



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL**

**ARIANA DA COSTA MENDES**

**VACCINIUM MACROCARPON: EVIDÊNCIA CIENTÍFICA NA CLÍNICA**

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA DE PLANTAS MEDICINAIS NA PRÁTICA CLÍNICA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:**

**Professor Doutor Celso Pereira**

**Dr<sup>a</sup> Beatriz Tavares**

Março de 2018



## VACCINIUM MACROCARPON: EVIDÊNCIA CIENTÍFICA NA CLÍNICA

Aluna

**Ariana da Costa Mendes**

Mendes A.

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

arianacmendes@gmail.com

Orientador

**Celso Pereira**

Pereira C.

Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra,  
Coimbra, Portugal

Co-Orientadora

**Beatriz Tavares**

Tavares B.

Imunoalergologia, Assistente Graduada do Serviço de Imunoalergologia, Centro  
Hospitalar da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal



## ÍNDICE GERAL

RESUMO .....	6
<i>ABSTRACT</i> .....	7
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3. RESULTADOS .....	18
3.1. Infecções Urinárias .....	18
3.2. Efeito Oncoprotetor .....	38
3.3. Doença Cardiometabólica.....	39
3.4. Ações na saúde oral e intestinal.....	47
3.5. Infecções Virais .....	65
3.6. Interações medicamentosas.....	67
3.7. Segurança.....	68
4. DISCUSSÃO .....	70
5. CONCLUSÃO.....	76
AGRADECIMENTOS .....	78
BIBLIOGRAFIA .....	79

## **ÍNDICE DE TABELAS**

Tabela 1 – Equações de Pesquisa (PubMed).....	165
Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018).....	25
Tabela 3 - Atividade anti-cariogénica de derivados do arando .....	49
Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal .....	52



## RESUMO

**Introdução:** O arando americano (*Vaccinium macrocarpon*) tem na sua constituição vários componentes bioativos, com destaque para as proantocianidinas, antocianinas e flavonóides. A sua aplicação na prevenção das infecções urinárias tem sido alvo de grande investigação desde o século XX. Outras áreas têm ganho particular interesse, com evidência crescente da sua potencial aplicação na prevenção da doença oncológica, cardiovascular e metabólica, na medicina oral, no tratamento da infeção por *Helicobacter pylori* e outras doenças infecciosas, víricas e fúngicas, bem como na inflamação e na modulação do microbioma intestinais.

**Objetivo:** Realizar uma revisão crítica da literatura referente às potenciais aplicações médicas de derivados de *V. macrocarpon*.

**Método:** Foi efetuada uma revisão da literatura existente sobre as possíveis áreas de atuação, incluindo estudos *in vivo* e em modelos animais, ensaios clínicos, revisões sistemáticas e meta-análises, indexados nas plataformas PubMed (MEDLINE) e Cochrane Library.

**Resultados:** Os principais estudos clínicos focam a prevenção das infeções do trato urinário, sobretudo em grupos de risco particular, e os resultados não são consensuais. À semelhança, os resultados dos ensaios clínicos com foco na doença cardiometabólica também apresentam algumas controvérsias, embora com uma melhoria geral de vários fatores de risco cardiovascular. A maioria dos estudos na prevenção da doença oncológica são *in vitro*, contudo mostram resultados promissores, bem como aqueles que já estudaram um papel na manutenção da saúde digestiva, com inibição da colonização gástrica por *Helicobacter pylori*, diminuição da inflamação intestinal e modulação do microbioma. Os estudos na saúde oral denotam um efeito redutor da cariogénese e da

doença periodontal. Também os estudos disponíveis na prevenção de infecções víricas se mostram promissores.

**Conclusão:** No geral, os dados apoiam o uso dos derivados do arando na prevenção das infecções do trato urinário, apesar de se manterem algumas discordâncias de resultados. Os dados analisados suportam ainda a continuação da investigação, com o desenvolvimento de estudos clínicos com desenhos adequados, de modo a elucidar o efeito nas infecções urinárias, doença oncológica, cardiovascular e metabólica. São também necessários novos estudos *in vitro* e *in vivo* para investigar os mecanismos de atuação na saúde digestiva.

**PALAVRAS CHAVE:** *Vaccinium macrocarpon*, infecções do trato urinário, aplicações clínicas, proantocianidinas, material não dialisável

#### ***ABSTRACT***

**Introduction:** The American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) has several bioactive compounds, highlighting the proanthocyanidins, anthocyanidins and flavonoids. Its application in the prevention of urinary infections has been the subject of great research since the twentieth century. Other areas have gained particular interest, with increasing evidence of their potential application in the prevention of oncological conditions, cardiovascular and metabolic disease, in oral medicine, in the treatment of *Helicobacter pylori* infection and other infectious, viral and fungal diseases, and intestinal inflammation and microbiome immunomodulation.

**Objective:** To perform a critical review of the literature regarding the potential clinical applications of *V. macrocarpon* derivatives.

**Method:** We reviewed existing literature on possible application areas, including in vivo and animal models, clinical trials, systematic reviews and meta-analyzes, indexed on the PubMed (MEDLINE) and Cochrane Library platforms.

**Outcomes:** The main clinical trials focus on the prevention of urinary tract infections, particularly in risk groups, and the results are not consensual. Similarly, the results of clinical trials with a focus on cardiometabolic diseases also present some controversies, although with an overall improvement of several cardiovascular risk factors. Most studies on cancer prevention are *in vitro*, but show promising results, as well as those who have already studied a role in maintaining digestive health, with inhibition of gastric colonization by *Helicobacter pylori*, decreased intestinal inflammation and microbiome modulation. Studies in oral health denote a reducing effect of cariogenesis and periodontal disease. Also, the available studies in the prevention of viral infections are promising.

**Conclusions:** Overall, the data support the preventive use of cranberry derivatives in urinary tract infections, despite some discordant results. The data analyzed also supports the need of future research, with the development of clinical trials with adequate drawings, in order to elucidate the effect in the urinary infections, oncological, cardiovascular and metabolic disease. Further in vitro and in vivo studies are also needed to investigate the mechanisms of action in digestive health.

**KEYWORDS:** *Vaccinium macrocarpon*, urinary tract infections, clinical applications, proanthocyanidines, non-dialyzable material

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AINE** – anti-inflamatório não esteróide

**Apo-A** – Apolipoproteína-A

**Apo-B** – Apolipoproteína-B

**BL-DMAC** - *Brunswick Laboratories 4-di-methylaminocinnamaldehyde*

**DM II** – Diabetes mellitus do tipo II

**FTF** – fructosil transferase

**GBP** – *glucan binding proteins* (proteínas de ligação a glucanos)

**GTF** – glucosil transferase

**ExPEC** - *Escherichia coli* extraintestinal

**HAMR** – hemaglutinação manose-resistente

**HDL** – *high density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade)

**HP** – *Helicobacter pylori*

**HSV** – Vírus *Herpes Simplex*

**IBP** – inibidor da bomba de prótons

**IL** - interleucina

**INR** – *international normalized ratio* (razão normalizada internacional)

**ITU** – infecção do trato urinário

**LDL** - *low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade)

**LPS** - lipopolissacarídeos

**MALT** – tecido linfóide associado às mucosas

**MND** – material não dialisável

**MMP** – metaloproteinases de matriz

**MRHA** - *Mannose-resistant hemagglutination* (hemaglutinação resistente à manose)

**PAC** – proantocianidinas

**PAC-A** – proantocianidinas do tipo-A

**PCR** – proteína C reativa

**PSA** – *Prostate specific antigen* (antígeno específico da próstata)

**PPAR- $\gamma$**  - peroxisome-proliferator-activated receptor  $\gamma$

**RCT** – *randomized clinical trial* (ensaio clínico randomizado)

## 1. INTRODUÇÃO

O arando americano corresponde a uma baga da espécie *Vaccinium macrocarpon*, da família das *Ericaceae*. É nativo do Leste da América do Norte, mas está também presente no Norte da Europa e Norte Asiático. (1) Encontra-se disponível para consumo sob a forma de baga, sumo, xarope, cápsulas ou comprimidos (2), estes dois últimos normalmente com concentrações standardizadas de compostos bioativos.

Os principais fitoconstituintes bioativos presentes no arando incluem três classes de polifenóis flavonóides – antocianinas, flavonóides e proantocianidinas (PACs) -, taninos (catequina ou flavan-3-ols) e ácidos fenólicos e benzóico. Em menor quantidade, inclui ainda terpenos e esteróis, bem como polifenóis não flavonóides.

De todos estes, destacam-se os compostos flavonóides, pelas potenciais aplicações em diferentes áreas clínicas. As PACs, também designadas de taninos condensados ou poliflavan-3-ols, correspondem à classe mais importante de potenciais bioativos. A particularidade do arando centra-se na elevada quantidade de PAC com ligações do tipo-A ( $C2 \rightarrow O \rightarrow C7$ ) entre unidades de epicatequina, constituindo as designadas PAC-A (3). Estes compostos encontram-se em concentrações muito mais elevadas no arando do que noutros alimentos, e apresentam maior bioatividade que as PAC do tipo-B (4, 5).

O arando é também uma das fontes mais importantes dos flavonóides quercetina e miricetina, conhecidos por serem potentes antioxidantes (6).

Estas particularidades dos fitoconstituintes do arando estão na base do desenvolvimento de muitos estudos que procuram encontrar uma relação com potenciais benefícios na saúde humana.

A principal indicação clínica dos derivados do arando prende-se com a prevenção de infeções do trato urinário (ITU), pelos seus potenciais efeitos inibitórios na adesão ao urotélio das principais bactérias patogénicas, nomeadamente da *Escherichia coli* uropatogénica, e repercussão na formação de biofilmes. Apesar de já se ter estabelecido uma ligação deste efeito com as PAC-A, a formalização desta indicação ainda não foi estabelecida pela aparente ausência de evidência clínica clara.

Ao longo dos últimos anos têm surgido evidências crescentes da sua potencial aplicação noutras patologias, com investigação básica e clínica em áreas como a prevenção oncológica, a prevenção da doença cardiovascular (7) (efeito redutor da hiperlipidemia, hipertensão e hiperglicemia), a medicina oral (prevenção de cáries dentárias e doença periodontal), a aplicação no tratamento da infeção por *Helicobacter pylori*, e de outras doenças infecciosas, víricas e fúngicas, bem como na modulação da inflamação intestinal e do microbioma local.

Atualmente encontra-se em lista de prioridades da *European Medicines Agency*, na seção *Herbal Medicines*, a elaboração de uma monografia referente ao arando, dada a sua aplicação sustentada ao longo de muitos anos no campo das infeções urinárias, bem como os resultados promissores de estudos recentes noutras áreas médicas.

A problemática do consumo de plantas e suplementos está em crescendo em todos os países industrializados, devido ao aumento exponencial da sua utilização, muitas vezes de forma indiscriminada. É cada vez mais importante que os profissionais da área médica tenham acesso a informação científica rigorosa, relativamente aos potenciais benefícios da utilização de alguns fitoquímicos em certas áreas médicas. Esse conhecimento poderá ser deveras vantajoso, fornecendo ao clínico, potenciais janelas de intervenção, terapêutica e preventiva, não descurando que em doentes com múltipla patologia e/ou polimedicados pode acrescer problemática devido a possíveis interações.

Assim, este artigo tem por objetivo fazer uma revisão crítica da literatura referente às potenciais aplicações médicas de derivados de *V. macrocarpon*, incluindo ensaios *in vitro* e *in vivo* em algumas áreas, estudos clínicos, revisões sistemáticas e meta-análises dos principais estudos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Uma pesquisa eletrônica limitada foi conduzida nas bases de dados PubMed e na Cochrane Library. A pesquisa foi realizada apenas por um revisor, tendo sido selecionados para leitura completa apenas aqueles potencialmente relevantes.

Foram utilizados diferentes termos e equações de pesquisa mediante a área de aplicação clínica dos compostos do arando a rever. Adicionalmente foi feita uma pesquisa isolada das potenciais interações medicamentosas.

A revisão baseou-se exclusivamente em publicações de áreas da medicina, bioquímica, farmacologia e nutrição, tendo sido excluídas publicações, incluídas no PubMed (MEDLINE), referentes a práticas de medicinas alternativas.

Quanto à seleção dos artigos referentes à utilização de *Vaccinium macrocarpon* para prevenção e tratamento das infecções urinárias, foi revista a última meta-análise disponível na base de dados The Cochrane Library, tendo-se incluído na revisão apenas os ensaios clínicos, revisões e meta-análises realizados *à posteriori*, desde 2012 a 2018.

Foram excluídos estudos escritos em línguas não compreendidas pelo autor, bem como estudos realizados em populações e etnias diferentes à população em estudo, devido à possibilidade de haver influência desse facto sobre os resultados, não podendo ser extrapolados para a raça caucasiana. Foram ainda excluídos alguns estudos cujos resultados possam ter sido enviesados pela toma concomitante de outras substâncias, nomeadamente outros produtos naturais, impedindo a avaliação individual do efeito terapêutico do arando.

A pesquisa de artigos referente a outras potenciais aplicações do arando não foi limitada no tempo, tendo sido selecionados os vários artigos referentes a estudos *in vitro* e *in vivo*, bem como estudos clínicos.

As equações usadas para pesquisa na plataforma PubMed encontram-se listadas na *Tabela 1*. Para pesquisa nas outras bases de dados foram utilizados os mesmos termos.

**Tabela 1 – Equações de Pesquisa (PubMed)**

Área de estudo	Equação de pesquisa
Infeções urinárias	("urinary tract infections"[MeSH Terms] OR ("urinary"[All Fields] AND "tract"[All Fields] AND "infections"[All Fields]) OR "urinary tract infections"[All Fields]) AND ("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields])) AND (Clinical Trial[ptyp] AND ("2012/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT]) AND "humans"[MeSH Terms])
Efeito oncoprotetor	("neoplasms"[MeSH Terms] OR "neoplasms"[All Fields] OR "cancer"[All Fields]) AND ("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields])

**Tabela 1 – Equações de Pesquisa (PubMed) (continuação)**

Área de Estudo	Equação de pesquisa
Ação cardiovascular e metabólica	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND cardiometabolic[All Fields]
	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND ("cardiovascular system"[MeSH Terms] OR ("cardiovascular"[All Fields] AND "system"[All Fields]) OR "cardiovascular system"[All Fields] OR "cardiovascular"[All Fields])
Saúde Oral	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND ("periodontal diseases"[MeSH Terms] OR ("periodontal"[All Fields] AND "diseases"[All Fields]) OR "periodontal diseases"[All Fields] OR ("periodontal"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "periodontal disease"[All Fields])
	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND ("oral health"[MeSH Terms] OR ("oral"[All Fields] AND "health"[All Fields]) OR "oral health"[All Fields])

**Tabela 1 – Equações de Pesquisa (PubMed) (continuação)**

Área de estudo	Equação de pesquisa
Inflamação e microbioma intestinal	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND ("Gut"[Journal] OR "gut"[All Fields])
Infecções virais	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND ("virus diseases"[MeSH Terms] OR ("virus"[All Fields] AND "diseases"[All Fields]) OR "virus diseases"[All Fields] OR ("viral"[All Fields] AND "infections"[All Fields]) OR "viral infections"[All Fields])
Interações medicamentosas	("vaccinium macrocarpon"[MeSH Terms] OR ("vaccinium"[All Fields] AND "macrocarpon"[All Fields]) OR "vaccinium macrocarpon"[All Fields] OR "cranberry"[All Fields]) AND ("drug interactions"[MeSH Terms] OR ("drug"[All Fields] AND "interactions"[All Fields]) OR "drug interactions"[All Fields]) AND (Clinical Trial[ptyp] OR Case Reports[ptyp] OR Review[ptyp])

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Infecções Urinárias

De entre as potenciais aplicações clínicas que são atribuídas ao *V. macrocarpon*, a mais estudada diz respeito à prevenção das infecções do trato urinário. Embora já fosse consumido desde 1683 pelos nativos norte americanos (8), que lhe atribuíam um efeito benéfico na patologia vesical e renal, passou a ser mundialmente recomendado para tratamento das ITU aquando da introdução do sumo em 1930 (9).

O principal micro-organismo causador das ITU trata-se da bactéria *E. coli* com fímbrias-P, pelo que os vários estudos *in vitro* realizados desde então se debruçaram sobre uma possível ação sobre esta. Foi demonstrado um efeito inibitório da adesão ao uroepitélio mediado pelas fímbrias-P, através do recetor gal-gal, bem como a outras células, nomeadamente eritrócitos, inibindo assim a hemaglutinação. Este efeito inibitório parece ser seletivo, e atribuível às PACs-A (5, 9, 10).

A investigação clínica só se iniciou por volta de 1980. Desde essa época, foram realizados vários estudos clínicos randomizados, duplamente cegos, que visaram estudar o efeito do consumo de arando, em diversas formulações (sumo ou extratos em comprimido/cápsula) nas ITUs. Esses mesmos estudos foram já revistos em várias meta-análises, por forma a procurar uma conclusão quanto à eficácia do arando, ou ausência dela, na prevenção das ITUs. A última meta-análise da base de dados Cochrane (2), datada de 2012, incluiu RCTs (*randomized clinical trials*) ou quase-RCTs que procuraram comparar a eficácia dos produtos derivados do arando com a de um placebo, água, ausência de tratamento, ou ainda outra estratégia de tratamento alternativa (hipurato de metenamina, antibióticos ou lactobacilos). No total, foram analisados 24 estudos: seis estudos *cross-over*, 11 estudos paralelos com dois braços, cinco com três braços e 2 com um desenho fatorial. Trinta destes estudos avaliaram apenas o efeito do sumo de arando, nove apenas

cápsulas/comprimidos, um comparou o sumo com comprimidos, e um outro os comprimidos com as cápsulas. *Jepson et al.*(2) concluiu que o sumo de arando é menos eficaz do que indicado na revisão prévia, pois embora apresente um pequeno benefício em mulheres com ITUs recorrentes, como demonstrado em alguns dos pequenos estudos incluídos, não apresenta diferenças estatisticamente significativas quando incluídos os resultados de um estudo maior. Os outros produtos (comprimidos/cápsulas) também se mostraram ineficazes, contudo, em três pequenos estudos, não se mostraram significativamente diferentes da antibioterapia para prevenção de ITUs.

Deste modo, no geral e para os vários subgrupos, os estudos até 2012 não suportam uma redução significativa do número de ITUs sintomáticas por parte dos produtos derivados do arando. De acordo com as evidências de que este efeito preventivo é reduzido, e atendendo às grandes taxas de abandono dos estudos, não se recomenda o consumo dos produtos supracitados para a prevenção das ITU recorrentes (2). Os autores associam os abandonos sobretudo à inaceitabilidade de ingerir os produtos, em especial o sumo, durante longos períodos de tempo. Adicionalmente, outras preparações galénicas, como os pós, deverão ser quantificadas por métodos estandardizados de modo a assegurar a potência, devendo para isso conter suficiente quantidade do ingrediente “ativo”, antes de serem avaliados em estudos clínicos ou recomendada a sua utilização (2). Note-se que a maioria dos estudos envolvidos na meta-análise não reportaram essa mesma quantidade nos comprimidos/cápsulas usados, pelo que a ausência de eficácia demonstrada poderá estar relacionada com uma quantidade insuficiente para garantir o efeito clínico.

Contudo, por oposição a esta meta-análise Cochrane, uma outra mais recente (11), datada de 2017, incluiu a análise de 28 estudos e atesta um efeito profilático dos derivados do arando nas infeções urinárias recorrentes.

Os estudos mais recentes, que se seguiram a essa publicação Cochrane, tiveram como foco principal a utilização profilática do arando em subgrupos de indivíduos de risco, encontrando-se os principais resultados na *Tabela 2*. Adicionalmente, focaram-se sobretudo na profilaxia com cápsulas de extrato de arando, o que contorna em parte a má adesão dos estudos prévios. No entanto, são ainda frequentes estudos com sumo de arando, mas com foco em amostras de doentes mais alargadas que a dos estudos anteriores.

Stapleton et al. (12) comparou o consumo de sumo de arando com um placebo, durante 6 meses, por 176 mulheres pré-menopáusicas com história de ITU recente, tendo verificado um potencial efeito protetor, embora não tenha alcançado uma redução significativa do risco. Adicionalmente, foram avaliadas as cadeias de *E. coli* P-fimbriadas no trato urinário no final do estudo, tendo-se verificado uma redução do seu número, o que suporta os efeitos *in vitro* previamente observados (12).

Maki et al. (13) realizou o estudo com a maior subpopulação de mulheres com ITU até ao presente, com uma amostra de 373 mulheres com história de ITU recente. O consumo de 240 ml de sumo por um período de 24 semanas reduziu significativamente o número de novas infeções, em 39%, e de ITUs clínicas com piúria, em 37%. Para além de ter sido dos estudos com uma maior população, foi também daqueles que teve uma taxa de adesão maior, tendo assim destaque pelo valor estatístico dos resultados.

Atendendo então ao facto de os estudos prévios recorrerem sobretudo a formulações em sumo, e de que este pode ter um conteúdo limitado de componentes bioativos, Vostalova et al. (14) estudou a eficácia da utilização de extrato de arando numa formulação em pó. Os resultados obtidos permitiram concluir a possibilidade de existir uma redução do risco de ITUs sintomáticas em mulheres com história de ITUs recorrentes, sob tratamento profilático com arando nesta formulação.

Quanto aos subgrupos de risco avaliados nos estudos ulteriores a 2012, destacam-se os extremos de idades, nomeadamente crianças e idosos residentes em lares, bem como doentes submetidos a cateterismo vesical.

Sendo as crianças um subgrupo em que as infeções urinárias são frequentes, Mutlu et al. (15) estudou um possível efeito profilático do consumo de cápsulas de derivados do arando num grupo de 20 crianças, com bexiga neurogénica causada por mielomeningocele. Após o consumo de uma cápsula diária durante 6 meses, obteve-se uma redução estatisticamente significativa do número de ITUs em comparação com aquele ocorrido durante os seis meses de consumo de placebo ( $p = 0.012$ ), sugerindo deste modo um efeito benéfico. Notou-se também um decréscimo na percentagem de piúria ( $p = 0.000$ ).

Afshar et al. (16) estudou o efeito do consumo de sumo de arando com alto conteúdo em PACs em comparação com um placebo (sumo sem PACs) num subgrupo de crianças, tendo verificado uma redução de 65% do risco de ITU, com um efeito estatisticamente significativo na prevenção de ITUs não febris nesta população. Os autores referem a necessidade de determinar o custo-eficácia desta abordagem.

Um estudo realizado em crianças com mais de um mês de idade (17) comparou a profilaxia das ITU recorrentes com arando e com trimetropim, comprovando a não inferioridade do primeiro face ao antibiótico. Deste modo, confirmou-se a eficácia da profilaxia com arando neste subgrupo de doentes. Foi ainda demonstrada a segurança desta terapêutica.

Ledda et al. (18) estudou o efeito do suplemento Anthocran® (extrato estandardizado contendo PACS em valores de  $\geq 27.0\% \leq 33.0\%$ ) sobre o número de ITUs, ocorridas ao fim de um período de 2 meses, em jovens adolescentes com história de ITU recorrente.

Os resultados obtidos permitiram afirmar a eficácia desta suplementação, com uma percentagem de PACs altamente estandardizada (36 mg), como medida profilática neste subgrupo de indivíduos.

Outro grupo em que as infeções urinárias de repetição são frequentes são as mulheres idosas. Embora menos afetados, os homens idosos têm também maior frequência de ITU. Indo de encontro a este aspeto, são vários os estudos que se focam num possível efeito profilático nesta população de indivíduos.

Bianco et al. (19) estudou uma possível redução do número de casos de bacteriúria e piúria em mulheres idosas residentes em lar, através do consumo de cápsulas de extratos de arando ricas em PAC. Verificou uma redução dose dependente dos mesmos, contudo sem diferença para a toma de 108 mg ou 72 mg de PAC diária. O efeito na bacteriúria relacionou-se com uma diminuição das colónias de *E. coli*, e não de outros uropatógenos, o que vai ao encontro dos resultados *in vitro*.

Caljouw et al. (20) estudou o efeito do consumo de cápsulas de extratos de arando na taxa de ITU numa população de idosos residentes em unidades de cuidados a longo prazo, tendo verificado um efeito estatisticamente significativo face ao grupo placebo no que toca a ITU clínica. Note-se, contudo, que não houve redução do número de ITUs de acordo com a definição do termo, isto é, aquela confirmada por sumária de urina ou por urocultura. Estes dados apenas foram válidos no grupo de doentes considerado como de alto risco para o desenvolvimento de ITUs. Os fatores que os definiam como tal incluíam cateterismo vesical prolongado, diabetes mellitus e  $\geq 1$  episódio de ITU no último ano.

Em mulheres idosas residentes em lares, a concentração de 72 mg de PACs diária não se mostrou eficaz na prevenção dos casos de bacteriúria e piúria, e consequentemente de episódios de ITU diagnosticados (21). Adicionalmente, a necessidade de antibioterapia e

o seu tempo de duração, as estirpes resistentes e o número de hospitalizações, também não foram significativamente inferiores, pelo que neste subgrupo populacional, a suplementação nesta concentração não se mostrou eficaz.

Outros subgrupos particulares foram também alvo de atenção.

Num estudo de uma subpopulação de doentes com esclerose múltipla e doença do trato urinário, a toma diária de 36 mg de PACs não se mostrou eficaz na redução dos casos de recorrência de ITU face ao grupo placebo (22).

A administração de 72 mg de PAC a doentes com carcinoma prostático sob tratamento de radioterapia demonstrou que estes homens poderão beneficiar da toma de cápsulas de extrato de arando para prevenir a cistite rádica, particularmente aqueles que se encontram nos regimes de baixa hidratação ou com sintomas urinários de base (23).

Barnoiu et al. (24) estudou o potencial efeito preventivo, nas ITU, da adição de 120 mg de arando às terapêuticas preventivas de rotina, em doentes com cateterismo duplo J após cirurgia. O número de ITU foi significativamente menor no grupo que consumiu arando, concluindo-se que tem um efeito adjuvante na prevenção destas infeções.

Entre mulheres submetidas a cirurgia eletiva ginecológica com necessidade de cateterização pós-operatória, o tratamento profilático com cápsulas de extrato de arando revelou-se eficaz na redução das taxas de ITU, alcançando uma redução para cerca de metade (25).

Num estudo em mulheres com idade igual ou superior a 60 anos, com fratura da anca e que receberam cateterismo vesical pré-operatório, procurou-se verificar um possível efeito profilático da toma de cápsulas de extrato de arando no desenvolvimento de ITU no período pós-operatório (26). Não se verificou, contudo, uma diferença estatisticamente significativa no número de uroculturas positivas entre o grupo suplementado e o grupo

controle, pelo que, neste caso, o concentrado de arando não parece ser eficaz na prevenção de ITU nesse subgrupo específico de mulheres (fratura da anca e cateterismo urinário).

Para que os extratos de arando possam ser utilizados como medida preventiva das ITU recorrente, é crucial que os estratos sejam preparados com doses efetivas dos componentes ativos, nomeadamente das PACs-A. Occhipinti et al. (27) defende que deve ser feita a determinação do conteúdo total de PACs pelo método BL-DMAC, e a autentificação de PACs-A por espectrometria de massa/cromatografia líquida de alta *performance*, de modo a conseguir alcançar a dose eficaz. De acordo com os resultados obtidos no ensaio clínico realizado nesse âmbito, concluíram que uma dose de 112 mg de Oximacro® com 36 mg de PACs-A é eficaz na prevenção das ITUs quando administrada duas vezes ao dia, por um período de 7 dias.

Ledda et al. (28) demonstrou que a suplementação oral com um extrato de arando rico em PACs, altamente estandardizado, permite obter resultados eficazes e seguros na prevenção de ITUs recorrentes, traduzido por uma diminuição do número de eventos e dos sintomas associados, da sua duração, e da necessidade de consulta médica.

Singh et al. (29) submeteu mulheres com ITUs recorrentes, não complicadas ou subclínicas, a suplementação diária com cápsulas de extrato de arando com um conteúdo em PACs-A estandardizado, numa dose total de 60 mg diárias, tendo verificado, no geral, uma eficácia e tolerabilidade superior do extrato comparativamente ao placebo. Demonstraram essa eficácia na redução da adesão bacteriana, no aumento das colónias HAMR negativas, na acidificação da urina, e na prevenção de ITU, pela diminuição da disúria, bacteriúria e piúria. Deste modo, os autores sugerem um efeito benéfico do arando na profilaxia de doentes selecionados, com ITUs recorrentes não complicadas, usado como suplemento alimentar. (29)

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Stapleton et al. 2012 (12)	Mulheres pré-menopausa com ITU <sup>1</sup> recente	176	RCT <sup>2</sup> controlado por placebo; paralelo 3 braços	4 oz (118ml) de sumo; 8 oz (236ml) de sumo; placebo	6 meses	Ausência de redução significativa do risco de ITU [Taxa de infecções de 0.29 no GE <sup>3</sup> versus 0.37 no GP <sup>4</sup> (p=0.82)]  Redução das cadeias urinárias de <i>E. coli</i> com fímbrias-P, não estatisticamente significativa [urocultura positiva em 43,5% GE versus 80.0% GP (p=0.07)]  Efeitos adversos ligeiros em 24.2% GE versus 12,5% GP (p =0.07)]

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Bianco et al. 2012 (19)	Mulheres residentes em lares, com idade $\geq$ 65 anos	80	RCT controlado por placebo; paralelo 4 braços	3 cápsulas de extrato (108 mg PAC <sup>5</sup> ); 2 cápsulas de extrato e 1 de placebo (72 mg PAC); 1 cápsula de extrato e 2 de placebo (36 mg PAC); 3 cápsulas de placebo (0 mg PAC)	1 mês	Redução dose dependente de bacteriúria e piúria, sobretudo de cadeias <i>E. coli</i> , mas semelhantes para o consumo de 2 ou 3 cápsulas (valores de bacteriúria e piúria por <i>E.coli</i> : 43.4% GP; 40.3% 36mg PAC; 29.9% 72mg PAC; 34.3% 108mg PAC)

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Afshar et al. 2012 (16)	Crianças, dos 5 aos 18 anos	40 (39♀; 1 ♂)	RCT controlado por placebo; paralelo 2 braços	2 cc/kg de sumo de arando com 37% PAC; 2cc/kg de sumo de arando sem PAC	12 meses	Efeito estatisticamente significativo na prevenção de ITU pediátricas não febris (incidência de 0.4/doente/ano no GE <i>versus</i> 1.15/doente/ano no GP; p = 0.045) Redução de 65% do risco de ITU
Caljouw et al. 2014 (20)	Residentes de ICC, com idade > 65 anos (média 84)	928 (703 ♀)	RCT controlado por placebo; paralelo 2 braços	2 cápsulas de arando (9 mg PAC/ cápsula); 2 cápsulas de placebo	12 meses	Redução significativa da incidência de ITU clínicas nos doentes com alto risco de ITU (p = 0.04); sem diferença nos doentes de baixo risco <i>versus</i> placebo

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Gallien et al. 2014 (22)	Adultos com EM <sup>6</sup> e patologia urinária, com idade entre 18 e 70 anos	171	RCT controlado por placebo; paralelo 2 braços	2 cápsulas de arando (36 mg PAC/ dia); 2 cápsulas de placebo	12 meses	Ausência de diferenças significativas entre os dois grupos na prevenção da ocorrência de ITU : no tempo até à primeira ITU (p =0.97); nas taxas de ITU/ano (37.8% GE <i>versus</i> 40.4% GP; p =0.729 e no número de ITU experienciadas (2.2±2.3 GP <i>versus</i> 2.3±1.8 GE; p =0.46)  Ausência de diferença estatisticamente significativa nos eventos adversos, sobretudo gastrointestinais e ligeiros (17.1% no GE <i>versus</i> 20.5% no GP; p =0.32)

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Hamilton et al. 2015 (23)	Homens com carcinoma da próstata sob RT <sup>7</sup>	41	RCT controlado por placebo; paralelo 2 braços	1 cápsula de arando (72 mg PAC); 1 cápsula de placebo	Tempo de tratamento RT + 2 semanas	Incidência de casos de cistite inferior no GE <i>versus</i> placebo (65% GE <i>versus</i> 95% GP; P = 0.058); redução dos casos de cistite severa (30% GE <i>versus</i> 45% GP; p = 0.3); redução da incidência de dor/ardor (P = 0.045); homens sob regime de baixa hidratação com melhoria superior nos sintomas de dor/ardor (p = 0.038), jato urinário mais forte (p = 0.030) e menor uso de fraldas (p = 0.042), significativamente diferente dos doentes em regime de elevada hidratação (p = 0.028)

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Ledda et al. 2015 (28)	Doentes com ITU recorrentes	44	Estudo aberto e controlado; 2 braços	1 cápsula de extrato de arando (Anthocran™) + medidas higien- dietéticas; Medidas higien- dietéticas	60 dias	Redução do número de ITU recorrentes no GE <i>versus</i> o valor basal ( $p < 0.05$ ) e <i>versus</i> GP ( $p = 0.012$ ); Aumento do número de doentes livre de sintomas ( $p < 0.05$ ); Diminuição da duração média dos episódios de ITU ( $p < 0.05$ ); Diminuição do número de consultas médicas ( $p < 0.05$ ); Aumento do número de uroculturas negativas ( $p < 0.005$ ) Ausência de eventos adversos

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Barnoiu et al. 2015 (24)	Doentes com cateterismo (duplo J)	62	Estudo aberto e controlado, com distribuição aleatória 2 braços	120 mg de PAC + terapêutica profilática; terapêutica profilática de rotina	Estudo prospectivo (8 meses)	Redução significativa do número de ITUs nos doentes suplementados (12.9%) em relação aos não suplementados (38.7%) (p = 0.04)
Fernández-Puentes et al. 2015 (17)	Crianças, com > 1 mês de idade	192	Ensaio clínico de fase III, controlado e duplamente cego 2 braços	Xarope de glucose com arando 3%; Xarope de glucose com 8mg/mL de trimetoprim	Seguimento máximo de 1 ano	Em crianças < 1 ano de idade, a taxa cumulativa de ITU associada a profilaxia com arando foi superior à daqueles tratados com trimetoprim. No grupo > 1 ano de idade, não foi inferior ao antibiótico  Boa tolerância e ausência de eventos adversos

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Foxman et al. 2015 (25)	Mulheres adultas com cateterismo vesical após cirurgia ginecológica	160	RCT controlado por placebo; 2 braços	2 cápsulas de sumo de arando (8 oz sumo/cápsula), 2 id; 2 cápsulas de placebo, 2 id	6 semanas pós-operatório	Taxa de ITU significativamente menor no grupo com tratamento preventivo com arando (19% GE <i>versus</i> 38% GP; p = 0.008);  Sem diferenças de eventos adversos, incluindo efeitos gastrointestinais (56% GE <i>versus</i> 61% GP; p =0.94)
Vostalova et al. 2015 (14)	Mulheres com $\geq 2$ ITU no último ano	182	RCT controlado por placebo; 2 braços	2 cápsulas de arando em pó (250mg cada, 0.56% PAC) 2 cápsulas de placebo	6 meses	Redução significativa do número de ITU no grupo que recebeu a baga de arando em pó (p = 0.01)  Maior intervalo de tempo para a primeira recorrência no GE (p = 0.04)

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Occhipinti et al. 2016 (27)	Adultos saudáveis; Mulheres: 19 a 51 anos; Homens: > 51 anos	70 (60 mulhe res; 10 home ns)	RCT controlado por placebo; 2 braços	1 cápsula de extrato de arando estandardizado (Oximacro®) com 36 mg de PACs-A, 2 id; 1 cápsula de placebo, 2 id	7 dias	Redução de ITU recorrentes nas mulheres ( $p < 0.001$ ) e nos homens ( $p = 0.016$ ); redução significativa em todas as faixas etárias das mulheres ( $p = 0.008$ ), exceto entre 31 e 35 anos ( $p = 0.095$ ); Redução do número de UFC <sup>8</sup> nas uroculturas ( $p < 0.001$ )
Maki et al. 2016 (13) (continua)	Mulheres com ITU recente, com	373	RCT controlado por placebo; 2 braços	240 ml de sumo; 240 ml bebida placebo	24 semanas	Número de ITUs clínicas diagnosticadas e com piúria foram significativamente menores no grupo que consumiu sumo de arando relativamente ao placebo ( $p = 0.016$ e $0.037$ );

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Maki et al. 2016 (13)	idade média de 40,9 anos					Ausência de diferença estatisticamente significativa no tempo até ITU com urocultura positiva (p = 0.914)
Singh et al. 2016 (29) ( <i>continua</i> )	Pacientes com ITU recorrentes subclínicas ou não complicadas	72	RCT controlado por placebo; 2 braços	2 cápsulas de extrato estandardizado (Cranpac™) com 60 mg/cápsula de PAC-A; 2 cápsulas de <i>Lactobacillus</i> com	12 semanas	Eficácia e tolerabilidade gerais superiores por parte do extrato de arando, no score de adesão bacteriana (p < 0.001), progressão para MRHA <sup>9</sup> negativo (p < 0.001), redução da formação de biofilmes (p < 0.01) e crescimento bacteriano (p < 0.001); Diminuição do score de piúria microscópica (p < 0.001), de casos de ITU recorrente

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

Estudo	População	N	Desenho do estudo	Dose/ dia	Duração	Resultados
Singh et al. 2016 (29)				400 milhões de <i>Lactobacillus acidophilus</i> por cápsula		(p < 0.001) e disúria subjetiva (p < 0.001); Redução do pH urinário (p < 0.001); Ausência de atividade bactericida <i>in vitro</i> em qualquer dos doentes; Ausência de eventos adversos
Juthani-Mehta et al. 2016 (21) (continua)	Mulheres idosas residentes em lar, com idade ≥ 65 anos (média 86.4)	185	RCT controlado por placebo; 2 braços	2 cápsulas de extrato de arando (36 mg PAC cada), (equivalente a 20oz ou 591.47 ml de sumo);	1 ano (avaliação de 2 em 2 meses)	Ausência de diferença na quantidade de casos de bacteriúria e piúria no grupo suplementado e placebo (p = 0.98); Sem diferença significativa no nº de ITUs sintomáticas, taxas de morte, hospitalização, bacteriúria por bacilos <i>Gram</i> negativos

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Juthani-Mehta et al. 2016 (21)				2 cápsulas de placebo,		multirresistentes, antibioterapia e duração total desta.
Ledda et al. 2017 (18)	Adolescentes saudáveis com ITU recorrentes, idade entre 12 e 18 anos	36	Cápsula de extrato de arando e terapêutica standard; terapêutica standard	1 cápsula de 120 mg de extrato de arando (Anthocran®): 36 mg de PAC	60 dias	Número de ITUs no GE foi significativamente menor que no grupo controlo e menor que o ocorrido antes da inclusão no estudo ( $p = 0.0001$ , em ambos); 63.1 % dos doentes suplementados não tiveram sintomas durante o período de follow-up, percentagem significativamente superior à de 23,5% do controlo ( $p < 0.05$ )

**Tabela 2 - Estudos clínicos do efeito nas infecções urinárias (2012-2018) (continuação)**

<b>Estudo</b>	<b>População</b>	<b>N</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Dose/ dia</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
Gunnarsson et al. 2017 (26)	Mulheres com cateterismo urinário pré-operatório, com fratura da anca, com idade $\geq$ 60 anos	227	RCT controlado por placebo; 2 braços	2 cápsulas de extrato de arando (550 mg pó de arando e 4.19 mg PAC por cápsula), 3 id, desde a admissão até 5 dias de pós-operatório; 2 cápsulas de placebo, 3id	Follow-up até 14 dias de pós-operatório	Ausência de diferença estatisticamente significativa no número de uroculturas positivas obtidas aos 5 e 14 dias de pós-operatório, quer na análise ITT <sup>10</sup> , quer na análise limitada aos doentes que consumiram no mínimo 80% das cápsulas (p = 0.270, para ambos)

<sup>1</sup>ITU – infecção do trato urinário; <sup>2</sup>RCT – estudo controlado e randomizado; <sup>3</sup>GE – grupo de estudo; <sup>4</sup>GP – grupo placebo; <sup>5</sup>PAC - proantocianidina ; <sup>6</sup>EM - Esclerose múltipla; <sup>7</sup>RT – radioterapia; <sup>8</sup>UFC – unidades formadoras de colónias; <sup>9</sup>MRHA – hemaglutinação resistente à manose; <sup>10</sup>ITT - intenção de tratar.

### 3.2. Efeito Oncoprotetor

A utilização do arando e dos seus derivados na prevenção da doença oncológica é ainda uma área sub-explorada, mas com grande potencial atendendo às capacidades antioxidante e anti-inflamatória atribuíveis a componentes bioativos do mesmo.

Apesar de, até à data, existir apenas um ensaio clínico que foque a prevenção ou o atraso na progressão do cancro, existem já vários estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*. Uma revisão recente (30) nesta área englobou um total de 34 estudos pré-clínicos com linhas celulares de 45 cancros, isoladas de 16 órgãos alvo, e 9 estudos de 7 cancros recorrendo a modelos de carcinogénese animais, *in vivo*. Estes últimos, embora mais escassos, suportam a existência de uma ação inibitória em cancro do esófago, estômago, cólon, bexiga, próstata, glioblastoma e linfoma. Os mecanismos envolvidos na atividade oncoprotetora incluem modulação da viabilidade e densidade celular, proliferação celular, morte celular por vias apoptótica, necrótica e autofágica, adesão e migração, inflamação, *stress* oxidativo e vias de transdução de sinal, mediadas por citocinas. Os efeitos positivos são atribuíveis a vários constituintes do arando, nomeadamente as várias classes de flavonóides: antocianinas, flavonóides e proantocianidinas.

Mais recentemente, um estudo em modelo animal de adenoma intestinal veio corroborar o efeito anti-proliferativo e apoptótico dos derivados do arando, procurando elucidar os mecanismos pelos quais atua (31). Atestou-se uma forte prevenção do crescimento dos tumores intestinais, em 33.1%. Verificou-se um aumento do perfil de citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10), em detrimento das citocinas inflamatórias locais (IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ). Adicionalmente, houve um aumento das células caliciformes do colon e da produção de proteína mucina 2 (MUC2), com melhoria da função de barreira intestinal. Verificou-se ainda um aumento da concentração cecal de ácidos gordos de cadeia curta, e sub-regulação das vias de sinalização do fator de crescimento epidérmico.

Os maiores avanços na investigação foram feitos a nível do carcinoma da próstata. Vidlar et al. (32) teria já verificado uma associação inversa entre a suplementação com arando e os níveis séricos de antígeno específico da próstata (PSA), em doentes com prostatite não bacteriana crónica e biópsia negativa para carcinoma. Face a esses resultados, procurou-se uma relação entre os níveis de PSA e a mesma suplementação (1500 mg de pó de arando) em homens com carcinoma, previamente a prostatectomia (33). Após suplementação por 30 dias, os níveis de PSA revelaram-se significativamente menores, pelo que os autores sugerem um possível efeito profilático contra a recorrência bioquímica de carcinoma prostático, após cirurgia.

### **3.3. Doença Cardiometabólica**

Nos últimos anos, os compostos flavonóides polifenólicos e outros constituintes bioativos do arando têm ganho particular atenção na melhoria de quadros de síndrome metabólica, diabetes e doença cardiovascular.

Os flavonóides possuem uma forte capacidade antioxidante (6, 34, 35), sendo que uma dieta rica nesses compostos está associada a redução do risco cardiovascular (36). As análises comparativas dos antioxidantes fenólicos existentes nos vários produtos de arando denotam a seguinte ordem crescente: compota de arando congelada, compota, sumo 27%, arando seco, sumo 100%, arando congelado (37).

Vários estudos *in vitro* (38-40) e *in vivo*, em modelos animais (41, 42), mostraram ação na inibição da oxidação da LDL, da agregação e adesão plaquetária, e de enzimas da metabolização lipídica e lipoproteica que afetam a resposta imune à LDL oxidada e à sua captação pelos macrófagos endoteliais, bem como na indução de relaxamento vascular dependente do endotélio, e no aumento do transporte de colesterol dos tecidos para o

fígado, com diminuição do colesterol total e colesterol-LDL. (41) Também se verificaram melhorias do perfil lipoproteico em modelos animais, tendo-se associado a descida de colesterol à eliminação urinária de esteróis favorecida pelas antocianinas do arando (43).

O número de estudos clínicos na doença cardiometabólica é limitado, mas tem suscitado um interesse crescente. Os fatores de risco mais comumente examinados incluem o perfil lipídico sérico, a tensão arterial, a função endotelial, a regulação da glicemia, e vários biomarcadores de inflamação e *stress* oxidativo. Os resultados são, na generalidade, promissores, contudo existe uma grande disparidade no desenho dos estudos, variando no tipo de produto usado (sumo de arando, baga seca, e extratos), nas doses, e ainda nas características das populações estudadas (44).

Os principais efeitos cardiovasculares envolvem propriedades antioxidantes, anti-hipertensoras e anti-ateroscleróticas (37). Os benefícios apontados incluem melhoria na função vascular e no perfil lipídico, por diminuição da oxidação lipoproteica e melhoria da capacidade enzimática antioxidativa na depuração de radicais livres de oxigénio e dos níveis lipídicos, bem como redução da resposta inflamatória vascular e sistémica e do *stress* oxidativo (45, 46).

### ***Perfil Lipídico***

O número de estudos em humanos que tem por objetivo investigar o efeito no perfil lipídico e lipoproteico plasmático é limitado.

O consumo de sumo de arando baixo em calorias por indivíduos saudáveis e/ou obesos permitiu o aumento dos níveis plasmáticos de colesterol HDL e a diminuição dos de colesterol-LDL, moléculas de adesão e metaloproteinases de matriz 9, implicadas na vulnerabilidade e rutura de placa aterosclerótica e no desenvolvimento de hipertensão (47-50). Contudo, o estudo mais recente levado a cabo por Ruel et al. (51) veio contrariar

os primeiros resultados obtidos pela mesma equipa. De facto, embora tenham inicialmente reportado um decréscimo na LDL oxidada circulante (49, 50) e nas moléculas de adesão (50), no estudo desenvolvido em 2013 (51) não demonstraram diferenças significativas nesses mesmos valores, entre o grupo que consumiu sumo de arando e o grupo placebo. Os autores apontam como possível explicação os diferentes desenhos dos estudos, nomeadamente a dose de sumo, e a sua duração.

Num estudo com 30 doentes com Diabetes *mellitus* do tipo II, foi possível observar uma redução nos níveis de colesterol total e colesterol-LDL naqueles suplementados diariamente com um extrato de arando (1500 mg/dia) por 12 semanas. (52)

Um RCT demonstrou que o consumo diário, durante 12 semanas, de um copo de sumo de arando, por um grupo de 58 homens com DM II, resultou num aumento significativo dos níveis de atividade de Apo A-I e Paraoxonase-1 e diminuição na Apo B, traduzindo-se num aumento do transporte retrógrado do colesterol e proteção contra a oxidação lipídica. Contudo, não foi reportado o perfil lipídico (valores de colesterol total, HDL, LDL e triglicéridos) dos doentes (53).

Num outro estudo duplamente cego e controlado com placebo (54), um grupo de 56 indivíduos previamente saudáveis foi submetido ao consumo de sumo de arando por 8 semanas, tendo-se verificado uma redução significativa dos valores séricos de triglicéridos no grupo que consumiu, duas vezes ao dia, 240 ml de sumo de arando, sem existir, contudo, modificação dos restantes elementos do perfil lipídico.

Mais recentemente, o consumo de 450 ml de bebida de extrato de arando baixa em calorias e rica em polifenóis, durante 8 semanas, por um grupo de homens e mulheres com excesso de peso ou obesidade, revelou um aumento no colesterol-HDL em comparação com o placebo (55).

### ***Tensão Arterial***

Os primeiros estudos que procuraram verificar uma possível relação entre os valores da pressão arterial e o consumo de derivados do arando verificaram efeitos benéficos na mesma com o consumo de sumo de arando, nomeadamente no que respeita à pressão arterial sistólica (49, 50). O consumo a curto prazo (14 dias) de 17 ml / kg de peso corporal demonstrou uma redução em 2% dos valores da pressão arterial sistólica de 21 homens, previamente saudáveis (49). No estudo ulterior, em doentes obesos, doses crescentes de sumo de arando a cada 4 semanas, de 0-125 ml a 250-500 ml, possibilitaram uma redução na pressão arterial sistólica em 3 mmHg, em comparação com os valores basais (50).

Posteriormente foram realizados estudos controlados com placebo que também estudaram uma possível redução da pressão arterial com o consumo de sumo de arando (7, 51, 52, 54, 56, 57). Contudo, apenas um destes estudos, realizado numa amostra de indivíduos saudáveis e recorrendo à menor dose de polifenóis, demonstrou melhoria estatisticamente significativa na tensão arterial, com redução da tensão diastólica em cerca de 4.7 mmHg após suplementação diária (54).

A falta de consistência destes resultados poderá estar relacionada com diversos fatores, nomeadamente o desenho dos estudos, a duração dos mesmos (1 a 4 meses), a composição fitoquímica dos produtos testados, e a heterogeneidade da amostra, desde doentes previamente saudáveis, a doentes com múltiplos fatores de risco cardiovasculares.

### ***Glucoregulação***

Os estudos realizados em humanos são em número reduzido e apresentam resultados discordantes, nomeadamente a longo termo. Aqueles que estudaram o efeito a curto prazo, demonstraram que o consumo de sumo de arando baixo em calorias e bagas secas sem

adição de açúcares conduziu a respostas glicémicas pós-prandiais, agudas, favoráveis, em doentes adultos com DM II (58).

Quanto ao efeito a longo prazo, um estudo (53) revelou redução significativa da glucose plasmática em jejum em 58 doentes do sexo masculino com DM II quando suplementados com sumo de arando por 12 semanas, em relação ao placebo. Também Novotny et al. (54), após suplementação de 58 adultos com sumo de arando por 8 semanas, demonstrou redução da glicemia em jejum relativamente ao placebo, e verificou ainda uma melhoria da resistência à insulina daqueles com maiores valores basais. Em contraste, um outro estudo (52), em que também uma população de 30 homens do sexo masculino com DM II foi suplementada por 12 semanas com extratos de arando, não verificou qualquer impacto nos níveis de glicemia em jejum e hemoglobina glicada. À semelhança deste último, Chambers et al. (59) incluiu um extrato de arando numa intervenção dietética englobada no tratamento de 27 adultos com DM II, não tendo obtido resultados significativos nos valores de glicemia. Por outro lado, 12 voluntários entraram num estudo em que procederam ao consumo de um puré de bagas com arando que foi capaz de atrasar a resposta plasmática pós-prandial ao açúcar (60).

Estão também disponíveis na literatura ensaios clínicos de indivíduos com síndrome metabólico que sugerem algum benefício associado à intervenção com o consumo de derivados de *V. macrocarpon*, mas sem resultados específicos nos valores da glicemia (7, 37, 61).

Em 2017, um grupo de 78 homens e mulheres com excesso de peso ou obesidade foram incluídos num RCT com consumo de 450 ml de placebo ou bebida de extrato de arando, baixa em calorias e rica em polifenóis, durante um período de 8 semanas (55). Foram obtidas amostras de sangue e urina após uma única toma (semana 0) e no final do estudo

(semana 8), tendo os autores verificado uma redução dos níveis séricos de insulina no final, mostrando assim um efeito benéfico na glucoregulação (55).

Num estudo randomizado *cross-over*, o consumo de 40 gr de arando seco, baixo em calorias, em simultâneo com uma refeição alta em gorduras tipo *fast-food* (70 gr de gordura. 974 kcal), permitiu melhorar a hiperglicemia pós-prandial, em múltiplos tempos (2 e 4 horas após ingesta), em adultos obesos com diabetes tipo II (62) . Os autores relacionam estes resultados com o teor de hidratos de carbono presentes no arando, sobretudo alto conteúdo em fibras e baixo em hidratos diferíveis, e também com o alto conteúdo de polifenóis. Por oposição, não foram verificadas diferenças significativas quanto à insulina e resistência à insulina. No geral, os resultados sugerem que a adição da baga de arando a uma refeição alta em gorduras poderá melhorar o controlo da glicemia pós-prandial (62).

### ***Biomarcadores de Inflamação e Stress Oxidativo***

Duffey e Sutherland (63, 64), em análises observacionais, descreveram uma associação inversa entre o consumo de bebidas ricas em polifenóis, como sumo de arando, com os índices antropométricos, e ainda com marcadores inflamatórios, nomeadamente os níveis de proteína C reativa. Este último efeito foi corroborado mais recentemente no estudo RCT desenvolvido por Novotny et al. (54), em que se verificou uma redução dos níveis de PCR com o consumo diário de sumo de arando, bem como por Chew et al, com obtenção de valores mais baixos de proteína C reativa ao fim de 8 semanas de consumo de sumo diário. Verificou ainda uma melhoria no perfil inflamatório, logo após a primeira toma, com decréscimo dos níveis de endotelina-1, óxido nítrico e razão glutatona reduzida:oxidada ( $p < 0.05$ ), e aumento dos níveis de interferão- $\gamma$ .

Outros marcadores inflamatórios, em especial citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , não tiveram variações significativas com o consumo de sumo de arando durante 8 semanas, por indivíduos com síndrome metabólico (61), porém terá demonstrado um efeito significativo na redução da peroxidação lipídica e no aumento de biomarcadores séricos de atividade antioxidante (7, 61). Este efeito veio reforçar os dados já existentes sobre a capacidade dos polifenóis do arando diminuírem, *in vitro*, as espécies reativas de oxigénio e as peroxidases lipídicas, ao mesmo tempo que aumentam a atividade da glutathione peroxidase e da cinase fosfo-c-Jun N-terminal (65).

Um estudo mais recente com bagas secas (62), contudo, não demonstrou diferenças nos níveis de IL-6 e proteína C reativa, apesar de modular marcadores de inflamação como IL-18 e ião nitrito sérico, e reduzir também a peroxidação lipídica induzida pela refeição rica em gorduras.

### ***Função endotelial***

A disfunção endotelial associa-se a redução da capacidade vasodilatadora da parede arterial, aspeto este presente na doença cardiovascular e outras associadas, sendo um mecanismo chave da doença aterosclerótica.

De acordo com os dados reunidos por Blumberg et al. (44), os resultados dos estudos mostram um aumento agudo da função endotelial em indivíduos saudáveis. Dohadwala et al. (56) completou um estudo piloto agudo, não controlado com placebo, e um estudo *cross-over*, controlado por placebo, de modo a verificar o efeito do sumo de arando na função vascular de doentes com doença coronária. O estudo *cross-over* envolveu 44 doentes, e o consumo diário de 480ml de sumo de arando, durante 4 semanas, não melhorou a vasodilatação mediada pelo fluxo (habitualmente diminuída na disfunção endotelial), ou a tonometria arterial periférica. Contudo, o estudo piloto agudo num

subconjunto da mesma população de doentes (15 doentes), demonstrou uma melhoria modesta na função vasodilatadora mediada pelo fluxo, de forma aguda, 4 horas após o consumo de uma dose de sumo. Um estudo randomizado e duplamente cego realizado por Flammer et al. (57), durante 4 meses, em 84 indivíduos com disfunção endotelial e outros fatores de risco cardiovasculares, veio corroborar a ausência de efeito a longo prazo na vasodilatação com o consumo de sumo de arando, sem melhoria da função endotelial periférica.

Tendo em consideração o efeito agudo, Feliciano et al. (66) identificou e quantificou, por cromatografia líquida de alta performance, 60 metabolitos fenólicos no plasma e na urina, após a ingestão aguda de sumo de arando com 787 mg de conteúdo total de polifenóis. Posteriormente, Rodriguez-Mateos et al. (67) conduziu um estudo em adultos saudáveis, tendo observado aumentos dose-dependente na dilatação mediada pelo fluxo, após a ingestão aguda de uma dose de sumo de arando. Esses aumentos foram também dependentes do tempo, tendo-se verificado um pico máximo às 4h, das 8h de duração da avaliação desse parâmetro. Adicionalmente, identificaram 12 dos 60 compostos previamente isolados, como preditores independentes de aumentos da vasodilatação mediada pelo fluxo, desta forma indicando a importância dos polifenóis já sugerida pelo estudo prévio.

A rigidez arterial é um fator conhecido de risco cardiovascular, comumente associada a doença aterosclerótica. É normalmente medida pela velocidade onda-pulso e pelo índice de aumentação ou amplificação, que corresponde à diferença entre o primeiro e o segundo picos da onda de pressão arterial central, expressa como percentagem da pressão de pulso (68). Um possível efeito do arando nestes dois parâmetros foi já estudado. Dohadwala et al. (56) verificou uma redução significativa da velocidade onda-pulso carotídeo-femoral com o consumo do sumo de arando por 4 semanas; contudo, Ruel et al. (51), após o

mesmo tempo de suplementação diária com 500 ml de sumo, não obteve diferenças estatisticamente significativas no índice de aumento nos indivíduos do grupo que consumiu sumo de arando, face ao grupo placebo. É de salientar, no entanto, que, dentro do grupo de estudo houve uma redução significativa do índice de aumento comparativamente ao valor no início do estudo. As diferenças entre os resultados desses dois estudos (51, 56) poderão estar na concentração de sumo usada, de 54 e 27% , respetivamente.

### **3.4. Ações na saúde oral e intestinal**

De acordo com vários estudos desenvolvidos ao longo dos anos, o arando tem ação antimicrobiana e antifúngica contra diversos agentes patogénicos. A nível oral, salienta-se as ações contra *Streptococcus mutans* (69), *Porphyromonas gingivalis* (69, 70), *Cryptococcus neoformans* (9, 71), e *Candida albicans* (71, 72). Quanto ao trato gastro intestinal, mostrou já ação protetora gástrica contra *Helicobacter pylori*, e modulação da flora intestinal, nomeadamente proteção contra a adesão de *Escherichia coli* extraintestinal (ExPEC) aos enterócitos.

#### **3.4.1. Saúde Oral**

O material não dialisável (MND), de alto peso molecular, presente no arando, poderá ser bastante útil como suplemento para promoção da saúde oral, noção esta que se encontra suportada pelas atividades biológicas sobre várias bactérias orais e lesão tecidular.

Os derivados do arando têm tido particular interesse na prevenção da saúde oral, atendendo a que possuem atividades biológicas sobre várias bactérias orais e lesão tecidular (69), já atestada em numerosos estudos *in vitro*. Particularmente a fração de MND parece inibir a adesão de *Streptococcus mutans* e a formação de biofilmes, bem como a coagregação de um número considerável de espécies de *Streptococcus spp.* orais.

Adicionalmente, elixires bucais suplementados com NMD já demonstraram reduzir significativamente a contagem salivar de *S. mutans* (73).

O efeito anti-cariogénico de derivados do arando foi já suportado por vários estudos *in vitro*, envolvendo a inibição da adesão bacteriana à hidroxiapatite da superfície de esmalte do dente e da formação de biofilmes.

São vários os estudos que reportam a inibição da formação de biofilmes. Em 2004, Yamanaka et al. (74) estudou o efeito de sumo de arando a 25% na adesão de várias espécies de *Streptococcus spp.* orais a superfícies de hidroxiapatite cobertas com saliva, tendo reportado um efeito inibitório, entre 80 a 95%, na formação de biofilmes para as espécies de *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. criceti*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, e *S. mitis*. Nesse mesmo ano, Weiss et al. (75) estudou o efeito do MND na adesão da espécie *S. sobrinus* a uma superfície semelhante na presença de açúcar, reportando um efeito inibitório significativo, mais proeminente na presença desta última, sendo dose-dependente. Este mecanismo açúcar-dependente foi também corroborado por Duarte et al. (76), desta vez reportando a capacidade inibitória de outras frações do arando – 125 µg flavonóides/ml e 500 µg PAC/ml - na formação de biofilmes por cadeias cariogénicas de *S. mutans*.

O mecanismo dependente de açúcar é o mais implicado no processo de formação da placa dentária, contudo outros mecanismos de ação dos compostos de arando, que não a inibição das enzimas GTF e FTF, têm sido propostos. Estes incluem inibição proteica, diminuição da síntese de ácido e da hidrofobicidade bacteriana (*Tabela 3*). Não envolvem um efeito bactericida, na medida em que a concentração do produto não influencia a viabilidade bacteriana (76).

**Tabela 3 - Atividade anti-cariogénica de derivados do arando**

<b>Mecanismo de Ação</b>	<b>Resultados</b>	<b>Componente Bioativo</b>	<b>Estudo</b>
Inibição da atividade das enzimas GTF <sup>1</sup> e FTF <sup>2</sup>	Diminuição da síntese de polissacáridos extracelulares (sucrose), essencial à adesão e formação de biofilmes	Extratos de arando	Steinberg et al., 2004 (77); Duarte et al., 2006 (76); Gregoire et al., 2007 (78)
	Inativação da enzima FTF	MND <sup>3</sup> ; Miricetina Epicatequina (menos eficaz)	Feldman et al., 2009 (79); Feldman et al, 2010 (80)
Diminuição da síntese de ácido	Inibição da produção de ácido por <i>S. mutans</i>	PAC <sup>4</sup>	Duarte et al., 2006 (76)
		Flavonóides e PAC	Gregoire S et al., 2007 (78)
Inibição da atividade de GBP <sup>5</sup> de membrana ( <i>continua</i> )	Redução significativa da adesão de <i>S. mutans</i> a superfícies de hidroxiapatite cobertas com saliva ou glucano após cobertura com sumo de arando;	Sumo de arando 25%	Koo et al., 2010 (81)

**Tabela 3 - Atividade anti-cariogénica de derivados do arando (continuação)**

<b>Mecanismo de Ação</b>	<b>Resultados</b>	<b>Componente Bioativo</b>	<b>Estudo</b>
Inibição da atividade de GBP <sup>5</sup> de membrana	Redução da ligação em 40-85% e diminuição da massa de biofilme	Sumo de arando 25%	Koo et al., 2010 (81)
Redução da hidrofobicidade bacteriana	Diminuição da hidrofobicidade de estreptococos orais, com decréscimo da formação de biofilmes.	Sumo de arando a 25%	Yamanaka et al., 2004 (74)

Dados baseados nos estudos revistos por Bodet et al. (68) e subseqüentes publicações

<sup>1</sup>GTF – glucosil transferase; <sup>2</sup>FTF – fructosil transferase; <sup>3</sup>MND – material não dialisável; <sup>4</sup>PAC – proantocianidina; <sup>5</sup>GBP -proteínas de ligação a glucanos

Para além da inibição da formação de biofilmes, a disrupção daqueles previamente formados é importante face à sua constante formação. (69) Steinberg et al. (2005) (75) demonstrou que o MND tem a capacidade de causar a disrupção de *S. sobrinus* de biofilmes formados sob a ação das enzimas glucosil e fructosil transferases (GTF e FTF), embora o efeito seja mais marcante na ausência de açúcar. Esta capacidade de reverter os biofilmes previamente formados foi corroborada por Sethi R et al. (82), tendo demonstrado um efeito anti-adesão e anti-co-agregação do MND sobre várias *Streptococcus spp.*

Os resultados são assim sugestivos da capacidade dos derivados do arando, em especial da fração de MND, em conduzir a uma redução da adesão bacteriana aos biofilmes, diminuir a sua massa e diminuir a produção de polissacáridos (69), com consequente formação de biofilmes mais finos e menos densos (75), presumivelmente menos virulentos.

A formação de uma placa dentária estável implica não só a adesão bacteriana à película proteica adquirida que cobre a superfície do dente, como a coagregação bacteriana posterior. Tal como a primeira, também a coagregação já mostrou ser influenciável por derivados do arando. Weiss et al. (83) verificou, em estudos *in vitro*, que o MND era capaz de reverter a coagregação de 49 de 84 pares de bactérias co agregadas testadas, afetando preferencialmente os pares que incluíam pelo menos um dos agentes pertencentes a espécies anaeróbias *Gram*-negativas. Mais tarde, em 2004 (73), a mesma equipa testou o efeito de uma solução de lavagem oral suplementada com MND nos níveis bacterianos orais. Ao fim de 6 semanas de uso diário da solução, foram obtidas as contagens de *S. mutans* e de bactérias totais presentes na saliva de 29 voluntários (grupo experimental), tendo-se verificado uma redução estatisticamente significativa relativamente ao grupo controlo, de 30 voluntários ( $p < 0.01$ ).

No que respeita à doença periodontal, os vários estudos disponíveis apontam para efeitos inibitórios benéficos a nível de fatores microbiológicos, incluindo a adesão e formação de biofilmes e a produção de enzimas proteolíticas que degradam o tecido periodontal, e a resposta do hospedeiro, englobando a sobre-expressão de mediadores inflamatórios e das enzimas degradadoras dos tecidos hospedeiros, nomeadamente as metaloproteinases de matriz (MMP), críticas ao desenvolvimento de periodontite (*Tabela 4*).

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**

Mecanismo de ação		Componente bioativo	Estudo
Anti-adesão de <i>P. gingivalis</i> e formação de biofilmes	Inibição da formação de biofilmes sem afetar o crescimento ou viabilidade bacteriana	MND <sup>1</sup>	Haffajee e Socransky, 1994 (84)
		PAC <sup>2</sup> -A	La VD et al., 2010 (85) Feldman M et al., 2012 (70)
	Inibição da adesão bacteriana a proteínas como colagénio tipo I e fibrinogénio	MND	Labrecque et al., 2006 (86)
Anti-coagregação	Inibição da coagregação de pares de bactérias que incluem pelo menos um anaeróbio <i>Gram</i> negativo	MND	Weiss et al., 1998 (83), 2002 (87)
Inibição de enzimas proteolíticas ( <i>continua</i> )	Inibição da atividade das gingipain de <i>P. gingivalis</i> e da atividade quimiotripsina like de <i>T. denticola</i>	Polifenóis PAC	Yamanaka et al., 2006 (88), 2007 (89)

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**  
(continuação)

<b>Mecanismo de ação</b>		<b>Componente bioativo</b>	<b>Estudo</b>
Inibição de enzimas proteolíticas	Inibição da atividade das Arg <sup>3</sup> - e Lys <sup>4</sup> -gingipain e da dipeptidil peptidase IV de <i>P. gingivalis</i> ; da atividade tripsina like de <i>T. forsythia</i> ; e da atividade quimiotripsina like de <i>T. denticola</i>	MND (dose dependente)	Bodet et al., 2006 (90)
	Bloqueio da degradação de proteínas nativas por <i>P. gingivalis</i> , incluindo colagénio tipo I e transferrina	MND (dose dependente)	Bodet et al., 2006 (90)
	Inibição da atividade colagenase	PAC-A	La VD et al., 2010 (85) Feldman M et al., 2012 (70)

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**

(continuação)

Mecanismo de ação		Componente bioativo	Estudo
Inibição de citocinas, PGE2 <sup>5</sup> e MMP <sup>6</sup> (continua)	Redução da sobre-expressão de vários mediadores inflamatórios induzida por TNF- $\alpha$ <sup>7</sup> pelo endotélio microvascular	Polifenóis	Youdim et al., 2002 (91)
	Inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL <sup>8</sup> -1 $\beta$ , IL-6, e TNF- $\alpha$ ), e quimiocinas (IL-8 e RANTES <sup>9</sup> ) por macrófagos estimulados por LPS <sup>10</sup> de <i>E. coli</i> e de importantes agentes patogénicos periodontais (A. <i>actinomycetemcomitans</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>T. denticola</i> , e <i>T. forsythia</i> )	MND PAC	Bodet et al., 2006 (92)

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**

(continuação)

<b>Mecanismo de ação</b>		<b>Componente bioativo</b>	<b>Estudo</b>
Inibição de citocinas, PGE2 <sup>5</sup> e MMP <sup>6</sup>	Inibição da síntese de IL-6, IL-8 e PGE2 pelos fibroblastos gengivais, via infra-regulação da AP-1 <sup>11</sup> , fator de transcrição importante de genes pró-inflamatórios	MND	Bodet et al., 2007 (93)
	Inibição da síntese de mediadores pró-inflamatórios (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ e IL-8) por macrófagos, estimulados por LPS de <i>P. gingivalis</i>	PAC-A	Feldman et al., 2012 (70)
	Inibição da síntese de IL-6 e IL-8 estimuladas por IL-17 por fibroblastos gengivais e células epiteliais orais	MND	Tipton et al., 2013 (94)

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**  
(continuação)

<b>Mecanismo de ação</b>		<b>Componente bioativo</b>	<b>Estudo</b>
Aumento sobrevida células sistema imuno-inflamatório	Aumento da viabilidade dos fibroblastos cultivados por 5 dias na presença de LPS de <i>A. actinomycetemcomitans</i>	MND	Bodet et al., 2007 (93)
	Proteção dos macrófagos contra a toxicidade celular induzida pelos componentes do envelope celular de <i>T. denticola</i> e <i>Peptostreptococcus micros</i>	MND	Labrecque et al., 2007 (95)
	Proteção dos macrófagos e células epiteliais orais contra a citotoxicidade induzida pelos componentes do envelope celular de <i>Peptostreptococcus micros</i>	PAC	La et al., 2009 (96)

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**  
(continuação)

Mecanismo de ação		Componente bioativo	Estudo
Inibição da produção de NO <sup>12</sup> e ROS <sup>13</sup>	Diminuição da produção de NO e ROS e da expressão da sintetase de óxido nítrico induzível pelos macrófagos estimulados por LPS	MND	Chandad et al., artigo não publicado
Inibição da atividade das MMP-3, MMP-9 e elastase, responsáveis por destruição do tecido conjuntivo e ósseo (continua)	Inibição da produção de MMP-3 e MMP-9 induzida por LPS pelos fibroblastos e macrófagos gengivais – ação na redução da atividade AP-1	NMD (dose dependente)	Bodet et al, 2007 (93)
	Inibição da síntese e da atividade catalítica de MMP-1 e MMP-9, induzida por LPS de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (redução da atividade NF-kappaB p65)	PAC-A	La et al., 2009 (96)

**Tabela 4 - Atividade biológica de componentes do arando na doença periodontal**  
(continuação)

Mecanismo de ação		Componente bioativo	Estudo
Inibição da atividade das MMP-3, MMP-9 e elastase, responsáveis por destruição do tecido conjuntivo e ósseo	Inibição da atividade MMP-9 de <i>P. gingivalis</i>	PAC-A	Feldman et al., 2012 (70)

Dados baseados nos estudos revistos por Bodet et al. (69) e subseqüentes publicações

<sup>1</sup>MND – material não dialisável; <sup>2</sup>PAC – proantocianidina; <sup>3</sup>Arg – arginina; <sup>4</sup>Lys – lisina; <sup>5</sup>PGE2 – prostoglandina E2; <sup>6</sup>MMP – metaloproteinases de matriz; <sup>7</sup>TNF- $\alpha$  – fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; <sup>8</sup>IL – interleucina; <sup>9</sup>RANTES - *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*; <sup>10</sup>LPS -lipopolissacarídeos; <sup>11</sup>AP – proteína ativadora ;<sup>12</sup>NO – óxido nítrico; <sup>13</sup>ROS – espécies reativas de oxigénio

Para além do estudo desenvolvido por Weiss et al. (73), existem outros estudos que foram conduzidos *in vivo*. Koo et al. (81) procedeu à aplicação tópica diária, duas vezes ao dia, de PAC na superfície dentária de ratos, tendo verificado uma redução na incidência e na severidade das cáries de *S. mutans*, desenvolvidas quer na superfície lisa do dente, quer na superfície sulcal.

Mais recentemente foram realizados dois estudos em humanos, ambos com elixires bucais enriquecidos com um extrato de *V. macrocarpon* (97, 98). Um dos estudos (97) foi

realizado num grupo de 50 estudantes (18-20 anos), tendo comparado a eficácia de um elixir com arando a 0.6% e o elixir de clorexidina comercializado, na redução das colónias orais de *Streptococcus mutans*. Ao fim de 14 dias de utilização duas vezes ao dia do elixir, não se verificaram diferenças significativas, com uma redução de 68% das colónias com o elixir de arando, e de 69% com o elixir de clorexidina. O outro estudo (98) foi realizado em 40 crianças, tendo comparado o efeito nas contagens de *S. mutans* orais de um elixir bucal com MND *versus* um outro elixir sem MND. Após a utilização das soluções de lavagem bucal, verificou-se uma redução bastante significativa nas contagens de *S. mutans* no grupo experimental, relativamente ao grupo controlo ( $p < 0.05$ ). Deste modo, ambos os estudos sugerem uma potencial aplicação na saúde oral.

#### **3.4.2. Infecção por *Helicobacter pylori***

A bactéria *Gram* negativa HP é responsável por uma das infeções crónicas mais comuns, afetando aproximadamente metade da população mundial (99). Pode provocar uma infeção crónica da mucosa gástrica, promovendo doenças como úlcera péptica, carcinoma gástrico e linfoma MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) (100). O tratamento atualmente indicado consiste numa terapêutica tripla envolvendo dois antibióticos e um inibidor da bomba de prótons (IBP).

Estudos *in vitro* revelaram que derivados do arando de alto peso molecular têm atividade inibitória sobre a adesão do HP às secreções mucosas gástricas, mediada por fimbrias sialilactose específicas (fimbrias-S), bem como a eritrócitos e células epiteliais gástricas em cultura (101-104). Revelaram ainda que este efeito anti-adesão não se correlaciona com a resistência de HP ao antibiótico metronidazol (103). Outros mecanismos de ação postulados incluem o bloqueio da formação de biofilmes (9), as propriedades antioxidante e oncoprotetora (105), supressão da proliferação pelo alto conteúdo em PACs (106), inibição da urease (107), e mesmo efeito citotóxico (108).

O mecanismo de atuação sobre a bactéria foi também investigado num modelo animal de infecção, no qual se procedeu a tentativa de tratamento da infecção com *V. macrocarpon*, e embora não se tenha demonstrado erradicação da infecção, verificou-se uma marcada redução na massa bacteriana após o seu consumo (109). Deste modo, os autores sugerem um efeito na redução da carga bacteriana e não na erradicação do agente infeccioso. Um estudo ulterior *in vitro* sugeriu um efeito bacteriostático de sumo com extratos polifenólicos sobre o crescimento da bactéria, tendo verificado alterações morfológicas para concentrações de 1mg/ml (110).

Desta forma, atendendo às propriedades referidas e à aparente inexistência de inibição sobre os antibióticos, a utilização de terapêutica tripla combinada com extratos de arando poderá ser promissora no combate à infecção (9), possibilitando uma redução da dose de antibiótico necessária, e conseqüente diminuição da probabilidade de criação de resistências ao mesmo.

Um ensaio clínico estudou a possibilidade deste efeito aditivo, tendo submetido 170 indivíduos com teste urease positivo, confirmativo da infecção, a 1 semana de antibioterapia, seguida pelo consumo de sumo de arando ou placebo. O grupo controlo consistiu de 712 doentes que receberam apenas antibioterapia durante o período do estudo. Na análise dos resultados por género, verificou-se que, no sexo feminino, a taxa de erradicação foi superior no braço que recebeu antibiótico e sumo de arando, em comparação com o braço que recebeu antibiótico e placebo, e ainda com o grupo controlo (111). Deste modo, sugeriu um efeito aditivo do consumo de sumo de arando e terapêutica antibiótica no sucesso da erradicação no género feminino.

Essa adição de efeito foi mais recentemente corroborada num RCT que envolveu 200 doentes com doença ulcerosa péptica e infecção por HP (112). Durante duas semanas, o

grupo controlo recebeu apenas terapêutica tripla com lansoprazol, claritromicina e amoxicilina, ao passo que o grupo de estudo recebeu a mesma terapêutica, com a adição do consumo diário de 500mg de extrato de arando em cápsula. Ao fim desse tempo, foram testados para a presença de infeção através do teste respiratório da urease, tendo-se verificado uma taxa de erradicação superior, e estatisticamente significativa, no grupo de estudo (89% no grupo de estudo *versus* 74% no grupo controlo;  $p = 0.042$ ). Contudo, ao contrário do estudo anteriormente referido, não se verificaram diferenças significativas entre os sexos.

Outro estudo RCT com doentes com infeção por HP terá apenas alocado os indivíduos em dois grupos, um controlo, e um grupo de estudo que procedeu ao consumo de sumo de arando durante um período de 90 dias, tendo verificado um *outcome* positivo na erradicação da infeção, com uma taxa de 14.3% *versus* 5.2% no grupo placebo (113). Contudo, a taxa de erradicação foi baixa, de apenas 5 a 17%, pelo que a adição do consumo de arando à terapêutica antibiótica parece ser mais favorável que o consumo isolado de sumo ou a antibioterapia.

### **3.4.3. Inflamação intestinal, microbioma intestinal e colonização por ExPEC**

A maioria dos estudos que focam os potenciais efeitos a nível intestinal, tal como na saúde oral, englobam sobretudo estudos *in vitro* ou em modelo animal. A nível de ações intestinais, são apontados efeitos modeladores da inflamação e do microbioma local.

No que respeita à inflamação, são vários os estudos sugestivos de um efeito benéfico de compostos bioativos do arando na inflamação intestinal crónica, associada à disrupção da barreira mucosa intestinal, causada por múltiplos fatores. Em particular, as dietas ricas em ácidos gordos saturados e pobres em fibras encontram-se associadas à disfunção da

barreira intestinal e disbiose, podendo conduzir ao aumento da permeabilidade ao LPS bacteriano e à estimulação de respostas de imunidade inata (44).

Inicialmente foi identificada a capacidade das PACs do arando em atenuar a produção de iNOS e ciclooxigenase-2 pelos macrófagos locais, em resposta aos lipopolissacarídeos bacterianos (114). Adicionalmente, um estudo em modelo animal permitiu verificar um efeito modelador das citocinas inflamatórias com o consumo de um extrato de arando em pó (115). No final da administração, os ratos apresentaram níveis significativamente menores de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e IL-6) e maiores de citocinas anti-inflamatórias (IL-10).

Mais recentemente, Anhê et al (116), após alimentar uma população de ratos com uma dieta altamente rica em gordura e açúcar, por 8 semanas, verificou um efeito protetor contra a inflamação intestinal. Ao fim desse tempo, atestou-se uma diminuição de marcadores de inflamação intestinal crônica (LPS plasmático, COX 2 e TNF- $\alpha$ ), e do *stress* oxidativo local, em parte associada à redução dos triglicérides no lúmen intestinal. Um destaque importante deste artigo é a associação feita entre este decréscimo da inflamação e a modulação da flora intestinal, na medida em que se verificou um aumento de *Akkermansia spp.*, já outrora associadas a redução dos níveis de lipopolissacarídeos sistêmicos (117). Atendendo a que estas bactérias estão diminuídas na obesidade e diabetes mellitus II, é possível que o seu aumento com o consumo de derivados do arando possa então ser benéfico nestes doentes.

Denis et al. (118), recorrendo a células intestinais Caco-2/15 *in vitro*, estudou o efeito dos compostos bioativos do arando na inflamação, *stress* oxidativo e disfunção mitocondrial, a nível intestinal. Foram utilizadas diferentes frações fenólicas como grupos experimentais, de baixo, médio e alto peso molecular, tendo todas elas demonstrado

atividade antioxidante e anti-inflamatória, com diminuição dos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-6, ciclooxigenase-2 e prostaglandina E2, e ainda inibição da via de sinalização do NF-kB estimulada por lipopolissacarídeos. Foi ainda demonstrado uma melhoria da disfunção mitocondrial dependente do *stress* oxidativo, traduzível pela estimulação do co-ativador 1- $\alpha$  do PPAR- $\gamma$  (*peroxisome-proliferator-activated receptor*  $\gamma$ ), com consequente aumento da produção de ATP e sobre-regulação do Bcl-2, e ainda declínio da expressão de proteínas do citocromo c e fator de indução da apoptose. Contudo, não foi possível identificar quais os compostos com maior responsabilidade neste efeito, devido a que cada fração de compostos fenólicos era uma mistura de diferentes polifenóis, existindo mesmo interposição entre as diferentes frações.

Em 2015 (119), Xiao et al. avaliou, num modelo experimental de colite, o efeito de um extrato de arando rico em compostos fenólicos e fibras, bem como da baga seca, na redução do índice de atividade da doença. O arando seco foi aquele que demonstrou maior atividade, inclusive superior à do ácido 5-aminosalicílico, tendo-se verificado preservação do comprimento cólico e diminuição dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ .

Apesar dos vários estudos *in vitro* e *in vivo*, os ensaios clínicos que visam extrapolar para o ser humano os dados obtidos sobre a inflamação intestinal são escassos, existindo também uma limitação do conhecimento dos efeitos do arando na função imune sistémica do organismo. Apenas está disponível um RCT controlado por placebo que terá verificado um aumento da proliferação *ex vivo* de células  $\gamma\delta$ -T, células imunitárias localizadas no epitélio dos tratos gastrointestinal e reprodutivo, após o consumo de uma bebida de arando por 10 semanas (120).

Adicionalmente a estes dados que sustentam um efeito modelador sobre os parâmetros inflamatórios, a função de barreira intestinal foi também já alvo de atenção nalguns

trabalhos (121-123). Dois estudos (121, 122) submeteram grupos de ratos a nutrição entérica elementar e parentérica, a qual se associa a uma disfunção do tecido linfóide associado à mucosa intestinal e a supressão da função da barreira mucosa. Os resultados obtidos demonstraram que as PACs presentes no arando conduziram ao aumento das concentrações ileais de IL-4 e IL-13, número e tamanho das células caliciformes e secreção de MUC2 intestinal (121), e aumento da secreção luminal de imunoglobulina A (122), que constitui a primeira linha de defesa da mucosa e impede a adesão bacteriana à mucosa. Deste modo, corroboram a possibilidade de os derivados do arando melhorarem a função de barreira intestinal.

A integridade da barreira também poderá ser influenciada pelos derivados do arando. Contreras TC et al. (123) demonstrou a capacidade de (-)-Epicatequina pura em prevenir a permeabilização da barreira de células Caco-2, mediada por TNF- $\alpha$ , ao inibir a ativação das vias de NF-kB induzida por LPS e a ruptura das proteínas das *tigh junctions*. Assim, coloca-se a hipótese, assim, que os derivados do arando ricos em (-)-Epicatequina têm um efeito adicional na integridade da barreira intestinal, o que pode ser particularmente útil no âmbito da doença inflamatória intestinal, na qual há aumento da permeabilidade da barreira.

Quanto aos efeitos no microbioma intestinal, sabe-se que a inflamação intestinal crônica pode estar associada à colonização local por espécies patogênicas de *E.coli*, nomeadamente ExPEC, dado que possui mecanismos de evasão ao sistema imune e pode colonizar os enterócitos (44) . Embora não seja causadora de doença entérica, pode ser responsável por infecções noutros locais, nomeadamente no trato urinário.

A potencial influência de componentes bioativos da dieta sobre estes microrganismos é de particular importância atendendo às crescentes resistências à antibioterapia. O arando

tem particular interesse neste campo pelo seu alto conteúdo em PACs-A, que já demonstraram possuir capacidade anti-adesão contra essas bactérias de origem extraintestinal (124).

Feliciano et al. (125) estudou o efeito de ambos os subtipos de PAC, tendo demonstrado uma maior capacidade das PAC-A, em detrimento das PAC-B, de causar a aglutinação da ExPEC e diminuir a invasão do epitélio intestinal. Consequentemente, ocorre diminuição da colonização e inflamação associada, efeito este que se pode alcançar pela interação direta no lúmen intestinal, ou translocação das PAC para a lâmina própria, com ativação do sistema imune, sem necessidade de absorção (125).

Mais recentemente, estes resultados foram corroborados num estudo *in vitro* que recorreu a nanopartículas com PAC's, de maneira a torná-las mais estáveis, dada a interação com as proteínas, muco e outros componentes da matriz intestinal poder reduzir a sua disponibilidade e eficácia ao longo do tempo (126). Estas nanopartículas foram capazes de inibir significativamente a capacidade de invasão dos enterócitos por parte da ExPEC, em cerca de 80% para concentração de 66 µg GAE/mL, e de 92% a 100 µg GAE/mL.

### **3.5. Infecções Virais**

Estudos *in vitro* sugerem a capacidade dos derivados do arando em inibir a infeção por vários vírus, não relacionados pela espécie, em linhas celulares alvo, bem como em inibir a interação com os recetores eritrocitários, inibindo assim a hemaglutinação.

Vários estudos reportaram ação sobre rotavírus (127), vírus entéricos humanos, através de substitutos virais (128, 129), vírus *Influenza* (130, 131) e vírus *Herpes simplex* (HSV) tipos 1 e 2 (132).

Terlizzi et al. (132) verificou um efeito inibitório de um extrato de arando comercializado, Oximacro®, com um alto conteúdo em PACs-A, sobre a adsorção dos vírus HSV 1 e 2.

O mecanismo envolve a ligação das PACs-A às glicoproteínas virais gD e gB, impedindo a ligação às células alvo, e conseqüentemente a capacidade de infecção do *Herpes* vírus. Estes estudos foram realizados num meio que procurou mimetizar as condições da vagina, pelo que poderá constituir um local de potencial aplicação terapêutica.

Weiss et al. (130) verificou que o MND têm efeito inibitório dose-dependente na hemaglutinação dos eritrócitos causada pelos subtipos *Influenza* A e B. Demonstrou ainda diminuição da infetividade desses subtipos quando pré-incubados com MND. Estes resultados são assim sugestivos da capacidade destes compostos reduzirem ou inibirem a replicação viral, indicando inativação dos novos vírus formados. À *posteriori*, Oiknine-Dijan et al. (131) demonstrou um efeito inibitório sobre hemaglutinases e neuroaminidases da superfície dos vírus *Influenza spp.*, enzimas importantes para a replicação vírica. O efeito sobre as neuroaminidases parece ser dependente da estrutura antigénica do vírus, sendo as cadeias mais sensíveis as N1, seguidas das B, ao passo que as N2 são refratárias. O mesmo estudo revelou ainda um aparente efeito aditivo quando em associação ao oseltamivir, o que poderá ser uma estratégia terapêutica útil, com redução da dose de oseltamivir administrada e de possíveis resistências ao fármaco. Quanto ao efeito nas hemaglutinases, no geral são mais sensíveis do que as neuroaminidases.

Para além do potencial do combate à infecção viral, e atendendo a que as sobreinfecções bacterianas nesse contexto são comuns, sugere-se que o efeito inibitório do MND sobre a adesão e agregação bacteriana poderá ter um valor adicional (130).

Apesar dos resultados promissores *in vitro*, não existem ainda estudos *in vivo* publicados que explorem estes efeitos. Apenas se encontra reportado um decréscimo dos sintomas

de gripes e coriza após o consumo de sumo de arando, contudo não foi estudado o mecanismo envolvido. (120)

### **3.6. Interações medicamentosas**

Uma possível interação com a varfarina é, de longe, a mais estudada. Apesar de o mecanismo exato ainda não ter sido determinado, postula-se que envolva sobretudo a inibição do citocromo *P450* pelos flavonóides presentes no arando (*Committee on Safety of Medicines*), nomeadamente das enzimas *CYP3A4* e *CYP2C9*, duas das principais enzimas envolvidas no metabolismo da varfarina, aumentando assim o seu efeito anticoagulante (133-135). Contudo, devido a características genéticas, é possível que diferentes doentes respondam de forma mais ou menos sensível a essas alterações na enzimologia hepática (136), influenciando o grau de interação. Adicionalmente, o ácido acetilsalicílico presente no arando, aquando da ingestão de altas quantidades de sumo, pode conduzir à presença de concentrações séricas de salicilato (137). Este composto, com alta afinidade de ligação às proteínas, pode então potenciar o efeito anticoagulante da varfarina, por deslocar a sua ligação à albumina, com consequente aumento do INR (international normalized ratio), e também por inibir a agregação plaquetar (138).

Encontram-se disponíveis na literatura 10 casos de estudo que relatam uma possível interação com a varfarina (136, 139-147). Estes estudos implicaram o consumo de grandes quantidades de sumo (8 estudos) ou compota de arando (2 estudos), com alterações nos valores de INR, temporalmente relacionadas.

Na mais recente revisão sistemática de uma possível interação entre a varfarina e compostos naturais, são revistos ensaios clínicos randomizados em que se procurou uma interação farmacodinâmica ou cinética com os derivados do arando (148). Foram abordados dois estudos, não se tendo verificado interações farmacocinéticas (149, 150).

Contudo, os resultados quanto à farmacodinamia são controversos. Um dos estudos revelou um aumento significativo da área abaixo da curva INR-tempo aquando da administração concomitante de varfarina e sumo de arando em indivíduos saudáveis (150). Por oposição, essa mesma administração em indivíduos com fibrilhação auricular não demonstrou alterações marcadas nos valores de INR (149). Os autores desta revisão sugerem a influência do tipo de população estudada nos diferentes resultados. Para além destes dois estudos, estão ainda disponíveis na literatura 4 artigos adicionais, todos estes centrados na avaliação da interação do consumo de sumo de arando com a varfarina. Os resultados vieram suportar uma ausência de interação significativa, contudo há que destacar que a amostra é reduzida, dificultando a avaliação de um significado clínico (151). Adicionalmente, a quantidade de sumo utilizada é bastante inferior àquela reportada, como causadora de interação, nos casos clínicos supracitados. Deste modo, não se pode descartar uma interação dependente da quantidade de produto consumida.

Estão ainda disponíveis alguns estudos acerca de possível interação com antibióticos beta-lactâmicos, não tendo, contudo, provado a sua existência (152). Também um caso de uma possível interação com a biodisponibilidade do agente imunossupressor tacrolimus foi reportado (153). Os autores associam este facto à metabolização do tacrolimus a nível intestinal envolver enzimas do citocromo *P450*. Por oposição, o imunossupressor ciclosporina, embora metabolizado pela isoenzima *CYP3A*, não sofreu alterações farmacocinéticas com o consumo de arando, como demonstrado num ensaio clínico prévio (154).

### **3.7. Segurança**

Atendendo a que a maioria dos estudos em humanos, disponível atualmente, se centra no efeito na prevenção de infeções do trato urinário, os efeitos adversos reportados até então dizem respeito a esses mesmos estudos. De acordo com a revisão da Cochrane Library

supracitada (2), até 2012 não existiu uma correta identificação dos mesmos, com apenas sete dos estudos a reportar o número de eventos adversos. Daqueles reportados, no geral foram ligeiros, tipicamente náuseas e sintomas gastrointestinais, e com uma distribuição semelhante pelos vários braços de tratamento. Outros três estudos reportaram eventos adversos, mas externos ao braço de estudo.

Esta tendência para uma reduzida notificação dos eventos adversos persiste até ao presente. De facto, apenas cinco dos estudos analisados nesta revisão fazem referência à avaliação de efeitos adversos, reportando a sua ausência.

Outro aspeto importante a nível de segurança relaciona-se com o consumo de produtos derivados do arando por mulheres grávidas, contudo os estudos realizados para prevenção das ITU neste grupo de risco são escassos e pouco esclarecedores neste âmbito. Assim, não estão reportadas contraindicações ao consumo de sumo ou outras formulações por mulheres grávidas.

#### 4. DISCUSSÃO

Nesta revisão, os potenciais efeitos do arando e seus derivados em várias áreas da saúde foram analisados de acordo com a informação disponível na literatura. Ao longo dos anos, através de estudos *in vitro* e *in vivo*, em modelos animais, e ensaios em humanos, tem-se demonstrado um leque de atividades fisiológicas e bioquímicas dos compostos fitoquímicos do arando com aplicação em várias áreas clínicas. A grande maioria dos estudos disponíveis foca-se nos compostos polifenólicos, dada a sua capacidade antioxidante já previamente conhecida, contudo tem aumentado o interesse na sinergia de atuação com outros compostos, nomeadamente ácidos fenólicos, isoprenoides e oligossacáridos (44).

O interesse por um potencial efeito na prevenção das infeções urinárias iniciou-se há vários decénios, tendo tido como base a utilização tradicional da baga e sumo de arando no tratamento das infeções urinárias. É, deste modo, a área de estudo que envolve maior informação disponível até à data. Contudo, apesar do grande número de estudos clínicos em humanos, incluindo diversos grupos de risco, os resultados são controversos quanto à utilização profilática nas ITUs. Este facto relaciona-se em parte com a grande heterogeneidade verificada entre os estudos. Contudo, os últimos estudos realizados até à data, e nos quais se procurou utilizar derivados do arando standardizados, mostraram, no geral, resultados favoráveis da utilização dos mesmos na prevenção das infeções urinárias. A maior exceção é representada pelos estudos em idosos/residentes em lares, com resultados ainda controversos.

De maneira a poder elucidar as informações reunidas, há necessidade de melhorar os ensaios clínicos, recorrendo a desenhos de estudo mais adequados, preferencialmente randomizados, duplamente cegos e controlados, com um tempo de duração mais longo e maior amostragem, suficiente quantidade de composto bioativo, e verificação da adesão.

De facto, são patentes grandes taxas de desistência e falta de uma correta adesão nos estudos anteriores, o que tem influência na interpretação dos resultados apresentados pelos estudos.

Outra das grandes lacunas a preencher prende-se com a identificação dos compostos bioativos que participam na prevenção da infeção urinária, bem como do respetivo mecanismo. Embora o efeito inibitório, *in vitro*, da adesão das cadeias *E. coli* uropatogénicas ao urotélio seja demonstrado pelas PACs-A (3), as concentrações na urina humana são demasiado baixas para justificar o efeito anti-adesão demonstrado. Sugere-se, assim, que catabolitos destas sejam parcialmente responsáveis pelo efeito inibitório no desenvolvimento de infeção.

Deste modo, a compreensão do perfil fitoquímico do arando, bem como dos catabolitos resultantes da biotransformação dos vários componentes bioativos pelas bactérias intestinais e vias de metabolização de fase I, II e II, poderá ser útil para identificar corretamente o seu papel nos efeitos fisiológicos já demonstrados, e ainda auxiliar na identificação de biomarcadores de adesão ao tratamento (44).

A nível da prevenção oncológica, os dados analisados são bastante promissores, contudo há necessidade de desenvolver investigações futuras sobre metabolismo, biodisponibilidade, farmacocinética, farmacodinâmica, fracionamento ativo, dose ótima, formulações, vias de administração e duração da administração (30). São ainda necessários ensaios clínicos que atestem o efeito.

No âmbito da saúde oral, os vários estudos disponíveis até à data reportam que componentes do arando, em especial a fração MND, inibe significativamente os mecanismos de desenvolvimento de cáries e de doença periodontal, demonstrando o seu potencial para serem incorporados em elixires, pastas dentífricas, geles e fios dentários,

para prevenção e/ou tratamento de doenças da cavidade oral (69). Os ensaios clínicos já realizados são sugestivos da incorporação em elixires, na medida em que se mostraram eficazes na redução das contagens de *S.mutans* (73, 97, 98). Um estudo *in vitro* (155) ulterior terá corroborado esse efeito, ao revelar eficácia semelhante de uma formulação em gel termoreversível de concentrado de sumo de arando, relativamente ao gel de gluconato de clorexidina (0.2%) já comercializado, na inibição de um painel de bactérias envolvidas na doença periodontal e periapical. Outro estudo mais recente (156) mostrou ainda a capacidade de um gel de extrato de arando a 10% na redução do desgaste da dentina e degradação do colagénio. Assim, o uso de géis com extrato de arando poderá vir a demonstrar-se como uma alternativa às modalidades de prevenção e tratamento da doença oral já existentes.

Contudo, a possível aplicação clínica na saúde oral humana terá de ser validada por mais ensaios clínicos, tendo em conta o seu número reduzido, e a utilização de amostragem pequena dos estudos já realizados. Não obstante, a identificação dos constituintes responsáveis pelos efeitos descritos necessita ainda de ser elucidada. De acordo com um estudo recente (157), a atividade anti-adesão do MND parece advir de uma combinação de constituinte polifenólicos e não-polifenólicos. Também importa esclarecer as vias de sinalização celular específicas que sofrem inibição, de maneira a identificar os potenciais alvos moleculares dos polifenóis do arando (158).

Quanto à investigação no âmbito da infeção por HP, denota-se um potencial efeito benéfico na taxa erradicação da infeção. Contudo, os estudos disponíveis são escassos, sendo relevante o desenvolvimento de outros adicionais, de maneira a confirmar o efeito benéfico do consumo de arando, com ou sem antibioterapia concomitante, no combate à infeção, bem como a eficácia dos vários tipos de formulações disponíveis (112). O estudo em grupos populacionais particulares poderá também ter interesse. Um possível efeito

benéfico do arando sobre a infecção poderá mostrar-se particularmente útil em mulheres grávidas, em que a terapêutica com antibióticos não é recomendada (9).

A possível aplicação na saúde intestinal terá começado a ser investigada mais recentemente, pelo que os estudos relativos à influência dos extratos de arando sobre a inflamação e microbioma intestinal, disponíveis até ao presente, envolvem apenas modelos *in vitro* e modelos animais, embora com resultados promissores. Deste modo, torna-se crucial que, no futuro, sejam desenhados estudos em humanos para que se possa verificar a eventual possibilidade de extrapolação desses resultados. Importa realçar o particular interesse de uma eventual ação sobre a colonização por ExPEC, que, caso se venha a verificar, poderá contribuir para elucidar um possível mecanismo de atuação do arando nas infeções urinárias. Mediante sejam reproduzíveis, a eventual ação no lúmen intestinal poderá envolver uma redução do *stress* oxidativo, modulação de vias inflamatórias, adesão a componentes glicoproteicos da superfície bacteriana, efeitos pré-bióticos, e alteração da interação dinâmica entre os enterócitos e o microbioma intestinal (44). Estas ações poderão ser não só responsáveis por efeitos antimicrobicidas locais, como explicar a patogenia complexa das ITUs e da doença inflamatória intestinal (44). Deste modo, um esclarecimento mais abrangente dos efeitos na inflamação e microbioma intestinais, e a relação com o microbioma do trato urinário, é uma área merecedora de investigação.

No que respeita à doença cardiovascular e metabólica, uma área também em crescente investigação, os estudos disponíveis focam-se sobretudo no efeito a nível de vários fatores de risco, com potenciais melhorias do perfil lipídico, na glucoregulação, na tensão arterial, na inflamação e *stress* oxidativo, e na disfunção endotelial. Tendo em conta os resultados promissores, o arando, como fonte importante de polifenóis e fibras, merece investigação futura quanto à aplicação na terapêutica da diabetes (62).

Contudo, tal como sucedido para as ITU, também nesta área existe controvérsia a nível dos resultados, sendo merecedores de melhor elucidação no futuro. Um assunto que merece particular esclarecimento envolve uma possível inter-relação entre os efeitos no microbioma intestinal e nos fatores de risco supracitados, dado alguns estudos terem já reconhecido o papel do microbioma intestinal na regulação da homeostasia energética, no metabolismo glucídico e lipídico, e na inflamação sistémica.

Para além das infeções bacterianas envolvidas nas patologias urinária, oral e gastrointestinal, também foram demonstradas potenciais aplicações no combate a infeções víricas e fúngicas, cuja aplicação na prática clínica ainda necessita de ser elucidada. Outros pequenos estudos têm também vindo a surgir, com destaque para a identificação de um efeito benéfico de derivados do arando na proteção do tecido cerebral contra o *stress* oxidativo, em parte responsável pelo enfarte isquémico (159). Contudo, faltam estudos em humanos que possam atestar este efeito protetor (46).

Embora uma potencial utilização na prática clínica no combate a infeções seja promissora, nomeadamente no contexto preventivo de infeções urinárias e de tratamento da infeção por HP, em que as resistências à antibioterapia são crescentes, é necessário que, tal como para qualquer medicamento, se tenha em consideração o perfil de segurança, nomeadamente possíveis interações medicamentosas, contraindicações (não estudadas até então) e efeitos adversos.

A nível das interações medicamentosas até então estudadas, realça-se uma potencial interação com a varfarina, com potenciação da sua ação por inibição das enzimas de metabolização, e deslocação da ligação às proteínas de transporte. Contudo, para retirar conclusões significativas acerca de uma potencial interação entre os derivados do arando e a varfarina, é necessário desenvolver estudos clínicos com um desenho apropriado,

envolvendo um maior número de indivíduos e o consumo de uma quantidade superior do sumo de arando ou outro equivalente. Embora os estudos, até à data, não sugiram uma interação significativa, é possível que esta exista dependendo da quantidade de produto ingerido (151), como se atesta pelos casos reportados. O clínico deve estar ciente deste potencial e aconselhar os doentes sob a toma de varfarina em conformidade.(136) Caso o doente insista no consumo, nomeadamente do sumo de arando, deve ser aconselhado a ingerir pequenas quantidades consecutivas num ambiente que permita o controlo do INR no prazo de 2 semanas, por forma a assegurar segurança e estabelecer a extensão da interação.(136) Adicionalmente, se tomar sumo deve estabelecer limites de segurança, de mais de 1 hora antes ou 3-4 horas após a toma do anticoagulante e fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), dado interferirem com a adesão plaquetar e prolongarem o efeito anticoagulante. Norwood et al. (151) recomenda que a quantidade de sumo seja limitada a menos de 237 ml, no máximo 2 vezes ao dia, por ser consistente com aquela que falhou em alterar significativamente o efeito antitrombótico da varfarina. Deverá, contudo, ser aconselhado a descontinuar ou reduzir a dose de produto de arando mediante alterações nos valores do INR, aparentemente relacionadas ao seu consumo.

Adicionalmente ao perfil de segurança, também deverá avaliar-se o custo-efetividade dos extratos de arando usados face a terapêuticas já empregues, nomeadamente terapêuticas antibióticas. Num estudo conduzido por Bosmans et al. (160), a utilização de arando na profilaxia de infeções urinárias em mulheres pré-menopausicas não foi custo-efetiva em relação à profilaxia com cotrimoxazole. Contudo, os próprios autores concluem que não foram tidos em conta os custos associados às resistências à antibioterapia, e embora tenham utilizado a dose de extrato aparentemente eficaz, referida na evidência disponível, pode não ser a dose ótima, pelo que os resultados podem sofrer alteração mediante modificação desses dois parâmetros.

## 5. CONCLUSÃO

Desde o início da investigação sobre os potenciais benefícios na saúde por parte da espécie *Vaccinium macrocarpon* e seus derivados, foi notória a amplificação do espectro de áreas de atuação, deixando de estar unicamente centrado nos efeitos profiláticos nas infecções urinárias.

Contudo, a principal potencial aplicação clínica do arando continua a ser, face ao conhecimento atual, a prevenção das infecções urinárias. Embora não exista um consenso nos resultados dos ensaios clínicos, a grande maioria obteve resultados significativos e favorecedores do benefício do arando na redução dos casos de ITUs. Deste modo, da revisão da literatura efetuada, sugere-se que o *V. macrocarpon* tem utilidade na terapêutica profilática das ITUs recorrentes, sendo aparentemente menos eficaz nas faixas etárias mais elevadas. Sugere-se a utilização de extratos e não do sumo de arando, dado que a utilização a longo prazo do sumo demonstrou, nos estudos disponíveis, ser intolerável. Adicionalmente, as cápsulas de extratos de arando deverão possuir um conteúdo estandardizado de PACs. De acordo com os estudos disponíveis no presente, o consumo diário deverá incluir um valor mínimo de 72mg desse fitoconstituente, para que possa ser expectável um efeito clínico.

Mediante seja aplicado nesse contexto, os resultados são sugestivos de que, nas doses adequadas, o arando tem um alto perfil de segurança, não existindo interações medicamentosas de realce, nem efeitos adversos importantes. Destaca-se apenas um especial cuidado para a utilização por doentes sob terapêutica anticoagulante com varfarina, por estarem relatados casos de interação para doses demasiado elevadas. Realça-se também a necessidade de evitar o consumo concomitante de AINEs, pela interferência com a adesão plaquetar e prolongamento do efeito anticoagulante da varfarina.

Ao contrário do que se poderia pensar, é também seguro para consumo por mulheres grávidas.

Ao longo dos últimos anos, novas áreas de investigação têm vindo a ganhar terreno, com o desenvolvimento de vários estudos sobre potenciais efeitos oncoprotetores, efeitos na doença cardiovascular e metabólica, prevenção e tratamento da doença oral e infeção gástrica por HP, e, mais recentemente, na saúde intestinal, com especial destaque para a doença inflamatória e o microbioma intestinal. No entanto, o estudo nestas áreas é ainda bastante inicial, existindo poucos estudos clínicos.

Os resultados são, no geral, bastante promissores, contudo ainda existem várias lacunas a preencher. A investigação futura deverá focar-se na realização de ensaios clínicos nas diferentes áreas, com melhores desenhos e controlo da adesão, amostragem adequada e utilização de componentes bioativos bem identificados e quantificados. Não só é necessário procurar uniformizar os resultados já encontrados, como investigar o mecanismo de ação específico dos diferentes compostos bioativos, de maneira a poder estabelecer verdadeiras associações clínicas e desenvolver novas estratégias terapêuticas.

## AGRADECIMENTOS

Finda a elaboração desta revisão, ficam aqui expressos os meus agradecimentos a todos os que permitiram a sua realização:

Ao meu orientador, Professor Doutor Celso Pereira, e à minha co-orientadora, Dr<sup>a</sup> Beatriz Tavares, pela disponibilidade, orientação e partilha de conhecimentos.

Aos meus pais, por toda a paciência, carinho, apoio e incentivo incessantes.

Aos meus colegas e amigos, em especial à Daniela Oliveira, por toda a ajuda, por me ter incentivado e acreditado em mim.

À Dona Rosa, por ter estado presente sempre que pensei em desistir.

Muito Obrigado a todos!

## BIBLIOGRAFIA

1. Neto C, Vinson, JA. Cranberry. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92762/> CAF.
2. Jepson RG, Williams G, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;10:Cd001321.
3. Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. A-Type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. *J Nat Prod*. 2000;63(9):1225-8.
4. Howell AB. Cranberry proanthocyanidins and the maintenance of urinary tract health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2002;42(3 Suppl):273-8.
5. Howell AB. Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(6):732-7.
6. Fuhrman B, Aviram M. Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12(1):41-8.
7. Basu A, Betts NM, Ortiz J, Simmons B, Wu M, Lyons TJ. Low-energy cranberry juice decreases lipid oxidation and increases plasma antioxidant capacity in women with metabolic syndrome. *Nutr Res*. 2011;31(3):190-6.
8. Reid G. The role of cranberry and probiotics in intestinal and urogenital tract health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2002;42(3 Suppl):293-300.
9. Shmueli H, Ofek I, Weiss EI, Roness Z, Houry-Haddad Y. Cranberry components for the therapy of infectious disease. *Curr Opin Biotechnol*. 2012;23(2):148-52.
10. Liu Y, Pinzon-Arango PA, Gallardo-Moreno AM, Camesano TA. Direct adhesion force measurements between *E. coli* and human uroepithelial cells in cranberry juice cocktail. *Mol Nutr Food Res*. 2010;54(12):1744-52.
11. Luis A, Domingues F, Pereira L. Can Cranberries Contribute to Reduce the Incidence of Urinary Tract Infections? A Systematic Review with Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis of Clinical Trials. *J Urol*. 2017;198(3):614-21.
12. Stapleton AE, Dziura J, Hooton TM, Cox ME, Yarova-Yarovaya Y, Chen S, et al. Recurrent urinary tract infection and urinary *Escherichia coli* in women ingesting cranberry juice daily: a randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc*. 2012;87(2):143-50.
13. Maki KC, Kaspar KL, Khoo C, Derrig LH, Schild AL, Gupta K. Consumption of a cranberry juice beverage lowered the number of clinical urinary tract infection episodes in women with a recent history of urinary tract infection. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(6):1434-42.
14. Vostalova J, Vidlar A, Simanek V, Galandakova A, Kosina P, Vacek J, et al. Are High Proanthocyanidins Key to Cranberry Efficacy in the Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection? *Phytother Res*. 2015;29(10):1559-67.
15. Mutlu H, Ekinci Z. Urinary tract infection prophylaxis in children with neurogenic bladder with cranberry capsules: randomized controlled trial. *ISRN Pediatr*. 2012;2012:317280.
16. Afshar K, Stothers L, Scott H, MacNeily AE. Cranberry juice for the prevention of pediatric urinary tract infection: a randomized controlled trial. *J Urol*. 2012;188(4 Suppl):1584-7.
17. Fernandez-Puentes V, Uberos J, Rodriguez-Belmonte R, Nogueras-Ocana M, Blanca-Jover E, Narbona-Lopez E. [Efficacy and safety profile of cranberry in infants and children with recurrent urinary tract infection]. *An Pediatr (Barc)*. 2015;82(6):397-403.
18. Ledda A, Belcaro G, Dugall M, Riva A, Togni S, Eggenhoffner R, et al. Highly standardized cranberry extract supplementation (Anthocran(R)) as prophylaxis in young healthy subjects with recurrent urinary tract infections. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(2):389-93.

19. Bianco L, Perrelli E, Towle V, Van Ness PH, Juthani-Mehta M. Pilot randomized controlled dosing study of cranberry capsules for reduction of bacteriuria plus pyuria in female nursing home residents. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60(6):1180-1.
20. Caljouw MA, van den Hout WB, Putter H, Achterberg WP, Cools HJ, Gussekloo J. Effectiveness of cranberry capsules to prevent urinary tract infections in vulnerable older persons: a double-blind randomized placebo-controlled trial in long-term care facilities. *J Am Geriatr Soc.* 2014;62(1):103-10.
21. Juthani-Mehta M, Van Ness PH, Bianco L, Rink A, Rubeck S, Ginter S, et al. Effect of Cranberry Capsules on Bacteriuria Plus Pyuria Among Older Women in Nursing Homes: A Randomized Clinical Trial. *Jama.* 2016;316(18):1879-87.
22. Gallien P, Amarenco G, Benoit N, Bonniaud V, Donze C, Kerdraon J, et al. Cranberry versus placebo in the prevention of urinary infections in multiple sclerosis: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Mult Scler.* 2014;20(9):1252-9.
23. Hamilton K, Bennett NC, Purdie G, Herst PM. Standardized cranberry capsules for radiation cystitis in prostate cancer patients in New Zealand: a randomized double blinded, placebo controlled pilot study. *Support Care Cancer.* 2015;23(1):95-102.
24. Barnoi OS, Sequeira-Garcia Del Moral J, Sanchez-Martinez N, Diaz-Molina P, Flores-Sirvent L, Baena-Gonzalez V. American cranberry (proanthocyanidin 120 mg): its value for the prevention of urinary tracts infections after ureteral catheter placement. *Actas Urol Esp.* 2015;39(2):112-7.
25. Foxman B, Cronenwett AE, Spino C, Berger MB, Morgan DM. Cranberry juice capsules and urinary tract infection after surgery: results of a randomized trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(2):194.e1-8.
26. Gunnarsson AK, Gunningberg L, Larsson S, Jonsson KB. Cranberry juice concentrate does not significantly decrease the incidence of acquired bacteriuria in female hip fracture patients receiving urine catheter: a double-blind randomized trial. *Clin Interv Aging.* 2017;12:137-43.
27. Occhipinti A, Germano A, Maffei ME. Prevention of Urinary Tract Infection with Oximacro, A Cranberry Extract with a High Content of A-Type Proanthocyanidins: A Pre-Clinical Double-Blind Controlled Study. *Urol J.* 2016;13(2):2640-9.
28. Ledda A, Bottari A, Luzzi R, Belcaro G, Hu S, Dugall M, et al. Cranberry supplementation in the prevention of non-severe lower urinary tract infections: a pilot study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(1):77-80.
29. Singh I, Gautam LK, Kaur IR. Effect of oral cranberry extract (standardized proanthocyanidin-A) in patients with recurrent UTI by pathogenic *E. coli*: a randomized placebo-controlled clinical research study. *Int Urol Nephrol.* 2016;48(9):1379-86.
30. Weh KM, Clarke J, Kresty LA. Cranberries and Cancer: An Update of Preclinical Studies Evaluating the Cancer Inhibitory Potential of Cranberry and Cranberry Derived Constituents. *Antioxidants (Basel).* 2016;5(3).
31. Jin D, Liu T, Dong W, Zhang Y, Wang S, Xie R, et al. Dietary feeding of freeze-dried whole cranberry inhibits intestinal tumor development in *Apc(min/+)* mice. *Oncotarget.* 2017;8(58):97787-800.
32. Vidlar A, Student V, Jr., Vostalova J, Fromentin E, Roller M, Simanek V, et al. Cranberry fruit powder (Flowens) improves lower urinary tract symptoms in men: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *World J Urol.* 2016;34(3):419-24.
33. Student V, Vidlar A, Bouchal J, Vrbkova J, Kolar Z, Kral M, et al. Cranberry intervention in patients with prostate cancer prior to radical prostatectomy. Clinical, pathological and laboratory findings. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2016;160(4):559-65.
34. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 2000;63(7):1035-42.
35. Aviram M, Fuhrman B. Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage-mediated oxidation of LDL and attenuate atherogenesis. *Atherosclerosis.* 1998;137 Suppl:S45-50.

36. Duthie GG, Bellizzi MC. Effects of antioxidants on vascular health. *Br Med Bull.* 1999;55(3):568-77.
37. Basu A, Lyons TJ. Strawberries, blueberries, and cranberries in the metabolic syndrome: clinical perspectives. *J Agric Food Chem.* 2012;60(23):5687-92.
38. Chu YF, Liu RH. Cranberries inhibit LDL oxidation and induce LDL receptor expression in hepatocytes. *Life Sci.* 2005;77(15):1892-901.
39. Porter ML, Krueger CG, Wiebe DA, Cunningham DG, Reed JD. Cranberry proanthocyanidins associate with low-density lipoprotein and inhibit in vitro Cu<sup>2+</sup>-induced oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2001;81(14):1306-13.
40. Caton PW, Pothecary MR, Lees DM, Khan NQ, Wood EG, Shoji T, et al. Regulation of vascular endothelial function by procyanidin-rich foods and beverages. *J Agric Food Chem.* 2010;58(7):4008-13.
41. Reed J. Cranberry flavonoids, atherosclerosis and cardiovascular health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2002;42(3 Suppl):301-16.
42. Elberry AA, Abdel-Naim AB, Abdel-Sattar EA, Nagy AA, Mosli HA, Mohamadin AM, et al. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(5):1178-84.
43. Wang L, Zhu H, Zhao Y, Jiao R, Lei L, Chen J, et al. Cranberry anthocyanin as an herbal medicine lowers plasma cholesterol by increasing excretion of fecal sterols. *Phytomedicine.* 2018;38:98-106.
44. Blumberg JB, Basu A, Krueger CG, Lila MA, Neto CC, Novotny JA, et al. Impact of Cranberries on Gut Microbiota and Cardiometabolic Health: Proceedings of the Cranberry Health Research Conference 2015. *Adv Nutr.* 2016;7(4):759s-70s.
45. Ruel G, Couillard C. Evidences of the cardioprotective potential of fruits: the case of cranberries. *Mol Nutr Food Res.* 2007;51(6):692-701.
46. Neto CC. Cranberry and blueberry: evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Mol Nutr Food Res.* 2007;51(6):652-64.
47. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C. Favourable impact of low-calorie cranberry juice consumption on plasma HDL-cholesterol concentrations in men. *Br J Nutr.* 2006;96(2):357-64.
48. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C. Plasma matrix metalloproteinase (MMP)-9 levels are reduced following low-calorie cranberry juice supplementation in men. *J Am Coll Nutr.* 2009;28(6):694-701.
49. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lamarche B, Couillard C. Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption. *Metabolism.* 2005;54(7):856-61.
50. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C. Low-calorie cranberry juice supplementation reduces plasma oxidized LDL and cell adhesion molecule concentrations in men. *Br J Nutr.* 2008;99(2):352-9.
51. Ruel G, Lapointe A, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, et al. Evidence that cranberry juice may improve augmentation index in overweight men. *Nutr Res.* 2013;33(1):41-9.
52. Lee IT, Chan YC, Lin CW, Lee WJ, Sheu WH. Effect of cranberry extracts on lipid profiles in subjects with Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2008;25(12):1473-7.
53. Shidfar F, Heydari I, Hajimiresmaei SJ, Hosseini S, Shidfar S, Amiri F. The effects of cranberry juice on serum glucose, apoB, apoA-I, Lp(a), and Paraoxonase-1 activity in type 2 diabetic male patients. *J Res Med Sci.* 2012;17(4):355-60.
54. Novotny JA, Baer DJ, Khoo C, Gebauer SK, Charron CS. Cranberry juice consumption lowers markers of cardiometabolic risk, including blood pressure and circulating C-reactive protein, triglyceride, and glucose concentrations in adults. *J Nutr.* 2015;145(6):1185-93.
55. Chew B, Mathison B, Kimble L, McKay D, Kaspar K, Khoo C, et al. Chronic consumption of a low calorie, high polyphenol cranberry beverage attenuates inflammation and improves

- glucoregulation and HDL cholesterol in healthy overweight humans: a randomized controlled trial. *Eur J Nutr.* 2018.
56. Dohadwala MM, Holbrook M, Hamburg NM, Shenouda SM, Chung WB, Titas M, et al. Effects of cranberry juice consumption on vascular function in patients with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(5):934-40.
57. Flammer AJ, Martin EA, Gossel M, Widmer RJ, Lennon RJ, Sexton JA, et al. Polyphenol-rich cranberry juice has a neutral effect on endothelial function but decreases the fraction of osteocalcin-expressing endothelial progenitor cells. *Eur J Nutr.* 2013;52(1):289-96.
58. Wilson T, Meyers SL, Singh AP, Limburg PJ, Vorsa N. Favorable glycemic response of type 2 diabetics to low-calorie cranberry juice. *J Food Sci.* 2008;73(9):H241-5.
59. Chambers BK, Camire ME. Can cranberry supplementation benefit adults with type 2 diabetes? *Diabetes Care.* 2003;26(9):2695-6.
60. Torronen R, Sarkkinen E, Tapola N, Hautaniemi E, Kilpi K, Niskanen L. Berries modify the postprandial plasma glucose response to sucrose in healthy subjects. *Br J Nutr.* 2010;103(8):1094-7.
61. Simao TN, Lozovoy MA, Simao AN, Oliveira SR, Venturini D, Morimoto HK, et al. Reduced-energy cranberry juice increases folic acid and adiponectin and reduces homocysteine and oxidative stress in patients with the metabolic syndrome. *Br J Nutr.* 2013;110(10):1885-94.
62. Schell J, Betts NM, Foster M, Scofield RH, Basu A. Cranberries improve postprandial glucose excursions in type 2 diabetes. *Food Funct.* 2017;8(9):3083-90.
63. Duffey KJ, Sutherland LA. Adult cranberry beverage consumers have healthier macronutrient intakes and measures of body composition compared to non-consumers: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2005-2008. *Nutrients.* 2013;5(12):4938-49.
64. Duffey KJ, Sutherland LA. Adult consumers of cranberry juice cocktail have lower C-reactive protein levels compared with nonconsumers. *Nutr Res.* 2015;35(2):118-26.
65. Martín MA, Ramos S, Mateos R, Marais JPJ, Bravo-Clemente L, Khoo C, et al. Chemical characterization and chemo-protective activity of cranberry phenolic powders in a model cell culture. Response of the antioxidant defenses and regulation of signaling pathways. *Food Research International.* 2015;71:68-82.
66. Feliciano RP, Boeres A, Massaccesi L, Istas G, Ventura MR, Nunes Dos Santos C, et al. Identification and quantification of novel cranberry-derived plasma and urinary (poly)phenols. *Arch Biochem Biophys.* 2016;599:31-41.
67. Rodriguez-Mateos A, Feliciano RP, Boeres A, Weber T, Dos Santos CN, Ventura MR, et al. Cranberry (poly)phenol metabolites correlate with improvements in vascular function: A double-blind, randomized, controlled, dose-response, crossover study. *Mol Nutr Food Res.* 2016;60(10):2130-40.
68. Wilkinson IB, MacCallum H, Flint L, Cockcroft JR, Newby DE, Webb DJ. The influence of heart rate on augmentation index and central arterial pressure in humans. *The Journal of Physiology.* 2000;525(Pt 1):263-70.
69. Bodet C, Grenier D, Chandad F, Ofek I, Steinberg D, Weiss EI. Potential oral health benefits of cranberry. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2008;48(7):672-80.
70. Feldman M, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins act in synergy with licochalcone A to reduce *Porphyromonas gingivalis* growth and virulence properties, and to suppress cytokine secretion by macrophages. *J Appl Microbiol.* 2012;113(2):438-47.
71. Patel KD, Scarano FJ, Kondo M, Hurta RA, Neto CC. Proanthocyanidin-rich extracts from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) selectively inhibit the growth of human pathogenic fungi *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *J Agric Food Chem.* 2011;59(24):12864-73.

72. Feldman M, Tanabe S, Howell A, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of *Candida albicans* and cytokine secretion by oral epithelial cells. *BMC Complement Altern Med*. 2012;12:6.
73. Weiss EI, Kozlovsky A, Steinberg D, Lev-Dor R, Bar Ness Greenstein R, Feldman M, et al. A high molecular mass cranberry constituent reduces mutans streptococci level in saliva and inhibits in vitro adhesion to hydroxyapatite. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;232(1):89-92.
74. Yamanaka A, Kimizuka R, Kato T, Okuda K. Inhibitory effects of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation. *Oral Microbiol Immunol*. 2004;19(3):150-4.
75. Steinberg D, Feldman M, Ofek I, Weiss EI. Cranberry high molecular weight constituents promote *Streptococcus sobrinus* desorption from artificial biofilm. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;25(3):247-51.
76. Duarte S, Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Schaich K, Bowen WH, et al. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. *FEMS Microbiol Lett*. 2006;257(1):50-6.
77. Steinberg D, Feldman M, Ofek I, Weiss EI. Effect of a high-molecular-weight component of cranberry on constituents of dental biofilm. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54(1):86-9.
78. Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Koo H. Influence of cranberry phenolics on glucan synthesis by glucosyltransferases and *Streptococcus mutans* acidogenicity. *J Appl Microbiol*. 2007;103(5):1960-8.
79. Feldman M, Weiss E, Shemesh M, Ofek I, Bachrach G, Rozen R, et al. Cranberry constituents affect fructosyltransferase expression in *Streptococcus mutans*. *Altern Ther Health Med*. 2009;15(2):32-8.
80. Feldman M, Weiss EI, Ofek I, Shemesh M, Steinberg D. In vitro real-time interactions of cranberry constituents with immobilized fructosyltransferase. *J Med Food*. 2010;13(5):1153-60.
81. Koo H, Duarte S, Murata RM, Scott-Anne K, Gregoire S, Watson GE, et al. Influence of cranberry proanthocyanidins on formation of biofilms by *Streptococcus mutans* on saliva-coated apatitic surface and on dental caries development in vivo. *Caries Res*. 2010;44(2):116-26.
82. Sethi R, Govila V. Inhibitory effect of cranberry juice on the colonization of *Streptococcus* species: An in vitro study. *J Indian Soc Periodontol*. 2011;15(1):46-50.
83. Weiss EI, Lev-Dor R, Kasham Y, Goldhar J, Sharon N, Ofek I. Inhibiting interspecies coaggregation of plaque bacteria with a cranberry juice constituent [published erratum appears in *J Am Dent Assoc* 1999 Jan;130(1):36 and 1999 Mar;130(3):332]. *J Am Dent Assoc*. 1998;129(12):1719-23.
84. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1994;5:78-111.
85. La VD, Howell AB, Grenier D. Anti-*Porphyromonas gingivalis* and anti-inflammatory activities of A-type cranberry proanthocyanidins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(5):1778-84.
86. Labrecque J, Bodet C, Chandad F, Grenier D. Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(2):439-43.
87. Weiss EI, Lev-Dor R, Sharon N, Ofek I. Inhibitory effect of a high-molecular-weight constituent of cranberry on adhesion of oral bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2002;42(3 Suppl):285-92.
88. Yamanaka A, Kouchi T, Kasai K, Kato T, Ishihara K, and Okuda K. Inhibitory effect of cranberry polyphenol on proteases of periodontopathic bacteria. *J. Dent. Res*. 2006; 85 (Special issue A): Abstract 1078

89. Yamanaka A, Kouchi T, Kasai K, Kato T, Ishihara K, Okuda K. Inhibitory effect of cranberry polyphenol on biofilm formation and cysteine proteases of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res.* 2007;42(6):589-92.
90. Bodet C, Piche M, Chandad F, Grenier D. Inhibition of periodontopathogen-derived proteolytic enzymes by a high-molecular-weight fraction isolated from cranberry. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(4):685-90.
91. Youdim KA, McDonald J, Kalt W, Joseph JA. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J Nutr Biochem.* 2002;13(5):282-8.
92. Bodet C, Chandad F, Grenier D. Anti-inflammatory activity of a high-molecular-weight cranberry fraction on macrophages stimulated by lipopolysaccharides from periodontopathogens. *J Dent Res.* 2006;85(3):235-9.
93. Bodet C, Chandad F, Grenier D. Inhibition of host extracellular matrix destructive enzyme production and activity by a high-molecular-weight cranberry fraction. *J Periodontal Res.* 2007;42(2):159-68.
94. Tipton DA, Cho S, Zacharia N, Dabbous MK. Inhibition of interleukin-17-stimulated interleukin-6 and -8 production by cranberry components in human gingival fibroblasts and epithelial cells. *J Periodontal Res.* 2013;48(5):638-46.
95. Labrecque J, Bodet C, Chandad F, and Grenier D. (2007). Cytoprotective, Res. eonpatbcJD, 2961. SiAa.
96. La VD, Labrecque J, Grenier D. Cytoprotective effect of proanthocyanidin-rich cranberry fraction against bacterial cell wall-mediated toxicity in macrophages and epithelial cells. *Phytother Res.* 2009;23(10):1449-52.
97. Khairnar MR, Karibasappa GN, Dodamani AS, Vishwakarma P, Naik RG, Deshmukh MA. Comparative assessment of Cranberry and Chlorhexidine mouthwash on streptococcal colonization among dental students: A randomized parallel clinical trial. *Contemp Clin Dent.* 2015;6(1):35-9.
98. Gupta A, Bansal K, Marwaha M. Effect of high-molecular-weight component of Cranberry on plaque and salivary *Streptococcus mutans* counts in children: an in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2015;33(2):128-33.
99. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* 2007;133(2):659-72.
100. Peek RM, Jr., Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(1):28-37.
101. Burger O, Ofek I, Tabak M, Weiss E, Sharon N, Neeman I. A high molecular mass constituent of cranberry juice inhibits *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucus. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000;29(4):295-301.
102. Burger O, Weiss E, Sharon N, Tabak M, Neeman I, Ofek I. Inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucus by a high-molecular-weight constituent of cranberry juice. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2002;42(3 Suppl):279-84.
103. Shmueli H, Burger O, Neeman I, Yahav J, Samra Z, Niv Y, et al. Susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates to the antiadhesion activity of a high-molecular-weight constituent of cranberry. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;50(4):231-5.
104. Vatter DA, Lin YT, Ghaedian R, Shetty K. Cranberry synergies for dietary management of *Helicobacter pylori* infections. *Process Biochemistry.* 2005;40(5):1583-92.
105. Cote J, Caillet S, Doyon G, Sylvain JF, Lacroix M. Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2010;50(7):666-79.
106. Gotteland M, Andrews M, Toledo M, Munoz L, Caceres P, Anziani A, et al. Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* La1 in children. *Nutrition.* 2008;24(5):421-6.

107. Lin YT, Kwon YI, Labbe RG, Shetty K. Inhibition of *Helicobacter pylori* and associated urease by oregano and cranberry phytochemical synergies. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(12):8558-64.
108. Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(6):675-83.
109. Xiao SD, Shi T. Is cranberry juice effective in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection of mice? *Chinese Journal of Digestive Diseases*. 2003;4(3):136-9.
110. Matsushima M, Suzuki T, Masui A, Kasai K, Kouchi T, Takagi A, et al. Growth inhibitory action of cranberry on *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23 Suppl 2:S175-80.
111. Shmueli H, Yahav J, Samra Z, Chodick G, Koren R, Niv Y, et al. Effect of cranberry juice on eradication of *Helicobacter pylori* in patients treated with antibiotics and a proton pump inhibitor. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(6):746-51.
112. Seyyedmajidi M, Ahmadi A, Hajiebrahimi S, Seyedmajidi S, Rajabikashani M, Firoozabadi M, et al. Addition of cranberry to proton pump inhibitor-based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *J Res Pharm Pract*. 2016;5(4):248-51.
113. Zhang L, Ma J, Pan K, Go VL, Chen J, You WC. Efficacy of cranberry juice on *Helicobacter pylori* infection: a double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Helicobacter*. 2005;10(2):139-45.
114. Madrigal-Carballo S, Rodriguez G, Sibaja M, Reed JD, Vila AO, Molina F. Chitosomes loaded with cranberry proanthocyanidins attenuate the bacterial lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 in raw 264.7 macrophages. *J Liposome Res*. 2009;19(3):189-96.
115. Kim MJ, Ohn J, Kim JH, Kwak HK. Effects of freeze-dried cranberry powder on serum lipids and inflammatory markers in lipopolysaccharide treated rats fed an atherogenic diet. *Nutr Res Pract*. 2011;5(5):404-11.
116. Anhe FF, Roy D, Pilon G, Dudonne S, Matamoros S, Varin TV, et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut*. 2015;64(6):872-83.
117. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(22):9066-71.
118. Denis MC, Desjardins Y, Furtos A, Marcil V, Dudonne S, Montoudis A, et al. Prevention of oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction in the intestine by different cranberry phenolic fractions. *Clin Sci (Lond)*. 2015;128(3):197-212.
119. Xiao X, Kim J, Sun Q, Kim D, Park CS, Lu TS, et al. Preventive effects of cranberry products on experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. *Food Chem*. 2015;167:438-46.
120. Nantz MP, Rowe CA, Muller C, Creasy R, Colee J, Khoo C, et al. Consumption of cranberry polyphenols enhances human gamma delta-T cell proliferation and reduces the number of symptoms associated with colds and influenza: a randomized, placebo-controlled intervention study. *Nutr J*. 2013;12:161.
121. Pierre JF, Heneghan AF, Feliciano RP, Shanmuganayagam D, Roenneburg DA, Krueger CG, et al. Cranberry proanthocyanidins improve the gut mucous layer morphology and function in mice receiving elemental enteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2013;37(3):401-9.
122. Pierre JF, Heneghan AF, Feliciano RP, Shanmuganayagam D, Krueger CG, Reed JD, et al. Cranberry proanthocyanidins improve intestinal sIgA during elemental enteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014;38(1):107-14.
123. Contreras TC, Ricciardi E, Cremonini E, Oteiza PI. (-)-Epicatechin in the prevention of tumor necrosis alpha-induced loss of Caco-2 cell barrier integrity. *Arch Biochem Biophys*. 2015;573:84-91.

124. Polewski MA, Krueger CG, Reed JD, Leyer G. Ability of cranberry proanthocyanidins in combination with a probiotic formulation to inhibit in vitro invasion of gut epithelial cells by extra-intestinal pathogenic *E. coli* 2016. 123-34 p.
125. Feliciano RP, Meudt JJ, Shanmuganayagam D, Krueger CG, Reed JD. Ratio of "A-type" to "B-type" proanthocyanidin interflavan bonds affects extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* invasion of gut epithelial cells. *J Agric Food Chem*. 2014;62(18):3919-25.
126. Alfaro-Viquez E, Esquivel-Alvarado D, Madrigal-Carballo S, Krueger CG, Reed JD. Cranberry proanthocyanidin-chitosan hybrid nanoparticles as a potential inhibitor of extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* invasion of gut epithelial cells. *Int J Biol Macromol*. 2018;111:415-20.
127. Lipson SM, Sethi L, Cohen P, Gordon RE, Tan IP, Burdowski A, et al. Antiviral effects on bacteriophages and rotavirus by cranberry juice. *Phytomedicine*. 2007;14(1):23-30.
128. Su X, Howell AB, D'Souza DH. The effect of cranberry juice and cranberry proanthocyanidins on the infectivity of human enteric viral surrogates. *Food Microbiol*. 2010;27(4):535-40.
129. Su X, Howell AB, D'Souza DH. Antiviral effects of cranberry juice and cranberry proanthocyanidins on foodborne viral surrogates--a time dependence study in vitro. *Food Microbiol*. 2010;27(8):985-91.
130. Weiss EI, Hourri-Haddad Y, Greenbaum E, Hochman N, Ofek I, Zakay-Rones Z. Cranberry juice constituents affect influenza virus adhesion and infectivity. *Antiviral Res*. 2005;66(1):9-12.
131. Oiknine-Djian E, Hourri-Haddad Y, Weiss EI, Ofek I, Greenbaum E, Hartshorn K, et al. High molecular weight constituents of cranberry interfere with influenza virus neuraminidase activity in vitro. *Planta Med*. 2012;78(10):962-7.
132. Terlizzi ME, Occhipinti A, Luganini A, Maffei ME, Gribaudo G. Inhibition of herpes simplex type 1 and type 2 infections by Oximacro((R)), a cranberry extract with a high content of A-type proanthocyanidins (PACs-A). *Antiviral Res*. 2016;132:154-64.
133. Hodek P, Trefil P, Stiborova M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem Biol Interact*. 2002;139(1):1-21.
134. Kim E, Sy-Cordero A, Graf TN, Brantley SJ, Paine MF, Oberlies NH. Isolation and identification of intestinal CYP3A inhibitors from cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) using human intestinal microsomes. *Planta Med*. 2011;77(3):265-70.
135. Greenblatt DJ, von Moltke LL. Interaction of warfarin with drugs, natural substances, and foods. *J Clin Pharmacol*. 2005;45(2):127-32.
136. Roberts D, Flanagan P. Case report: Cranberry juice and warfarin. *Home Healthc Nurse*. 2011;29(2):92-7.
137. Aston JL, Lodolce AE, Shapiro NL. Interaction between warfarin and cranberry juice. *Pharmacotherapy*. 2006;26(9):1314-9.
138. Duthie GG, Kyle JA, Jenkinson AM, Duthie SJ, Baxter GJ, Paterson JR. Increased salicylate concentrations in urine of human volunteers after consumption of cranberry juice. *J Agric Food Chem*. 2005;53(8):2897-900.
139. Suvarna R, Pirmohamed M, Henderson L. Possible interaction between warfarin and cranberry juice. *Bmj*. 2003;327(7429):1454.
140. Grant P. Warfarin and cranberry juice: an interaction? *J Heart Valve Dis*. 2004;13(1):25-6.
141. Rindone JP, Murphy TW. Warfarin-cranberry juice interaction resulting in profound hypoprothrombinemia and bleeding. *Am J Ther*. 2006;13(3):283-4.
142. Pham DQ, Pham AQ. Interaction potential between cranberry juice and warfarin. *Am J Health Syst Pharm*. 2007;64(5):490-4.
143. Paeng CH, Sprague M, Jackevicius CA. Interaction between warfarin and cranberry juice. *Clin Ther*. 2007;29(8):1730-5.

144. Griffiths AP, Beddall A, Pegler S. Fatal haemopericardium and gastrointestinal haemorrhage due to possible interaction of cranberry juice with warfarin. *J R Soc Promot Health*. 2008;128(6):324-6.
145. Mergenhagen KA, Sherman O. Elevated International Normalized Ratio after concurrent ingestion of cranberry sauce and warfarin. *Am J Health Syst Pharm*. 2008;65(22):2113-6.
146. Hamann GL, Campbell JD, George CM. Warfarin-cranberry juice interaction. *Ann Pharmacother*. 2011;45(3):e17.
147. Haber SL, Cauthon KA, Raney EC. Cranberry and warfarin interaction: a case report and review of the literature. *Consult Pharm*. 2012;27(1):58-65.
148. Choi S, Oh DS, Jerng UM. A systematic review of the pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of herbal medicine with warfarin. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182794.
149. Li Z, Seeram NP, Carpenter CL, Thames G, Minutti C, Bowerman S. Cranberry does not affect prothrombin time in male subjects on warfarin. *J Am Diet Assoc*. 2006;106(12):2057-61.
150. Mohammed Abdul MI, Jiang X, Williams KM, Day RO, Roufogalis BD, Liauw WS, et al. Pharmacodynamic interaction of warfarin with cranberry but not with garlic in healthy subjects. *Br J Pharmacol*. 2008;154(8):1691-700.
151. Norwood DA, Parke CK, Rappa LR. A Comprehensive Review of Potential Warfarin-Fruit Interactions. *J Pharm Pract*. 2015;28(6):561-71.
152. Li M, Andrew MA, Wang J, Salinger DH, Vicini P, Grady RW, et al. Effects of cranberry juice on pharmacokinetics of beta-lactam antibiotics following oral administration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(7):2725-32.
153. Dave AA, Samuel J. Suspected Interaction of Cranberry Juice Extracts and Tacrolimus Serum Levels: A Case Report. *Cureus*. 2016;8(5):e610.
154. Grenier J, Fradette C, Morelli G, Merritt GJ, Vranderick M, Ducharme MP. Pomelo juice, but not cranberry juice, affects the pharmacokinetics of cyclosporine in humans. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;79(3):255-62.
155. H RR, Dhamecha D, Jagwani S, Patil D, Hegde S, Potdar R, et al. Formulation of thermoreversible gel of cranberry juice concentrate: Evaluation, biocompatibility studies and its antimicrobial activity against periodontal pathogens. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;75:1506-14.
156. Boteon AP, Kato MT, Buzalaf MAR, Prakki A, Wang L, Rios D, et al. Effect of Proanthocyanidin-enriched extracts on the inhibition of wear and degradation of dentin demineralized organic matrix. *Arch Oral Biol*. 2017;84:118-24.
157. Neto CC, Penndorf KA, Feldman M, Meron-Sudai S, Zakay-Rones Z, Steinberg D, et al. Characterization of non-dialyzable constituents from cranberry juice that inhibit adhesion, co-aggregation and biofilm formation by oral bacteria. *Food Funct*. 2017;8(5):1955-65.
158. Tipton DA, Carter TB, Dabbous M. Inhibition of interleukin 1beta-stimulated interleukin-6 production by cranberry components in human gingival epithelial cells: effects on nuclear factor kappaB and activator protein 1 activation pathways. *J Periodontal Res*. 2014;49(4):437-47.
159. Neto CC, Sweeney-Nixon MI, Lamoureaux T, Solomon Fea. Cranberry Phenolics: Effects on Oxidative Processes, Neuron Cell Death, and Tumor Cell Growth. In: Books A, editor. *Symposium Series on Phenolics in Foods and Natural Health Products*2005. p. 271 - 82.
160. Bosmans JE, Beerepoot MA, Prins JM, ter Riet G, Geerlings SE. Cost-effectiveness of cranberries vs antibiotics to prevent urinary tract infections in premenopausal women: a randomized clinical trial. *PLoS One*. 2014;9(4):e91939.