

Polifenoles naturales y protección cardiovascular

Dr Sc Pincemail J

**Servicio de Cirugía Cardiovascular
(Prof. Defraigne)**

**Plataforma alimentación antioxidante y salud
CHU de Liège**

email : J.Pincemail@chu.ulg.ac.be

**X congreso latinoamericano de Agronomía
17, 18 y 19 julio de 2019, Quevedo, Ecuador**



Las enfermedades cardiovasculares son responsables del mayor número de muertes , (17,7 millones por año), seguido de cánceres (8,8 millones), enfermedades respiratorias (3,9 millones) y diabetes (1,6 millones).

Factores clásicos de riesgo cardiovascular:

- ❖ Edad y sexo**
- ❖ Tabaquismo**
- ❖ Hipertensión**
- ❖ Obesidad**
- ❖ Hypercolesterol**
- ❖ Desequilibrio alimenticio**
- ❖ Sedentarismo**
- ❖ Consumo excesivo de alcohol**

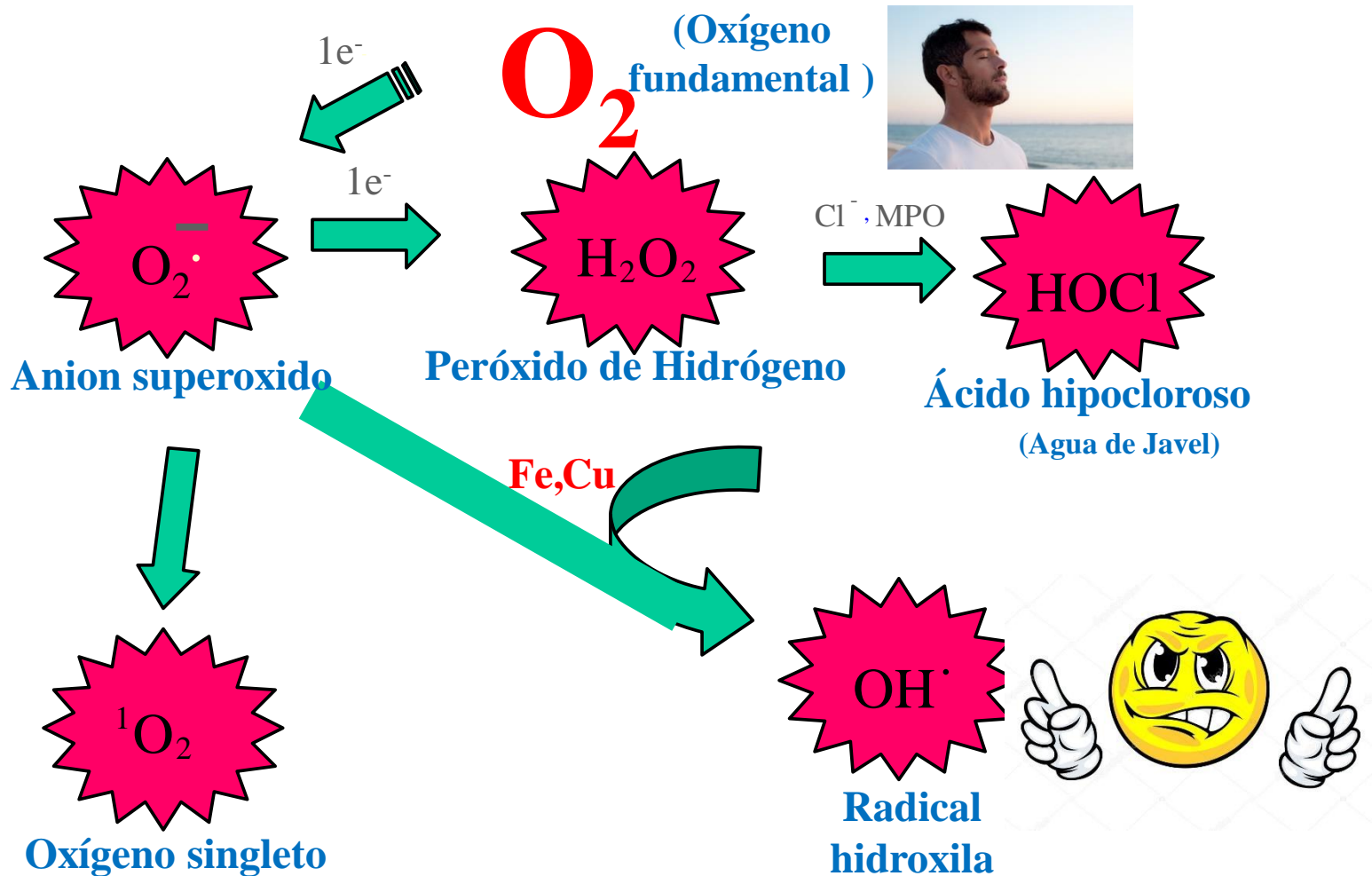
Factores de riesgo cardiovascular no clásicos

- ❖ **Hiperhomocistemia**
- ❖ **Factores psicosociales y medio-ambientales (epigenetismo)**
- ❖ **Factores hormonales (anticonceptivos orales)**
- ❖ **La concentración plasmática de la CRP (1,5 mg/L)**
 - ❖ **El estrés oxidante**
 - ❖ **La disfunción endotelial**

Definición actualizada del estrés oxidante (Jones et Sies, 2007)

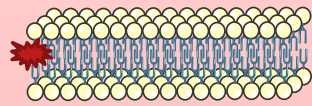
« Desequilibrio entre los oxidantes (EROs incluidos los radicales libres, peróxido de hidrógeno, oxígeno singlete, ácido hipocloroso) en favor de los primeros, estos que conducen a una ruptura de la señalización redox y a los daños celulares » .

**Definición que incluye efectos
tóxicos y fisiológicos de las EROs**



Las especies reactivas de Oxígeno (EROs)

Producción de derivados tóxicos oxigenados en exceso en nuestro organismo (radicales libres y agua oxigenada)

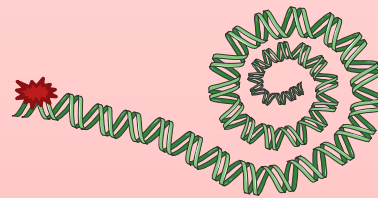


LIPIDOS

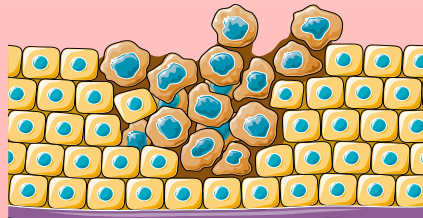


**Arteroclerosis,
enfermedades
cardiovaculares**

**Lipidos oxidados
(ROOH, LDL oxidadas)**

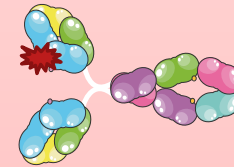


ADN

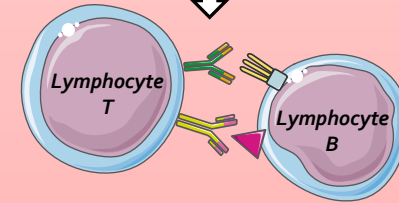


Cáncer

ADN oxidado (8OHdG)



PROTEINAS



**Enfermedades auto-
inmunes**

**Enfermedad de
Alzheimer...**

**Proteinas oxidadas
(carbonilas)**

Red compleja de antioxidantes

Enzimas antioxidantes

(Dismutasa del superoxido, Peroxidasa de la glutathiona peroxidasa, paraoxonasa, etc..)

Proteinas antioxidantes

(albumina, proteínas thioles)

Pequeños antioxidantes

(vitaminas C y E, carotenoides, glutathiona, ubiquinona, **polifenoles** (flavonoides), ...)

Inhibidores de enzimas productoras de EROs

(polyphénols, sels d'or, ...)

Quelatos de hierro

Red compleja de antioxidantes

Factores de transcripción

El sistema Keap1/Nrf2/ARE*,
regulado en parte por los
polifenoles alimenticios

* Antioxidant Response Element

Red compleja de antioxidantes

Endógenos

Enzimas antioxidantes

(Dismutasa del superóxido, Superóxido dismutasa de la glutatión, paraoxonasa, etc..)

Únicamente por la alimentación

Pequeños antioxidantes

(vitaminas C y E, carotenoides, glutatión, ubiquinona, **polifenoles** (flavonoides), ...)

oligoelementos necesarios para la actividad de ciertas enzimas antioxidantes

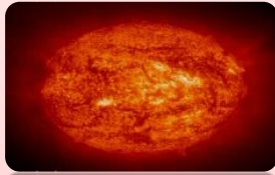
(selenio, cobre, zinc, ...)

Todos los estudios de observación indican que una alimentación pobre en antioxidantes naturales (vitaminas C et E, carotenoides, polifenoles) provocan mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y cánceres.

Fuentes de producción excesiva de EROs



Tabaquismo



Radiación



Asbesto



Contaminación



Nanopartículas



Píldoras
anticonceptivas

Además hiperglycemia, inflamación crónica, hipertensión arterial,
ejercicio físico intenso, **disfunción endotelial, estrés oxidante postprandial**

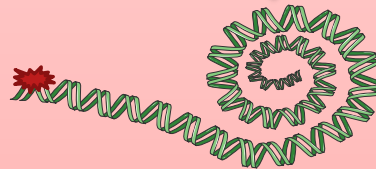
Producción de derivados tóxicos del oxígeno en exceso en el organismo
(radicales libres, agua oxigenada)



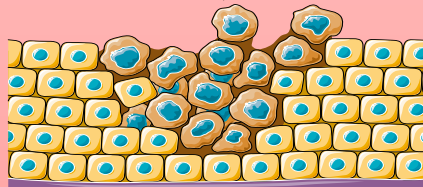
LIPIDOS



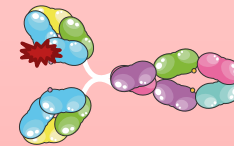
Arterioclerosis, enfermedades
cardiovasculares



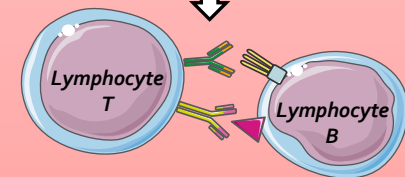
ADN



Cancers



PROTEINAS

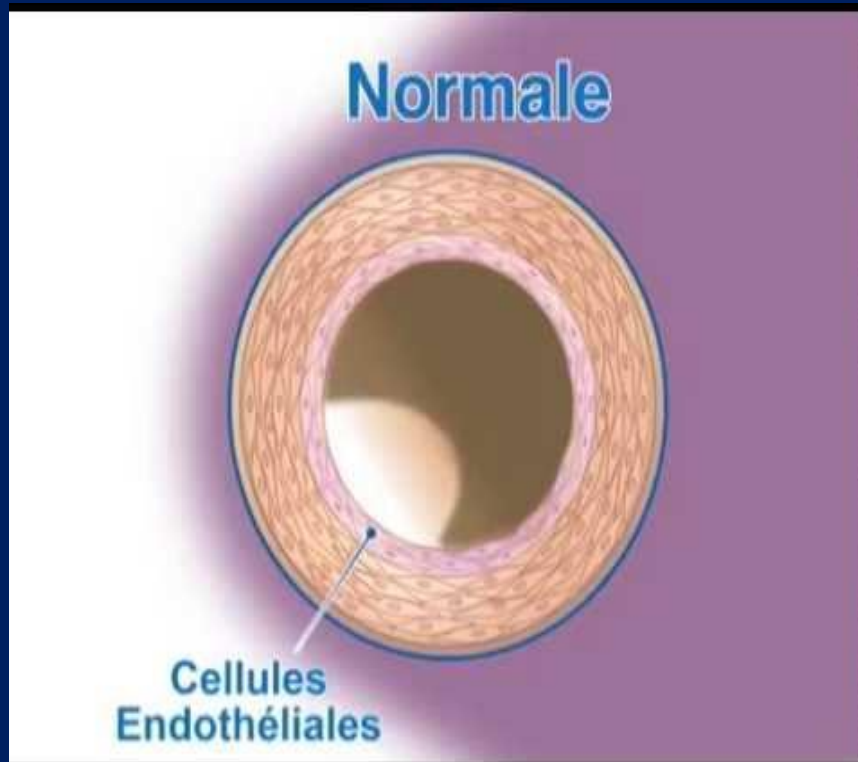
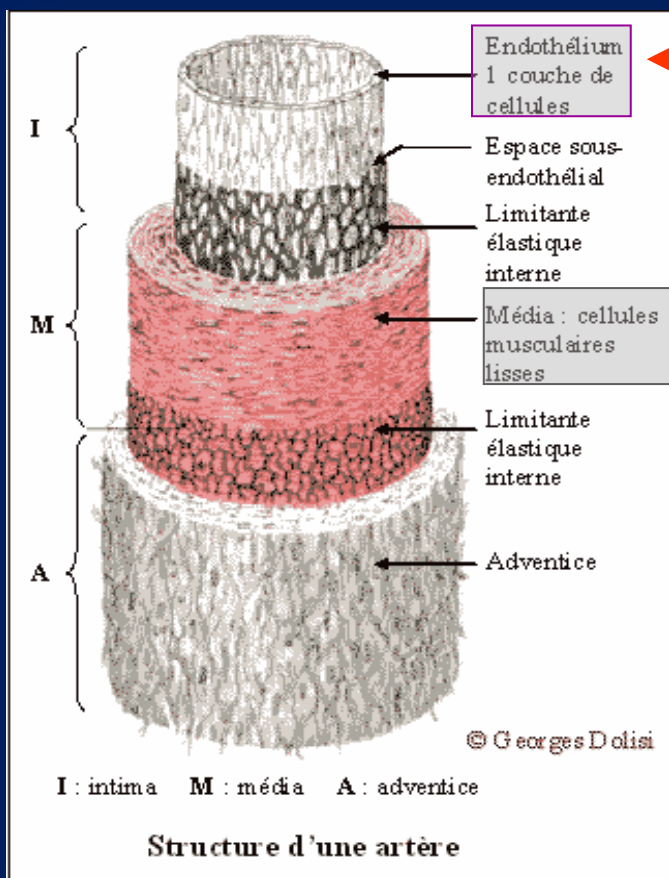


Enfermedades autoinmunes

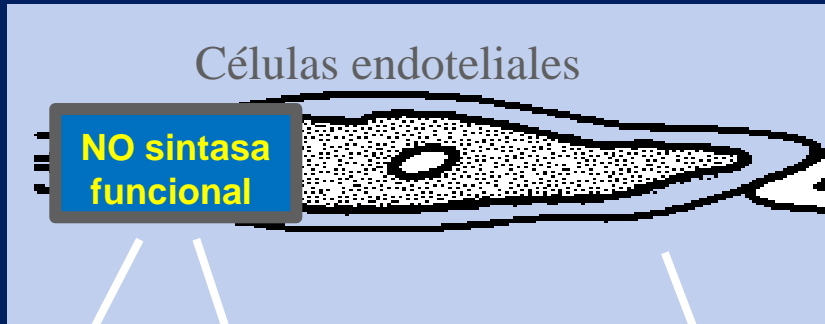
Alzheimer

La disfunción endotelial

Las células endoteliales, que están junto a la pared interna de todos los vasos sanguíneos, regulan la presión arterial.



Buena función endotelial



prostacyclina

NO

endothelina

vasodilatación

=

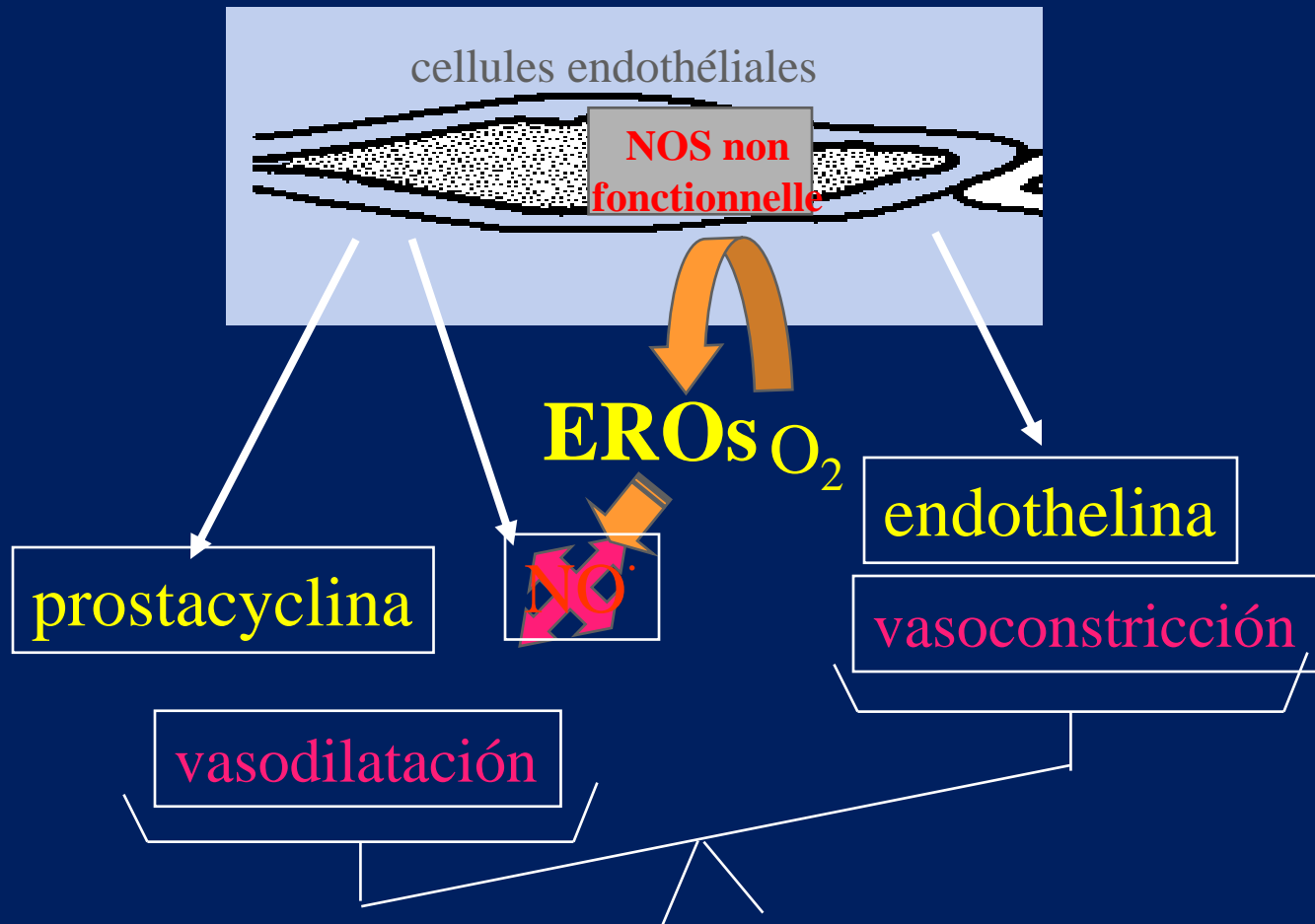
vasoconstricción

Buena presión arterial (120/80 mm Hg)

NO = monóxido d'azote



Disfunción endotelial

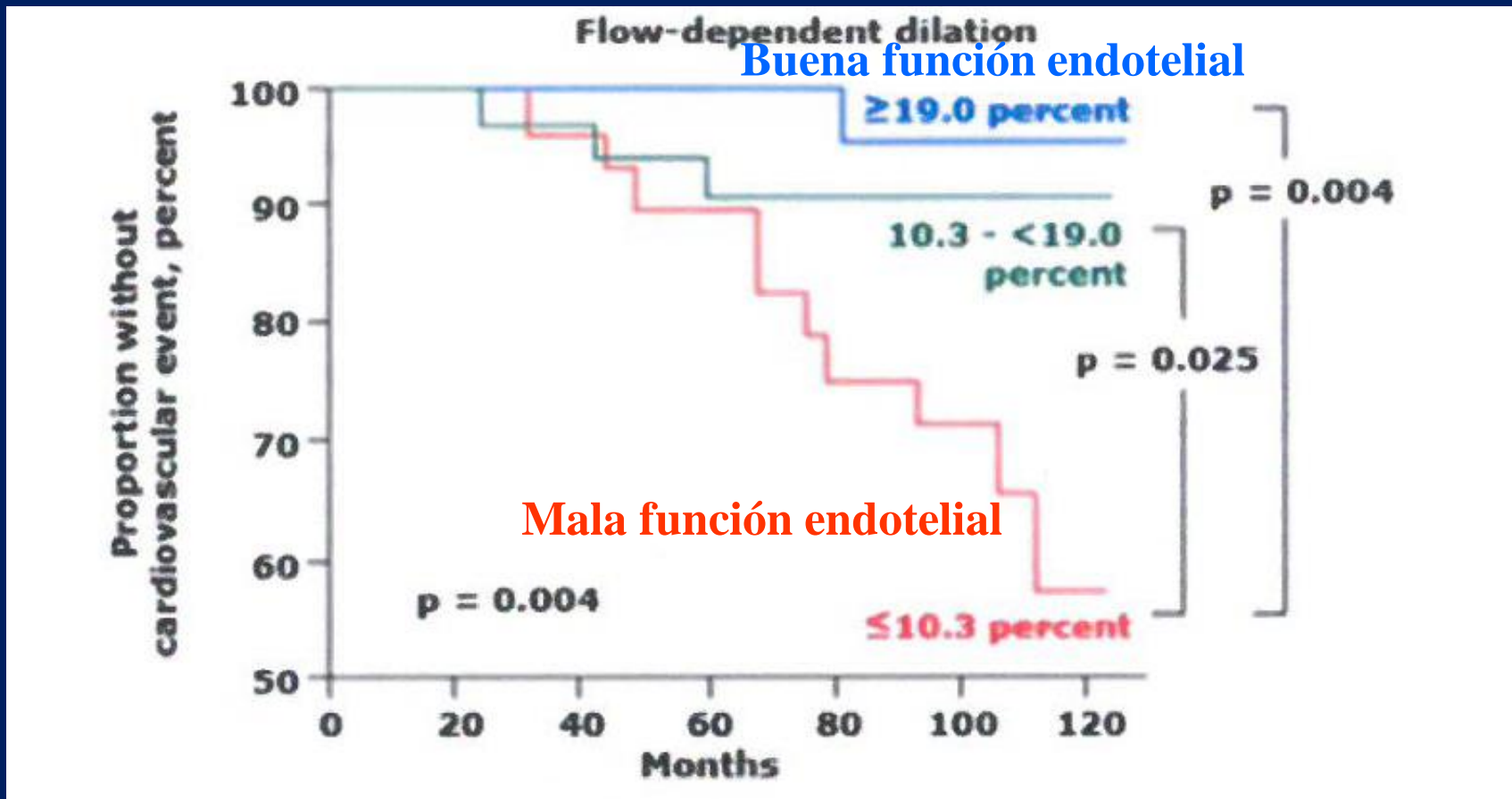


hipertensión arterial (140 mm/90 – 100 mm)
factor de riesgo cardiovascular

Endothelial dysfunction and cardiovascular disease.

Widmer and Lerman. Global Cardiology Science and Practice, 2014

Una función endotelial alterada provoca eventos coronarios en los pacientes con riesgo de desarrollar enfermedades.

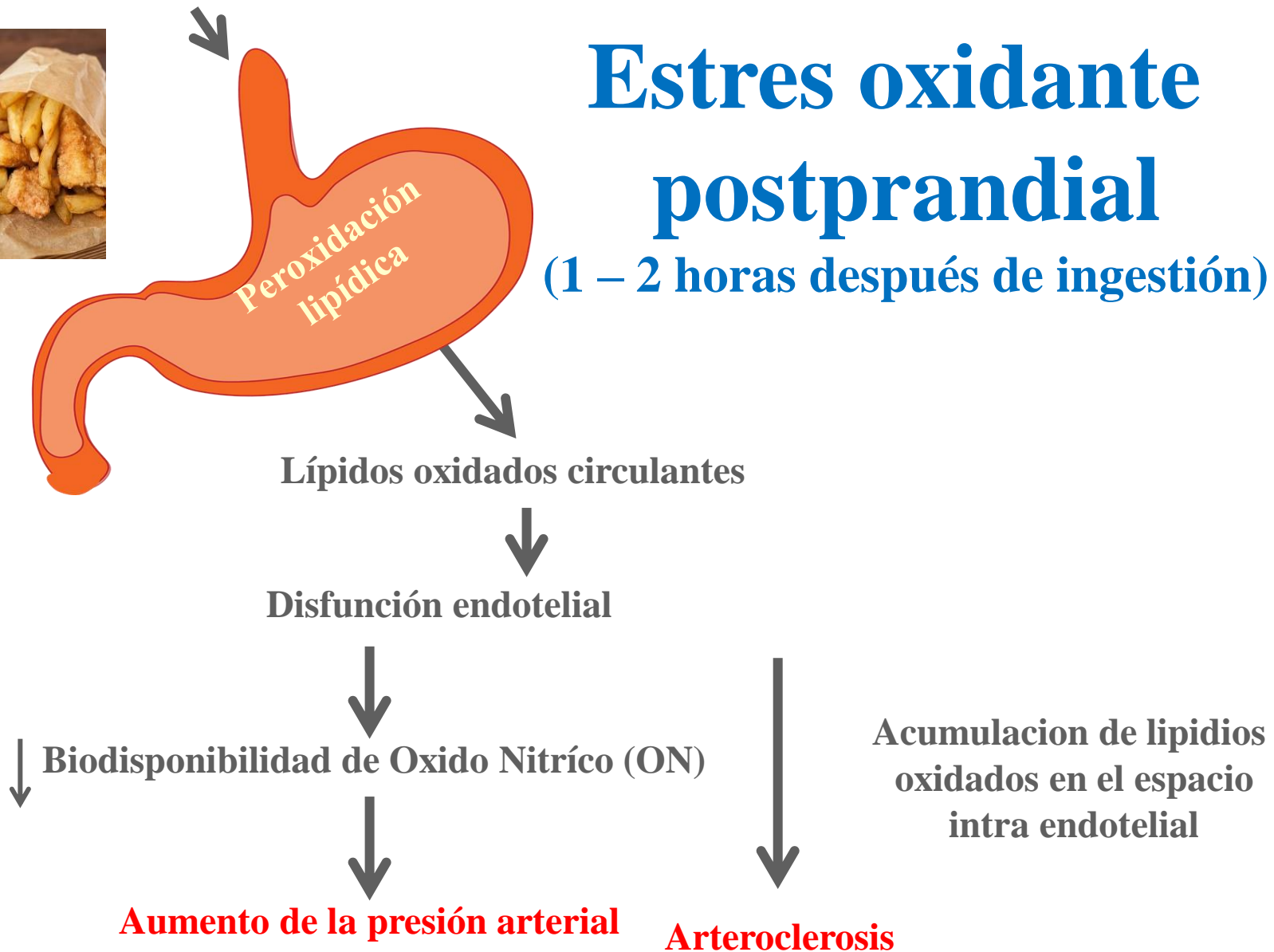


Comida rica en lípidios (800 - 1300 kcal)



Estres oxidante postprandial

(1 – 2 horas después de ingestión)



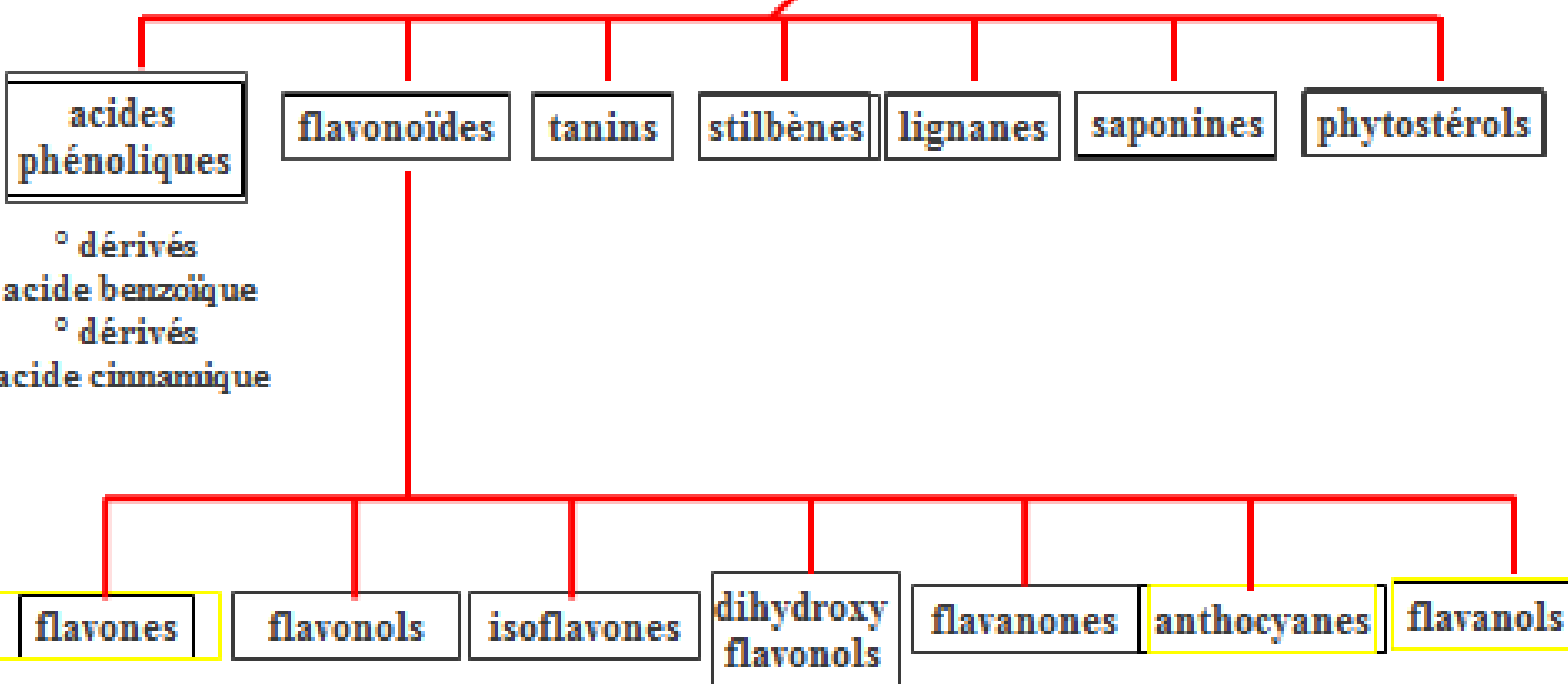
Polifenoles alimenticios y la salud cardiovascular



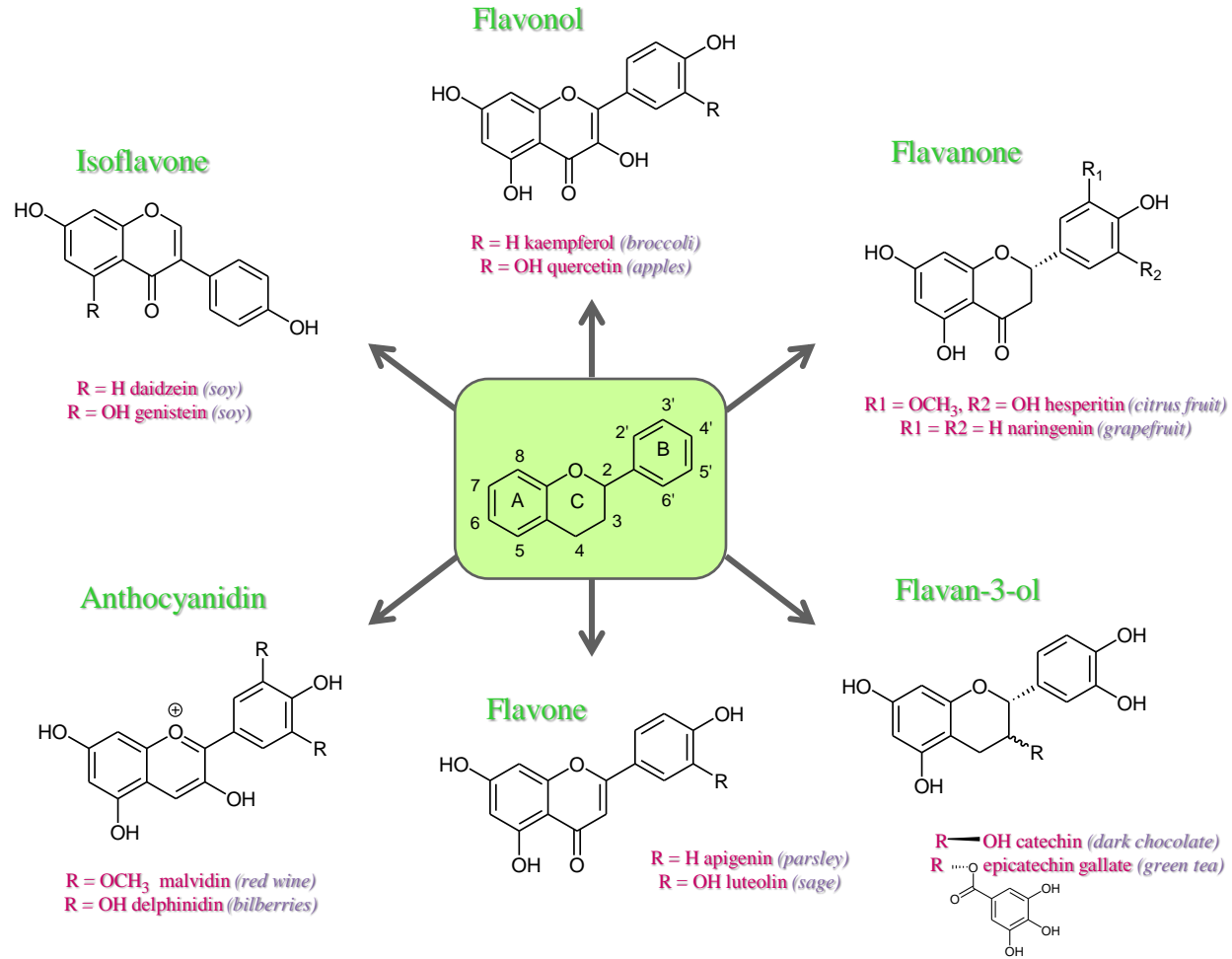
Polifenoles: Definición General

- Conjunto de moléculas que llevan funciones **alcohólicas** sobre los **ciclos aromáticos**
- Estos son metabolitos secundarios de vegetales:
 - Que participan en las reacciones de defensa de los **végétales** frente a diversos tipos de estrés bióticos o abióticos (patógenos, herbívoros, rayos UV, gel)
 - Que no representan carácter tóxico y son consumidos en la matriz vegetal
 - Poseen propiedades organolépticas

les polyphénols

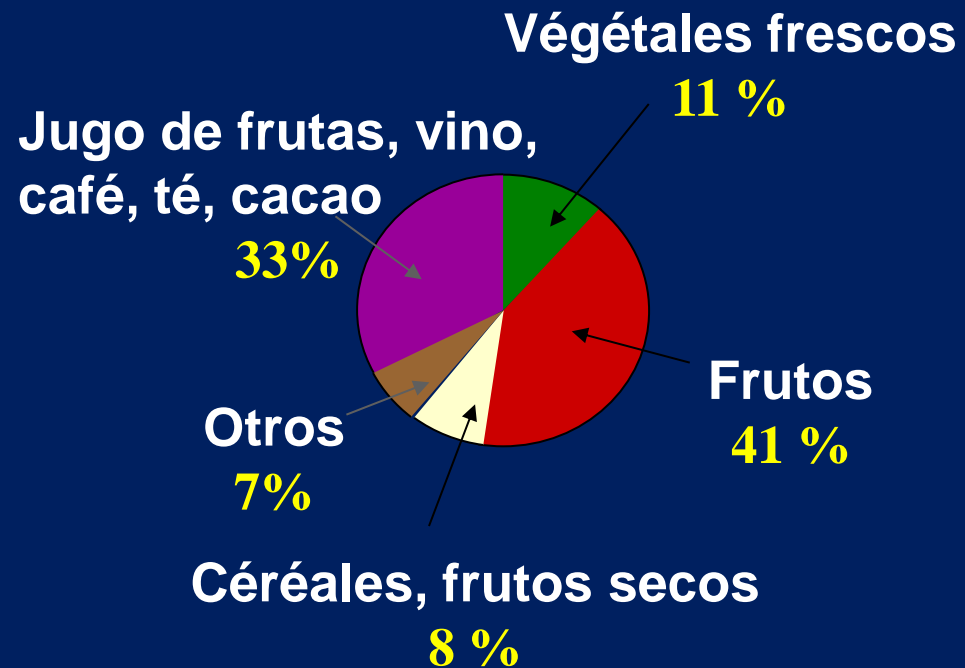


Los flavonoides



Fuentes alimenticias de polifenoles

**Aporte diario
recomendado:
1000 mg**



FLAVONOLES

(quercétine, kaempférol, myricétine, isorhamnétine)



FLAVONAS

(lutéoline, apigénine)



FLAVANONAS

(héspérétine, naringénine, ériodictyol)



CATEQUINAS (proanthocyanidines)

(catéchines, épicatechine, epigallocatechine)



ANTOCIANINAS

(cyanidine, delphinidine, malvidine, péonidine, petunidine, pelargonidine)



ISOFLAVONAS

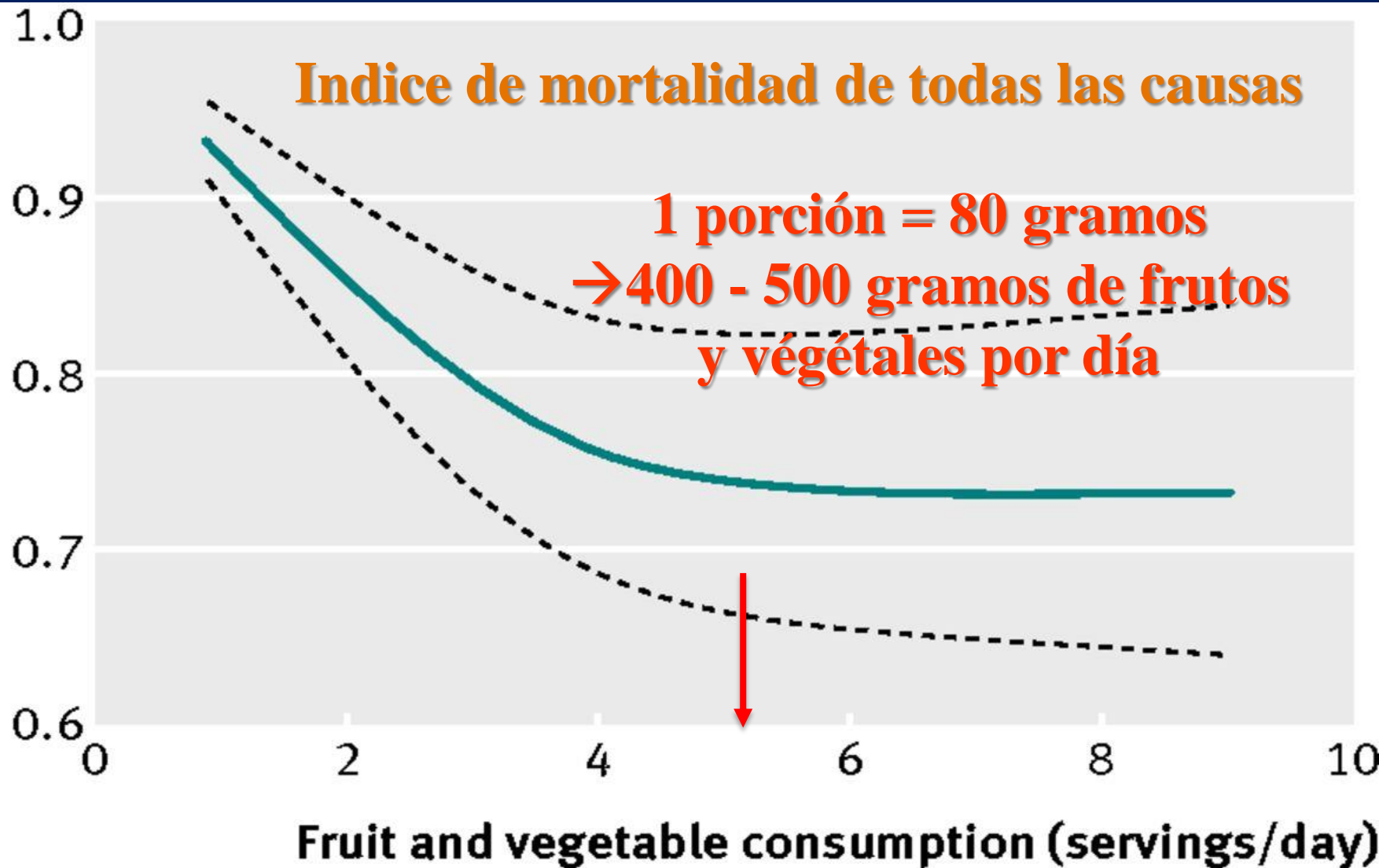
(daidzéine, génistéine, glycitéine)



Los frutos en Ecuador



833.234 participantes



Wang et al. BMJ 2014;349:g4490

**Mecanismos moleculares explicando
las propiedades cardiovasculares
de los polifenoles**

**P
O
L
Y
P
H
E
N
O
L
S**

anti - bacterial

anti - inflamatorio

Aumento de HDL – colesterol, reducción de LDL colesterol

regulador de la glicemia

anti - aterogeneo

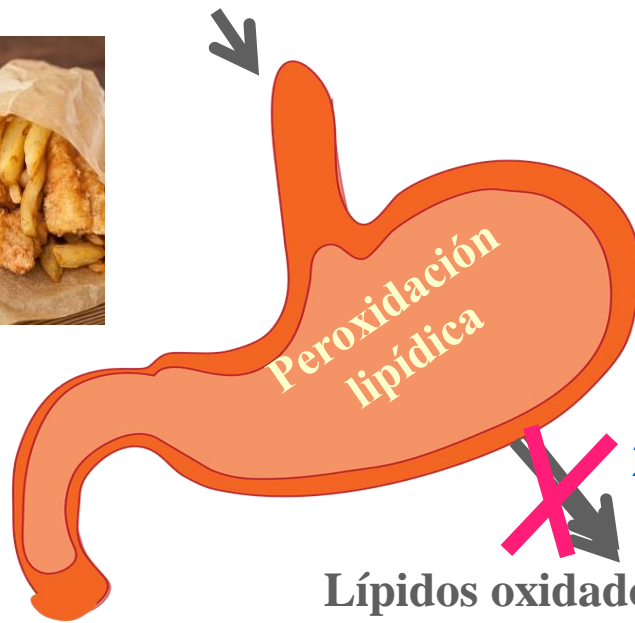
**Actividad antioxidante (únicamente estómago)
(reducción de estrés oxidante post – prandial)**

Comida rica en lípidios (800 - 1300 kcal)



Estres oxidante postprandial

(1 – 2 horas después de ingestión)



polifenoles :

2 raciones de vegetales,
un vaso de vino rojo

Lípidos oxidados circulantes

Disfunción endotelial

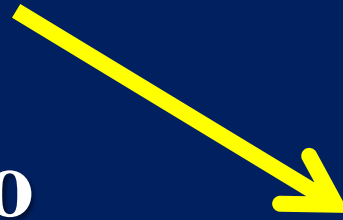
↓ Biodisponibilidad de Oxido Nitríco (ON)

Aumento de la presión arterial

Acumulacion de lípidios
oxidados en el espacio
intra endotelial

Arteroclerosis

**Acción antioxidante
de polifenoles:
trampa de especies
reactivas de oxígeno
in vitro (mM)**



~~**Acción antioxidante
de polifenoles:
trampa de especies
reactivas de oxígeno
in vitro (μM)**~~

Las concentraciones plasmáticas y celulares de polifenoles son muy bajas (μM) para que puedan actuar directamente como trampas de EROs.

**P
O
L
Y
P
H
E
N
O
L
S**

anti - bacterial

anti - inflamatorio

Aumento de HDL – colesterol, reducción de LDL colesterol

regulador de la glicemia

anti - aterogeneo

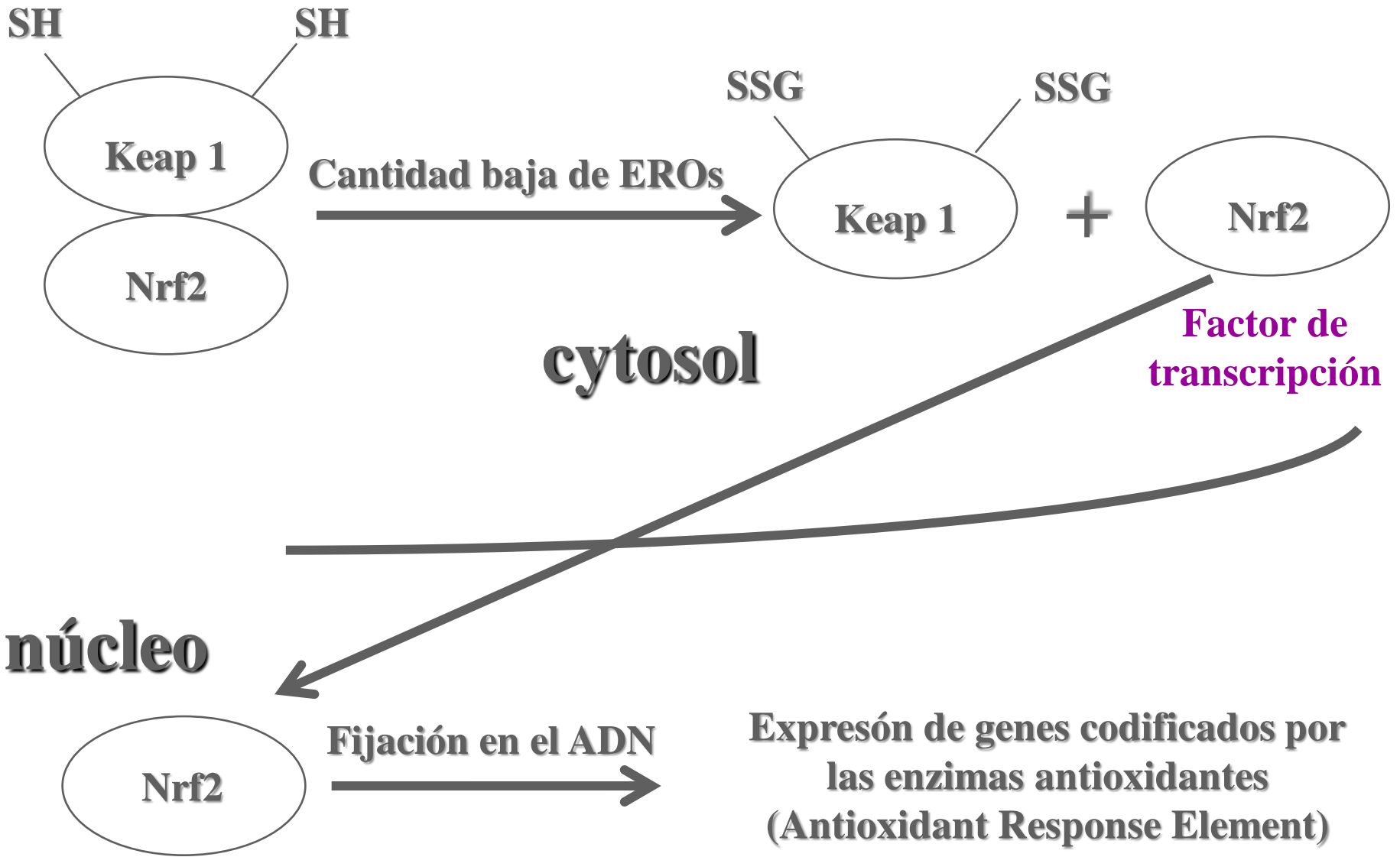
**Actividad antioxidante (únicamente estómago)
(reducción de estrés oxidante post – prandial)**

**Estimulador de enzimas antioxidantes
(Efecto hormesis a nivel celular)**

El Sistema Antioxidante

Keap1/Nrf2/ARE*

***Antioxidant Response Element**



El sistema antioxidante Keap1/Nrf2/ARE

- **hème oxygénase (HOX)** : transforme l'hème en biliverdine à caractère antioxydant et en monoxyde de carbone à caractère antiinflammatoire
- **glutathion-S-transférase (GST)** : catalyse la réaction du GSH avec les agents électrophiles endogènes (radicaux libres)
- **NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (Nqo1)** : réduit les quinones toxiques
- **glutamate – cystéine ligase (Gclc)** : impliqué dans la synthèse du GSH (facteur limitant)
- **heat shock protéines (HSP 70 et 90)**
- **protéasome S26** (élimination des protéines oxydées)
- **superoxyde dimutase** (élimination de l'anion superoxyde)
- **thioredoxine réductase** (réduction des oxydants)
- **Acción desintoxicante de las enzimas antioxidantes superiores a los pequeños antioxidantes**

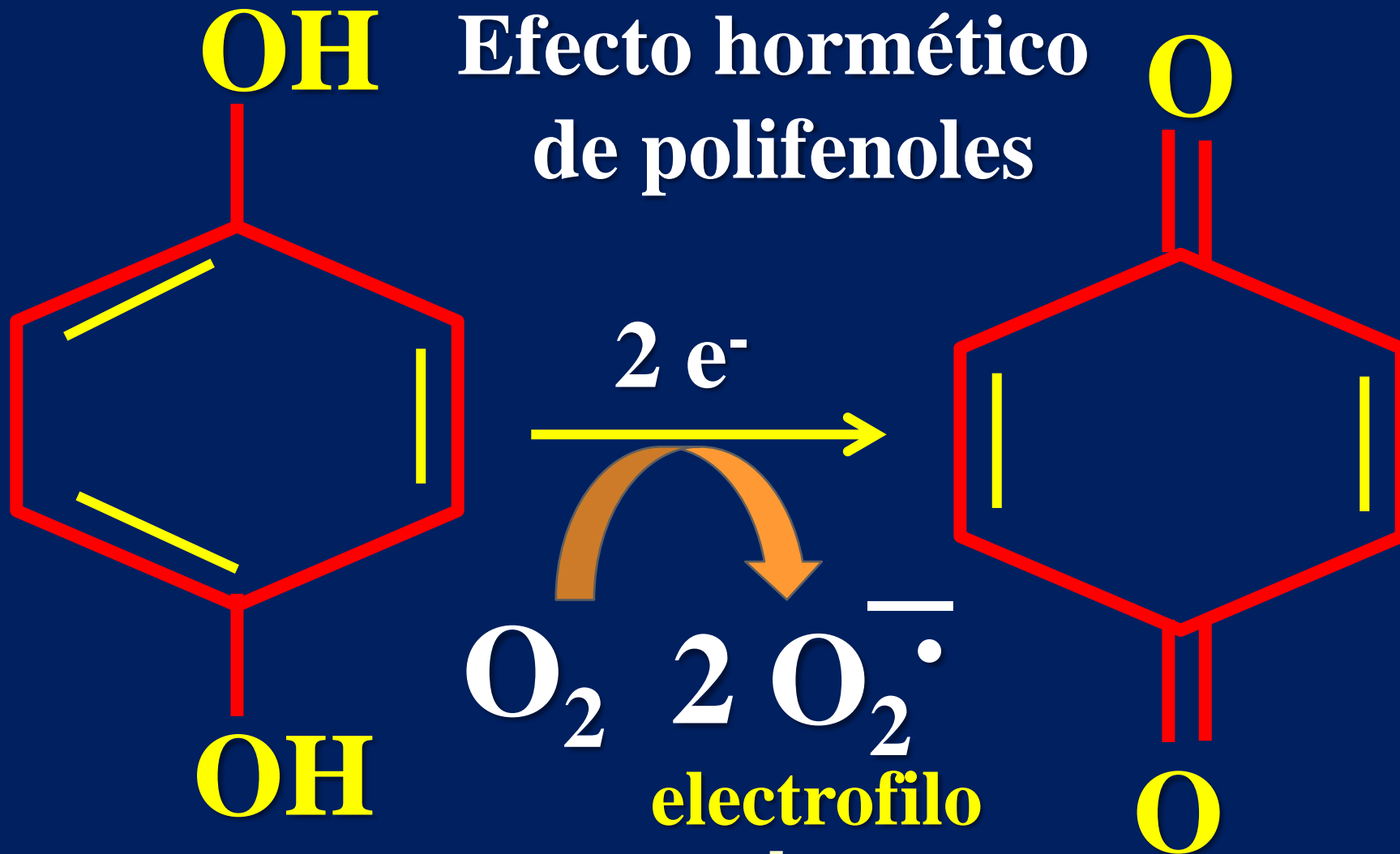
Chen QM, Maltagliati AJ

**Nrf2 at the heart of oxidative stress
and cardiac protection.**

Physiol Genomics 2018, 50(2):77-97.

The NFE2L2 gene encodes the transcription factor Nrf2 best known for regulating the expression of antioxidant and detoxification genes. Gene knockout approaches have demonstrated its universal cytoprotective features. While Nrf2 has been the topic of intensive research in cancer biology since its discovery in 1994, understanding the role of Nrf2 in cardiovascular disease has just begun. The literature concerning Nrf2 in experimental models of atherosclerosis, ischemia, reperfusion, cardiac hypertrophy, heart failure, and diabetes supports its cardiac protective character. In addition to antioxidant and detoxification genes, Nrf2 has been found to regulate genes participating in cell signaling, transcription, anabolic metabolism, autophagy, cell proliferation, extracellular matrix remodeling, and organ development, suggesting that Nrf2 governs damage resistance as well as wound repair and tissue remodeling. A long list of small molecules, most derived from natural products, have been characterized as Nrf2 inducers. These compounds disrupt Keap1-mediated Nrf2 ubiquitination, thereby prohibiting proteasomal degradation and allowing Nrf2 protein to accumulate and translocate to the nucleus, where Nrf2 interacts with sMaf to bind to ARE in the promoter of genes. Recently alternative mechanisms driving Nrf2 protein increase have been revealed, including removal of Keap1 by autophagy due to p62/SQSTM1 binding, inhibition of β TrCP or Synoviolin/Hrd1-mediated ubiquitination of Nrf2, and de novo Nrf2 protein translation. We review here a large volume of literature reporting historical and recent discoveries about the function and regulation of Nrf2 gene. Multiple lines of evidence presented here support the potential of dialing up the Nrf2 pathway for cardiac protection in the clinic.

Efecto hormético de polifenoles



Activación del sistema Keap1/Nrf2/ARE



Producción de EROs en cantidades moderadas por auto oxidación de los polifenoles

adaptación (hormesis)

Estimulación de enzimas antioxidantes

Protección cardiovascular

**P
O
L
Y
P
H
E
N
O
L
S**

anti - bacterial

anti - inflamatorio

Aumento de HDL – colesterol, reducción de LDL colesterol

regulador de la glicemia

anti - aterogeneo

**Actividad antioxidante (únicamente estómago)
(reducción de estrés oxidante post – prandial)**

**Estimulador de enzimas antioxidantes
(Efecto hormesis a nivel celular)**

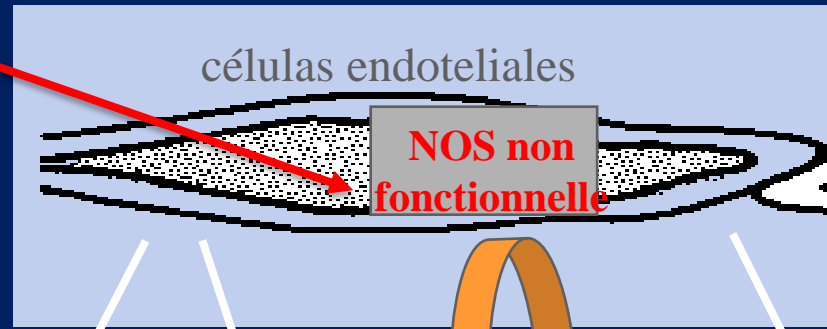
**Mantenimiento de una buena función endotelial
(Regulador de la presión arterial sanguínea)**

Disfunción endotelial

Super expresión de la
NO sintasa por los
polifenoles



Restauración de la
producción de NO



prostacyclina

EROs_{O₂}

NO

endothelina

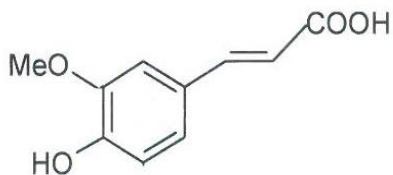
vasoconstricción

vasodilatación

Polyphénols du cacao

Acides phénoliques

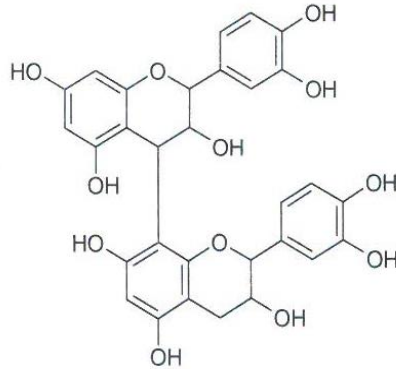
Acide férulique
(25 ppm)



Acide caféique,
Acide vanillique,
Acide syringique,
....

Antioxydant,
précurseur d'arôme

Flavonoïdes et Anthocyane

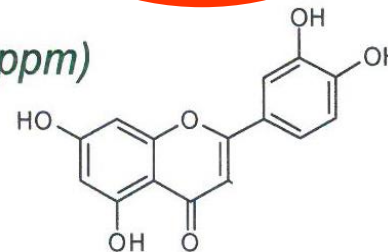


Flavonols: Quercétine (25 ppm)

Flavones:
Lutéoline, Apigénine

Flavanones: Naringénine

Anthocyanidines: Cyanidine-glycoside

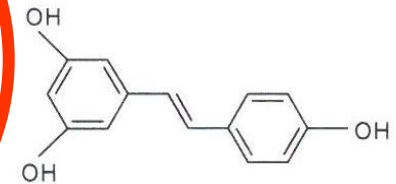


Antioxydant, Astringent, couleur,
propriétés cardioprotectrices,

Flavanols:
catéchine, épicatechine,
dimères, trimères
-> Oligomères
Total: 97000 ppm**

Stilbènes*

trans-Resvératrol



trans-Picéide



Propriétés
cardioprotectrices,
anti-inflammatoires
et anti-cancéreuses

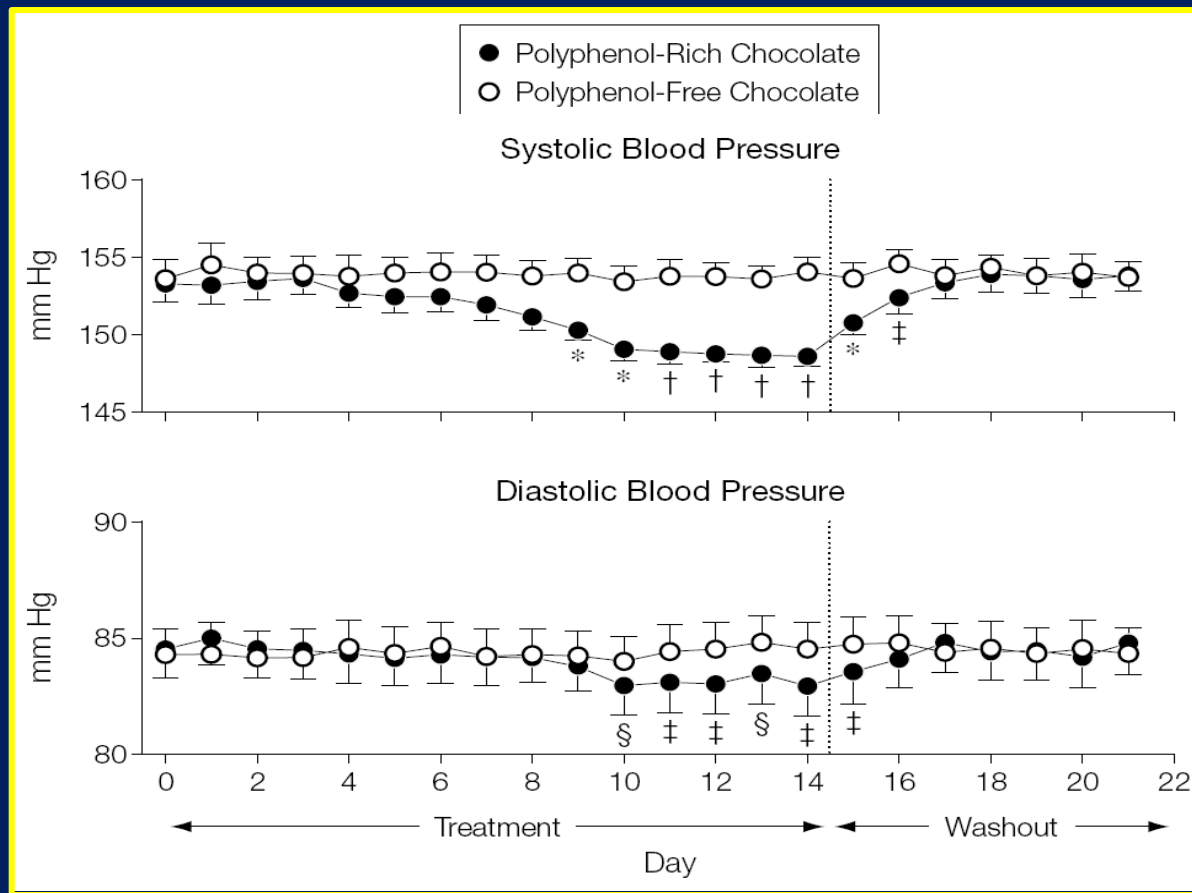
* Counet, Callemien, Collin, *Food Chem.*, 98 (2006), 649-657.

** L. Gü, *et al*, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (2002), 4852-4860.

Hooper et al. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. Am J Clin Nutr 2012.

Intake of Polyphenol-rich Dark Chocolate lowers Blood Pressure in Subjects with Mild Isolated Hypertension

Daily intake of: - 10 g dark chocolate for 14 days (polyphenol-rich chocolate)
- 9 g white chocolate for 14 days (polyphenol-free chocolate)



Auteur	Année	Nb	Animaux/patients	Durée	Intervention	Résultats
Heiss ⁹	2003	26	Patients avec au moins un facteur de risque cardiovasculaire	2 heures (crossover)	Boisson au cacao riche en flavanols (100 ml)	Amélioration de la vasodilatation postischémique
Fisher ¹⁰	2003	27	Personnes saines	5 jours	Cacao riche en flavanols (821 mg/j)	Meilleure vasodilatation postischémique évaluée par l'amplitude de l'onde de pouls digital
Engler ¹¹	2004	21	Sujets sains	2 semaines	Chocolat riche en flavonoïdes (213 mg de procyanidine, 46 mg d'épicatéchine) vs chocolat pauvre en flavonoïdes	Amélioration de la vasodilatation postischémique dans l'artère brachiale, augmentation des concentrations d'épicatéchine
Grassi ¹²	2005	20	Hypertension essentielle non traitée	15 jours (crossover)	100 g de chocolat noir (21,91mg catéchine, 65,97 mg épicatechines) vs chocolat blanc sans flavanol	Vasodilatation postischémique accrue dans l'artère brachiale. Réduction de la pression artérielle et du LDL-cholestérol, augmentation de la sensibilité à l'insuline
Heiss ¹³	2005	11	Fumeurs	2 heures (crossover)	100 ml de boisson au cacao avec une teneur élevée (176-18 mg) ou faible (< 11 mg) en flavanols	Augmentation de la vasodilatation postischémique et de la quantité totale de NO circulant. Augmentation des métabolites du flavanol
Hermann ¹⁴	2006	20	Fumeurs sains	2 heures	40 g chocolat noir disponible dans le commerce vs chocolat blanc	Augmentation de la vasodilatation postischémique dans l'artère brachiale. Amélioration de l'état antioxydant et de la fonction plaquettaire
Flammer ¹⁵	2007	22	Transplantés cardiaques	2 heures	40 g de chocolat noir disponible dans le commerce vs placebo chocolat sans flavonoïdes	Vasodilatation coronarienne, amélioration de la fonction endothéliale et de la fonction plaquettaire
Shiina ¹⁶	2008	39	Bonne santé	2 semaines	45 g de chocolat noir disponible dans le commerce vs chocolat blanc	Amélioration dans la circulation coronaire
Karim ¹⁷	2000	5	Anneaux aortiques de rat	Immédiatement	Procyanidines extraits du cacao	Vasodilatation endothéliale par l'activation de la NO synthase
Schroeter ¹⁸	2006	16	Sujets, anneaux de lapin isolés		Boisson à haute teneur en flavonoïdes	Amélioration de la vasodilatation postischémique, parallèlement à l'apparition de flavanols dans le plasma. Un régime riche en flavanols est associé avec une forte excrétion urinaire de métabolites du NO

El chocolate negro y el reclamo por salud

En Europa, un reclamo por salud fue obtenido por Barry Callebaut, fabricante belga de chocolates, Quienes ahora pueden indicar en sus embajales:

« Los flavanoles de cacao permiten mantener una buena elasticidad de los vasos, que contribuyen a a un flujo sanguíneo normal».

20mg de Flavonoles/10g de Chocolate

Q-2013-00832 Commission Regulation (EU) 2015/539 of 31/03/2015 - Authorised 20/04/2020

Barry Callebaut Belgium nv. Aalstersestraat 122 Lebbeke-Wieze B-9280 BELGIUM



100% Natural Flavanol

LAVLE

Dark Chocolate

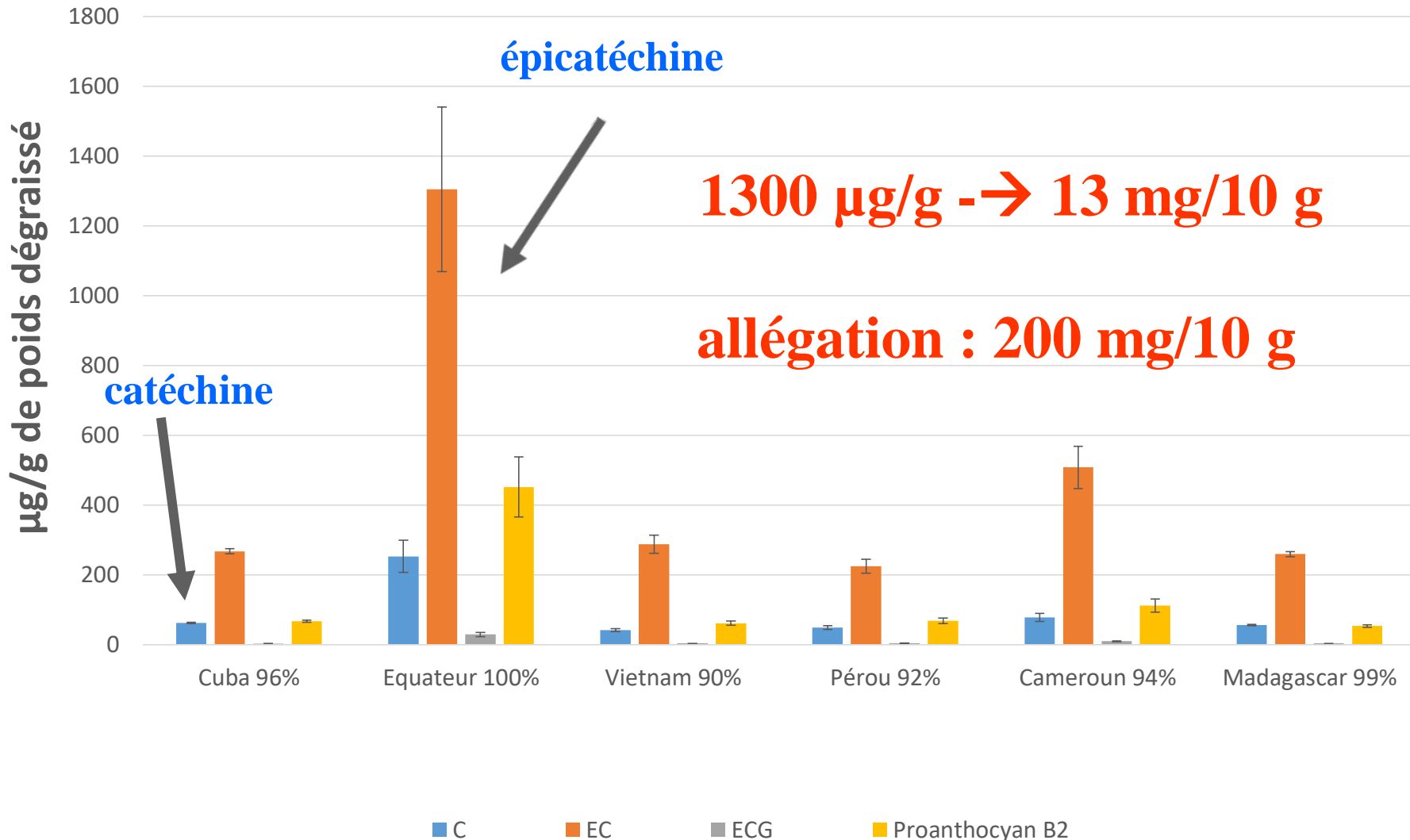


100% Natural Flavanol



Estudio preliminar con una chocolatería belga DARCIS (Verviers) : « De la almendra a la barra »

FLAVANOLES





LA FABRICATION DU CHOCOLAT

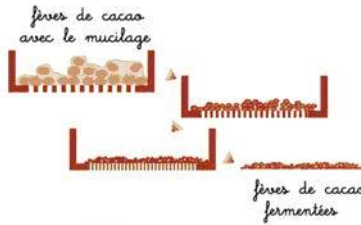


1 CACAoyer **2 CABOSSE**



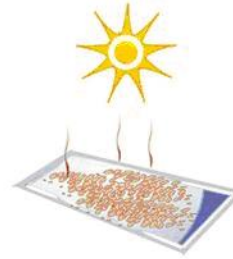
3 ECABOSSAGE

D'un coup de gouache, on ouvre les cabosses. On y trouve les fèves de cacao enveloppées d'une pulpe blanche : le mucilage.



4 FERMENTATION

Le mucilage s'écoule, les fèves se modifient, les précurseurs d'arôme se développent.



5 SÉCHAGE

Séchés au soleil ou dans des séchoirs artificiels durant deux semaines, les fèves de cacao prennent leur couleur brune.



6 CONCASSAGE

A partir de la fève on sépare le grain de cacao de la coque.

7 TORRÉFACTION

Les grains de cacao sont grillés.

grains de cacao

Conservación de polifenoles originales?????



8 BROYAGE

A partir du broyage des grains de cacao on obtient la pâte de cacao.

*Lait : pour chocolat au lait

10 MALAXAGE

Pour obtenir le chocolat, on mélange dans le pétrin les différents ingrédients.



11 BROYAGE

Pour obtenir une pâte fine.



12 CONCHAGE

Pour rendre le chocolat plus lisse et affiner le goût.

C'est ici que le savoir-faire du chocolatier se révèle



13 TEMPÉRAGE

C'est le tempérage qui permet une bonne cristallisation du chocolat en lui donnant un aspect brillant, une texture croquante et fondante.

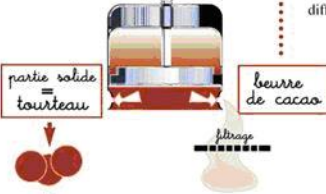


14 MÉLANGE

Le chocolat est associé selon les goûts aux noisettes, amandes, raisins, fruits confits, céréales, riz soufflé...

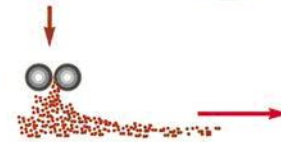
9 PRESSAGE

A partir de la pâte de cacao, le pressage sépare la partie liquide : le beurre de cacao et la partie solide : le tourteau.



9 bis BLUTAGE

Le tourteau est passé à travers un tamis pour obtenir la poudre de cacao.



Poudre de cacao

Tablettes, Moulages, Bonbons de chocolat, Barres, Billes de chocolat, Pâtes à tartiner.

15 MOULAGE OU ENROBAGE



LE CHOCOLAT NOIR





LE CHOCOLAT AU LAIT



LE CHOCOLAT BLANC



Conclusiones

El estrés oxidante ( EROs  antioxidantes) es implicado en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares via la oxidación de lípidos y disfunción endotelial.

Para un efecto oxidante moderado, los polifenoles alimenticios activan el sistema (Keap1/Nrf2/ARE) que lleva a la super expresión de genes codificados por las enzimas antioxidantes.

conclusiones

De esta manera, los polifenoles alimenticios pueden restaurar una buena función endotelial en pacientes hipertensos.

**Los flavanoles del chocolate negro son de potentes reguladores de la función endotelial permiten además mantener una buena presión arterial sanguínea
-> factor cardioprotector.**





conclusions

**Importance de la valorisation santé
du chocolat noir équatorien**

LE CONCEPT ETENDU 0 – 5 – 30 – 125

Protection cardiovasculaire avérée



0

Pas de cigarettes



5

5 fruits & légumes par jour



30

30 minutes d'activité physique modérée par jour



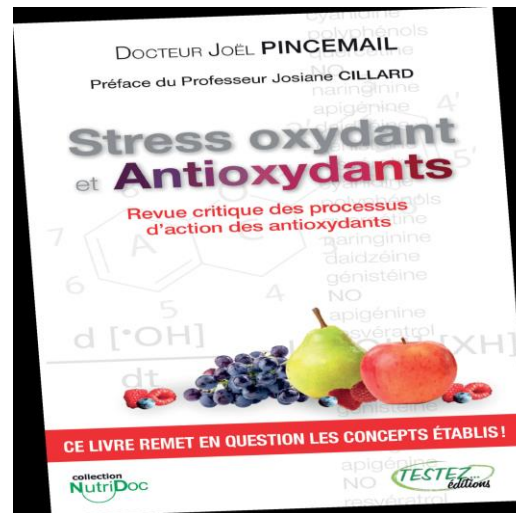
125

125 ml de vin rouge (1 verre) par jour

EXTENSION DU CONCEPT

POUR EN SAVOIR PLUS

Pincemail J. Stress oxydant et antioxydants.
TestezEditions, Liège, 2014.



POUR EN SAVOIR PLUS

**Minet et Pincemail. Les polyphénols, ces antioxydants encore méconnus.
Ed Province de Liège, 2017.**

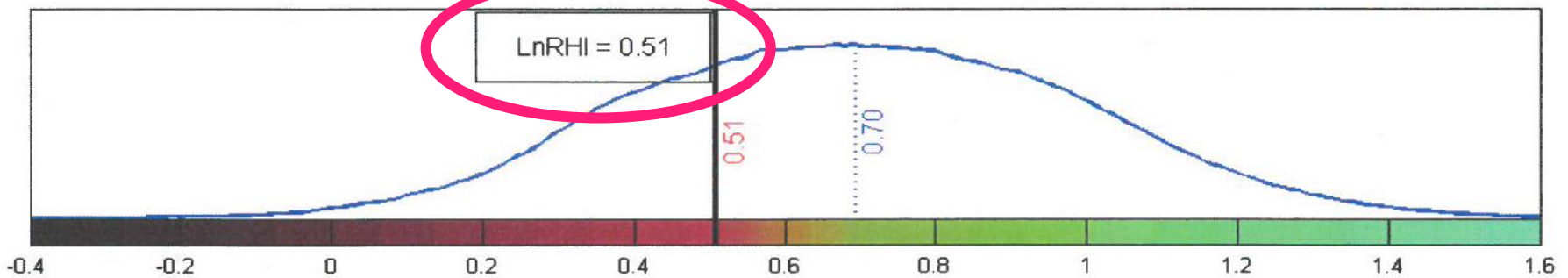


PAT Signals

EndoPat 2000 system



LnRHI distribution in non-selective population



espèces oxygénées activées

tabagisme, pollution,
radiations, nanoparticules,
hyperglycémie, pilule
contraceptive,
hypertension, exercice
physique intense



excessif

lipides

ADN

protéines

cancer

athérosclérose,
maladies
cardiovasculaires

maladie
d'Alzheimer

messagers secondaires,
facteurs de
transcription

physiologique

modéré

adaptation

(hormésie)

expression de gènes codant pour
des enzymes antioxydantes

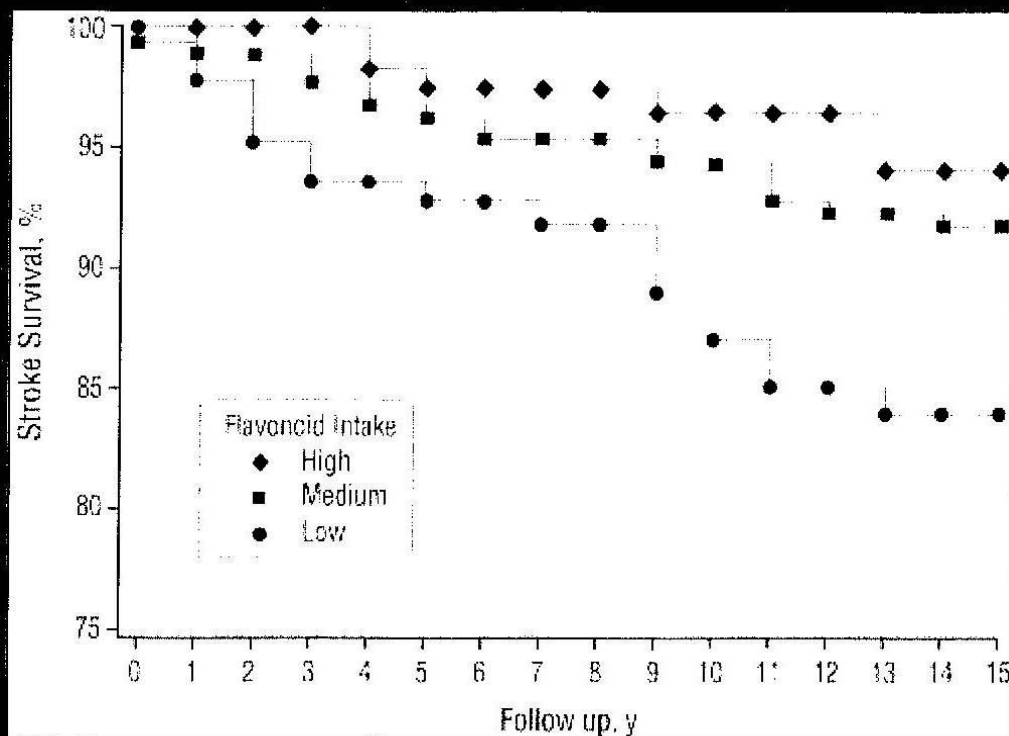
polyphénols
alimentaires,
exercice
physique
modéré

Dietary Flavonoids, Antioxidant Vitamins, and Incidence of Stroke: The Zutphen Study

Characteristic	Mean±SD	
	No Stroke (n=510)	Stroke (n=42)
Age in 1970, y	59.3±5.3	61.9±5.5*
Systolic blood pressure from 1960 to 1970, mm Hg	142.2±14.1	148.9±20.1†
Serum cholesterol from 1960 to 1970, mmol/L (mg/dL)	6.1±0.9 (236±35)	6.1±1.0 (236±39)
Cigarettes per day × years until 1970, pack-years	437.7±327.2	433.3±292.7
Alcohol consumption in 1970, g/d	9.9±14.0	7.7±10.9
Fish consumption in 1970, g/d	18.3±19.8	12.8±12.3†
Total energy intake from 1960 to 1970, MJ/d	12.2±2.1	11.5±1.9
Antioxidant intake from 1960 to 1970, mg/d		
β-Carotene	1.2±0.3	1.1±0.3
Vitamin C	93.5±30.2	86.0±26.1
Vitamin E	17.9±4.7	17.4±4.3
Flavonoids	23.8±7.6	20.7±7.7*
Food consumption from 1960 to 1970, g/d		
Solid fruit	77.2±53.9	57.4±42.6†
Citrus fruit	64.3±47.4	58.0±62.6
Vegetables	187.4±48.9	178.4±44.4
Tea	472.0±200.6	409.4±209.5†

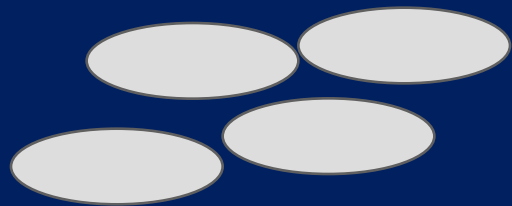
*P<.01.

†P<.05.

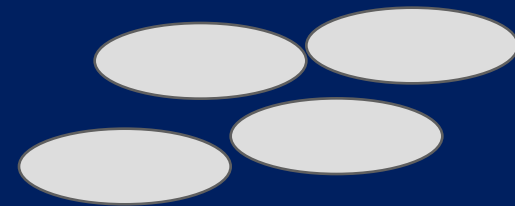


Resaltando la adaptación (Principio de hormesis)

hormésie : respuesta biologica favorable en respuesta a la exposición de bajas dosis de tóxicos

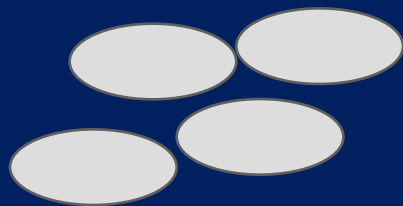


24 horas

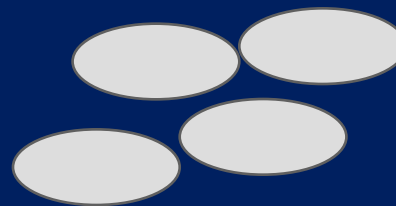


Células + 1 mM H₂O₂

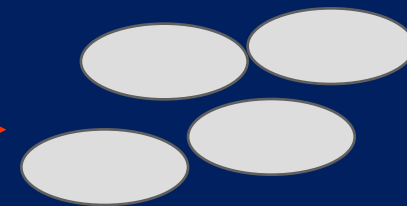
Muerte celular



24 horas



24 horas



Células + 100 nM H₂O₂

1 mM H₂O₂

Supervivencia celular