Boletim de SBCTA*. V 37, n°2 (2003): 127-135.
48. Mediterranean Diet. American Heart Association. Disponível em: [http://www.heart.org/HEARTORG/HealthyLiving/HealthyEating/Mediterranean-Diet\\_UCM\\_306004\\_Article.jsp#.V5t\\_dLgrJdg](http://www.heart.org/HEARTORG/HealthyLiving/HealthyEating/Mediterranean-Diet_UCM_306004_Article.jsp#.V5t_dLgrJdg)
49. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects. Regulatory Aspects of Functional Foods*. Giuseppe Mazza - 1998 - Technology & Engineering

50. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- Brasil, [www.anvisa.gov](http://www.anvisa.gov)
51. AGGETT, P. et al. Passclaim process for the assessment of scientific support for claims on foods Consensus on Criteria. *Eur J Nutr [Suppl 1]* 44 (2005) I/1–I/2
52. EC Regulation No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claim made on foods. *Official Journal of the European Union*, 2007, L 12/3 (18.I.2007).
53. Regulamento (CE) n° 1924/2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos.
54. Alegações nutricionais e de saúde- Guia de utilização. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Outubro de 2011
55. Decreto-Lei n.º 560/99, de 18 de Dezembro de 1999 relativo às regras a que deve obedecer a rotulagem, apresentação e publicidade de géneros alimentícios.
56. Scientific substantiation of a health claim related to plant sterols and lower/reduced blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (Question No EFSA-Q-2008-085). *The EFSA Journal* 781 (2008): 1-12.
57. BROOKES., G. 2010. Economic impact assessment of the European Union (EU)'s Nutrition & Health Claims Regulation on the EU Food Supplement Sector and Market. European Health Claim Alliance, GBC Ltd., UK.
58. KWAK, N; JUKED, D. J. Functional foods. Part I: the development of a regulatory concept. *FoodControl*. V12 (2001): 99-107.
59. MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos Funcionais e Nutraceuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. *Revista Eletrónica de Farmácia Vol3(2)* (2006) 109-122. ISSN 1808-0804.
60. ESPIN, J. C.; GARCIA-CONESA, M. T.; TOMAS-BARBERAN, F. A. Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochemistry* 68 (22- 24) (2007): 2986-3008.
61. ROSS, S. Function brain foods: the Food and Drug Administration perspective. *Am J Clin Nutr* 71(suppl) (2000): 1735S–8S.
62. DOYON, M., & LABRECQUE, J. A. Functional foods: a conceptual definition. *British Food Journal*, 110(10-11) (2008) 1133–1149. <http://doi.org/10.1108/00070700810918036>
63. KRUGER, C. L. & MANN, S. W. Safety evaluation of functional ingredients. *Food Chem Toxicol* 41(6) (2003): 793-805.
64. Dietary Supplement health and education act of 1994. PublicLaw 103-417. 103<sup>rd</sup>Congress. Disponível em:[https://ods.od.nih.gov/About/DSHEA\\_Wording.aspx](https://ods.od.nih.gov/About/DSHEA_Wording.aspx) (acesso em novembro de 2015)
65. What is the difference between a dietary supplement and a conventional food? – FDA. Disponível em: <http://www.fda.gov/AboutFDA/Transparency/Basics/ucm194357.htm>

66. Decreto-Lei nº136/2003, de 28 de Junho, que regulamenta a colocação no mercado dos suplementos alimentares.
67. Diretiva nº 2002/46/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 10 de Junho, aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes aos suplementos alimentares.
68. Decreto-Lei nº 560/99, de 18 de Dezembro, regras a que deve obedecer a rotulagem, apresentação e ou publicidade dos géneros alimentícios.
69. Diretiva 2000/13/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de Março, aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes à rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios.
70. Produtos-fronteira entre Suplementos alimentares e Medicamentos. Disponível em:[http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS\\_USO\\_HUMANO/FRO\\_NTEIRA\\_SUP\\_ALIMENTARES/PRODUTOS%20FRONTEIRA%20SULEMENTOS%20MEDICAMENTO\\_S.pdf](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/FRO_NTEIRA_SUP_ALIMENTARES/PRODUTOS%20FRONTEIRA%20SULEMENTOS%20MEDICAMENTO_S.pdf)
71. LEVITT, Joseph A. FDA's Progress with Dietary Supplements. March 20, 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Testimony/ucm115229.html>
72. BAGCHI, D. Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. *Toxicology* 221(1) (2006):1-3.
73. GONZALEZ-SARRIAS, A., et al. Nutraceuticals for older people: facts, fictions and gaps in knowledge. *Maturitas*75(4) (2013): 313-334.
74. LAPOINTE, S. Food for thought: IP protection for nutraceuticals and functional foods. *Health Law Can* 28(3-4) (2008): 101-111.
75. Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FD&C Act). Disponível em: <http://www.fda.gov/regulatoryinformation/legislation/federalfooddrugandcosmeticactfdact/>
76. COPPENS, Patrick. SILVA, Miguel. PETTMAN, Simon. European Regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional food: A framework based on safety. *Toxicology* 221 (2006): 59-74.
77. KOTILAINEN, L. et al. Health Enhancing Foods Opportunities for Strengthening the Sector in Developing Countries. Washington, DC 20433: The International Bank for Reconstruction and Development; 2006.
78. KOCH, Annemarie et al. The Need for a Legal Distinction of Nutraceuticals. *FoodandNutritionSciences* 5 (2014): 905-913.
79. MILLS, S. Y. Food or medicine? Decision time in Europe. *Complementary Therapies in Medicine* 10 (2002): 176-178.
80. LIRA, Carlos et al. Nutracêuticos: aspetos sobre segurança, controle de qualidade e legislação. *Rev. Bras. Farm.*, 90(1) (2009): 45-49.

81. CHU, Y. F. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J Agric Food Chem.* Nov 6 50(23) (2002): 6910-6.
82. Canadian Biodiversity Information Facility- *Brassica oleracea*. Disponível em: <http://www.cbif.gc.ca/eng/species-bank/canadian-poisonous-plants-information-system/all-plants-scientific-name/brassica-oleracea/?id=1370403266792> (acesso em fevereiro de 2016)
83. CHEEKE, P. R. SHULL, L. R. Natural toxicants in feeds and poisonous plants. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Conn., USA. (1985): 492.
84. RUSHE, Scott. Brassica Toxicity in Deer- A real danger or a marketing play? *AMPAC Impact*, April (2010): 3.
85. TALREJA, Komal. In vivo toxicity profile of brassica oleracea l. Var.capitata (cabbage). *Int J Pharm Bio Sci* July; 6(3) (2015): 408 – 419.
86. Esteróis Vegetais na Alimentação. *FoodIngredientsBrail*, 2012. N° 23, 66-71
87. Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health, *EFSA Journal* 2011;9(12):2474. Disponível em: [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/2474.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/2474.pdf)
88. SONG, Jane W. & CHUNG, Kevin C. Observational Studies: Cohort and Case-Control Studies. *PlastReconstr Surg.* Dec 126(6) (2010): 2234–2242.
89. KRISTMAN, V. MANNO, M. CÔTÉ, P. Loss to follow-up in cohort studies: how much is too much? *Eur J Epidemiol.* 19(8) (2004): 751-60.
90. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=nutraceuticals&Search=Search> (acesso em março de 2016)
91. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=nutraceuticals+cholesterol&Search=Search> (acesso em março de 2016)
92. BASTO, Filipe. Dislipidemia. Disponível em:<http://www.alert-online.com/pt/medical-guide/dislipidemia>
93. CHAN, An-Wen et al. SPIRIT 2013 explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *BMJ* 346 (2013) 7586. Doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.e7586>
94. GURWITZ, Jerry H. Reader's guide to critical appraisal of cohort studies: I. Role and design. *BMJ* 330 (2005): 895–7
95. MCKEE, Martin et al. Interpreting the evidence: choosing between randomised and nonrandomised studies. *BMJ* 1991 (1999): 312-5.
96. CHRISTENSEN, Robin & LANGBERG, Henning. Statistical principles for prospective study protocols: design, analysis, and reporting. *The International Journal of Sports Physical Therapy* Vol 7 N°5 (2012): 504-511.

97. DEFELICE, Stephen L. FIM Rationale And Proposed Guidelines For The Nutraceutical Research & Education Act – NREA *FIM's 10th Nutraceutical Conference November 10-11, 2002*. Disponível em:<http://www.fimdefelice.org/archives/arc.researchact.html>
98. GUIDELINE FOR GOOD CLINICAL PRACTICE E6(R1): Current Step 4 version dated 10 June 1996. Disponível em:[https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6\\_R1\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf)
99. NORMAND, Sharon-Lise T. et al. Readers guide to critical appraisal of cohort studies: 3. Analytical strategies to reduce confounding. *BMJ* 330 (2005): 1021–3.
100. DEFELICE, Stephen L. DSHEA Versus NREA (The Nutraceutical Research and Education Act) and the Three Nutraceutical Objectives. Disponível em: <http://www.fimdefelice.org/n11.html>
101. DEFELICE, Stephen L. FIM Rationale and Proposed Guidelines for The Nutraceutical Research & Education Act – NREA. 2004 *The Foundation for Innovation in Medicine*