

ANDREIA CATARINA LOPES ALVES

O RESVERATROL COMO MOLÉCULA ANTI-ENVELHECIMENTO

Orientador: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

Co-orientador: Professor Manuel Fitas

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2015

ANDREIA CATARINA LOPES ALVES

O RESVERATROL COMO MOLÉCULA ANTI-ENVELHECIMENTO

Dissertação apresentada na Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias para a obtenção do
Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

Co-orientador: Professor Manuel Fitas

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2015

**Escrito segundo as regras do acordo ortográfico de 1945, ao abrigo da
Resolução da Assembleia da República nº35/2008, Diário da
República, 1ª série – Nº145 de 29 de Julho de 2008**

AGRADECIMENTOS

O espaço limitado desta secção, seguramente, não é suficiente para agradecer da forma que desejo a todas as pessoas que durante o meu percurso académico, me ajudaram, directa ou indirectamente, na concretização dos meus objectivos. Para a realização desta dissertação contei com apoio e colaboração de várias pessoas, sem as quais não se teria tornado uma realidade e a quem estou inteiramente grata:

À *Professora Doutora Catarina Pinto Reis*, pela total disponibilidade, colaboração e apoio prestados na elaboração desta dissertação. Por todo o conhecimento e motivação transmitidos ao longo do meu percurso académico em que esteve presente.

Ao *Professor Manuel Fitas*, pela sua orientação, total apoio e disponibilidade demonstrados ao longo de toda a elaboração desta dissertação. Pelo saber, opiniões e críticas transmitidas assim como a total colaboração na resolução de dúvidas que surgiram.

A *todos os docentes* do Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, por todo o conhecimento, orientação, apoio e motivação transmitidos que em tudo contribuíram para a minha formação académica.

Aos meus *pais, Isidoro Alves e Maria da Graça Alves, irmãos, Solange Alves e Tiago Alves, e avós* pelo apoio incondicional, incentivo, paciência, amor e amizade demonstrados ao longo de todo o meu percurso académico. Pela total ajuda na superação de problemas e, principalmente, por estarem sempre presentes em todos os momentos. Por me incentivarem a superar todos os desafios e a fazer sempre mais e melhor.

Ao meu namorado, *Marco André*, ouvinte atento das minhas dúvidas e inquietações, por estar sempre presente em todos os momentos, por todo o empenho, dedicação, incentivo e amor durante todo este período e por tudo aquilo que representa para mim.

Uma dedicação especial a estes últimos, pelo amor incondicional e pela forma como ao longo de todos estes anos, estiveram sempre do meu lado e me ajudaram a superar todos os desafios.

Um GRANDE OBRIGADO a todos!

Resumo

Com o aumento da esperança de vida da população mundial, a área do anti-envelhecimento tem progredido bastante tanto a nível molecular como clínico. Hoje em dia, a população preocupa-se cada vez mais não só em viver vários anos mas também em viver bem, de boa saúde com uma aparência jovem. É neste âmbito que surge o resveratrol, um polifenol anti-oxidante com diversos efeitos biológicos. Este é encontrado em elevadas quantidades na planta *Polygonum cuspidatum*, uvas e vinho tinto, estando presente em menores quantidades em arandos, groselhas vermelhas, amendoins, entre outros. Evidências laboratoriais têm demonstrado que o resveratrol actua não só contra o envelhecimento cutâneo como também contra o envelhecimento biológico de vários órgãos e sistemas, nomeadamente do sistema cardiovascular, esquelético, neurológico, aumentando ainda a esperança de vida de vários organismos como em leveduras e peixes. Além de todas estas propriedades, o resveratrol é ainda uma molécula com propriedades anti-cancerígenas, anti-angiogénicas, anti-bacterianas, anti-fúngicas e anti-virais.

Palavras-Chave: Resveratrol, *Polygonum cuspidatum*, Uvas, Vinho, Cosmético, Envelhecimento, Doença de Alzheimer, Doenças Cardiovasculares, Cancro, Estrogénios, Sirtuínas, Colagénio, Elastina, Fotoenvelhecimento, Despigmentante, Osso, Anti-fúngico, Anti-bacteriano, Anti-viral.

Abstract

With world's population increasing life expectancy, the anti-aging science has progressed quite well not only at the molecular level but also at clinician. Nowadays, population is concerned with living many years healthy with a youthful appearance. It is in this context that resveratrol appears, a polyphenol antioxidant with many biological effects, found in large quantities in the plant *Polygonum cuspidatum*, grapes and red wine being present in smaller quantities cranberries, red currants, nuts, among others. Laboratory evidence has shown that resveratrol acts against skin aging and biological aging of various organs and systems, including cardiovascular system, skeletal system, neurological system, increasing life expectancy of various organisms such as yeast and fish. In addition to these properties, resveratrol has anti-cancer, anti-angiogenic, anti-bacterial, anti-fungal and anti-viral properties.

Key-words: Resveratrol, *Polygonum cuspidatum*, Grapes, Wine, Cosmetic, Aging, Alzheimer disease, Cardiovascular diseases, Cancer, Estrogen, Sirtuin, Collagen, Elastin, Photoaging, Depigmenting, Bone, Antifungal, Antibacterial, Antiviral.

Abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico
AGE - Produtos finais da glicação avançada
AVC - Acidente vascular cerebral
BAP - Fosfatase alcalina óssea
Cdks - Cyclin-dependent kinases
CIM₅₀ - Concentração inibitória mínima de 50%
CIM₉₀ - Concentração inibitória mínima de 90%
C_{máx} - Concentração plasmática máxima
COX - Ciclooxygenase
DMSO - Dimetilsulfóxido
EBV - *Vírus Epstein-barr*
eNOS - Óxido nítrico sintetase endotelial
ERO - Espécies reactivas de oxigénio
GPX - Glutatioão peroxidase
GR - Glutatioão redutase
GST - Glutatioão-S-transferase
HCMV - *Cytomegalovirus humano*
HIV - *Vírus da Imunodeficiência humana*
HSV-1 - *Herpes simplex* tipo 1
HSV-2 - *Herpes simplex* tipo 2
IAP - Proteínas inibidoras da apoptose
IC_{100%} - Concentração inibitória de 100%
ICAM-1 - Molécula de adesão intercelular-1
IL-6 - Interleucina-6
iNOS - Óxido nítrico sintase induzível
LDL - Lipoproteína de baixa densidade
LOX - Lipooxygenase
MAPK - Mitogen-activated protein kinases
MMP - Metaloproteinases de matriz
NOAEL - Non observed adverse effect level
O₂^{•-} - Radical anião superóxido
ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity

PHS - Prostaglandina H sintase
pRb - Proteína retinoblastoma
RSV - Resveratrol
Sir2 - Silent information regulator
SULT - Sulfotransferases
TNF - Tumor necrosis factor
TRAIL - tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
UGT - UDP-glucuronosiltransferase
UV-A - Ultravioleta-A
UV-B - Ultravioleta-B
VCAM-1 - Vascular cell adhesion molecule-1
VZV – *Vírus Zoster da varicela*
 α -MSH - Hormona estimulante α -melanócito
 $\bullet$ OH – Radical hidroxilo

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Perspectiva Histórica	1
1.2. Principais Fontes de Resveratrol	1
2. Caracterização do RSV	3
2.1. Estrutura Química	3
2.2. Propriedades Físico-Químicas	3
2.3. Propriedades Farmacocinéticas	4
2.4. Dose e Toxicidade	6
2.5. Estratégias de Veiculação	8
3. Propriedades Biológicas	12
3.1. Propriedades Anti-oxidantes.....	12
3.2. Propriedades Anti-inflamatórias	15
3.3. Propriedades Anti-cancerígenas e Anti-angiogénicas	17
3.4. Propriedades Anti-virais	20
3.5. Propriedades Anti-bacterianas	21
3.6. Propriedades Anti-fúngicas	23
4. Envelhecimento	24
4.1. Envelhecimento Biológico.....	24
4.2. Efeitos do Resveratrol no Envelhecimento Biológico.....	26
4.2.1. Efeitos no aumento da esperança de vida	26
4.2.2. Efeitos Cardioprotectores.....	28
4.2.3. Efeitos Neuroprotectores.....	30
4.2.4.Efeitos Protectores da Desmineralização Óssea.....	31
4.3. Envelhecimento Cutâneo	34
4.3.1. Efeitos do Resveratrol no Envelhecimento Ccutâneo.....	36
5. Conclusão	40
Bibliografia.....	43

Índice de Figuras

Figura 1 – Estrutura química do (A) <i>trans</i> -resveratrol, (B) <i>cis</i> -resveratrol e (C) <i>trans</i> -piceid.....	3
Figura 2 – Estrutura química dos principais metabolitos do RSV em humanos e ratos: (A) Resvetratrol-3-Sulfato e (B) Resveratrol-3-O-glucoronido.	6
Figura 3 – Mecanismos de acção anti-oxidante do RSV.	13
Figura 4 – Efeitos do RSV nas diferentes etapas da carcinogénese.....	17
Figura 5 - Efeito do resveratrol sobre o tempo de vida médio ou mediano em modelos de organismos.	27
Figura 6 – Na imagem à esquerda observa-se uma tomografia microcomputorizada das secções sagitais do fémur de ratos velhos tratados com resveratrol (à direita) e sem tratamento (controle - à esquerda). Na imagem à direita observa-se uma análise histológica e histomorfométrica da massa óssea do fémur em ratos velhos tratados com resveratrol (à esquerda) e ratos velhos sem tratamento (controle - à esquerda).	33
Figura 7 - Efeitos inibitórios do resveratrol na síntese de melanina da pele após indução da pigmentação por radiação UV-B em porquinhos-da-Índia.	38
Figura 8 - Resultados obtidos através da mancha de Fontana-Masson para a melanina na pele dos porquinhos-da-Índia.....	38
Figura 9 – Resultados de um estudo realizado, utilizando uma fórmula de Resveratrol patenteada.....	39

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Fontes de RSV e respectivas quantidades previstas em doses servidas	2
Tabela 2 - Propriedades dos diferentes transportadores de RSV.	11
Tabela 3 – Ensaio clínico realizado relativos às propriedades anti-oxidantes do RSV.	13
Tabela 4 – Ensaio clínico realizado relativos às propriedades anti-inflamatórias do RSV.	15
Tabela 5 – Ensaio clínico realizado relativos às propriedades anti-cancerígenas do RSV.....	20
Tabela 6 – Modulação da replicação viral através do RSV.	21
Tabela 7 – Alterações cutâneas provocadas pelo envelhecimento intrínseco e extrínseco.	34

1. Introdução

1.1. Perspectiva Histórica

O resveratrol (RSV) foi primeiramente isolado das raízes do lírio heléboro-branco (*Veratum grandiflorum*) em 1940 e, mais tarde, em 1963, das raízes de *Polygonum cuspidatum*. Esta última planta é conhecida por ser a fonte natural detentora da maior concentração de RSV (181-350mg/100g), sendo utilizada na medicina tradicional Chinesa e Japonesa no tratamento de dermatite supurativa, gonorreia, pé de atleta (*Tinea pedis*) e dislipidemia. Porém, apenas em 1992, quando este composto polifenólico foi identificado como sendo o potencial responsável pelo efeito cardioprotector do vinho, se desenvolveu um especial interesse nesta molécula. Tal situação sugere que o consumo moderado de vinho tinto está inversamente relacionado com a incidência de doenças cardíacas, tornando-se num factor importante na explicação do “Paradoxo Francês”. O “Paradoxo Francês” assenta no facto da população Francesa ser uma consumidora frequente de vinho tinto, possuir uma alimentação rica em gordura saturada, praticar pouco exercício físico e, no entanto, apresentar uma predisposição baixa para desenvolver doenças cardíacas. Assim, a população francesa apresenta uma incidência de enfartes 40% inferior à dos restantes povos europeus. [1-3]

Posteriormente, em 1997, Jang e seus colegas concluíram que o RSV possuía propriedades quimiopreventivas, inibindo os principais estágios da carcinogénese: iniciação, promoção e progressão. [4] Desde então inúmeros estudos têm vindo a ser publicados evidenciando não só os efeitos cardioprotectores e anti-cancerígenos mas também os seus efeitos: anti-oxidante, anti-inflamatório, anti-envelhecimento, neuroprotector, inibidor do ciclo celular e, mais recentemente, no tratamento da obesidade e diabetes. Tem também vindo a ser evidenciado que o RSV terá a capacidade de aumentar a esperança de vida através da mimetização dos efeitos da restrição calórica, prevenindo a ocorrência de diversos processos de envelhecimento geneticamente programados. [5]

1.2. Principais Fontes de Resveratrol

O RSV pertence ao grupo das fitoalexinas as quais representam uma parte importante dos mecanismos de defesa das plantas. Estas são um grupo de metabolitos secundários de baixo peso molecular produzidos pelas plantas como resposta a: lesões;

ataques microbiológicos (p. ex.: fungos); stress ambiental; radiação ultravioleta; exposição ao ozono. [6]

Este é predominantemente encontrado, na natureza, na planta *Polygonum cuspidatum* e na película das uvas (*Vitis vinifera*), estando presente em menores quantidades em arandos, groselhas vermelhas, amendoins, entre outros. O vinho tinto é a fonte mais comum, sendo o RSV libertado da película das uvas durante a produção. No entanto, as suas concentrações, no vinho tinto, variam entre 0,1-14,4mg/L, de acordo com o tipo de uva usada, região do mundo onde é produzida, factores ambientais que variam ao longo do ano, tecnologia de produção e método de detecção/quantificação do RSV. Nos vinhos brancos também está presente, mas em menor concentração que no vinho tinto, sendo tal situação explicada com base no processo de fabrico do vinho branco uma vez que este apenas é fermentado após a remoção da película da uva, ao contrário do vinho tinto que é fermentado com a película, permitindo a incorporação de RSV em maior quantidade. [1][2][7] Os sumos de uva também contêm RSV (Uva preta – 0.5/100mL; Uva branca – 0.05/100mL) porém em menor quantidade que nos vinhos, o que sugere que é na película que existe uma maior concentração deste polifenol. [1-3]

Relativamente à obtenção do RSV sintético, este é produzido por fermentação ou engenharia química, permitindo o baixo custo de obtenção da molécula. Na fermentação são utilizadas bactérias ou leveduras geneticamente modificadas enquanto que na engenharia química a molécula de RSV é sintetizada com base em compostos orgânicos que reagem entre si. [8]

Tabela 1 – Fontes de RSV e respectivas quantidades previstas em doses servidas (Adaptado de: V. Chachay, C. Kirkpatrick, I. Hickman, M. Ferguson, J. Prins and J. Martin, "Resveratrol - pills to replace a healthy diet," *British Journal Of Clinical Pharmacolog.*, vol. 71:1, pp. 27-38, 2011)

Fonte alimentar	Concentração	Conteúdo total de RSV por dose
Vinhos Tintos	0,1-14.3 mg/L	Copo 150 mL: 0,015-2,15mg
Vinho Tinto "Pinot Noir"	10,5 mg/L	Copo 150 mL: 1,57mg
Vinhos Brancos	<0,1-1,2 mg/L	Copo 150mL: 0,015-0,18mg
Vinho Branco Riesling	>1,2 mg/L	Copo 150 mL: >0,32mg
Sumo de Uva preta	0,5 mg/100mL	Copo 250 mL: 1,25 mg
Sumo de Uva Branca	0,05 mg/100mL	Copo 250 mL: 0,125 mg
Sumo de Arando	0,2 mg/100mL	Copo 250 mL: 0,5mg
Película de Uva Fresca	5-10 mg/100g	-----
Uvas (amostra seca)	0,64 mg/100g	1 taça (250g): 1,6mg
Mirtilos (amostra seca)	0,4 mg/100g	1 taça (150g): 0,6 mg
Morangos (congelados)	0,375 mg/100g	1 taça (150g): 1,56 mg
Groselhas Vermelhas (congeladas)	1,5 mg/100g	½ taça (125g): 1,87 mg
Amendoins (crus)	0,15 mg/100g	1 taça (250g): 0,37 mg
Amendoins (cozidos)	0,52 mg/100g	1 taça (250g): 1,3 mg
Amendoins (torrados)	0,006 mg/100g	1 taça (250g): 0,015 mg
Chocolate Negro	0,124 mg/100g	50g: 0,063 mg
Chocolate de Leite	0,001 mg/100g	50g: 0,0005 mg

2. Caracterização do RSV

2.1. Estrutura Química

O RSV é uma molécula polifenólica aromática pertencente à classe dos estilbenos. Este é constituído por dois anéis fenólicos ligados por uma ligação dupla estireno, sendo que alguns dos carbonos da estrutura anélica encontram-se ligados a grupos hidroxilo, como é possível observar na maioria dos compostos fenólicos. A existência de três átomos de hidrogénio, por molécula de RSV, conferem-lhe actividade anti-oxidante uma vez que estes estão disponíveis para transportar espécies reactivas de oxigénio e interromper a cadeia oxidativa. [1][6][7]

O RSV pode ser encontrado nas formas isoméricas *cis* e *trans*, existindo também ligado a uma molécula de glicose, sendo este último designado “piceid” (figura 1). O isómero *trans* é mais estável que o *cis* e é biologicamente activo, podendo sofrer uma reacção de isomerização na presença de calor ou radiação ultravioleta, originando o isómero *cis*. O “piceid” é a forma de RSV mais predominante nas fontes alimentares, sendo posteriormente convertido em *trans*-resveratrol através de hidrólise. [1][7][9][10]

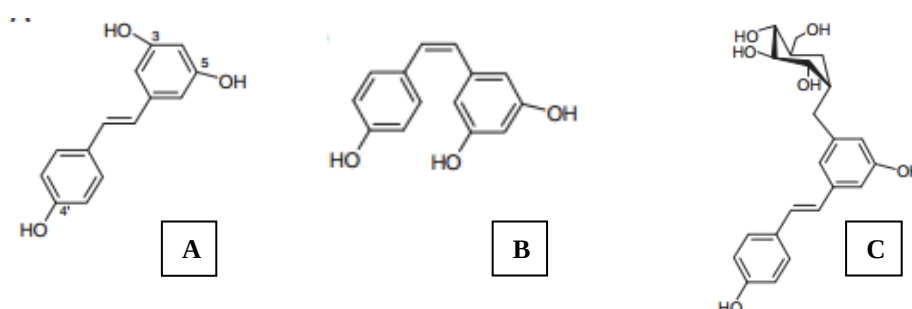


Figura 1 – Estrutura química do (A) *trans*-resveratrol, (B) *cis*-resveratrol e (C) *trans*-piceid (Adaptado de: Cottart, C. *et al.* Resveratrol bioavailability and toxicity in humans, Mol. Nutr. Food Res., vol. 54, pp.1 – 10, 2010)

2.2. Propriedades Físico-Químicas

Relativamente às suas propriedades físico-químicas, apresenta como fórmula molecular $C_{14}H_{12}O_3$ e respectiva massa molecular 228,24 g/mol. [10] À temperatura ambiente, encontra-se no estado sólido, sendo um pó esbranquiçado e apresenta um intervalo de fusão de 253-255°C. Possuindo um LogP de 3,4, é uma molécula lipofílica que se dissolve facilmente em solventes orgânicos como etanol (50mg/mL) e DMSO (16mg/mL), sendo pouco solúvel em água (3mg/100mL). [10-12] O RSV é um composto fotossensível susceptível a isomerização induzida por radiação ultravioleta uma vez que mais de 80% de *trans*-resveratrol presente em solução é convertido no

isómero *cis*, se exposto à luz durante 1 h. [13][14] Este é também instável ao ar por sofrer oxidação. Deste modo, todos os suplementos e soluções produzidos contendo RSV deverão controlar estes parâmetros (oxigénio e radiação ultravioleta) durante os processos de produção, acondicionamento e conservação do suplemento. [8]

2.3. Propriedades Farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas do RSV têm sido largamente estudadas, tanto em ensaios *in vitro* como *in vivo* em animais e humanos. [3] Um elevado número de estudos demonstrou que tanto o RSV como outros polifenóis possuem uma biodisponibilidade muito baixa, conduzindo a uma preocupação relacionada com o facto dos efeitos observados em ensaios celulares ou bioquímicos poderem não ser alcançáveis em humanos devido ao rápido e extenso metabolismo de primeira passagem. [2] Quanto aos parâmetros farmacocinéticos, o RSV possui um tempo de semi-vida ($t_{1/2}$) de 1-3h após uma única administração e de 2-5h após administrações repetidas. Goldberg *et al.* demonstraram um pico máximo de concentração atingido após 30 minutos da administração oral em humanos. A $c_{\text{máx}}$ obtida, após administração única de 5000mg, foi 2,4 μ M e 4,24 μ M, após administração diária de 5000mg durante 29 dias. [1][3]

No que respeita à absorção em humanos, este é rapidamente absorvido no intestino através de difusão trans-epitelial, relevando a sua ampla aplicação. Estudos *in vitro* utilizando uma camada de células Caco-2, foram colocadas em contacto com RSV, demonstrando um transporte saturável dose-dependente da zona apical para a zona basolateral. Lancon *et al.* [15] realizaram também um estudo *in vitro* utilizando células de hepatoblastoma da linha HepG2 e hepatócitos humanos, com o objectivo de comparar o transporte de RSV em células normais e células cancerígenas, demonstrando que o transporte através de difusão passiva e mediado por transportadores poderão estar envolvidos como mecanismos de transporte. [16] Dado a sua lipofilicidade, seria de esperar que a administração de RSV associada a uma alimentação rica em lípidos pudesse aumentar a absorção e, conseqüentemente, a sua biodisponibilidade. Contudo, um estudo realizado em humanos por Vitaglione *et al.* [17], concluiu que a biodisponibilidade de *trans*-resveratrol proveniente do vinho tinto é independente do conteúdo lipídico da refeição. [1][7]

Relativamente à distribuição, em ratos, o RSV foi detectado nos rins, estômago, intestino e fígado após administração oral. Em humanos, cerca de 50% do

RSV total encontra-se ligado às proteínas plasmáticas (p. ex.: albumina, lipoproteínas e hemoglobina). [1][7]

Quanto ao metabolismo, o RSV sofre um extenso metabolismo de primeira passagem no intestino delgado e fígado, sendo rapidamente metabolizado pelos enterócitos e hepatócitos. [18] No fígado é metabolizado pelas enzimas de fase II conduzindo à biotransformação do RSV em metabolitos glucoronidos (UGT) e sulfatados (SULT): *trans*-resveratrol-3-O-glucoronido, *trans*-resveratrol-3-sulfato (figura 1), *trans*-resveratrol-4'-sulfato, *trans*-resveratrol-3,5-dissulfato e *trans*-resveratrol-3,4',5-trissulfato. O metabolismo envolvendo enzimas de fase I não representa um papel importante, não existindo evidência de oxidação enzimática. [1][7] De acordo com estudos em humanos verificou-se que os metabolitos conjugados sofrem recirculação entero-hepática através reabsorção após hidrólise intestinal. Esta situação é baseada na análise gráfica da concentração de RSV vs tempo, após administração oral, onde se observa um 2º pico de concentração máxima. [19] Porém, nos estudos de parâmetros farmacocinéticos analisados, foram observadas elevadas variabilidades inter-individuais e dose-independentes que poderão estar relacionadas com a sensibilidade do método utilizado, polimorfismos enzimáticos dos indivíduos incluídos nos estudos e existência/inexistência de distinção entre as formas isoméricas *cis*, *trans* ou conjugadas de RSV na determinação de $C_{m\acute{a}x}$. Adicionalmente demonstrou-se que a toma de RSV durante a manhã conduz a uma maior biodisponibilidade talvez devido à influência dos ritmos circadianos no metabolismo enzimático da molécula e na circulação entero-hepática. [1] Após biotransformação, este é eliminado, entre 70-98%, na urina e fezes em 24h. A sua clearance parece diminuir com a administração de doses repetidas de RSV, evidenciando a possibilidade de existência de metabolismo saturável e biodisponibilidade alteráveis, o que é preocupante em situações de toma prolongada. É ainda de acrescentar que a actividade dos diferentes metabolitos do RSV continua a ser uma questão em aberto, devendo realizar-se mais estudos acerca das suas propriedades com o intuito de compreender se também os metabolitos serão ou não relevantes para os efeitos observados. [20]

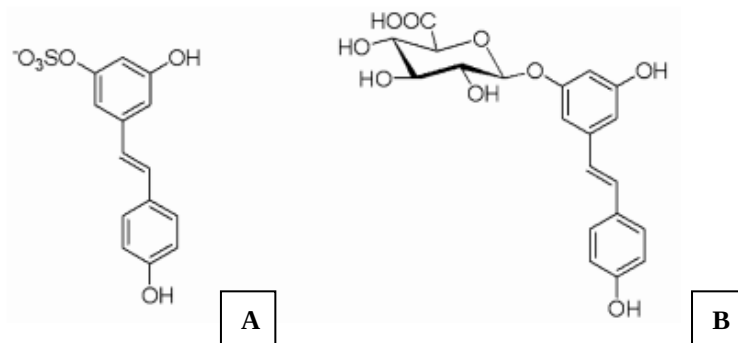


Figura 2 – Estrutura química dos principais metabolitos do RSV em humanos e ratos: (A) Resvetratrol-3-Sulfato e (B) Resveratrol-3-O-glucoronido. (Adaptado de: C. Udenigwe, V. Ramprasath, R. Aluko e P. Jones, “Potencial of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy,” vol. 66, nº8, pp. 447, 2008)

2.4. Dose e Toxicidade

O RSV é uma molécula com potencial interesse clínico em várias áreas como a saúde cardiovascular, quimioprevenção do cancro, obesidade, anti-envelhecimento, desregulações metabólicas, diabetes tipo 2, artrite, osteoporose e neuroprotecção. [1] Este tem sido largamente produzido pela indústria de suplementos alimentares e cosmética. Em relação às dosagens produzidas pela indústria de suplementos alimentares, as mesmas variam entre 50-500mg de *trans*-resveratrol, sendo os ensaios clínicos de toxicidade realizados com doses até aos 5000mg.

A maioria dos autores que defende que a dose diária ainda é algo a definir. Timers *et al.* afirmam que o RSV exibe efeito bifásico pois em doses baixas (~5mg/kg/dia), aumenta o peso corporal de ratos alimentados com uma dieta de elevado teor lipídico e, em doses elevadas (400mg/kg/dia), verifica-se uma perda muito acentuada de peso. [3] Sardi, documenta também o efeito bifásico do RSV: em doses elevadas este é pro-oxidante e em doses baixas anti-oxidante. [21] Também Vang *et al.* afirmam, numa revisão sistemática de conteúdos, que devido aos diferentes mecanismos de acção e alvos moleculares deve-se assumir que a dose óptima irá depender da doença em particular a tratar. [22] Deste modo, a dose óptima a administrar ainda não está definida através de estudos em humanos e, certamente dependerá do efeito pretendido; mais experiências serão também necessárias para definir as doses a administrar e para verificar se, tanto o RSV como os seus metabolitos, se acumulam suficientemente no organismo de forma a demonstrar a sua vasta utilização.

Dado que se trata de uma molécula lipofílica é necessário ter em conta que esta dissolve-se facilmente em lípidos como é o caso de membranas e lipoproteínas, fazendo com que os níveis de RSV nos tecidos possam ser superiores aos sugeridos de acordo com os dados plasmáticos obtidos através da avaliação de parâmetros farmacocinéticos. [3][22]

Em relação à toxicidade reprodutiva foram realizados alguns estudos em ratos e estimado o nível em que não se observaram efeitos adversos (NOAEL – non observed adverse effect level). Estes estudos propuseram um NOAEL de 300mg/kg peso corporal/dia e 750mg/kg peso corporal/dia. Assim, tendo em conta os valores referenciados por estes estudos, Vang *et al.*, concluíram que a dose diária de 450mg para um indivíduo de 60kg seria segura, usando um factor de segurança de 10. [22] Em relação à genotoxicidade, esta foi avaliada recorrendo ao teste de Ames¹, demonstrando que o RSV não possui actividade genotóxica.

Os efeitos adversos em humanos após um consumo elevado de RSV foram investigados, representando um total de 104 indivíduos analisados. Após uma única administração (5g/70kg) de RSV, observou-se nefrotoxicidade em 1/40 dos indivíduos. Observou-se também nasofaringite, alterações nos electrólitos e *rash* eritematoso em 3/24 dos indivíduos, após administração de uma dose única de 400mg. [23] Em relação aos efeitos adversos observados num estudo após a toma repetida de 200mg de RSV, duas vezes ao dia, durante 8 dias, observou-se episódios de diarreia (3/4), *rash* e dores de cabeça (1/8). [22] Outro estudo realizado com 40 voluntários, envolvendo doses múltiplas, em que cada indivíduo recebeu uma determinada dose de RSV (25, 50 100, 150 mg, ou placebo) a cada 4h, durante 48h, verificou que o efeito adverso mais frequente é a dor de cabeça frontal (3/40). Outros efeitos adversos que surgiram apenas uma vez foram dor de cabeça, mialgia das extremidades inferiores, sonolência (grupo 25mg), epididimite (grupo 100 mg), tonturas e dor de cabeça occipital (grupo 150 mg), sem qualquer relação clara com a dose administrada. [23]

Segundo o estudo de Juan *et al.*, utilizando ratos, verificou-se que o RSV não possuía toxicidade aguda após a administração única de 2g/kg. Após administração de 20mg/kg, durante 28 dias, verificou-se um ligeiro aumento AST nos ratos tratados com trans-resveratrol e a examinação dos órgãos vitais durante a autópsia revelou leves efeitos nos testículos e cérebro. O facto de existir um ligeiro aumento de AST não foi considerado relevante para avaliação da toxicidade hepática dado a extensa distribuição que esta enzima apresenta. Os efeitos verificados no cérebro necessitam de estudos mais aprofundados para melhor compreender os efeitos envolvidos apesar das doses administradas serem muito superiores às consumidas diariamente pelos humanos. [24]

¹ Teste de Ames - Teste utilizado para ajudar a identificar compostos químicos que afectam a estrutura do ADN. O teste expõe bactéria *Salmonella* a produtos químicos e procura por mudanças na forma como as bactérias crescem. Estas alterações resultam de mutações que ocorrem quando a estrutura do ADN é alterada em determinados locais.

Resumidamente, a tolerabilidade do RSV aparenta ser boa uma vez que este apresenta uma baixa prevalência de toxicidade e não demonstrou efeitos adversos severos. Contudo ainda não foram realizados estudos de longa duração, sendo a sua realização fundamental para avaliar a segurança do uso do RSV em doenças crónicas como a diabetes tipo 2, cancro, entre outras, as quais irão requerer uma administração prolongada. Dado que o RSV é metabolizado no fígado e excretado através do sistema urinário, populações com o funcionamento destes sistemas comprometidos (p. ex.: devido a doença), ou que se encontram sob terapêutica que os afecte, poderão responder de forma totalmente diferente dos indivíduos saudáveis. Além disso, o RSV demonstrou ter a capacidade de inibir e induzir as isoenzimas hepáticas do citocromo P450 envolvidas na destoxificação de compostos, em indivíduos que receberam 1000mg de RSV/dia durante 4 semanas, sendo necessário especial atenção com indivíduos medicados com fármacos em que o metabolismo hepático é essencial para a sua eliminação ou activação. [1][2]

2.5. Estratégias de Veiculação

O RSV possui inúmeras desvantagens que o tornam numa molécula candidata a sistemas de veiculação mais complexos do que uma simples cápsula ou solução orgânica como tem vindo a ser utilizado na maioria dos ensaios clínicos. Na verdade o RSV possui baixa solubilidade em água, curto tempo de semi-vida, instabilidade química, rápido metabolismo e elevada taxa de eliminação, fazendo com que a sua biodisponibilidade seja reduzida. Assim, torna-se necessário recorrer a técnicas de veiculação complexas com o intuito de aumentar a biodisponibilidade e promover os efeitos biológicos, aumentando a concentração de RSV que atinge o alvo. [1][7][18][20][23]

No âmbito da veiculação surgem estratégias como:

- Microencapsulação: apresenta como vantagens a protecção contra a oxidação, a libertação controlada do composto activo, o aumento do tempo de semi-vida, da solubilidade em meio aquoso e dos níveis sanguíneos de RSV em 360%. [25][26] No mercado dos suplementos alimentares, existe um único suplemento produzido recorrendo a esta técnica: Longevinex®. Longevinex® é constituído por RSV micronizado e microencapsulado e apresenta resultados bastante superiores aos obtidos com outros suplementos de RSV, após um

ataque cardíaco. Nesta situação, estudos com Longevinex® em roedores, demonstram: reduzir a área lesionada após ataque cardíaco em 43% (vs 32%), melhorar a contracção cardíaca em 100% (vs 20%), melhorar o fluxo sanguíneo na aorta em 73% (vs 50%) e reduzir a percentagem de células mortas em 48% (vs 20%). [21]

- Microencapsulação em células de levedura: esta técnica tem surgido como um novo sistema de microencapsulação, tornando-se a levedura de padeiro num hospedeiro conveniente para o desenvolvimento de novas técnicas de veiculação. Através deste método a bicamada da membrana celular poderá actuar como um lipossoma, melhorando a estabilidade do RSV. Consegue-se também aumentar a sua biodisponibilidade, através do aumento da solubilidade em água causada pelas interacções entre o RSV e as proteínas e/ou polissacarídeos da célula da levedura. O processo de encapsulação ocorre por difusão passiva através da diferença de concentrações criada entre o meio interno e externo das células e é reforçado pelas interacções hidrofóbicas e ligações de hidrogénio entre os grupos -OH do RSV e, os grupos -NH₂, -OH e -COOH, da membrana fosfolipídica da levedura. [27][28] Shi *et al.* [28] demonstraram que o composto bioactivo foi incorporado na célula com sucesso (rendimento = 4,5% de RSV encapsulado) e que não existiam alterações químicas do RSV durante o processo de encapsulação. Em relação ao perfil de libertação *in vitro*, foi demonstrado que os componentes da levedura responsáveis por criar uma barreira permeável à libertação do RSV são as proteínas da camada exterior e a membrana plasmática. A destruição desta barreira permeável ocorre na presença de ácidos que por sua vez irá possibilitar a libertação do composto encapsulado. De acordo com ensaios *in vitro* realizados 90% do RSV é libertado em 90 minutos, concluindo-se que esta técnica favorece a biodisponibilidade do RSV. [27][29][30]
- Sistemas de transferência através de nanotransportadores (*nanocarrier delivery system*):
 - Ciclodextrinas: Estudos recentes têm demonstrado que as ciclodextrinas podem ser utilizadas como agentes de

complexação do RSV com o objectivo de aumentar a concentração total de RSV em solução aquosa, mantendo as propriedades biológicas. Além disso, estas partículas têm exibido aumentar a solubilidade e estabilidade do RSV contido na matriz juntamente com uma boa capacidade de encapsulação. Observou-se ainda um atraso na oxidação e fotodegradação devido à forte retenção do RSV na cavidade interna da ciclodextrina. [31][32]

- Nanopartículas poliméricas: apenas permitem um teor de incorporação de RSV 20%, sendo a eficácia de encapsulação de 90%. O uptake celular das nanopartículas poliméricas é realizado através de endocitose, reforçando a penetração do fármaco nas células e aumentando a sua eficácia terapêutica. [33][34]
- Lipossomas: são óptimos no aprovisionamento e transporte de compostos activos, permitindo incorporar o composto lipofílico entre a bicamada membrana. [35-38] Como vantagens é capaz de proteger, aumentar a eficácia e transporte do RSV. O RSV foi incorporado nos lipossomas em cerca de 70%, demonstrando uma boa capacidade de encapsulação. A estabilidade e quantidade de RSV presentes na formulação foram também testadas, após 60 dias de conservação a 4°C, não tendo sido detectadas alterações. [39]
- Solid lipid nanoparticles (SLN): apresentam como vantagens a protecção contra a oxidação, aumentando a estabilidade da formulação; capacidade reforçar o transporte do RSV até aos alvos intracelulares; não provocar alterações significativas na morfologia, metabolismo e ciclo celular devido tamanho reduzido que apresentam (< 180nm). [40-42]

Para a comparação destas diferentes estratégias de veiculação torna-se necessário comprar os parâmetros de caracterização dos diferentes transportadores do RSV relativamente a: composição, morfologia, tamanho da partícula, índice de polidispersidade (relacionado com a distribuição do tamanho da partícula), potencial zeta (relacionado com a carga de superfície) e eficácia de encapsulação. (Tabela 2)

Tabela 2 - Propriedades dos diferentes transportadores de RSV. (Adaptado de: A. R. Neves, M. Lúcio, J. L. Lima and S. Reis, "Resveratrol in Medicinal Chemistry: a Critical Review of its Pharmacokinetics, Drug-Delivery, and Membrane Interactions," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 19, n° 11, pp. 1663-1681, 2012)

Tipo de Partícula	Composição	Morfologia	Tamanho (nm)	Índice de Polidispersidade	Potencial Zeta (mV)	Eficácia de Encapsulação (%)	Referência
Lipossomas	P90G, DCP, CHOL; PC; DPPC, EPC, PEG, CHOL	Vesículas esféricas oligolamelares	<100	0,1 – 0,2	≈ -40	50-80	[39] [43]
Nanopartículas Poliméricas	mPEG-PCL	Forma esférica, superfície lisa	<100	≈ 0.1	-5.5 a -6.5	≈90	[33] [34]
“Solid Lipid Nanoparticles”	Compritol, fosfolipona, Lutrol	Esférica	≈200	≈ 0.3	≈ -38	≈60	[44]
Ciclodextrinas	β-ciclodextrina, carbonildiimidazole	Forma esférica regular, estrutura altamente porosa	400-500	≈ 0.2	-16 a -20	30-40	[31]
Células de levedura	<i>S. cerevisiae</i>	Microrganismo unicelular eucariota	3-4x10 ⁻³	n.d.	n.d.	≈19	[28]

Nota: n.d. – não definido; P90G – fosfolipona 90G; DCP – dicetilo fosfato; CHOL – colesterol; DPPC – dipalmitilfosfatidilcolina; EPC – fosfatidilcolina de ovo; PEG – polietilenoglicol; mPEG-PCL – metoxi polietilenoglicol-policaprolactona; PC – fosfatidilcolina; DVB – divinilbenzeno; AN – acrilonitrilo; BPO – peróxido de benzoilo; CDD – 1-clorododecano; PVA – álcool polivinílico.

3. Propriedades Biológicas

3.1. Propriedades Anti-oxidantes

Nas últimas décadas têm sido realizado inúmeros estudos para compreender melhor o papel dos radicais livres no desenvolvimento de processos fisiopatológicos como a aterosclerose, inflamação, envelhecimento, cancro, acidente vascular cerebral (AVC), doença de Alzheimer, doença de Parkinson, entre outras. Deste modo, o nosso organismo possui mecanismos que mantêm o equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas anti-oxidantes. Quando este equilíbrio é perturbado e ocorre um excesso de produção de radicais livres, o organismo encontra-se sob *stress* oxidativo, podendo o excesso de radicais livres provocar danos nas macromoléculas: lípidos, hidratos de carbono e proteínas (ácidos nucleicos). [45] A curto prazo o *stress* oxidativo gera um aumento das enzimas produtoras de radicais livres, alterações na fosforilação oxidativa da cadeia transportadora de electrões, libertação de iões de ferro ou cobre e activação de fagócitos, conduzindo alterações fisiopatológicas como isquemia, síndrome de dificuldade respiratória no adulto, artrite, entre outros. A longo prazo, é responsável por causar doenças cardiovasculares uma vez que ocorre a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), contribuindo para o processo de aterogénese. [46]

De acordo com as propriedades estudadas, o RSV actua não só como anti-oxidante mas também como sequestrador de radicais livres, impedindo que se gere um estado de *stress* oxidativo. A sua capacidade anti-oxidante depende das propriedades redox dos grupos fenólicos e do potencial de deslocalização de electrões ao longo da estrutura química. Os mecanismos envolvidos, que lhe conferem propriedades anti-oxidantes, são a sua capacidade de:

- Competir com a coenzima Q10, diminuindo a actividade da cadeia oxidativa e, conseqüentemente, a produção de ERO (espécies reactivas de oxigénio);
- Sequestrar, efectivamente, os radicais $O_2^{\bullet-}$, $^{\bullet}OH$, produzidos pelas mitocôndrias;
- Sequestrar efectivamente a formação de radicais induzidos pelos metais;
- Inibição da peroxidação lipídica induzida pelos produtos da reacção de Fenton;

-
- The diagram illustrates the antioxidant activity of Resveratrol in the context of oxidative stress and lipid peroxidation. It shows the following components and pathways:
- Oxidative Stimuli:** Oxidative stimuli lead to the activation of PKC, which in turn activates NADPH oxidase.
 - NADPH Oxidase Pathway:** NADPH oxidase converts NADP to NADPH, which then reacts with O₂ to produce superoxide (O₂⁻).
 - Superoxide and Peroxide Formation:** Superoxide (O₂⁻) can be converted to hydrogen peroxide (H₂O₂) by Cu/Zn-SOD. Alternatively, superoxide can react with another superoxide molecule to form peroxide (O₂²⁻).
 - Resveratrol's Role in Superoxide Scavenging:** Resveratrol acts as a scavenger of superoxide (O₂⁻).
 - Hydrogen Peroxide Scavenging:** Hydrogen peroxide (H₂O₂) is scavenged by Mn-SOD (located in the mitochondria), Cu/Zn-SOD, and Catalase. Catalase converts H₂O₂ into H₂O and O₂.
 - Lipid Peroxidation Pathway:**
 - Initiation:** RH (PUFA) is converted to R• (radical) by Fe²⁺/Cu⁺. Resveratrol inhibits this process (-).
 - Propagation:** R• reacts with O₂ to form R-OO• (peroxy radical). R-OO• reacts with RH to form R-OOH and R•, continuing the cycle. Resveratrol inhibits this process (-).
 - Termination:** R-OO• can be converted to R-OOH by a scavenger like GSH-px-PUFA-H. Resveratrol also inhibits this process (-).
 - Ending:** R-OO• can be converted to R-O• (alkoxyl radical) by a scavenger like GSH-px-PUFA-H. Resveratrol also inhibits this process (-).
 - Other Pathways:**
 - MPO (Myeloperoxidase) converts H₂O₂ and Cl⁻ into HOCl.
 - Resveratrol inhibits MPO (-).
 - Resveratrol also scavenges HOCl.
 - Resveratrol scavenges NO and ONOO⁻.

Porém, como todos os anti-oxidantes são agentes redox, estes podem transformar-se em agentes oxidantes sob determinadas condições, como é o caso do RSV. Estudos têm demonstrado que em baixas concentrações, sob determinadas condições, possui actividade pro-oxidante acelerando a peroxidação lipídica e induzindo danos no ácido desoxirribonucleico (ADN). [48][49] Estas propriedades tornam-se importantes para compreender a sua utilização como agente anti-cancerígeno. [50][51]

Título	Objetivo	Resultados	Referência
An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of <i>Polygonum cuspidatum</i> containing resveratrol	Avaliar a capacidade de intervenção do RSV no <i>stress</i> oxidativo e na inflamação.	Observou-se uma redução significativa na produção de ERO, pois verificou-se uma diminuição na expressão de P47 (phox), NFkB, JNK-1, PTP-1B, SOCS-3 em células mononucleares, quando comparado com o placebo e com a linha de base. Também se verificou a supressão das concentrações plasmáticas de TNF- α , IL-6 e proteína C reactiva.	[52]

Tabela 4 – Ensaios clínicos realizados relativos às propriedades anti-oxidantes do RSV.(continuação)

Título	Objectivo	Resultados	Referência
A resveratrol and polyphenol preparation suppresses oxidative and inflammatory stress response to a high-fat, high-carbohydrate meal	Avaliar os efeitos do RSV, no <i>stress</i> oxidativo e inflamação induzidas após uma refeição rica em lípidos e hidratos de carbono	O suplemento contendo RSV e polifenóis de mosqueta suprime o aumento do <i>stress</i> oxidativo; as concentrações de lipopolissacarídeo e “lipoprotein binding protein”; a expressão de TLR-4, CD14, IL-1 β e SOCS-3, em células mononucleares. Estimula também a actividade específica Nrf-2 e induz a expressão de genes relacionados com propriedades anti-oxidantes: NQO-1 e GST-P1.	[53]
Effect of the Intake of Resveratrol, Resveratrol Phosphate, and Catechin-Rich Grape Seed Extract on Markers of Oxidative Stress and Gene Expression in Adult Obese Subjects	Comparação de produtos em estudo sobre o <i>stress</i> oxidativo em indivíduos obesos.	Os microarrays de baixa densidade demonstraram alterações preliminares em alguns genes relacionados com o <i>stress</i> oxidativo, principalmente, os genes afectados pela GCEM e RTP. No entanto, os dados não foram validados por RT-PCR. Os marcadores de <i>stress</i> oxidativo, no soro, foram melhorados, principalmente, pela RTP e GCEM.	[54]
Intake of a resveratrol-containing dietary supplement has no impact on DNA stability in healthy subjects	Efeitos contra os danos oxidativos do ADN e alteração do seu estado redox.	Não foram observados efeitos significativos nos parâmetros de estabilidade do ADN de linfócitos, proteína C reactiva e LDL oxidada, no soro, após 5 dias.	[55]
Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial	Efeitos sobre os marcadores de inflamação e <i>stress</i> oxidativo em fumadores.	Redução significativa das concentrações de proteína C reactiva e triglicerídeos e aumento do <i>status</i> anti-oxidante total. Não se verificaram alterações significativas nos valores de ácido úrico, glicose, insulina, colesterol, concentração de enzimas hepáticas, peso, perímetro da cintura e pressão arterial.	[56]
Resveratrol-procyanidin blend: nutraceutical and antiaging efficacy evaluated in a placebocontrolled, double-blind study	Avaliação sob os efeitos sistémicos e tópicos relacionados com alterações da idade no que respeita à pele, <i>pool</i> anti-oxidante e níveis de <i>stress</i> oxidativo sistémico.	Aumento significativo do <i>stress</i> oxidativo sistémico, da capacidade anti-oxidante plasmática e do poder anti-oxidante da pele. A hidratação e elasticidade da pele foram melhoradas e, a aspereza da pele e profundidade das rugas, diminuiu. A intensidade das manchas relacionadas com idade, também, diminuiu significativamente.	[57]
An Open Label Clinical Pilot Study of Resveratrol as Treatment for Friedreich Ataxia	Avaliação do efeito do RSV nos marcadores de <i>stress</i> oxidativo, parâmetros clínicos de ataxia, cardíacos e nos níveis de frataxina em indivíduos com ataxia de Friedreich.	A utilização de doses elevadas de RSV poderá ser utilizada como uma terapia modificadora da ataxia de friedreich. Um estudo controlado por placebo, é necessário para avaliar melhor os seus benefícios.	[58]
Effect of Resveratrol on Insulin Resistance and Inflammatory Mediators in Obese and Type 2 Diabetic Subjects	Avaliação do efeito do RSV na diminuição das espécies reactivas de oxigénio e sua formação, do factor nuclear de transcrição pró-inflamatório (NF-kB) e mediadores inflamatórios que regula.	A decorrer	[59]
Evaluate the Effects of resVidaTM on Liver Fat Content, Body Fat Distribution and Insulin Sensitivity	Investigação do efeito anti-oxidante do RSV sob o conteúdo de gordura no fígado, composição corporal e sensibilidade à insulina.	A decorrer	[60]

3.2. Propriedades Anti-inflamatórias

As propriedades anti-inflamatórias do RSV têm sido largamente estudadas, observando-se que ocorre uma redução dos níveis de marcadores inflamatórios (quimiocinas e citocinas). Inúmeros estudos têm demonstrado que o RSV tem capacidade de actuar nos processos inflamatórios através das suas propriedades anti-oxidantes, pois ao combater o *stress* oxidativo irá atenuar a inflamação subjacente, causada pela activação de proteínas quinases (JNK, p38, ERK) que aumentam a actividade de factores de transcrição relacionados com a inflamação. Este tem ainda capacidade de inibir a expressão da proteína C reactiva e as enzimas prostaglandina H sintetase (PHS), ciclooxigenases (COX) e lipooxigenases (LOX), as quais actuam na síntese de eicosanóides a partir do ácido araquidónico. [61] A PHS e COX (COX-1 e COX-2) são enzimas responsáveis pela biossíntese de prostaglandinas (vasodilatação, sensibilização à dor, febre, protecção gástrica e renal) e tromboxanos (broncoconstrição e agregação plaquetária) enquanto que as LOX são responsáveis pela síntese de leucotrienos (quimiotaxia dos neutrófilos, aumento da permeabilidade vascular, alergias). O RSV minimiza ainda a actividade do factor de transcrição AP-1, importante para activação das células imunitárias através da produção de citoquinas e quimiocinas; diminui a actividade do factor de transcrição NF-κB, que controla vários genes envolvidos no processo de inflamação; e inibe a expressão de IL-6, iNOS, ICAM-1 e VCAM-1 em células endoteliais da artéria coronária. Ao inibir a actividade dos factores de transcrição AP-1 e NF-κB, o RSV, irá também diminuir a actividade de transcrição e expressão da enzima COX-2, enzima responsável pela síntese de moléculas pró-inflamatórias. [61][62]

Tabela 5 – Ensaio clínico realizados relativos às propriedades anti-inflamatórias do RSV.

Título	Objectivo	Resultados	Referência
An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of <i>Polygonum cuspidatum</i> containing resveratrol	Avaliar a capacidade de intervenção do RSV no <i>stress</i> oxidativo e na inflamação.	Observou-se uma redução significativa na produção de ERO, pois verificou-se uma diminuição na expressão de P47 (phox), NFκB, JNK-1, PTP-1B, SOCS-3 em células mononucleares, quando comparado com o placebo e com a linha de base. Também se verificou a supressão das concentrações plasmáticas de TNF-α, IL-6 e proteína C reactiva.	[52]
A resveratrol and polyphenol preparation suppresses oxidative and inflammatory stress response to a high-fat, high-carbohydrate meal	Avaliar os efeitos do RSV, no <i>stress</i> oxidativo e inflamação induzidas após uma refeição rica em lípidos e hidratos de carbono	O suplemento contendo RSV e polifenóis de mosqueta suprime o aumento do <i>stress</i> oxidativo; as concentrações de lipopolissacarídeo e “lipoprotein binding protein”, a expressão de TLR-4, CD14, IL-1β e SOCS-3, em células mononucleares Estimula também a actividade específica Nrf-2 e induz a expressão de genes relacionados com propriedades anti-oxidantes: NQO-1 e GST-P1.	[53]

Tabela 6 – Ensaios clínicos realizados relativos às propriedades anti-inflamatórias do RSV.

(Continuação)

Título	Objectivo	Resultados	Referência
Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial	Efeitos sobre os marcadores de inflamação e <i>stress</i> oxidativo em fumadores.	Redução significativa das concentrações de proteína C reactiva e triglicerídeos e aumento do status anti-oxidante total. Não se verificaram alterações significativas nos valores de ácido úrico, glicose, insulina, colesterol, concentração de enzimas hepáticas, peso, perímetro da cintura e pressão arterial.	[56]
One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease	Avaliação da inflamação e estado fibrinolítico em indivíduos com elevado risco de doença cardiovascular, tratados de acordo com as directrizes actuais para prevenção primária de doenças cardiovasculares.	Observou-se uma diminuição da proteína C reactiva (-26%), TNF α (-19,8%), PAI-1 (-16,8%) e da proporção IL-6/IL-10 (-24%). Verificou-se um aumento de IL-10 (19,8%) e não foram detectadas interações medicamentosas. Nenhum efeito adverso sobre o perfil hematológico, hepático, tiróideo e função renal, foram observados.	[63]
Grape Resveratrol Increases Serum Adiponectin and Downregulates Inflammatory Genes in Peripheral Blood Mononuclear Cells: A Triple-Blind, Placebo-Controlled, One-Year Clinical Trial in Patients with Stable Coronary Artery Disease	Avaliação dos efeitos anti-inflamatórios e anti-fibrinolíticos	No grupo que foi administrado o extracto de uva rico em RSV observou-se um aumento dos níveis de adiponectina (10%), uma diminuição do PAI-1 e uma expressão negativa de genes pró-inflamatórios. Não se observaram interações medicamentosas nem efeitos adversos sob o perfil hematológico, hepático, tiróideo e renal.	[64]
Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain	Experiência 1: Efeito sobre a gestão da dor relacionada a endometriose em pacientes que não conseguiram obter o alívio da dor durante o uso de um contraceptivo oral (drospiredone + etinilestradiol) Experiência 2: Efeito sobre a expressão da aromatase e da ciclo-oxigenase-2, no endométrio.	Observou-se uma diminuição significativa da dor (82% dos pacientes relatam a resolução completa da dismenorreia e dor pélvica após 2 meses de uso). A inibição da expressão de aromatase e COX-2 foram significativamente maiores no endométrio de pacientes que tomam o RSV do que naqueles que tomam contraceptivos orais.	[65]
Longterm investigation of resveratrol on management of metabolic syndrome osteoporosis, inflammation, and identification of plant derived anti-inflammatory compounds	Avaliação do potencial efeito metabólico do RSV em indivíduos com síndrome metabólica.	Estudo terminado	[66]
Long-term Investigation of Resveratrol on Management of Metabolic Syndrome, Osteoporosis and Inflammation, and Identification of Plant Derived Anti-inflammatory Compounds, Study 3	Estudos dos efeitos na esteatose hepática e inflamação.	A decorrer	[67]
Effect of Resveratrol on Age-related Insulin Resistance and Inflammation in Humans	Estudo dos efeitos do RSV sobre a resposta do organismo à insulina, na inflamação, em células e processos específicos no tecido adiposo, sobre o metabolismo do músculo-esquelético e sobre o funcionamento do cérebro.	A decorrer	[68]

Tabela 7 – Ensaios clínicos realizados relativos às propriedades anti-inflamatórias do RSV.
(Continuação)

Título	Objectivo	Resultados	Referência
Effect of Resveratrol on Insulin Resistance and Inflammatory Mediators in Obese and Type 2 Diabetic Subjects	Avaliação do efeito do RSV na diminuição das espécies reactivas de oxigénio e sua formação, no factor nuclear de transcrição pró-inflamatório (NF- κ B) e nos mediadores inflamatórios que regula.	A decorrer	[59]
Resveratrol in Type2 Diabetes and Obesity	Estudo do efeito do RSV sobre mediadores inflamatórios e resistência à insulina a nível celular e molecular, em indivíduos obesos não diabéticos e diabéticos tipo 2 não obesos.	A decorrer	[69]
The Effects of Trans-Resveratrol on Insulin Resistance, Inflammation, and the Metabolic Syndrome: A Placebo Controlled, Double-Blind Study.	Estudo dos efeitos da administração de RSV, em indivíduos com síndrome metabólica. Avaliação da possível diminuição do desenvolvimento de diabetes e problemas cardíacos.	A decorrer	[70]
Effects of Resveratrol on Cardiovascular Risk Markers and Cognitive Performance in Patients With Schizophrenia: a Randomized Clinical Trial	Estudo dos efeitos do RSV no risco cardiovascular (medição dos níveis de citocinas, proteína C reactiva e níveis de colesterol) e no desempenho cognitivo.	A decorrer	[71]

3.3. Propriedades Anti-cancerígenas e Anti-angiogénicas

O RSV é um polifenol com capacidade de actuar em todas as etapas da carcinogénese: iniciação, promoção e progressão, inibindo-as a nível molecular (figura 4).

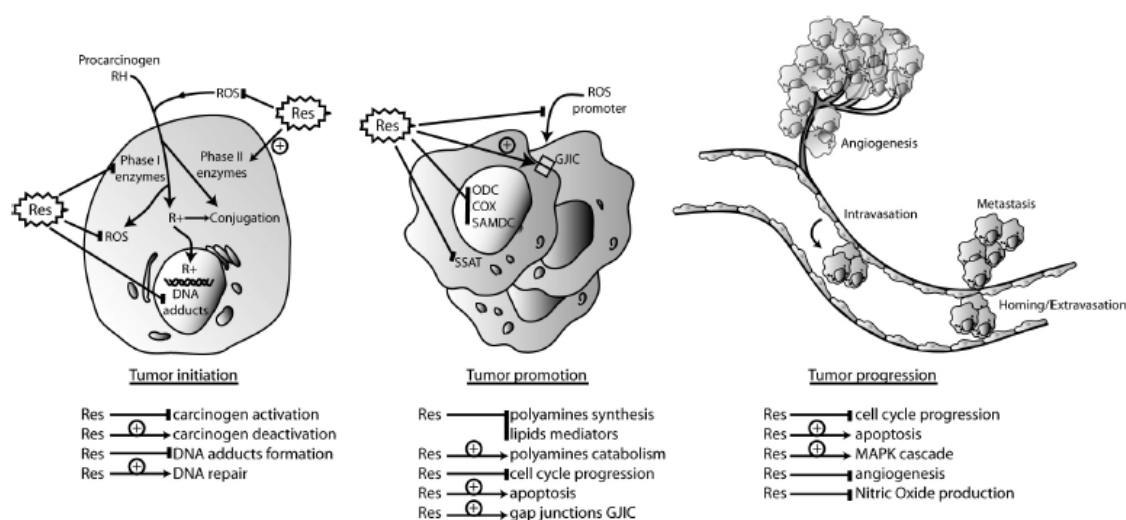


Figura 4 – Efeitos do RSV nas diferentes etapas da carcinogénese. O RSV é capaz de prevenir a fase de iniciação através da inibição da activação do carcinógeno (R+), da indução da inactivação do carcinógeno e posterior bloqueio da interacção entre o ADN e carcinógeno (R+). O RSV pode também bloquear a acção do promotor do tumor e actuar sobre a progressão do tumor, através da inibição da angiogénese e da formação de metástases. [62]

A etapa de iniciação ocorre quando há uma alteração no material genético (mutação) de uma célula normal, por acção de um agente carcinogénico ou por um defeito genético inerente à própria célula. Após a ocorrência da mutação, a célula não consegue reparar o dano e a mutação torna-se irreversível, originando uma célula iniciada. Esta tem capacidade de crescer autonomamente e transmitir a mutação às suas células filhas, iniciando-se assim o processo de carcinogénese. [72]

Nesta etapa, o RSV tem a capacidade de actuar através da supressão da activação metabólica de agentes carcinogénicos e/ou do aumento da destoxificação através da modulação da actividade de enzimas envolvidas em reacções de fase I (compostos lipofílicos são transformados em carcinogénicos eletrofílicos) e de fase II (convertem os metabolitos primários em compostos mais hidrossolúveis). Assim, é capaz de inibir as enzimas de fase I, reduzindo a indução da formação de aductos de ADN por vários agentes químicos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e nitrosaminas, que necessitam de ser metabolicamente activados para se tornarem agentes carcinogénicos activos. Um exemplo desta situação é a diminuição do número de aductos de ADN induzidos pelo benzopireno nas células epiteliais dos brônquios na presença de RSV. [73-76] Em relação às enzimas de fase II, o RSV irá induzir a actividade das enzimas GST, NAD(P)H:quinona oxiredutase, GPX e glutatião redutase e, consequentemente, reduzir as lesões no ADN. [77-79] Este actua ainda como sequestrador de ERO (responsáveis pela activação de procarcinocinogénicos, lesões no ADN e peroxidação lipídica das membranas celulares), estimula a reparação do ADN lesado através do aumento a actividade do gene p53 e acelera essa reparação. [80]

Na etapa da promoção um agente promotor provoca a expansão clonal da célula iniciada, selectivamente. [81] Nesta situação, o RSV actua na prevenção do cancro através da inibição da activação de proteínas quinases, por vários promotores, via *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) [82-86]; da inibição da síntese de poliaminas, diminuindo o crescimento celular e aumentando a apoptose [87][88]; da inibição da libertação de mediadores lipídicos pro-inflamatórios sintetizados pelas enzimas fosfolipase A₂, PHS, COX e LOX [89-91]; da perturbação da progressão do ciclo celular (G₁, S, G₂/M) conseguida através de interacções estabelecidas entre o RSV e reguladores chave da maquinaria do ciclo celular, activando ou inibindo ciclinas, cdks, factores de transcrição ou oncoproteínas; da indução de morte celular pela via mitocondrial uma vez que provoca *down-regulation* da expressão das proteínas Bcl-2, IAP e induz um aumento dos níveis de Bax/Bak e a sua realocização para as

mitocôndrias. Além disso, o RSV induz a agregação de receptores de morte celular no microdomínio lipídico, induzindo a formação de um complexo de sinalização indutor de morte que por sua vez conduz à activação da cascata das caspases, resultando também em morte celular. [62]

Na etapa de progressão ocorre a expansão de uma população de células iniciadas que, posteriormente, são convertidas em células malignas, conduzindo à formação do cancro. [81] Nesta etapa, a progressão do cancro é, certamente, demasiado avançada para uma intervenção preventiva mas não para uma intervenção terapêutica. Portanto, o RSV poderá também actuar como um agente terapêutico dado que, como descrito anteriormente, possui propriedades anti-proliferativas, bloqueando a progressão do ciclo celular e induzindo a apoptose. Este possui ainda capacidade de inibir a produção de óxido nítrico, responsável por promover o crescimento de tumores endoteliais e a formação de metástases [92][93] e inibe a angiogénese através diminuição da expressão de genes que afectam a invasão tumoral e metástases (COX, ornitina descarboxilase, espermidina / espermina N-acetiltransferase). [94][95]

Actua ainda na angiogénese, através da inibição da acção das metaloproteinases necessárias para degradar a matriz extracelular das células, impedindo a invasão e metastização de células tumorais primárias [96-98]. Activa também a cascata das quinases, via MAPK, que irá provocar a estabilização, *up-regulation* e activação funcional do gene p53. [99]

O RSV pode ainda ser utilizado como um adjuvante para a aumentar a sensibilização das células cancerígenas à quimioterapia e radioterapia. Evidências recentes sugerem que o RSV administrado em combinação com outros fármacos, radiação ionizante ou citocinas, permite a sensibilização das células à apoptose. Relativamente aos fármacos utilizados na terapia oncológica foi demonstrado que exerce uma relação sinérgica com a ciclosporina A e uma amplificação dos efeitos anti-proliferativos e pró-apoptóticos do paclitaxel e 5-fluoruracilo. [100-102] Em relação à radiação ionizante, demonstrou-se que o pré-tratamento de células tumorais cervicais com RSV bloqueia o ciclo celular, altera a progressão do ciclo na fase S e a resposta citotóxica à radiação ionizante. Porém esta situação só se verifica com elevadas concentrações de RSV, sendo os efeitos observados dose-dependente. [103][104] Por último, em relação às citocinas, o RSV tem a capacidade de sensibilizar as células cancerígenas para o TNF (tumor necrosis factor), anticorpos anti-CD95 e para o TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand), activando a apoptose pela via

das caspases. Pensa-se que para se observar este efeito sensibilizante é fundamental a indução da redistribuição dos receptores de morte celular nos *rafts* lipídicos uma vez que o uso de nistatina (agente sequestrador de colesterol) impede a morte celular induzida pelo RSV. [105][106]

Tabela 8 – Ensaios clínicos realizados relativos às propriedades anti-cancerígenas do RSV.

Título	Objectivo	Resultados	Referência
Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer	Deteção de mudanças na via Wnt em tecidos normais e no cancro do cólon após cirurgia.	Com base na expressão dum painel de genes alvo de Wnt, o RSV / uva em pó, não inibiu a via Wnt no cancro do cólon. Porém tinha uma actividade significativa ($p < 0,03$) na inibição da expressão do gene alvo de Wnt nas células da mucosa do cólon normal. O maior efeito na expressão do gene alvo de Wnt foi observado após a ingestão de 80 g de uva em pó por dia ($p < 0,001$).	[107]
Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients	Deteção de RES e seus metabolitos no tecido colon rectal e seus efeitos sobre marcador de proliferação Ki-67.	Os níveis de Ki-67 foram reduzidos em 5%, nas células cancerígenas, e 7% em tecido normal.	[108]
Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases-safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics.	Avaliação da farmacocinética do RSV, sua disposição nos tecidos e seus efeitos na apoptose através da análise do marcador: caspase-3.	Detectou-se RES no tecido hepático. Observou-se também um aumento de 39% no teor de caspase-3 clivada neste tecido. O RES foi bem tolerado.	[109]
A phase 2 study of SRT501 (resveratrol) with bortezomib for patients with relapsed and or refractory multiple myeloma	Avaliação do efeito da toma de RSV (SRT501), na presença ou ausência de bortezomib, no tratamento do mieloma múltiplo em pacientes com recidiva ou refractários a pelo menos um tratamento anterior.	Demonstrou-se um perfil de segurança inaceitável e eficácia mínima em pacientes com mieloma múltiplo recidivo / refractário, destacando os riscos do desenvolvimento de novos medicamentos em tais populações.	[110]
Trans-Resveratrol Alters Mammary Promoter Hypermethylation in Women at Increased Risk for Breast Cancer	Avaliação do efeito do RSV sobre a metilação do DNA e prostaglandina E2.	Nenhum efeito significativo foi encontrado nos quatro genes estudados (RASSF-1, APC, CCND2 e p16). Foi encontrada uma correlação entre a diminuição de RASSF-1 metilado e a concentração plasmática de RES.	[111]
Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study	Determinação do efeito de doses farmacológicas de RSV em enzimas metabolizadoras de fármacos e carcinogénicos.	O RSV modula os sistemas enzimáticos envolvidos na activação de agentes cancerígenos e na destoxificação. Este poderá ser um mecanismo pelo qual o RSV inibe a carcinogénese.	[112]
A Biological Study of Resveratrol's Effects on Notch-1 Signaling in Subjects With Low Grade Gastrointestinal Tumors	Avaliação dos efeitos do RSV na activação Notch1 em pacientes com tumores neuroendócrinos gastrointestinais de baixa intensidade.	A decorrer	[113]

3.4. Propriedades Anti-virais

O RSV actua sob o processo de infecção viral numa grande variedade de família de vírus. Este interfere com as vias celulares de infecção, não actuando directamente contra o vírus.

O RSV é activo contra vírus da família *herpesviridae*, em particular: o *Vírus herpes simplex* tipo 1 (HSV-1) e tipo 2 (HSV-2) [114]. O primeiro estudo publicado demonstrou que o RSV tem capacidade de inibir a replicação do vírus HSV-1 após a entrada do mesmo na célula, não actuando directamente na cápside viral ou na sua ligação com a membrana celular. [115] Este possui ainda propriedades protectoras *in vivo* contra a infecção por HSV-1 e HSV-2. Em relação a outros vírus da família como *Vírus zoster da varicela* (VZV) e *Cytomegalovirus humano* (HCMV), o RSV inibe a sua replicação de forma dose-dependente, nas fases mais precoces, sugerindo que tem a capacidade de bloquear a expressão de proteínas virais essenciais. A indução precoce do antígeno do *Vírus de epstein-barr* (EBV), num ensaio *in vitro*, é também profundamente inibida pelo RSV. Relativamente à família dos retrovírus, a acção do RSV contra o *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV) foi também estudada observando-se que este ao prolongar o tempo de permanência das células infectadas na fase S, aumenta a eficácia dos fármacos anti-retrovirais e é ainda capaz de induzir o ciclo lítico do vírus, fornecendo uma forma de eliminar o reservatório do vírus. O *Vírus influenza* é também inibido de forma dose-dependente. [114]

Tabela 9 – Modulação da replicação viral através do RSV.

Vírus	Efeitos observados	Mecanismo de Acção	Referência
HSV-1 e HSV-2	Inibição da replicação viral <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Supressão da activação da via NF- κ B	[115-118]
VZV	Inibição da replicação <i>in vitro</i>	n.d.	[119]
HCMV	Inibição da replicação <i>in vitro</i>	A inibição da activação do receptor do factor de crescimento epidérmico (EGFR) induzido pelo vírus	[120]
EBV	Inibição da indução precoce da produção do antígeno do EBV, <i>in vitro</i>	Inibição da expressão de genes líticos e da produção de proteínas virais	[121] [122]
HIV-1	(a) Activação do ciclo lítico <i>in vitro</i> ; (b) Inibição da replicação quando utilizado em sinergia com análogos nucleósidos, <i>in vitro</i> ; (c) Atenuação da transactivação do Tat-induzido.	n.d.	[123-126]
Vírus influenza A	Inibição da replicação <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Inibição da actividade da proteína quinase C	[127]

Nota: n.d. – não definido

3.5. Propriedades Anti-bacterianas

A terapêutica anti-bacteriana é uma ferramenta poderosa no tratamento de doenças infecciosas, porém o aumento da resistência dos microrganismos aos fármacos anti-bacterianos têm vindo a aumentar, surgindo a necessidade de pesquisar novas moléculas com actividade terapêutica. Dado que o RSV é uma fitoalexina, intervindo na

defesa das plantas contra microrganismos, tem-se vindo a estudar o seu potencial como agente anti-bacteriano. Deste modo, verificou-se que o RSV possui propriedades bacteriostáticas, principalmente, contra bactérias gram positivas possivelmente devido às características da parede celular destes microrganismos. [128] O RSV é activo contra: *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e *Propionibacterium acnes*.

Em relação às concentrações inibitórias de 100% (IC_{100%}) para *Neisseria gonorrhoeae* e *Neisseria meningitidis* (cocos gram negativo), estas são 75 e 125µg/mL, respectivamente, sendo o mecanismo inibitório ainda desconhecido. [129] No que respeita a *Helicobacter pylori*, é uma bactéria que infecta a mucosa do estômago e do duodeno causando gastrites, úlceras pépticas e, nalgumas situações, cancro gástrico. O seu crescimento é também inibido pelo RSV, sendo a concentração inibitória mínima, de 50% e 90% (CIM₅₀ e CIM₉₀), 12,5 e 25 µg/mL, respectivamente. O controlo positivo deste ensaio *in vitro* foi a amoxicilina com uma CIM entre 0,002-0,06 µg/mL. [130] De acordo com Chang, o crescimento de *Staphylococcus aureus* (gram positivo), *Enterococcus faecalis* (gram positivo) e *Pseudomonas aeruginosa* (gram negativo) é também inibido pela solução de RSV em DMSO, numa gama de concentrações entre 171-342 µg/mL. *S. aureus*, *E. faecalis* são responsáveis por causar foliculite, celulite, impetigo e furúnculos e *P. aeruginosa* é responsável pela infecção de feridas com queimaduras, estando ambas as bactérias envolvidas na infecção de úlceras do pé diabético e poderão surgir em ambiente hospitalar. Assim, a utilização do RSV nestas condições cutâneas poderá assumir importância nomeadamente na protecção ou eventual tratamento de infecções causadas por estes microrganismos. [131] Em relação a *Proteus mirabilis*, é uma bactéria patogénica que infecta trato urinário, sendo o seu crescimento totalmente inibido pelo RSV na concentração de 60 µg/mL. [132] Por último, *Propionibacterium acnes* está presente na acne vulgaris, Esta caracteriza-se por uma reacção inflamatória resultante da infecção cutânea por *P. acnes*. Assim sendo, como o RSV possui propriedades anti-inflamatórias e bactericidas, em elevadas doses, sobre três estirpes deste microrganismo (IC₁₀₀=187mg/L) e elevada biodisponibilidade cutânea, este poderá ser utilizado com benefício em indivíduos que sofrem desta patologia. [133]

É ainda de acrescentar que de acordo com Docherty *et al.* [129], o RSV não apresenta propriedades inibitórias do crescimento de *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* na concentração máxima testada, 200mg/L.

3.6. Propriedades Anti-fúngicas

Como previamente referido, o RSV pertence ao grupo das fitoalexinas protegendo a célula dos ataques microbiológicos. Do mesmo modo que é responsável pela protecção da planta contra as bactérias, também a protege de fungos, apresentando propriedades anti-fúngicas. De acordo com o estudo publicado por Chan [131], foi testada a hipótese do RSV possuir actividade anti-fúngica sobre os fungos: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* e *Mycrosporium gypseum* e agentes etiológicos das micoses cutâneas: *tinea pedis* (“pé de atleta”), *tinea corporis* (afecta a zona do tronco) e *tinea cruris* (afecta a zona das virilhas). Deste estudo concluiu-se que o RSV inibiu o crescimento de todas estas espécies de dermatófitos numa gama de concentrações entre 25-50µg/mL. Em relação ao mecanismo envolvido, este ainda não foi identificado, porém pensa-se que da mesma forma que o RSV é capaz de inibir o crescimento de *Botrytis cinérea*, um bolor cinzento que infecta as videiras, é também capaz de inibir o crescimento destes fungos. O mecanismo de acção proposto consiste na interacção do RSV com a funcionalidade das proteínas membranares do fungo, em especial as das mitocôndrias. Desta interacção, resulta uma diminuição da captação do oxigénio pelas células e, conseqüentemente, as membranas nucleares e mitocondriais são primeiramente afectadas, seguidas da desorganização dos organelos e ruptura das membranas celulares. É ainda de acrescentar que esta capacidade de inibição do crescimento fúngico é reforçada pelo solvente utilizado no estudo (DMSO) que por si só já possui propriedades anti-fúngicas, podendo ambos actuar sinergicamente.

4. Envelhecimento

O envelhecimento é um processo biológico inevitável, caracterizado por um declínio geral das funções fisiológicas, onde ocorre um contrabalanço entre a correcção de erros e os factores de manutenção da longevidade do organismo. Assim, o envelhecimento é um fenómeno multifactorial associado à diminuição das funções fisiológicas e celulares, ao aumento da incidência de doenças degenerativas e à diminuição da capacidade de resposta ao *stress*.

4.1. Envelhecimento biológico

Quando se aborda o tema do envelhecimento, o envelhecimento do sistema cardiovascular assume um papel notável, ocorrendo um aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares como a aterosclerose, hipertensão, enfarte agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral à medida que a idade aumenta. A modificação da estrutura das fibras elásticas e de colagénio das paredes dos vasos sanguíneos leva à perda de elasticidade. A deposição de cálcio, lípidos e colagénio, origina a formação de placas nas paredes dos vasos sanguíneos, originando aterosclerose. Todas estas alterações conduzem ainda uma diminuição da irrigação dos tecidos e a uma maior susceptibilidade a bloqueios e rupturas. Sempre que o tema do envelhecimento cardiovascular é abordado, é necessário relembrar que o *stress* oxidativo associado ao aumento da idade poderá provocar inflamação vascular mesmo na ausência de factores de risco uma vez que está bem definido que esta associação acelera a incidência de doença coronária arterial e enfarte agudo do miocárdio, em indivíduos idosos. Há abundantes dados experimentais que sugerem que o aumento da actividade das NAD(P)H oxidases e a excessiva produção de ERO pelas mitocôndrias são a base do *stress* oxidativo relacionado com a idade, na vasculatura, ao promover a inflamação e danos endoteliais. O envelhecimento dos tecidos cardiovasculares é traduzido patologicamente pelo aparecimento de alterações que incluem: hipertrofia, alteração da função ventricular esquerda diastólica, aumento da rigidez arterial e alteração da função endotelial. Contudo o envelhecimento cardíaco e arterial não ocorrem independentemente, ambos estão relacionados e influenciam-se. [134] [135]

Relativamente ao envelhecimento do sistema nervoso, o tamanho e peso do encéfalo diminuem com o aumento da idade. Há perda de neurónios cerebrais e os neurónios restantes perdem a capacidade de compensar grande parte desta perda e sofrem alterações estruturais. A membrana celular neuronal torna-se mais rígida, o

retículo endoplasmático adquire uma estrutura mais irregular, nas células desenvolvem-se emaranhados de neurofibrilhas e formam-se placas amilóides nas sinapses, conduzindo a uma diminuição da capacidade funcional os neurónios. Assim, as alterações da função encefálica conduzem à diminuição do movimento voluntário, das sensações conscientes, dos reflexos, da memória e do sono. O envelhecimento neurológico contribui ainda para o aumento do risco de aparecimento de doenças neurodegenerativas como p. ex. a doença de Alzheimer, Parkinson e Esclerose Lateral Amiotrófica. No caso da doença de Alzheimer, a acumulação de danos no ADN dos neurónios do hipocampo e neocortéx é causada pelas ERO produzidas durante a respiração mitocondrial e pelo deficiente sistema de enzimas de reparo do organismo envelhecido. As ERO produzidas por sua vez vão conduzir à acumulação de danos nas biomoléculas, à amplificação da produção de ERO, formação de agregados proteicos e indução da resposta neuro-inflamatória crónica. Através dos danos nas biomoléculas poderão ocorrer mutações, com perda de função, do gene da presilina 1, levando formação de placas senis e défices de memória; e acumulação do péptido β -amilóide causador de disfunções sinápticas e aumento da resposta neuro-inflamatória. A produção de citocinas em excesso é neurotóxica, estimula a síntese do péptido β -amilóide e a formação de agregados proteicos, favoráveis ao desenvolvimento da doença de Alzheimer. Deste modo, a presença de agregados de neurofibrilhas e placas extracelulares β -amilóides nas zonas do hipocampo e cortéx, importantes para degradação da memória e aprendizagem, são características da doença de Alzheimer. [134][136]

Em suma, o *stress* oxidativo e a quantidade de biomoléculas alteradas aumentam ao longo do envelhecimento do sistema nervoso central. Contudo, as mutações genéticas podem amplificar esses processos e conduzir ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. [136]

Em relação às alterações mais significativas decorrentes do envelhecimento do sistema esquelético, estas estão relacionadas com a idade e afectam a qualidade e quantidade da matriz óssea. Com o envelhecimento a matriz óssea torna-se mais rica em minerais, quebradiça e pobre em colagénio devido à diminuição da sua produção. A quantidade de matriz óssea também diminui devido à diminuição da taxa de formação da matriz pelos osteoblastos, que se torna mais lenta que a taxa de destruição pelos osteoclastos. Os ossos tornam-se mais finos mas a sua dimensão exterior pouco se altera uma vez que a maior perda de osso ocorre nas superfícies interiores. Além disso, o osso

compacto remanescente torna-se mais fraco devido à remodelação óssea incompleta. Em consequência destes processos, irão ocorrer deformidades, diminuição da estatura, rigidez e poderá ocorrer um aumento do risco de fracturas. Um exemplo desta situação é a perda de tabéculas que aumenta muito o risco de fracturas de compressão nas vértebras. [134]

Em suma, inúmeros são os processos que ocorrem com o aumento da idade responsáveis pelo envelhecimento. Todos os sistemas afectados embora uns de forma mais evidente que outros.

É ainda de acrescentar que todos os outros sistemas não mencionados neste capítulo (p. ex. sistema articular, digestivo, respiratório e urinário) sofrem alterações durante o processo de envelhecimento, porém, não são alvo potenciais da utilização do RSV como uma molécula anti-envelhecimento, não sendo abordados ao longo da dissertação.

4.2. Efeitos do Resveratrol no Envelhecimento Biológico

4.2.1. Efeitos no aumento da esperança de vida

O processo de envelhecimento está, em parte, relacionado com o estilo de vida adquirido e prevenção de doenças. Porém, apenas hoje em dia, se começa a estudar profundamente o papel de genes específicos no prolongamento da longevidade.

A restrição calórica é uma intervenção que promove o aumento da longevidade através da activação de enzimas histonas desacetilases, conhecidas por sirtuínas. Acredita-se que esta baseia-se numa resposta de sobrevivência ao *stress* ambiental ou nutricional, onde ocorrem alterações no metabolismo mitocondrial, aumento da sensibilidade à insulina, diminuição dos níveis do factor de crescimento semelhante à insulina tipo 1, entre outros efeitos. [9][1]

Os polifenóis, como o RSV, exercem uma diversidade de benefícios para a saúde através da activação de múltiplas vias intracelulares, muitas das quais são as mesmas que as activadas pela restrição calórica, muito conhecida por reforçar a saúde e aumentar a esperança de vida. Um primeiro alvo do RSV é a classe das sirtuínas que estão envolvidas nos processos metabólicos. Nos mamíferos, foram identificadas sete classes de sirtuínas, das quais o SIRT-1 se acredita ser responsável pelos benefícios na saúde e longevidade tanto na restrição calórica como através das acções do RSV. Estas sirtuínas são expressas em tecidos adultos e fetais, assegurando, provavelmente, a chave para a saúde humana e longevidade. [138]

Ainda não foi totalmente esclarecido se a extensão da acção do RSV sob estas enzimas é directa ou indirecta e se os seus efeitos estão apenas restringidos à restrição calórica e envelhecimento uma vez que exhibe propriedades biológicas pleiotrópicas. As vias reguladas pelas sirtuínas incluem a gliconeogénese e glicólise no fígado, metabolismo das gorduras e sobrevivência celular. De acordo com o tipo de células ou circunstâncias, a activação das sirtuínas poderá activar ou suprimir determinados genes, conduzindo a uma diminuição da apoptose, um aumento da actividade anti-oxidante e da protecção do ADN, efeitos anti-inflamatórios e à modulação de outros mecanismos que promovem a saúde da célula e, consequentemente, do organismo. Através da sua activação é ainda possível melhorar a função mitocondrial, induzir genes para a oxidação de ácidos gordos e aumentar o potencial de membrana da mitocôndria. [18][137][138]

A capacidade que o RSV possui em mimetizar os efeitos da restrição calórica, no que respeita ao aumento da esperança de vida, foi primeiramente observada por David Sinclair e seus trabalhadores em *Saccharomyces cerevesiae*. Desde então os efeitos do RSV têm vindo a ser estudados num elevado número de organismos como *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* e *Nothobranchius furzeri*, aumentando a esperança de vida entre 18-56%. Porém o aumento da esperança de vida, nestes organismos, nem sempre foi conseguido noutras experiências realizadas por outros investigadores, não se observando efeitos significativos sob a esperança de vida (figura 5). Do mesmo modo, outros estudos concluíram que o RSV não é um activador geral do Sir2 (Silent information regulator) e que a sua activação depende da ligação covalente com um fluoróforo, existindo mesmo um estudo que afirma que o RSV inibe o SIR-2.1 em vez de o activar (em *C.elegans*). [5][138]

Portanto o envolvimento das sirtuínas no aumento da esperança de vida mantém-se um assunto controverso: enquanto alguns investigadores admitem que o aumento da esperança de vida relacionado com a restrição calórica é dependente das sirtuínas nas leveduras, *Drosophila melanogaster* e nemátodes, outros defendem que a acção das sirtuínas não é necessária. [138] Por outro lado, o RSV é capaz de modular a actividade de genes envolvidos na apoptose, crescimento e divisão celular, adesão célula-célula, regulação do sistema nervoso, sinalização neuroendócrina, desenvolvimento muscular, transcrição, proteólise, inibição da acção da HMG-CoA redutase, entre outras, pensando-se promover a vida útil das células. [138]

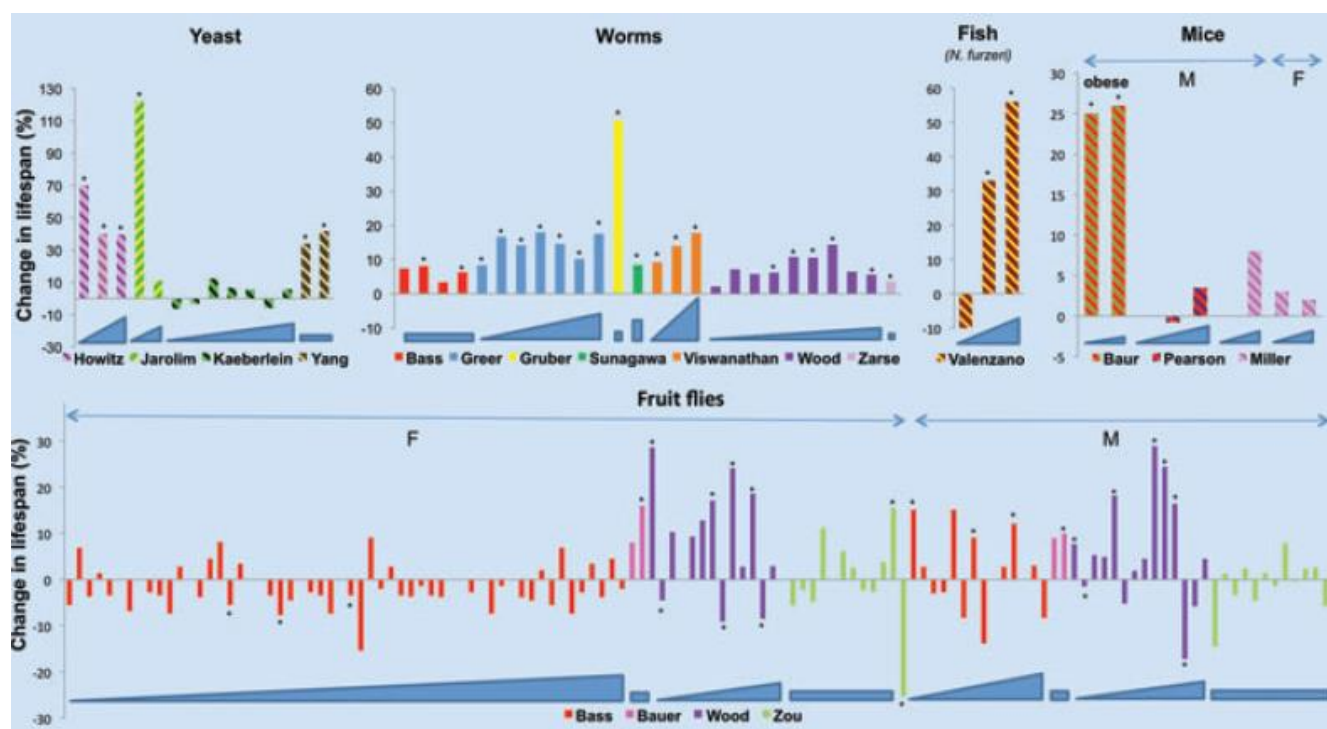


Figura 5 - Efeito do RSV sobre o tempo de vida médio ou mediano em modelos de organismos. Os dados estão organizados primeiro por nome de autor, e correspondem às seguintes referências: Howitz, Jarolim, Kaeberlein, Yang, Bass, Greer, Gruber, Sunagawa, Viswanathan, Wood, Zarse, Valenzano, Baur, Pearson, Miller, Bauer e Zou. Os dados de Jarolim, Bass, Wood, Valenzano e Miller são baseados no tempo de vida médio, enquanto os restantes são baseados em medianas. A dose relativa de RSV é aproximada pelas cunhas azuis sob cada gráfico. Na referência de Baur, os ratinhos a serem tratados eram obesos devido a uma dieta rica em gordura. Nas moscas e ratos, os machos são indicados por "M" e fêmeas de "F". Os asteriscos indicam que o resultado foi considerado estatisticamente significativo pelos autores. [5]

4.2.2. Efeitos Cardioprotectores

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte e morbilidade em Portugal, sendo frequentemente causadas pela aterosclerose. A aterosclerose surge como uma consequência de lesões consecutivas sob o endotélio vascular, causadas por uma vasta gama de factores como a exposição ao fumo do tabaco, hipercolesterolemia e hipertensão arterial. Os danos no endotélio vascular originam múltiplas alterações na estrutura dos vasos sanguíneos e nos componentes do sangue, aumentando o fluxo sanguíneo, recrutamento e fixação de leucócitos e plaquetas, migração de células endoteliais para o lúmen dos vasos e sua deposição de matriz extracelular. Todos estes factores, em conjunto, contribuem para a formação de trombos e, eventual, oclusão de um ou mais vasos. [139][140]

No âmbito da protecção cardiovascular, a molécula de RSV demonstra possuir propriedades bastante promissoras que contribuem para diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Estudos recentes revelam que, em ratos, é capaz de produzir efeitos cardioprotectores através da atenuação da produção de ERO, melhorando a função endotelial, da inibição de processos inflamatórios e da diminuição da taxa de apoptose endotelial. Além do mais o RSV actua sob os mecanismos de

agregação plaquetária, possui actividade anti-oxidante, propriedades vasodilatadoras e efeitos benéficos sob os níveis de colesterol e triglicéridos. No que respeita aos mecanismos subjacentes às suas acções protectoras cardiovasculares, estes são inúmeros. [141][142]

De acordo com estudos publicados acerca da agregação plaquetária, o RSV previne a agregação plaquetária, *in vitro*; bloqueia o aumento da agregação plaquetária, via administração sistémica, em coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol, e reduz não só a área aterosclerótica como também o tamanho dos trombos, em ratos com hipercolesterolemia genética. O mecanismo envolvido neste efeito protector baseia-se na inibição preferencial da COX-1, pelo RSV, que por sua vez vai promover o fluxo sanguíneo e diminuir a formação de coágulos. Sob determinadas condições o RSV é um inibidor irreversível da COX-1, impedindo as plaquetas de produzir novas proteínas. Esta situação sugere que uma exposição transitória ao RSV poderá ter efeitos duradouros *in vivo* dado que o tempo médio de vida das plaquetas é cerca de 10 dias. Curiosamente, este mecanismo de acção é o mesmo pelo qual se pensa que o ácido acetilsalicílico possui efeitos cardioprotectores. [140-142]

Em relação às propriedades vasodilatadoras, a inibição da produção de tromboxanos A₂ provocada pela inibição da enzima COX-1, é um dos mecanismos pelo qual o RSV é responsável pela vasodilatação. Além do mais, este estimula os canais de potássio activados pelo cálcio, induz as enzimas óxido nítrico sintetase (eNOS e iNOS) e sua distribuição, aumentando a produção de óxido nítrico (propriedades vasodilatadoras). As propriedades anti-oxidantes do RSV, vão prevenir a oxidação das LDL e diminuir a expressão de marcadores de *stress* oxidativo como, p. ex., a albumina glicada no soro e a hidroxiguanosina na urina. O RSV possui ainda capacidade de limitar a acumulação de colesterol pelos macrófagos, reprimir a activação de genes relacionados com a captação de colesterol, diminuir a pressão arterial, reduzir os níveis de endotelina (proteína com propriedades vasoconstritoras), atenuar a adesão dos monócitos às células endoteliais e reduzir os danos no miocárdio provocados por episódios de isquémia. Estudos recentes evidenciaram, também, que o RSV é capaz de induzir a biogénese de mitocôndrias tanto em culturas de células endoteliais como no endotélio de ratos com envelhecimento vascular acelerado. [141][143]

O facto de o RSV ter uma estrutura semelhante com dietilestilbestrol permite classificá-lo como um fitoestrogénio. Este possui na sua estrutura grupos hidroxilo livres e um anel fenólico, que são importantes na ligação ao receptor do estrogénio.

Dadas as vantagens cardioprotectoras atribuídas ao estrogénio, realizaram-se uma série de estudos, que sugerem que alguns dos efeitos protectores cardiovasculares do RSV poderão estar relacionados com a modulação do receptor do estrogénio. [138][140][143]

Resumindo, muitas e complexas vias estão envolvidas no efeito protector do sistema circulatório pelo RSV. Embora se tenha alcançado um progresso significativo na elucidação dos mecanismos celulares activados pelo RSV, dos papéis específicos das vias que regulam a função mitocondrial, das defesas e dos mecanismos anti-oxidantes celulares envolvidos no reparo macromolecular, é ainda necessário realizar mais investigação. As suas propriedades conferem protecção contra acidentes cardiovasculares, hipertensão arterial, doença isquémica cardíaca, danos isquémicos durante enfarte agudo do miocárdio e hipercolesterolemia. [138]

4.2.3. Efeitos Neuroprotectores

Nas patologias neurodegenerativas, o processo patológico subjacente é semelhante e está ligado a vias importantes do processo de envelhecimento. Não é, portanto, surpreende que o RSV exiba características neuroprotectoras através das suas propriedades anti-mielogénicas, -inflamatórias e -oxidantes.

Dado que cérebro é um órgão muito susceptível ao *stress* oxidativo por possuir uma elevada taxa de consumo de oxigénio, elevadas quantidades de ácidos gordos passíveis de sofrer peroxidação lipídica, baixa capacidade de regeneração e quantidade de substâncias anti-oxidantes, as ERO estão presentes em elevada quantidade, podendo aumentar a produção da proteína β -amilóide e, conseqüentemente, originar condições de *stress* oxidativo. Assim, os radicais livres parecem desempenhar um papel importante no envelhecimento do sistema nervoso, sendo a doença de Alzheimer uma das patologias neurodegenerativas que se pensa ser influenciada pelo envelhecimento. A produção do péptido β -amilóide e os agregados de fibrilhas amilóides são os alvos terapêuticos no combate a esta doença. Tendo em conta que o *stress* oxidativo acelera a progressão da doença, a utilização de anti-oxidantes poderá ser considerada uma abordagem terapêutica oportuna na prevenção de danos neuronais. Como referido anteriormente, o RSV possui fortes propriedades anti-oxidantes, não só por actuar como um sequestrador de radicais livres mas também por suprimir a produção de radicais livres, protegendo os neurónios de danos oxidativos. Possui, ainda, capacidade de reduzir a citotoxicidade provocada pelos péptidos β -amilóides, melhora as respostas glial, inflamatória e oxidativa, *in vitro*, protege as células da morte celular e acumulação

de ERO e suprime uma das vias de produção da proteína β -amilóide, reduzindo a sua produção. Além disso, o RSV prolonga a síntese do péptido β -amilóide, em culturas de neurónios. [138][144][145]

Vários relatos demonstram que a inflamação que ocorre no sistema nervoso central desencadeia a libertação de mediadores pró-inflamatórios e inflamatórios como as ERO, as espécies reactivas de azoto, citocinas e neurotransmissores, conduzindo, eventualmente, à inflamação de neurónios e morte celular. Assim sendo, de acordo com as características anti-inflamatórias do RSV, este previne os efeitos pró-inflamatórios do péptido β -amilóide, em macrófagos, reduz a activação microglial relacionada com a deposição amilóide, reduz a activação dos factores de transcrição NF- κ B e JNK, a isquemia cerebral induzida e a regulação da COX-2. Resumidamente, o RSV é responsável por diminuir toda a resposta neuroinflamatória associada à doença de Alzheimer, melhorando os prejuízos de memória e aprendizagem. [145]

No que respeita aos efeitos anti-miloidogénicos, verificou-se que o RSV diminuiu a quantidade de proteína β -amilóide produzida, sua agregação e acumulação, e destabilização de neurofibrilas, abrandando a progressão da neurodegeneração. Além do mais protege os neurónios da neurotoxicidade e apoptose induzidas pelo péptido β -amilóide, *in vitro*. A sua acção não se verifica ao nível da produção mas, sim, a nível da promoção da libertação proteolítica do péptido. De acordo com todos estes efeitos, o RSV poderá ser uma molécula com acções promissoras na doença de Alzheimer melhorando as capacidades de memória e aprendizagem que com a evolução da doença se vão degradando cada vez mais. [145]

Em conclusão, na doença de Alzheimer, o RSV promove a eliminação do péptido β -amilóide, reduz o *stress* oxidativo e morte dos neurónios, sendo uma ferramenta promissora no desenvolvimento de novos fármacos. Além disso, é uma molécula não tóxica, possui uma boa relação custo-eficácia e está amplamente disponível.

4.2.4. Efeitos Protectores da Desmineralização Óssea

O risco de osteoporose aumenta à medida que a idade avança. Na altura da menopausa, as mulheres podem perder densidade óssea rapidamente durante vários anos. Depois disso, a perda abrandar mas continua. Nos homens, a perda de massa óssea é mais lenta, porém, por volta dos 65-70 anos de idade, homens e mulheres, estão a perder densidade óssea à mesma taxa.

A osteoporose ocorre devido a um desequilíbrio entre dois principais processos de remodelação do osso: a reabsorção e a formação óssea. Um importante elemento na patogénese da osteoporose é também a redução do aporte sanguíneo ao tecido ósseo, conduzindo à inibição da actividade osteoblástica e aumentando a actividade dos osteoclastos. [146]

O RSV é uma molécula com capacidade de provocar o relaxamento dos vasos sanguíneos através do aumento da produção de óxido nítrico, permitindo um aumento de aporte sanguíneo ao osso. Deste modo, o RSV contribui para uma melhoria da actividade osteoblástica e uma diminuição da osteoclástica. Os dados que fundamentam esta evidência são suportados por um estudo realizado em ratos fêmea com ovariectomia que, 8 semanas após remoção bilateral dos ovários, desenvolveram disfunção endotelial dos vasos da microcirculação do tecido ósseo (provado pelo coeficiente de disfunção endotelial). Posteriormente, a administração de RSV na dose de 2mg/kg produziu efeitos protectores do endotélio, impedindo a redução da microcirculação do osso do fémur, aumentando a largura das trabéculas ósseas (em média 45% em comparação com o grupo de osteoporose) e prevenindo a ocorrência de microfracturas. Conclui-se assim, que o RSV poderá apresentar vantagens na utilização como um protector da perda de densidade óssea. [146] O RSV liga-se aos receptores do estrogénio, activando o processo de síntese de matriz em genes sensíveis ao estrogénio. De acordo com esta propriedade, foi realizado um estudo em ratos fêmea com ovariectomia, em que se concluiu que o RSV actua como um agonista do receptor estrogénico. Além disso o RSV aumenta o grau de relaxamento muscular dependente da endotelina e, tal como o estradiol, previne o enfraquecimento ósseo. Deste modo, o RSV é um forte candidato na terapia de protecção contra a perda óssea induzida pela deficiência em estrogénio. [146]

Da realização de mais um estudo, demonstrou-se que a ingestão diária RSV em animais reduziu o *turn over* ósseo e reverteu a perda óssea. Observou-se ainda que a administração de doses mais elevadas de RSV (45 mg/kg/dia) é mais eficaz em diminuir, o aumento induzido por ovariectomia, do *turn over* ósseo (na reabsorção óssea, especificamente) do que a dose mais baixa. Em conclusão, a ingestão de RSV deverá ser considerada, de forma preventiva, para melhorar a saúde do osso, em detrimento de uma abordagem curativa. [147] Segundo Tresguerres *et al.*, o RSV é capaz aumentar a microestrutura do osso e as suas propriedades mecânicas, em ratos

masculinos velhos, sugerindo que o RSV poderá ser utilizado na terapia anti-envelhecimento para resistir à perda de massa óssea induzida pela idade. [148]

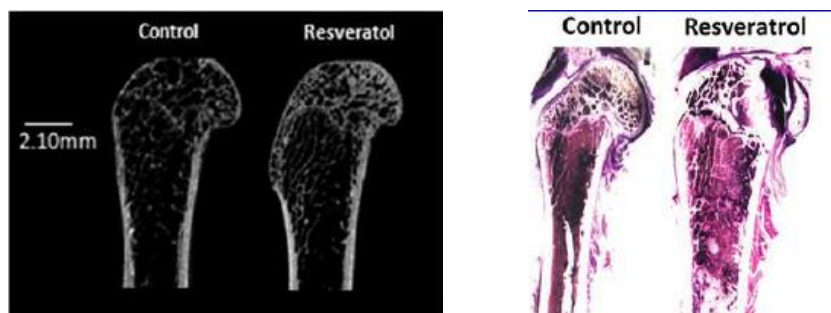


Figura 6 – Na imagem à esquerda observa-se uma tomografia microcomputorizada das secções sagitais do fémur retirado de ratos velhos tratados com resveratrol (à direita) e sem tratamento (controle - à esquerda). Os ratos tratados com resveratrol apresentaram maior percentagem de volume ósseo, espessura cortical, número trabecular e menor espaçamento entre as trabéculas do que o grupo controle. Não foram observadas diferenças significativas na espessura trabecular, na área da medula óssea e densidade de superfície óssea entre os grupos. Na imagem à direita observa-se uma análise histológica e histomorfométrica da massa óssea do fémur em ratos velhos tratados com resveratrol (à esquerda) e ratos velhos sem tratamento (controle - à esquerda). Os ratos tratados com resveratrol possuíam, significativamente, maior volume ósseo percentual do que o grupo de controlo. [148]

De acordo com ensaios *in vitro*, utilizando células de tecido ósseo, o RSV possui um papel importante na manutenção do equilíbrio entre os processos de formação e degradação do osso. Este é capaz de estimular os osteoblastos a produzir novas células ósseas através da activação de factores de transcrição específicos do osso e inibe a actividade dos osteoclastos através da inibição da translocação nuclear do NF- κ B de forma tempo- e concentração-dependente. [149]

A equipa de investigadores do Aarhus University Hospital (A.U.H.), na Dinamarca, conduziu um ensaio clínico, em humanos com síndrome metabólica, em tratamento com RSV. Este estudo é aleatório, duplo cego, controlado por placebo e pretende avaliar os efeitos ósseos produzidos através da administração oral de 1g ou 150mg de RSV ou placebo, durante 16 semanas. Neste estudo pesquisou-se alterações nos marcadores de remodelação óssea, na densidade mineral óssea e na geometria óssea. Da realização deste estudo conclui-se que a dose mais elevada de RSV administrada afecta positivamente o osso, primeiramente através da estimulação da formação ou da mineralização óssea. Observou-se que a fosfatase alcalina do osso (BAP), um indicador da actividade osteoblástica, aumentou de forma dose-dependente com o RSV, a densidade mineral óssea volumétrica trabecular também aumentou de forma dose-dependente, estando os níveis de BAP directamente relacionados com a densidade mineral óssea volumétrica trabecular. Na densidade mineral óssea da anca não foram observadas alterações consistentes. Assim, estudos futuros, de maior dimensão com

populações em risco de desenvolvimento de osteoporose, serão necessários para confirmar estes resultados. [150]

4.3. Envelhecimento Cutâneo

A pele é o maior órgão do corpo humano, apresentando uma área de superfície entre 1,5 - 2m². É muito complexa, com múltiplas estruturas e tipos celulares, sendo essencialmente constituída por 3 camadas: epiderme, derme e hipoderme. Esta tem a função de: protecção, funcionando como uma barreira física e química, termorregulação, queratogénese e fotoprotecção. Além do mais, a pele possui funções sensoriais e imunológicas. [151][152]

O envelhecimento cutâneo é causado por factores intrínsecos e extrínsecos. O envelhecimento intrínseco é o envelhecimento cronológico da pele associado às características genéticas de cada individuo, sem interferência de factores externos. O envelhecimento extrínseco é causado pela exposição a factores externos ambientais (radiação ultravioleta, poluição), sociais (álcool, fumo do tabaco, poucas horas de sono) e relacionados com a dieta (pobre em anti-oxidantes). [152-154] Assim, as alterações morfológicas resultantes do envelhecimento intrínseco são distintas do extrínseco, como se pode verificar na tabela 7.

Tabela 10 – Alterações cutâneas provocadas pelo envelhecimento intrínseco e extrínseco. [155]

	Envelhecimento Intrínseco	Envelhecimento Extrínseco
Rugas	Finas	Profundas
Camada córnea	Inalterada	Afinada
Células displásicas	Poucas	Muitas
Fibras de colagénio	Pequena alteração no tamanho e organização	Grande alteração no tamanho e organização
Fibras elásticas	Reorganizadas	↓ da produção e ↑ da degeneração
Folículo capilar	↓ do número e afinamento	↓ do número e espessura: perda capilar
Melanócitos	Normal	↓ do número e melanina
Glândulas sudoríparas e sebáceas	↓ do número	↓ do número: pele seca
Junção dermo-epidérmica	Leve achatamento	Acentuado achatamento
Microvasculatura	Área reduzida	Telangiectasias, equimoses, infiltrado inflamatório perivascular
Alterações benignas	Ceratose seborreica	Ceratose seborreica
Alterações pré-malignas	n.d.	Ceratose actínica
Alterações malignas	n.d.	Carcinoma basocelular e espinocelular

Nota: n.d. - não definido

Uma das hipóteses formuladas para explicar o envelhecimento intrínseco é o facto de os queratinócitos possuírem um aumento da resistência à apoptose, fornecendo tempo para que danos no ADN e proteínas se acumulem. Clinicamente, numa pele afectada por factores cronológicos há manutenção do estrato córneo, porém a epiderme torna-se mais fina com o achatamento da junção dermo-epidérmica. Na derme ocorre uma diminuição considerável da espessura e vascularização, o número e capacidade de biossíntese dos fibroblastos torna-se mais reduzido, tornando-se a cicatrização das feridas mais lenta. Com o aumento da idade observa-se também uma diminuição da capacidade de resposta dos fibroblastos e queratinócitos a factores de crescimento, diminuindo a suas capacidades proliferativas. Ocorre uma diminuição da produção de vitamina D₃ causada pela diminuição da produção de 7-dehidrocolesterol na epiderme e uma diminuição da resposta imune uma vez que as células de Langerhans apresentadoras de antigénio possuem uma morfologia anormal e diminuem em número. As hormonas sexuais influenciam também o envelhecimento cutâneo, a sua diminuição origina secura, rugas, atrofia epidérmica, degradação do colagénio e perda de elasticidade. Relativamente à redução de lípidos na pele envelhecida, esta está relacionada com a diminuição dos níveis de estrogénio e testosterona, sendo mais notável em mulheres na menopausa. [156][155]

O fotoenvelhecimento cutâneo é causado pelas radiações UVA e UVB. As radiações UVB, tal como as UVA, geram ERO, porém a sua principal acção é a indução directa de danos no ADN, proteínas e lípidos. Ao actuarem sob o ADN, vão originar dímeros de pirimidina que por sua vez originam lesões cutâneas pré-malignas, podendo mais tarde evoluir para lesões malignas. Relativamente às radiações UVA, a exposição às mesmas desencadeia três consequências relacionadas com o fotoenvelhecimento: o aumento da degradação de colagénio, a diminuição da sua síntese e a indução de mutações nas mitocôndrias. No que respeita à degradação de colagénio, esta ocorre quando há a estimulação do factor de transcrição AP-1 que por sua vez vai estimular a transcrição de genes das enzimas metaloproteinases de matriz (MMP) 1, 3 e 9. As MMP-1 clivam os colagénios tipo I e III, preparando-os para depois serem degradados pelas MMP-3 e MMP-9. Também a activação do factor de transcrição NF-κB, estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL6, IL8 e TNFα), atraindo neutrófilos e collagenases à derme. Em relação à diminuição da síntese de colagénio, a principal causa está relacionada com a diminuição da expressão do gene do procolagénio tipo I e III provocada pela indução do factor de transcrição AP-1 e pela diminuição do número de

receptores do factor de crescimento β tipo II. É ainda de acrescentar que com o passar dos anos o colagénio sofre alterações e que este colagénio alterado, por si só, reduz também a síntese de novo colagénio. [155][153]

4.3.1. Efeitos do Resveratrol no Envelhecimento Cutâneo

O RSV é uma molécula com potencial para ser utilizada na indústria cosmética em produtos anti-envelhecimento, tendo em conta as suas propriedades anti-oxidantes (4 em cada 5 rugas são causadas pela oxidação), despigmentantes e activadoras das sirtuínas.

O RSV é responsável pelo *downregulation* de factores de transcrição importantes envolvidos no fotoenvelhecimento (AP-1 e NF- κ B) e pela supressão da expressão das MMP-1 e MMP-3 nos fibroblastos da derme, favorecendo a preservação do colagénio da derme, aumentando o tempo de vida das células epidérmicas, estimulando os fibroblastos da pele na produção de colagénio e elastina e reforçando a elasticidade da pele. Recentemente, surgiu um estudo *in vitro* que concluiu que o RSV inibe também as MMP-2 e 9, induz a formação de colagénio tipo II e a produção de proteoglicanos sulfatados, diminuindo a degradação da matriz extracelular e consequentemente, contribuindo para a aparência de uma pele mais jovem e firme. [137][157]

Além do mais o RSV é capaz de atenuar o fotoenvelhecimento. Foi demonstrado que o RSV actua sobre os mecanismos de sinalização celular relacionados com o fotoenvelhecimento mediado pela radiação UV, incluindo as MAPK, o NF- κ B e as MMP. Em experiências com ratos sem pelo, SKH-1, o RSV foi aplicado topicamente e observou-se que o mesmo é capaz de reduzir os efeitos induzidos pela radiação UV-B incluindo a hiperplasia cutânea, formação de peróxido de hidrogénio, infiltração de leucócitos e fosforilação da survinina. [158-160] O RSV diminui, ainda, os níveis de ERO em queratinócitos HaCat expostos à radiação UV-A, de forma dose-dependente. [9]

Em relação às propriedades anti-oxidantes, o RSV pode ser utilizado como uma substância cosmetologicamente activa com o objectivo de proteger as células do envelhecimento cutâneo provocado pelo *stress* oxidativo e radiação. A produção excessiva de ERO origina a formação de rugas, flacidez e discromias pigmentares. Assim, as aplicações tópicas contendo anti-oxidantes têm como objectivo otimizar a capacidade anti-oxidante da pele e limitar os danos provocados pelas ERO. [161] De

acordo com um estudo publicado, o RSV possui 17 vezes mais capacidade anti-oxidante que o análogo sintético da coenzima Q10, a ibedenona (descrita como o anti-oxidante tópico mais forte). Neste estudo a capacidade anti-oxidante de um produto contendo 1% de RSV foi comparada com a de outro contendo 1% de idebenona, sendo a sua avaliação realizada através do teste de ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Com base nestes resultados pode-se concluir que o RSV possui benefícios ao ser utilizado em peles agredidas pelo fumo do tabaco, poluição, radiações assim como naquelas sujeitas a um elevado *stress*, com o objectivo de corrigir o desequilíbrio gerado pelo excesso de ERO ou pela diminuição das defesas anti-oxidantes, melhorando o aspecto cutâneo. [9][137]

A acção branqueadora é também uma mais-valia para a utilização do RSV na cosmética anti-envelhecimento dado que com o aumento da idade ocorrem alterações na pigmentação cutânea, como os lentigos. Os agentes despigmentantes, frequentemente, têm estruturas similares de base fenólica que conseguem inibir a actividade da tirosinase. O RSV tem uma estrutura base fenólica e inúmeros estudos *in vitro* demonstram que inibe a síntese de melanina. Vários análogos do RSV, como o oxiresveratrol, têm também demonstrado inibir a actividade da tirosinase. Além disso, o RSV não só suprime a produção de melanina como também a viabilidade e invasão celular de melanomas. No sentido de avaliar esta capacidade foram realizadas várias experiências. No ensaio *in vitro* realizado por Park e Boo, vários extractos de plantas foram avaliados quanto à sua capacidade branqueadora, sendo que o extracto de *Vitis Viniferae Caulis* foi um dos que inibiu potentemente a actividade da enzima tirosinase. Posteriormente isolou-se e identificou-se o composto presente no extracto, sendo este o RSV. Neste estudo o RSV demonstrou ser um inibidor potente da actividade da tirosinase humana ($IC_{50}=0,39\mu\text{g/mL}$) e da síntese de melanina pelos melanócitos humanos em concentrações sub-tóxicas, apresentando potencial para ser utilizado como agente branqueador. Na experiência de Lee *et al.*, esta propriedade foi avaliada em células de melanoma da linhagem B16F10 e em porquinhos-da-Índia. Através do ensaio celular concluiu-se que a aplicação de RSV com hormona estimulante α -melanócito (α -MSH), durante 48h, diminuiu significativamente a produção de melanina em 28.2 ± 1 . Esta situação está relacionada com os efeitos inibitórios do RSV na síntese de melanina através da regulação de proteínas melanogénicas como a tirosinase, proteínas relacionadas com a tirosinase 1 e 2 e via modulação do factor de transcrição associado à microftalmia (um regulador transcricional chave na melanogénese). Nos porquinhos-da-

Índia, para a indução de hiperpigmentação expôs-se a pele dorsal à radiação UV-B durante 2 semanas. Posteriormente aplicou-se uma solução contendo 1% de RSV, todos os dias, durante 14 dias, e observaram-se os resultados. Como resultado deste ensaio, verificou-se que a aplicação tópica de RSV diminuiu a hiperpigmentação induzida pela radiação UV-B, sendo o índice de pigmentação reduzido em 53.4 ± 1.0 em comparação com o grupo de controlo. É de notar que esta diminuição não ocorreu para níveis iguais ao do grupo de controlo. Este estudo é o primeiro a fornecer evidências que suportam o uso do RSV como um agente despigmentante, podendo ainda apresentar potencial para ser utilizado em estados cutâneos induzidos pela radiação UV como a hiperpigmentação e fotoenvelhecimento (Figura 7 e 8). [162]

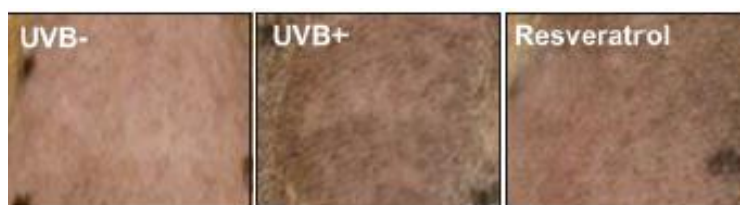


Figura 7 - Efeitos inibitórios do resveratrol na síntese de melanina da pele após indução da pigmentação por radiação UV-B em porquinhos-da-Índia. [162]

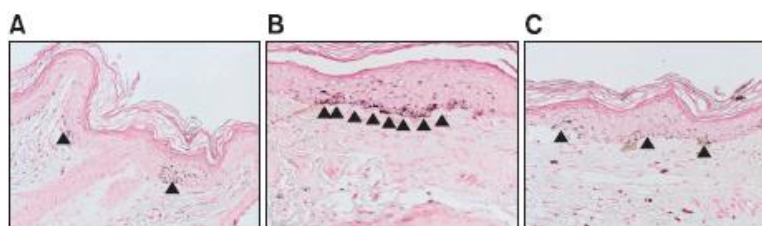


Figura 8 - Resultados obtidos através da mancha de Fontana-Masson para a melanina na pele dos porquinhos-da-Índia. (A) UVB grupo de controlo negativo, (B) UVB grupo de controlo positivo (C) UVB grupo de controlo positivo com aplicação de uma solução contendo 1% resveratrol. As setas indicam a melanina. [162]

Os fitoestrogénios estão a ser largamente estudados como possíveis agonistas dos receptores citoplasmáticos e de superfície membranar, do estrogénio, com o intuito de abrandar o envelhecimento cutâneo sem causar os potenciais riscos associados à utilização do estrogénio. O estrogénio é conhecido por reforçar a capacidade de retenção de água, aumentar o conteúdo da pele em glucosaminoglicanos, manter a elasticidade cutânea e conteúdo de colagénio, diminuindo a evidência de rugas. Deste modo, tendo em conta as propriedades atribuídas ao estrogénio e o facto de o RSV ser um fitoestrogénio, é então possível que o RSV possua benefícios similares não só na pele de mulheres pós-menopausa como também em todas as peles em que se evidencia algum envelhecimento cutâneo, contribuindo para uma pele mais hidratada e firme. Porém dados específicos acerca deste efeito dos estilbenos fitoestrogénicos como o RSV são poucos. [9][137]

Por último, os cientistas demonstraram que o RSV é capaz de neutralizar os mecanismos desencadeados pela interação entre os produtos finais da glicação avançada (AGE) em células dendríticas. A glicação consiste no ataque por parte do excesso de hidratos de carbono às proteínas, conduzindo à formação dos AGE. Na derme, os hidratos de carbono em excesso fixam-se às fibras de colagénio e elastina, enrijecendo as fibras dérmicas e conduzindo à perda de elasticidade e formação de rugas. Assim, tendo em conta a descoberta feita pelos cientistas, o RSV poderá possuir efeitos protectores contra estes efeitos da glicação na pele. [163]

É ainda de salientar, os resultados obtidos da realização de um ensaio *in vitro*, utilizando uma fórmula de RSV patenteada. Através deste estudo observou-se um aumento da densidade cutânea até em 53% mais, em apenas 3 dias. A activação de sirtuínas foi também um parâmetro quantificado neste estudo, tendo-se verificado um aumento de 556% na quantidade presente na epiderme. Testes clínicos demonstraram uma diminuição de 31% na quantidade de rugas, ao final de 28 dias de aplicação (figura 9). [164]

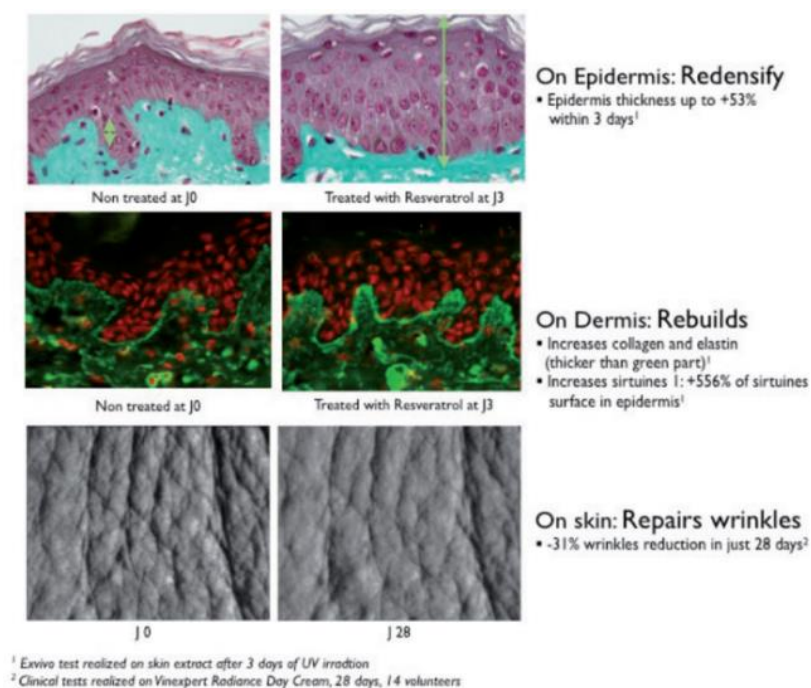


Figura 9 – Resultados de um estudo realizado, utilizando uma fórmula de resveratrol patenteada. [164]

5. Conclusão

A esperança de vida tem vindo a aumentar ao longo dos anos. De acordo com o relatório mais recente das Nações Unidas, esta tendência é global, sem precedentes na história da humanidade e está a aumentar. O número de pessoas com 60 ou mais anos espera-se que duplique entre 2000 e 2050, atingindo um pico de cerca de 2 biliões. Porém a história por trás de tantos anos de vida, não se prende apenas com o número de anos que se vive, é também viver bem: de boa saúde e com uma aparência jovem. O desejo de envelhecer com boa aparência tem conduzido a indústria da beleza a um negócio multibilionário.

A demanda dos consumidores pelas cirurgias estéticas e outras intervenções estéticas, assim como a preocupação com a saúde nunca foram tão elevadas e continuam a crescer exponencialmente, reflectindo o interesse de toda a população mundial em envelhecer de forma saudável com aparência jovem. De acordo com estas exigências, inúmeros dispositivos médicos e intervenções médicas têm surgido com o objectivo de corresponder a estas exigências, sendo fundamental a utilização de produtos cosméticos e nutracêuticos para atenuar alguns dos efeitos do envelhecimento que não têm conseguido ser alterados. É, então, aqui que surge o RSV como uma molécula anti-envelhecimento. Esta molécula é muito promissora, tendo em conta todas as suas propriedades e mecanismos de acção, podendo ser utilizada tanto em formulações para aplicação tópica como em formulações sólidas. Os resultados observam-se não só ao nível do envelhecimento biológico como também ao nível do envelhecimento cutâneo, actuando a nível molecular e da expressão genética.

O seu uso em formulações sólidas anti-envelhecimento deve-se ao seu potencial para na prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e esqueléticas. Desde o momento que se explicou o paradoxo francês, inúmeros estudos têm sido realizados e publicados acerca das suas propriedades cardioprotectoras. O RSV poderá ser útil na protecção contra acidentes cardiovasculares, danos isquémicos decorrentes do enfarte agudo do miocárdio, hipertensão arterial, doença isquémica cardíaca e hipercolesterolémia. Este melhora ainda o desempenho cardiovascular através das suas propriedades vasodilatadoras, anti-oxidantes e anti-inflamatórias. Na protecção contra doenças neuro-degenerativas, nomeadamente no tratamento e prevenção da doença de Alzheimer por possuir propriedades anti-inflamatórias, anti-oxidantes e anti-miloidogénicas. Na terapia anti-envelhecimento esquelética, numa

perspectiva preventiva e não curativa, sendo útil na manutenção da saúde óssea e prevenção da perda de massa óssea. Resumindo, o RSV é uma molécula com elevado potencial para ser utilizado em formulações sólidas que reivindicuem a prevenção de doenças relacionadas com envelhecimento, actuando não só a nível celular como a nível molecular e genético.

O uso de RSV em formulações tópicas anti-envelhecimento faz também todo o sentido. De acordo com os estudos publicados este de protege a pele do fotoenvelhecimento, reduz rugas, aumenta a hidratação, promove a elasticidade e firmeza da pele, estimula os fibroblastos a produzir elastina e colagénio e diminui o grau de pigmentação de manchas solares, actuando sobre a síntese e produção de melanina. A sua propriedade anti-oxidante é uma das mais-valias poderosas da aplicação cutânea de RSV ao auxiliar no combate às agressões externas como a poluição ou fumo de tabaco. Esta propriedade é bastante relevante tendo em conta que o RSV é um anti-oxidante 17 vezes mais potente que a ibedenona.

Assim, o uso de aplicações tópicas e a toma de suplementos alimentares contendo RSV possuem benefícios complementares. Sendo que as formulações tópicas terão uma acção localizada ao contrário dos suplementos alimentares, onde a via de administração será oral, e os benefícios far-se-ão sentir não só a nível cutâneo como também a nível de outros sistemas, como o cardiovascular, neurológico e esquelético.

Em suma, a utilização do RSV como uma molécula anti-envelhecimento poderá vir a tornar-se realidade num futuro próximo tendo em conta todas as propriedades referidas. Porém a falta de ensaios clínicos a médio e longo prazo que validem os resultados, *in vitro* e *in vivo*, e que proporcionem respostas efectivas é uma das lacunas constatadas. Esta situação gera alguma insegurança no que respeita ao uso do RSV pois ao não serem conhecidos ao certo quais os efeitos adversos que poderão surgir e se as propriedades reclamadas pelos ensaios serão, realmente, as mesmas que em humanos, a confiança dos consumidores em produtos contendo RSV poderá ser reduzida assim como a sua utilização será cuidadosa. A sua baixa biodisponibilidade oral é também uma barreira que tem vindo a ser ultrapassada graças à evolução da nanotecnologia. Contudo serão ainda necessários mais estudos comparativos entre diferentes formas de veiculação com o intuito de concluir qual a estratégia de veiculação mais adequada em cada área onde o RSV poderá ser empregue.

É ainda de acrescentar que estudos com análogos sintéticos do RSV têm vindo a ser realizados com o objectivo de potenciar algumas das propriedades do RSV.

Exemplos de áreas onde análogos do RSV estão a ser testados são a área da cosmética despigmentante (oxiresveratrol), oncológica, anti-oxidante, entre outras.

Bibliografia

1. Chachay V. *et al.*. "Resveratrol - pills to replace a healthy diet," *British Journal Of Clinical Pharmacolog.*, vol. 71:1, pp. 27-38, 2011.
2. Smoliga J., Bost J. e Maroon J., "Potential benefits of resveratrol supplementation for optimizing health e preventing chronic disease," [Online]. Disponível em: http://www.worldhealth.net/pdf/Maroon_Thera11.pdf. [Consultado em: 5 Junho 2014].
3. Timmers S., Auwerx J. e Schrauwen P., "The journey of resveratrol from yeast to human," março 2012. [Online]. Disponível em: <http://www.impactaging.com>. [Consultado em: 6 Janeiro 2014].
4. Jang M. S. *et al.*. "Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes," *Science*, vol. 275, nº 5297, pp. 218-220, 1997.
5. Agarwal B. e Baur J. A., "Resveratrol and life extension," *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 1215, pp 138-143, 2011.
6. Kundu J. e Surh Y., "Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: mechanistic perspectives," *Cancer Lett.*, vol. 269, nº 2, pp. 243-261, 2008.
7. Udenigwe C. *et al.*. "Potencial of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy," vol. 66(8), pp. 445-454, 2008.
8. Betz J., "Resveratrol and its effects on human health and longevity - Myth or Miracle?," Natural News, [Online]. Disponível em: https://www.biotivia.com/assets/NewAsset/Resveratrol_and_its_Effects_on_Human_Health_and_Longevity.pdf. [Consultado em: 10 Junho 2014].
9. Baxter R., "Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation," *Journal of cosmetic dermatology*, vol. 7, pp. 2-7, 2008.
10. "PubChem Compound," [Online]. Disponível em: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=445154&loc=ec_rcs. [Consultado em: 9 Junho 2014].
11. "Resveratrol," Shanghai DND Pharm-Technology Co, [Online]. Disponível em: http://www.resveratrol-in-china.com/en/article_A002.asp?title=Physical%20and%20chemical%20properties.

[Consultado em: 9 Junho 2014].

12. "DrugBank," [Online]. Disponível em: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB02709>. [Consultado em: 9 Junho 2014].
13. Trela B. e Waterhouse A., "Resveratrol: Isomeric molar absorptivities and stability," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 44, nº 5, pp. 1253-1257, 1996.
14. Vian M. *et al.* "Simple and rapid method for cis- and trans-resveratrol and piceid isomers determination in wine by high-performance liquid chromatography using Chromolith columns," *J. Chromatogr. A*, vol. 1085, nº 2, pp. 224-229, 2005.
15. Lancon A. *et al.* "Human hepatic cell uptake of resveratrol: Involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 316, pp. 1132–1137, 2004.
16. Subramanian L. *et al.*, "Resveratrol: Challenges in Translation to Clinic - A Critical Discussion," *Clin. Cancer Res.*, vol. 16, nº 24, pp. 5942-5948, 2010.
17. Vitaglione P. *et al.* "Bioavailability of trans-resveratrol from red wine in humans," *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 49, pp. 495-504, 2005.
18. Smoliga J. M. e Blanchard O., "Enhancing the delivery of resveratrol in humans: If low bioavailability is the problem, what is the solution?," *Molecules*, vol.19, pp. 17154-17172, 2014
19. Walle T. *et al.* "High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans," *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 32, nº 12, pp. 1377-1382, 2004.
20. Smoliga J., Baur J., e Hausenblas H., "Resveratrol and health - A comprehensive review of human clinical trials," *Molecular Nutrition Food*, vol. 55, pp. 1129-1141, 2011.
21. Sardi B., "The case of resveratrol - why aren't more americans taking resveratrol pills?," 2011. [Online]. Disponível em: <http://www.longevinex.com>. [Consultado em: 13 Junho 2014].
22. Vang O. *et al.* "What is new for an old molecule? Systematic Review and Recommendations on the use of resveratrol," *PLoS ONE*, vol. 6, nº 6, pp. 1-9, 2011.
23. Cottart C.-H. *et al.* "Resveratrol bioavailability and toxicity in humans," *Mol. Nutr. Food*, vol. 54, pp. 1-10, 2009.

24. Juan M., Vinardell M. e Planas J., "The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful," *The journal of nutrition*, vol.132, nº 2, pp. 257-260, 2002.
25. Lopez-Nicolas J. M. *et al.* "Determination of stoichiometric coefficients and apparent formation constants for beta-cyclodextrin complexes of trans-resveratrol using reversed-phase liquid chromatography," *J. Chromatogr. A*, vol. 1135, nº 2, pp. 158-165, 2006.
26. Howells L. M. *et al.* "Phase I Randomized, Double-Blind Pilot Study of Micronized Resveratrol (SRT501) in Patients with Hepatic Metastases - Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics," *Cancer Prevention Research*, vol. 4, nº 9, pp. 1419-1425, 2011.
27. Bishop J. R. P., Nelson G. e Lamb J., "Microencapsulation in yeast cells," *J. Microencapsul.*, vol. 15, nº 6, pp. 761-773, 1998.
28. Shi G. *et al.* "Stabilization and encapsulation of photosensitive resveratrol within yeast cell," *Int. J. Pharm*, vol. 349, nº 1-2, pp. 83-93, 2008.
29. Zlotnik H. *et al.* "Saccharomyces-cerevisiae mannoproteins form an external cell-wall layer that determines wall porosity," *J. Bacteriol*, vol. 159, nº 3, pp. 1018-1026, 1984.
30. Dardelle G. *et al.* "Flavour-encapsulation and flavour-release performances of a commercial yeast-based delivery system," *Food Hydrocolloids*, vol. 21, nº 5-6, pp. 953-960, 2007.
31. Ansari K. A. *et al.* "Cyclodextrin-Based Nanosponges for Delivery of Resveratrol: In Vitro Characterisation, Stability, Cytotoxicity and Permeation Study," *AAPS PharmSciTech*, vol. 12, nº 1, pp. 279-286, 2011.
32. Lucas-Abellan C. *et al.* "Cyclodextrins as resveratrol carrier system," *Food Chem.*, vol. 104, nº 1, pp. 39-44, 2007.
33. Lu X. *et al.* "Resveratrol-loaded polymeric micelles protect cells from Abeta-induced oxidative stress," *Int. J. Pharm.*, vol. 375, nº 1-2, pp. 89-96, 2009.
34. Shao J. F. *et al.* "Enhanced growth inhibition effect of Resveratrol incorporated into biodegradable nanoparticles against glioma cells is mediated by the induction of intracellular reactive oxygen species levels," *Colloid Surf. B-Biointerfaces*, vol. 72, nº 1, pp. 40-47, 2009.

35. Duzgunes N. e Nir S., "Mechanisms and kinetics of liposome-cell interactions," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 40, nº 1-2, pp. 3-18, 1999.
36. Kristl J. *et al.* "Effect of colloidal carriers on ascorbyl palmitate stability," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 19, nº 4, pp. 181-189, 2003.
37. Sentjurc M., Kristl J. e Abramovic Z., "Transport of liposome-entrapped substances into skin as measured by electron paramagnetic resonance oximetry in vivo," In *Liposomes Pt D*, Elsevier Academic Press Inc: San Diego, 2004.
38. Padamwar M. N. e Pokharkar V. B., "Development of vitamin loaded topical liposomal formulation using factorial design approach: Drug deposition and stability.," *Int. J. Pharm.*, vol. 320, nºs 1-2, pp. 37-44, 2006.
39. Caddeo C. *et al.* "Effect of resveratrol incorporated in liposomes on proliferation and UV-B protection of cells," *Int. J. Pharm.*, vol. 363, nºs 1-2, pp. 183-191, 2008.
40. Muller R. H., Radtke M. e Wissing S. A., "Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 54, pp. S131-S155, 2002.
41. Muller R. H., Mader K. e Gohla S., "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 50, nº 1, pp. 161-177, 2000.
42. Ahlin P. *et al.* "Location of lipophilic substances and ageing of solid lipid nanoparticles studied by EPR," *STP Pharma Sci*, vol. 10, nº 2, pp. 125-132, 2000.
43. Coimbra M. *et al.* "Improving solubility and chemical stability of natural compounds for medicinal use by incorporation into liposomes," *Int. J. Pharm.*, vol. 416, nº 2, pp. 433-442, 2011.
44. Teskac K. e Kristl J., "The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol," *Int. J. Pharm.*, vol. 390, nº 1, pp. 61-69, 2010.
45. Lastra C. e Villegas I., "Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications," *Biochemical Society Transactions*, vol. 35, nº 5, pp. 1156-1160, 2007.
46. Fontes I., "Antioxidantes como substâncias cosmetologicamente activas," *Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias*, Lisboa, pp. 30-32, 2013.

47. Olas B. *et al.* "The protective effects of resveratrol against changes in blood platelet thiols induced by platinum compounds," *J. Physiol. Pharmacol.*, vol. 55, nº 2, p. 467–476, 2004.
48. Martinez J. e Moreno J., "Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 59, nº 7, pp. 865-870, 2000.
49. Ozgova S., Hermanek J. e Gut I., "Different antioxidant effects of polyphenols on lipid peroxidation and hydroxyl radicals in the NADPH-, Fe-ascorbate- and Fe-microsomal systems," *Biochemical pharmacology*, vol. 66, nº 7, pp. 1127-1137, 2003.
50. Gusman J., Malonne H. e Atassi G., "A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol," *Carcinogenesis*, vol. 22, nº 8, pp. 1111-1117, 2001.
51. Ahmad K. A., Clement M. V. e Pervaiz S., "Pro-oxidant activity of low doses of resveratrol inhibits hydrogen peroxide-induced apoptosis," *Ann. New York Acad. Sci.*, vol. 1010, pp. 365-373, 2003.
52. Ghanim H. *et al.* "An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 95, pp. E1-E8., 2010.
53. Ghanim H. *et al.* "A resveratrol and polyphenol preparation suppresses oxidative and inflammatory stress response to a high-fat, high-carbohydrate meal," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 96, pp. 1409-1414, 2011.
54. De Groote D. *et al.* "Effect of the Intake of Resveratrol, Resveratrol Phosphate, and Catechin-Rich Grape Seed Extract on Markers of Oxidative Stress and Gene Expression in Adult Obese Subjects," *Ann. Nutr. Metab.*, vol. 61, nº 1, pp. 15-24, 2012.
55. Heger A. *et al.* "Intake of a resveratrol-containing dietary supplement has no impact on DNA stability in healthy subjects," *Mutation research*, vol. 749, nº 1-2, pp. 82-86., 2012.
56. Bo S. *et al.* "Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial," *Curr. Med. Chem.*, vol. 20, pp. 1323-1331, 2013.
57. Buonocore D. *et al.* "Resveratrol-procyanidin blend: nutraceutical and antiaging efficacy evaluated in a placebo-controlled, double-blind study," *Clin. Cosmet. Investig.*

Dermatol., vol. 5, pp. 159-165, 2012.

58. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+antioxidant&rank=19>. [Consultado em: 11 Julho 2014].

59. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+antioxidant&rank=23>. [Consultado em: 11 Julho 2014].

60. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+antioxidant&rank=8>. [Consultado em: 11 Julho 2014].

61. Séfora-Sousa M. e Angelis-Pereira M., "Mecanismos moleculares de ação anti-inflamatória e antioxidante de polifenóis de uvas e vinho tinto na aterosclerose," *Rev. Bras. Pl. Med.*, vol. 15, nº 4, pp. 617-626, 2013..

62. Delmas D. *et al.* "Resveratrol as a Chemopreventive Agent: A Promising Molecule for Fighting Cancer," *Current Drug Targets*, vol. 7, nº 3, pp. 1-20, 2006.

63. Tomé-Carneiro J. *et al.* "One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease," *Am. J. Cardiol.*, vol. 110, nº 3, pp. 356-363., 2012.

64. Tomé-Carneiro J. *et al.* "Grape Resveratrol Increases Serum Adiponectin and Downregulates Inflammatory Genes in Peripheral Blood Mononuclear Cells: A Triple-Blind, Placebo-Controlled, One-Year Clinical Trial in Patients with Stable Coronary Artery Disease," *Cardiovasc. Drugs Ther.*, vol. 27, nº 1, pp. 37–48, 2013.

65. Maia H. *et al.* "Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain," *Int. J. Womens Health*, vol. 4, pp. 543-549, 2012.

66. Pedersen S. B. *et al.* "RUC - Roskilde Universitet," [Online]. Disponível em: [rucforsk.ruc.dk/site/da/projects/longterm-investigation-of-resveratrol-on-management-of-metabolic-syndrome-osteoporosis-inflammation-and-identification-of-plant-derived-antiinflammatory-compounds\(86621481-91bb-4770-9a58-b71505135909\).html](http://rucforsk.ruc.dk/site/da/projects/longterm-investigation-of-resveratrol-on-management-of-metabolic-syndrome-osteoporosis-inflammation-and-identification-of-plant-derived-antiinflammatory-compounds(86621481-91bb-4770-9a58-b71505135909).html). [Consultado em: 28 Julho 2014].

67. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em:

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+anti+inflammatory&rank=4>. [Consultado em: 28 Julho 2014].

68. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+anti+inflammatory&rank=5>. [Consultado em: 12 Julho 2014].

69. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+anti+inflammatory&rank=11>. [Consultado em: 28 Julho 2014].

70. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record?term=resveratrol+anti+inflammatory&rank=49>. [Consultado em: 28 Julho 2014].

71. "ClinicalTrials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02062190?term=resveratrol+anti+inflammatory&rank=57>. [Consultado em: 28 Julho 2014].

72. Kumar V., Cotran R. e Robbins S., Robbins Basic Pathology, 7th Ed., Philadelphia: Saunders, pp.324-334, 2003.

73. Berge G. *et al.* "Resveratrol inhibits benzo[a]pyrene–DNA adduct formation in human bronchial epithelial cells," *Br. J. Cancer*, vol. 91, nº 2, pp. 333–338, 2004.

74. Li H. *et al.* "Inhibition of nitrobenzene-induced DNA and hemoglobin adductions by dietary constituents," *Appl. Radiat. Isot.*, vol. 58, nº 3, pp. 291–298, 2003.

75. Ignatowicz E. *et al.* "The effect of plant phenolics on the formation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-DNA adducts and TPA-stimulated polymorphonuclear neutrophils chemiluminescence in vitro," *Toxicology*, vol. 189, nº 3, pp. 199-209, 2003.

76. Szaefer H. *et al.* "Alteration in phase I and II enzymes activities and polycyclic aromatic hydrocarbons - DNA adduct formation by plant phenolics in mouse epidermis," *Nutr. Cancer*, vol. 48, nº 1, pp. 70-77, 2004.

77. Yen G. C., Duh P. D. e Lin C. W., "Effects of resveratrol and 4-hexylresorcinol on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes," *Free Radic. Res.*, vol. 37, nº 5, pp. 509-514., 2003.

78. Sainz R. M. *et al.* "Antioxidant activity of melatonin in Chinese hamster ovarian cells: changes in cellular proliferation and differentiation," *Biochem. Biophys. Res.*

Commun., vol. 2003, n° 3, pp. 625–634, 2003.

79. Lopez-Burillo S. *et al.* "Melatonin, xanthurenic acid, resveratrol, EGCG, vitamin C and α -lipoic acid differentially reduce oxidative DNA damage induced by Fenton reagents: a study of their individual and synergistic actions," *Journal of Pineal Res.*, vol. 34, n° 3, pp. 269-277, 2003.

80. Damianaki A. *et al.* "Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human breast cancer cells," *J. Cell. Biochem.*, vol. 78, n° 3, pp. 429-441, 2000.

81. Weston A. e Harris C. C., "Multistage Carcinogenesis," *Cancer Medicine*, 6th edition, Hamilton (ON), BC Decker, 2003.

82. Garcia-Garcia J. *et al.* "The cancer chemopreventive agent resveratrol is incorporated into model membranes and inhibits protein kinase C alpha activity," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 372, n° 2, pp. 382-388., 1999.

83. Jayatilake G. S. *et al.* "Kinase inhibitors from *Polygonum cuspidatum*," *J. Nat. Prod.*, vol. 56, n° 10, pp. 1805-1810, 1993.

84. S. J. Slater *et al.* "Inhibition of protein kinase C by resveratrol," *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1637, n° 1, pp. 59-69, 2003.

85. Manna S. K., Mukhopadhyay A. e Aggarwal B. B., "Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1 and apoptosis: potencial role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation," *J. Immunol.*, vol. 164, n° 12, pp. 6509-6519., 2000.

86. Yu R. *et al.* "Resveratrol inhibits phorbol ester and UV-induced activator protein 1 activation by interfering with mitogen-activated protein kinase pathways," *Mol. Pharmacol.*, vol. 60, n° 1, pp. 217-224, 2001.

87. Schneider Y. *et al.* "Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells," *Cancer Lett.*, vol. 158, n° 1, pp. 85-91., 2000.

88. Wolter F., Turchanowa L. e Stein J., "Resveratrol-induced modification of polyamine metabolism is accompanied by induction of c-Fos," *Carcinogenesis*, vol. 24, n° 3, pp. 469–474, 2003.

89. MacCarrone M. *et al.* "Resveratrol prevents apoptosis in K562 cells by inhibiting lipoxygenase and cyclooxygenase activity," *Eur. J. Biochem.*, vol. 265, n° 1, pp. 27-34, 1999.

90. Pinto M. C., . Garcia-Barrado J. A e Macias P., "Resveratrol is a potent inhibitor of the dioxygenase activity of lipoxygenase," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, nº 12, pp. 4842-4846, 1999.
91. Moreno J. J., "Resveratrol modulates arachidonic acid release, prostaglandin synthesis and 3T6 fibroblast growth," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 294, nº 1, pp. 333-338, 2000.
92. Jang M. e Pezzuto J. M., "Cancer chemopreventive activity of resveratrol.," *Drugs Exp. Clin. Res.*, vol. 25, nºs 2-3, pp. 65-77., 1999.
93. Yagihashi N. *et al.* "Increased in situ expression of nitric oxide synthase in human colorectal cancer," *Virchows Arch.*, vol. 436, nº 2, pp. 109-114, 2000.
94. Ignatenko N. A. *et al.* "The chemopreventive agent alpha-difluoromethylornithine blocks Ki-ras-dependent tumor formation and specific gene expression in Caco-2 cells.," *Mol. Carcinog.*, vol. 39, nº 4, pp. 221-33., 2004.
95. Babbar N. *et al.* "Cyclooxygenase-independent induction of apoptosis by sulindac sulfone is mediated by polyamines in colon cancer," *J. Biol. Chem.*, vol. 278, nº 48, pp. 47762-47775, 2003.
96. Godichaud S. *et al.* " Deactivation of cultured human liver myofibroblasts by trans-resveratrol, a grapevine-derived polyphenol," *Hepatology*, vol. 31, nº 4, pp. 922-931, 2000.
97. Cao Y. *et al.* "Anti-angiogenic activity of resveratrol, a natural compound from medicinal plants.," *J. Asian Nat. Prod. Res.*, vol. 7, nº 3, pp. 205-213., 2005.
98. Sternlicht M. D. e Werb Z., "How matrix metalloproteinases regulate cell behavior," *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, vol. 17, pp. 463-516, 2001.
99. She Q. B. *et al.* "Resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis is mediated by extracellular-signal-regulated protein kinases and p38 kinase," *Cancer Res.*, vol. 61, pp. 1604-1610, 2001.
100. Yu L. *et al.* "Effect of resveratrol alone and its combination with cyclosporin A on the immune function of human peripheral blood T lymphocytes," *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, vol. 19, nº 6, pp. 549-551., 2003.
101. Kubota T. *et al.* "Combined effects of resveratrol and paclitaxel on lung cancer cells," *Anticancer Res.*, vol. 23, nº 5A, pp. 4039-4046., 2003.

102. Sun Z. J. *et al.* "Anti-hepatoma activity of resveratrol in vitro," *World J. Gastroenterol.*, vol. 8, n° 1, pp. 79-81., 2002.
103. Zoberi I. *et al.* "Radiosensitizing and anti-proliferative effects of resveratrol in two human cervical tumor cell lines," *Cancer Lett.*, vol. 175, n° 2, pp. 165-173, 2002.
104. Baatout S. *et al.* "Enhanced radiation-induced apoptosis of cancer cell lines after treatment with resveratrol," *Int. J. Mol. Med.*, vol. 13, n° 6, pp. 895-902, 2004.
105. Delmas D. *et al.* "Redistribution of CD95, DR4 and DR5 in rafts accounts for the synergistic toxicity of resveratrol and death receptor ligands in colon carcinoma cells," *Oncogene*, vol. 23, n° 55, pp. 8979–8986, 2004.
106. Fulda S. e Debatin K. M., "Sensitization for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by the chemopreventive agent resverastrol," *Cancer Res.*, vol. 64, n° 1, pp. 337-346, 2004.
107. Nguyen A. V. *et al.* "Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer," *Cancer Manag. Res.*, vol. 1, pp. 25-37., 2009.
108. Patel K. R. *et al.* "Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients," *Cancer Res.*, vol. 70, n° 19, pp. 7392-7399. , 2010.
109. Howells L. M. *et al.* "Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases--safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics," *Cancer Prev. Res. (Phila)*, vol. 4, n° 9, pp. 1419-1425., 2011.
110. Popat R. *et al.* "A phase 2 study of SRT501 (resveratrol) with bortezomib for patients with relapsed and or refractory multiple myeloma," *British Journal of Haematology*, vol. 160, pp. 709–717, 2013.
111. Zhu W. *et al.* "Trans-Resveratrol Alters Mammary Promoter Hypermethylation in Women at Increased Risk for Breast Cancer," *Nutr Cancer.*, vol. 64, n° 3, pp. 393–400, 2012.
112. Chow H. H. *et al.* "Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study," *Cancer Prev Res (Phila)*, vol. 3, n° 9, pp. 1168-1175., 2010.
113. "Clinical Trials.gov," [Online]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01476592?term=resveratrol+cancer&ran>

k=3. [Consultado em: 6 Julho 2014].

114. Campagna M. e Rivas C., "Antiviral activity of resveratrol," *Biochemical Society Transactions*, vol. 38, nº 1, pp. 50-53, 2010.
115. Docherty J. J. *et al.* "Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication," *Antiviral Res.*, vol. 43, pp. 145–155, 1999.
116. Docherty J. J. *et al.* "Effect of resveratrol on herpes simplex virus vaginal infection in the mouse," *Antiviral Res.*, vol. 67, pp. 155–162, 2005.
117. Docherty J. J. *et al.* "Effect of topically applied resveratrol on cutaneous herpes simplex virus infections in hairless mice," *Antiviral Res.*, vol. 61, pp. 19–26, 2004.
118. Faith S. A. *et al.* "Resveratrol suppresses nuclear factor- κ B in herpes simplex virus infected cells," *Antiviral Res.*, vol. 72, pp. 242–251, 2006.
119. Docherty J. J. *et al.* "Resveratrol inhibition of Varicella-Zoster virus replication in vitro," *Antiviral Res.*, vol. 72, pp. 171–177, 2006.
120. Evers D. L. *et al.* "3,4',5-Trihydroxy-trans-stilbene (resveratrol) inhibits human cytomegalovirus replication and virus-induced cellular signaling," *Antiviral Res.*, vol. 63, pp. 85–95, 2004.
121. Kapadia G. J. *et al.* "Chemopreventive effect of resveratrol, sesamol, sesame oil and sunflower oil in the Epstein–Barr virus early antigen activation assay and the mouse skin two-stage carcinogenesis," *Pharmacol. Res.*, vol. 45, p. 499–505, 2002.
122. De Leo A. *et al.* "Resveratrol inhibits Epstein Barr Virus lytic cycle in Burkitt's lymphoma cells by affecting multiple molecular targets," *Antiviral Res.*, vol. 96, nº 2, pp. 196-202., 2012.
123. Krishnan V. e Zeichner S. L., "Host cell gene expression during human immunodeficiency virus type 1 latency and reactivation and effects of targeting genes that are differentially expressed in viral latency," *J. Virol.*, vol. 78, p. 9458–9473, 2004.
124. Heredia A., Davis C. e Redfield R., "Synergistic inhibition of HIV-1 in activated and resting peripheral blood mononuclear cells, monocyte-derived macrophages, and selected drug-resistant isolates with nucleoside analogues combined with a natural product, resveratrol," *J. Acquired Immune Defic. Syndr.*, vol. 25, pp. 246–255, 2000.
125. Wang L. X. *et al.* "Resveratrol glucuronides as the metabolites of resveratrol in

humans: characterization, synthesis, and anti-HIV activity," *J. Pharm. Sci.*, vol. 93, pp. 2448–2457, 2004.

126. Zhang H. S. *et al.* "Resveratrol inhibited Tat-induced HIV-1 LTR transactivation via NAD⁺-dependent SIRT1 activity," *Life Sci.*, vol. 85, pp. 484–489, 2009.

127. Palamara A. T. *et al.* "Inhibition of influenza A virus replication by resveratrol," *J. Infect. Dis.*, vol. 191, pp. 1719–1729, 2005.

128. Paulo L. *et al.* "Antimicrobial activity and effects of resveratrol on human pathogenic bacteria," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 26, pp. 1533-1538, 2010.

129. Docherty J., Fu M. M. e Tsai M., "Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*," *J. of Antimicrob. and Chemother.*, vol. 47, pp. 239-246, 2001.

130. Mahady G. e Pendland S., "Resveratrol inhibits growth of *Helicobacter pylori* in vitro," *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 95, pp. 1849, 2000.

131. Chan M. M., "Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin," *Biochem. Pharmac.*, vol. 63, pp. 90-104, 2002.

132. Wang W. B. *et al.* "Inhibition of swarming and virulence factor expression in *Proteus mirabilis* by resveratrol," *Journal of Medical Microbiology*, vol. 55, pp. 1313–1321, 2006.

133. Docherty J. *et al.* "Resveratrol inhibition of *Propionibacterium acnes*," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 59, pp. 1182–1184, 2007.

134. Tate S. T., *Anatomia e Fisiologia*, Loures: Lusociência, 6ª Edição, pp. 196, 197, 503-506, 711, 2003.

135. North B. J. e Sinclair D. A., "The Intersection Between Aging and Cardiovascular Disease," vol. 110, nº8, pp. 1097-1108, 2012.

136. Tavares P. A. N., Negrão I. P. R. e Lima R. R., "Predisposição às doenças neurodegenerativas durante o envelhecimento," *Pará*, pp. 1-5, 2011.

137. Farris P., "Innovative Cosmeceuticals: Sirtuin Activators and Anti-Glycation Compounds," *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, vol. 30, nº 3, pp.163-166, 2011.

138. Markus M. A. e Morris B. J., "Resveratrol in prevention and treatment of

- common clinical conditions of aging," vol. 3, nº 2, pp.331-339, 2008.
139. Ferreira R. *et al.* "Portugal - Doenças Cérebro- Cardiovasculares em números - 2013," *Direcção Geral de Saúde*, pp.1-64, 2013.
 140. Wu J. M., Hsieh T.-C. e Wang Z., "Cardioprotection by resveratrol: a review of effects/targets in cultured cells and animal tissues," vol. 1, nº 1, pp.38-47, 2011.
 141. H. Wang *et al.* "Resveratrol in cardiovascular disease: what is known from current research?," *Heart Fail Rev.*, pp. 9260-9264, 2011.
 142. Baur J. A. e Sinclair D. A., "Therapeutic potential of resveratrol: The in vivo evidence," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 5, pp. 493-506, 2006.
 143. Csiszar A., "Anti-inflammatory effects of resveratrol: possible role in prevention of age-related cardiovascular disease," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1215, pp. 117-122, 2011.
 144. Vingtdeux V. *et al.* "AMP-activated Protein Kinase Signaling Activation by Resveratrol Modulates Amyloid- β Peptide Metabolism," *J. Biol. Chem.*, vol. 285, nº 12, pp. 9100–9113 , 2010.
 145. Rege S. D. *et al.* "Neuroprotective effects of resveratrol in Alzheimer disease pathology," *Front Aging Neurosci.*, vol. 6, nº 218, pp.1-12, 2014.
 146. Faitelson A. V. *et al.* "Osteoprotective Effect of Enalapril, Losartan and Resveratrol in Experimental Osteoporosis," *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*, vol. 4, nº 2, pp. 30, 2012.
 147. Lin Q. *et al.* "Effects of Resveratrol on Bone Mineral Density in Ovariectomized Rats," *Int. J. Biomed. Sci.*, vol. 1, nº 1, pp. 76-81, 2005.
 148. Tresguerres I. *et al.* "Resveratrol As Anti-Aging Therapy for Age-Related Bone Loss," *Rejuvenation Res.*, vol. 17, nº 5, pp. 439-445, 2014.
 149. Shakibaei M., Buhrmann C. e Mobasheri A., "Resveratrol-mediated SIRT-1 Interactions with p300 Modulate Receptor Activator of NF-kB Ligand (RANKL) Activation of NF-kB Signaling and Inhibit Osteoclastogenesis in Bone-derived Cells," *J. Biol. Chem.*, vol. 286, nº 13, pp. 11492-11505, 2011.
 150. Ornstrup M. J. *et al.* "Resveratrol Increases Bone Mineral Density and Bone Alkaline Phosphatase in Obese Men: A Randomized Placebo-Controlled Trial," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 99, nº12, pp. 4720-4729, 2014.

151. Firooz A. *et al.* "Variation of Biophysical Parameters of the Skin with Age, Gender, and Body Region," *Scientific World Journal*, vol. 2012, pp. 1-5, 2011.
152. Batistela M. A., Chorilli M. e Leonardi G. R., "Abordagens no estudo do envelhecimento cutâneo em diferentes etnias," *Rev. Bras. Farm.*, vol. 88, nº 2, pp. 59-62, 2007 .
153. Murina A., Kerisit K. e Boh E., "Mechanisms of Skin Aging," *Cosmet. Dermatol.*, vol. 25 , pp. 399-402. , 2012 .
154. Naylor E., Watson R. e Sherratt M., "Molecular aspects of skin ageing," *Maturitas*, vol. 69, pp. 249– 256, 2011.
155. Montagner S. e Costa A., "Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento," *An. Bras. Dermatol.*, vol. 84, nº 3, pp. 263-269., 2009.
156. Mukherjee S. *et al.* "Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety," *Clinical Interventions in Aging*, vol. 1, nº 4, pp. 327–348, 2006.
157. Gweon E. J. e Kim S.-J., "Resveratrol attenuates matrix metalloproteinase-9 and -2-regulated differentiation of HTB94 chondrosarcoma cells through the p38 kinase and JNK pathways," vol. 32, nº 1, pp. 71-78, 2014.
158. Afaq F., Adhami V. M. e Ahmad N., "Prevention of short-term ultraviolet B radiation-mediated damages by resveratrol in SKH-1 hairless mice", *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 186, nº1, pp. 28-37, 2003.
159. Reagan-Shaw S. *et al.* "Modulations of critical cell cycle regulatory events during chemoprevention of ultraviolet B-mediated responses by resveratrol in SKH-1 hairless mouse skin," *Oncogene*, vol. 23, nº 30, pp. 5151-5160, 2004.
160. Aziz M., Afaq H., F. e Ahmad N., "Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in surviving," *Photochem Photobiol.*, vol. 81, nº 1, pp. 25-31, 2005.
161. McDaniel D. *et al.* "Idebenone: a new antioxidant - PartI. Relative assessment of oxidative stress protection capacity compared to commonly known antioxidants," *J. of Cosmetic Dermatology*, vol. 4, nº 1, pp. 10-17, 2005.
162. Lee T. H. *et al.* "Inhibitory Effects of Resveratrol on Melanin Synthesis in Ultraviolet B-Induced Pigmentation in Guinea Pig Skin," *Biomol. Ther. (Seoul)*, vol. 22, nº 1, pp. 35-40, 2014.

163. Buttari B. *et al.* "Resveratrol prevents dendritic cell maturation in response to advanced glycation end products", *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2013, pp.1-13, 2013.
164. Vercauteren J., "Live older, younger, more than a dream, a reality," Scientific Conference, Paris, pp. 1-18, 2013.

ANEXOS

Tabela 1- Quantidade de resveratrol presente nos diferentes vinhos portugueses. (Paulo L., "Determinação dos Teores de Resveratrol em Vinhos Tintos com Denominação de Origem Controlada Beira Interior e Avaliação das suas Propriedades Antimicrobianas," Tese de Doutoramento em Biomedicina, Universidade da Beira Interior, Covilhã, pp. 12, 2011)

Número de Amostras	Região	Castas	Ano	Concentração média (µg/mL)		Referência
				trans-resveratrol	cis-resveratrol	
4	Madeira	blend	ND	0,98	ND	(PEREIRA, V. [et al.], 2010)
14	Madeira	blend	ND	0,17	ND	(RUDNITSKAY A, A. [et al.], 2010)
3	Península de Setúbal	blend	2004	0,10	ND	(BRAVO, M.N. [et al.], 2008)
5	Madeira	monovarietal e blend	2004	19,60	ND	(PAIXAO, N. [et al.], 2008)
1	Alentejo	monovarietal	2005	1,47	ND	(NAVE, F. [et al.], 2007)
47	Alentejo	blend	1999	0,69	ND	(RATOLA, N. [et al.], 2004)
36	12 Regiões	monovarietal blend	1993-1998	2,01	0,43	(BAPTISTA, J.A.B. [et al.], 2001)
39	ND	monovarietal blend	ND	1,06	2,50	(LIMA, M.T.R. [et al.], 1999)
1	Porto	ND	ND	2,26	0,60	(GU, X. [et al.], 1999)
26	ND	ND	ND	1,64	ND	(GOLDBERG, D.M. [et al.], 1995c)

ND- Não Determinado

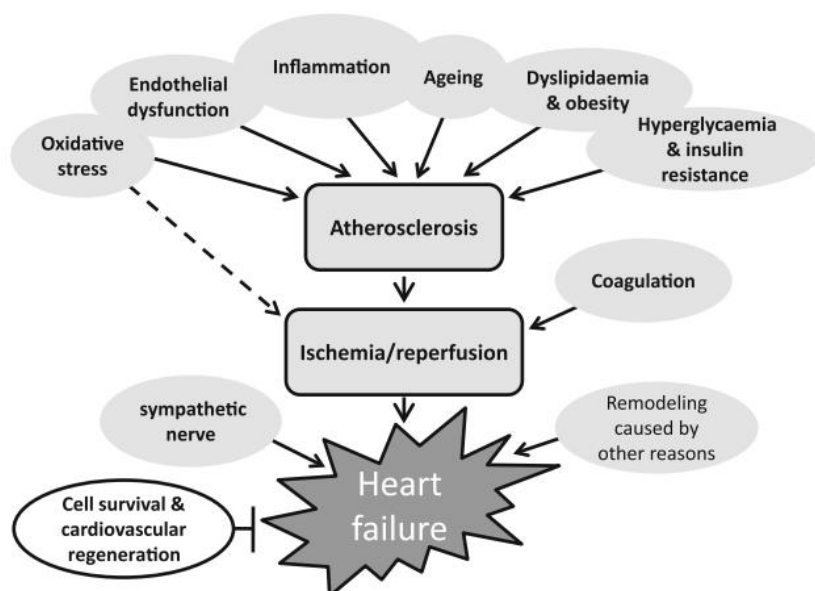


Figura 1 – Alvos do resveratrol na prevenção de doenças cardiovasculares. (H. Wang *et al.* "Resveratrol in cardiovascular disease: what is known from current research?", *Heart Fail Rev.*, pp. 9260-9264, 2011.)

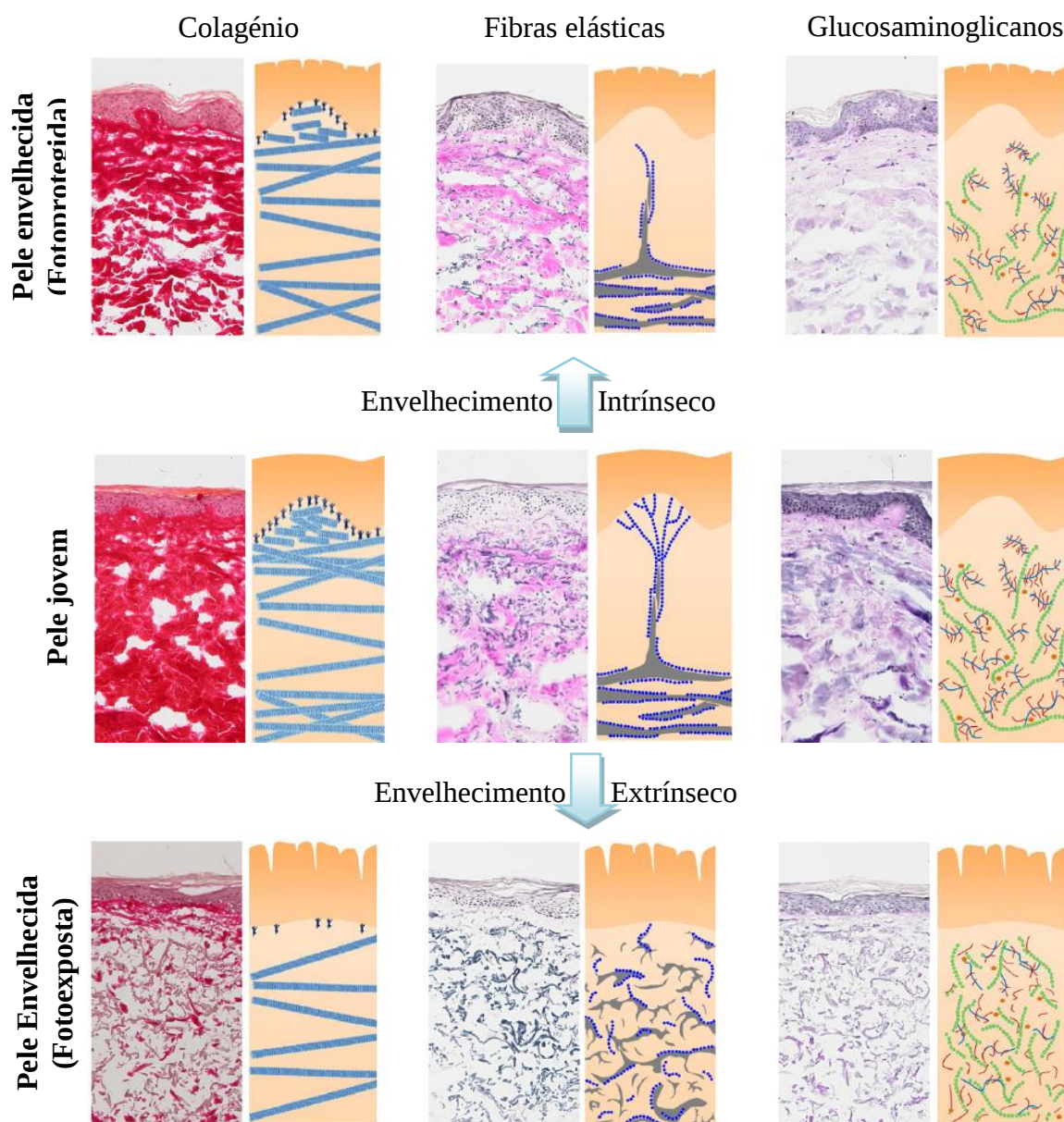


Figura 2 – Efeitos cutâneos no envelhecimento intrínseco e extrínseco.

(Adaptado de: Naylor E., Watson R. e Sherratt M., "Molecular aspects of skin ageing," *Maturitas*, vol. 69, pp. 249– 256, 2011.)