



FIGURA 1. Plantación de pino marítimo en las Landas de Gascuña (Francia). Foto: Larrousiney (Licencia Creative Commons).

## Extractos fenólicos de corteza de pino marítimo (*Pinus maritima*): Interés terapéutico

M<sup>a</sup> Concepción Navarro Moll <sup>a</sup>  
Estanislao Beltrán Montalbán <sup>b</sup>  
Bernat Vanaclocha Vanaclocha <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Farmacología,  
Facultad de Farmacia, Universidad  
de Granada.

<sup>b</sup> Departamento de Ginecología y  
Obstetricia, Facultad de Medicina,  
Universidad de Granada.

<sup>c</sup> Centre Natura, Carlet (Valencia)

Dirección de contacto:

M<sup>a</sup> Concepción Navarro Moll  
Departamento de Farmacología  
Facultad de Farmacia  
Universidad de Granada, Campus  
de Cartuja  
18071- Granada (España)  
cnavarro@ugr.es

### Resumen

Los extractos fenólicos obtenidos a partir de la corteza de pino marítimo (*Pinus maritima*) (Pycnogenol<sup>®</sup>, PG) se emplean en todo el mundo con distintas finalidades terapéuticas. Químicamente se caracterizan por la presencia mayoritaria de polifenoles flavánicos monoméricos y oligoméricos (proantocianidinas). Entre sus propiedades farmacológicas destaca su marcada actividad antioxidante, que tiene como consecuencia un efecto positivo en los procesos patológicos iniciados y/o agravados por los radicales libres. Además, ha sido descrita su actuación sobre distintos factores implicados en la salud cardiovascular, tales como su efecto vaso-relajante, inhibición de la ECA, mejora de la función endotelial, etc. Asimismo existen evidencias de su acción inmunomoduladora, antiinflamatoria, lipolítica e hipoglucemiante. Sin dejar de lado otras posibles vías de actuación, las principales bases moleculares que sustentan los efectos descritos para el PG son su actividad antioxidante y su capacidad de unirse específicamente a distintas proteínas, afectando a sus características estructurales y funcionales. Los ensayos clínicos realizados hasta el momento han permitido evidenciar la eficacia del PG en distintas situaciones, como dismenorrea, parámetros espermáticos, déficit de atención en niños, insuficiencia venosa periférica, microangiopatías, etc.

### Palabras clave

Polifenoles, proantocianidinas, pino marítimo, *Pinus maritima*, Pycnogenol.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

## Extractos fenólicos de casca de pinheiro marítimo (*Pinus maritima*): interesse terapêutico

### Resumo

Extractos fenólicos obtidos da casca do pinheiro marítimo (*Pinus maritima*) (Pycnogenol®, PG) são amplamente usados com diferentes fins terapêuticos. Quimicamente eles são caracterizados pela presença de abundantes polifenóis flavânicos monoméricos e oligoméricos (proantocianidinas). Entre as suas propriedades farmacológicas destaca-se a sua marcada actividade antioxidante, o que resulta num efeito positivo sobre os processos patológicos iniciados e / ou agravados pelos radicais livres. Além disso, está também descrita a sua acção sobre vários factores envolvidos na saúde cardiovascular, como efeito vaso-relaxante, inibição da ECA, melhoria da função endotelial, etc. Também há evidências da sua acção imunomoduladora, anti-inflamatória, hipoglicemiante e lipolítica. Sem negligenciar outras possíveis modos de acção, a principal base molecular do efeito descrito para o PG baseia-se na actividade antioxidante e na sua capacidade de se ligar especificamente a distintas proteínas, que afectam as suas características estruturais e funcionais. Os diversos ensaios clínicos efectuados até agora têm mostrado uma eficácia significativa do PG em diferentes situações (dismenorreia, parâmetros espermáticos, déficit de atenção em crianças, doença vascular periférica, microangiopatia, etc.).

### Palavras-chave

Polifenóis, proantocianidinas, pinheiro bravo, *Pinus maritima*, Pycnogenol.

### Introducción

La corteza de pino marítimo ha sido empleada en medicina tradicional desde hace más de dos mil años tanto en el Viejo Mundo como en América, siendo ya citada en el Corpus Hippocraticum (siglos V y IV a.C.) como un remedio frente a los procesos inflamatorios<sup>(1)</sup>. Durante el siglo XV, su uso en Europa comprendía, además del tratamiento de la inflamación, el de los síntomas del escorbuto, así como el de las ulceraciones y distintas afecciones dermatológicas. Los nativos de América del Norte, al igual que los habitantes del Viejo Mundo, empleaban la corteza de pino marítimo frente a las ulceraciones y otras alteraciones de la piel. Y si bien hasta hace prácticamente dos décadas no se tenía un conocimiento adecuado de la composición de la corteza de pino marítimo ni había evidencias científicas que avalaran su empleo en terapéutica, en los últimos años

## Phenolic extracts from maritime pine bark (*Pinus maritima*): therapeutic interest

### Abstract

The polyphenol rich extracts obtained from the bark of maritime pine (*Pinus maritima*) (Pycnogenol®, PG) are widely used for different therapeutic purposes. They are chemically characterized by the presence of abundant flavan-derived polyphenols, both monomeric and oligomeric (proanthocyanidins). Among its pharmacological properties, it is remarkable its strong antioxidant activity, which results in a positive influence on the pathological processes initiated or aggravated by free radicals. It has also been described beneficial effects on several factors involved in cardiovascular health, such as vaso-relaxing activity, ACE inhibition, improvement of endothelial function, etc. Moreover, there is evidence of immunomodulatory, anti-inflammatory, lipolytic and hypoglycemic actions. The main molecular mechanisms underlying the activities described for PG are its antioxidant activity and the specific interactions with several proteins, affecting their structural and functional characteristics. The different clinical trials performed to date have shown the efficacy of PG in several conditions, such as dysmenorrhea, deficient sperm parameters, child attention problems, chronic venous insufficiency, microangiopathies, etc.

### Key words

Polyphenols, proanthocyanidins, maritime pine, *Pinus maritima*, Pycnogenol.

las investigaciones farmacológicas han permitido establecer cuáles son sus principios activos y se han realizado numerosos ensayos preclínicos y clínicos con extractos fenólicos de la corteza de pino marítimo, lo que ha propiciado un mejor conocimiento de sus acciones farmacológicas y de los principales mecanismos implicados en las mismas, evidenciándose a través de los ensayos clínicos realizados, cuáles son, al día de hoy, sus posibilidades terapéuticas. Todo ello ha dado lugar a que en la actualidad dichos extractos sean objeto de un amplio uso medicamentoso, sobre todo en occidente.

### Composición química

Si bien la composición de los extractos obtenidos a partir de la corteza de pino marítimo (*Pinus maritima* = *Pinus pi-*

*naster Aiton ssp atlantica*)<sup>(2)</sup> no está totalmente dilucidada, se sabe que sus principales componentes son de carácter fenólico, correspondiendo tanto a monómeros flavánicos (catequina, epicatequina), como oligómeros de los mismos (taninos condensados), conocidos también como proantocianidinas, debido a que dan lugar a antocianidinas cuando son sometidos a calentamiento en medio ácido. Estos taninos condensados son el resultado de la unión de un número variable de moléculas de los flavan-3-oles catequina y epicatequina, lo que da lugar a cadenas de mayor o menor longitud, ya que se han descrito desde dímeros hasta heptámeros, que han sido denominados como procianidinas B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>7</sub>, y otras (FIGURA 2). Los extractos de corteza de pino marítimo contienen también taxifolina (dihidroflavonol) y cantidades menores de ácidos fenoles (ferúlico, cafeico y *p*-hidroxobenzoico), así como derivados glucosilados tanto de flavanoles como de ácidos fenoles.

En la actualidad, existe un extracto patentado de corteza de pino marítimo que recibe el nombre de Pycnogenol® (FIGURA 3), propiedad de la firma suiza Horphag Research,

obtenido de la corteza de *P. maritima* que crece en la costa suroeste de Francia, estando garantizada la pureza y calidad de esta corteza por la AFNOR (Association Francaise de Normalisation). El hecho de disponer de un extracto normalizado, facilita la realización de ensayos preclínicos y clínicos, así como la reproducibilidad de los resultados. El producto se obtiene mediante extracción acuosa seguida de un lavado con acetato de etilo, con el fin de eliminar algunos compuestos insolubles en agua. Según el perfil obtenido mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), el extracto objeto de la patente está constituido en un 75% por procianidinas oligoméricas, pentámeras y heptámeras, formadas por catequina y epicatequina, acompañadas por pequeñas cantidades de monómeros de flavan-3-oles, de ácidos fenoles y de sus glucósidos<sup>(1)</sup>.

Si bien el término Pycnogenol® se utiliza en la actualidad para denominar este extracto patentado de corteza de pino marítimo, no hay que olvidar que este vocablo, que etimológicamente proviene del griego "puknos" (condensado) y "genos" (clase, familia), fue creado con anterioridad con el

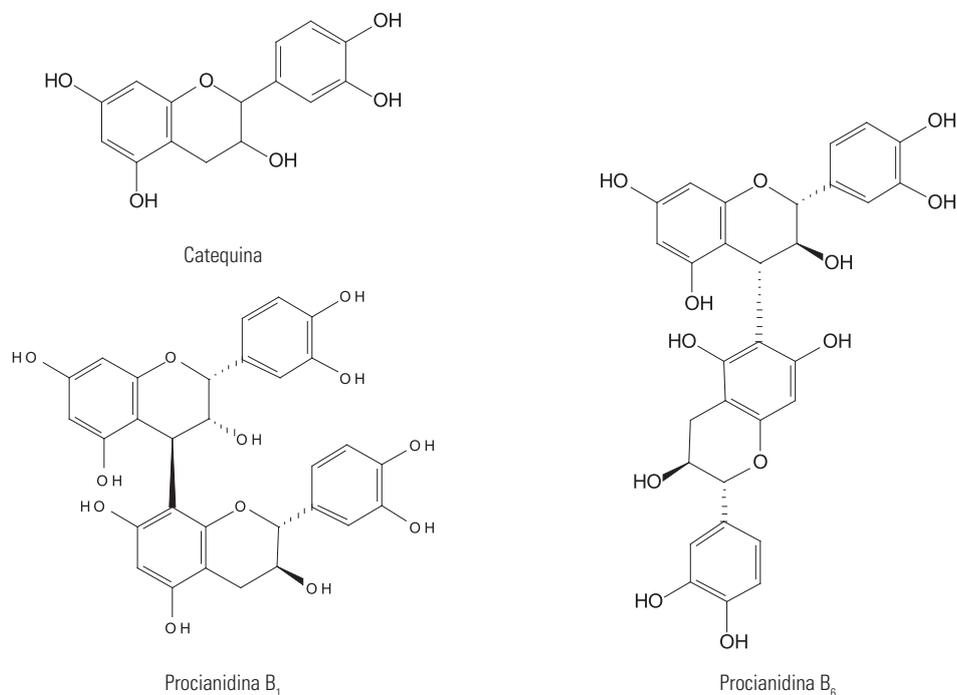


FIGURA 2. Estructura de la catequina y de dos de sus oligómeros, las procianidinas B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub>.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)



FIGURA 3. Pycnogenol®. Foto cortesía de [www.pycnogenol.com](http://www.pycnogenol.com).

fin de nombrar a una determinada clase compuestos derivados de flavan-3-oles.

En la actualidad, el Pycnogenol (PG) es ampliamente utilizado, bien como complemento nutricional, bien como medicamento fitoterápico destinado al tratamiento de distintos procesos patológicos.

### Acciones farmacológicas y mecanismos implicados

Las acciones farmacológicas de los extractos de pino marítimo parecen ser mediadas, al menos en parte, por su importante actividad antioxidante, así como por la inhibición enzimática y por su capacidad moduladora de la expresión de distintos genes.

En relación con la actividad antioxidante de estos extractos, los datos de que se dispone son demostrativos de su actuación sobre distintos sistemas implicados en el *status* oxidativo: inactiva el radical superóxido y el radical hidroxilo e inhibe la formación del oxígeno singulete<sup>(3)</sup>. *In vitro*, el PG inhibe la peroxidación lipídica en fosfolípidos liposómicos, la inducida por el *t*-butylhydroperóxido, la peroxidación del LDLc, así como la peroxidación lipídica causada por las radiaciones UV-B<sup>(3,4)</sup>. Por otra parte, el PG disminuye la actividad de la tiorredoxin reductasa (TrxR), enzima que se encuentra inducida en distintos procesos patológicos<sup>(5)</sup>. Además, induce la síntesis intracelular de enzimas antioxidantes como la SOD (superóxido dismutasa), al tiempo que inhibe de forma dosis-dependiente la actividad de enzimas tales como la xantina oxidasa, xantina dehidrogenasa, peroxidasa, lipooxigenasa y catalasa<sup>(6)</sup>. Tanto en el caso de esta última enzima como en el de la xantina oxidasa, se ha demostrado que su inhibición transcurre a través de la unión de alguno de los componentes

del PG a las mismas<sup>(7)</sup>. A la actuación antioxidante de los extractos de corteza de pino marítimo también contribuye el incremento que ocasionan de la concentración intracelular de glutatión<sup>(8,9)</sup>, así como la inhibición de la lipoperoxidación y de la formación de radicales libres condiciones de estrés oxidativo<sup>(10-12)</sup>. Su actividad captadora de radicales libres se extiende asimismo a los radicales de nitrógeno<sup>(13)</sup> como es el caso del óxido nítrico (NO) (TABLA 1). El hecho de la actuación del PG sobre los radicales de NO ha de ser considerado como relevante dada la implicación de estos radicales en la función tanto del sistema nervioso central como del periférico, ya que el radical libre de NO favorece la liberación de neurotransmisores a partir de las neuronas presinápticas. La actuación del PG tanto sobre los radicales libres de oxígeno como los de nitrógeno tiene también una importante implicación en procesos tales como la inflamación, aterosclerosis, etc.

Por otra parte, se ha podido constatar en experiencias *in vivo*, que el PG protege al DNA frente al daño oxidativo<sup>(13,14)</sup> y que el efecto de este extracto tanto frente a la lipoperoxidación como al daño inducido por el radical hidroxilo sobre el DNA, parece ser dosis-dependiente<sup>(10)</sup>. Además, presenta un efecto protector en endotelio vascular frente al daño oxidativo inducido por el péptido  $\beta$ -amiloide, cuya actuación sobre las células del endotelio tiene como consecuencia una disminución de la viabilidad celular mediada por la generación de especies reactivas de oxígeno<sup>(15)</sup>. A ello hay que añadir que el PG puede reducir el proceso apoptótico inducido por el péptido  $\beta$ -amiloide en la línea celular PC12 (células de feocromocitoma de rata), mediante la disminución de la generación de radicales libres por dichas células<sup>(16)</sup>. En cuanto a ensayos *in vivo*, la administración de PG a ratas a las que se les había inducido un estado diabético con estreptozotocina, restauró en las mismas los niveles anormalmente elevados de catalasa, al tiempo que se produjo un aumento significativo en los niveles de glutatión<sup>(17)</sup>. En otro ensayo *in vivo*, realizado con ratas a las que se había administrado cisplatino, se pudo observar que la administración previa del PG, disminuía de forma significativa las alteraciones en el *status* oxidativo ocasionadas por este antitumoral, con normalización de los valores de mieloperoxidasa (MPO), xantina oxidasa y malondialdehído, valor este último que indica las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBAR's) y, por tanto, de radicales libres de oxígeno<sup>(18)</sup>.

En lo relativo a la actuación sobre el *status* oxidativo en humanos, la administración de PG incrementa significativamente la capacidad de absorción de radicales libres

de oxígeno (ORAC) en sangre, así como la actividad antioxidante del plasma, tal y como se pudo establecer mediante FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*)<sup>(14, 19)</sup>.

En cuanto a su actuación sobre la expresión génica, en un ensayo realizado sobre macrófagos murinos<sup>(13)</sup> se ha podido demostrar que el PG, además de inhibir la iNOS (sintasa inducible del óxido nítrico), también inhibe la expresión de la iNOS-mRNA. En este mismo sentido, en un estudio llevado a cabo con células HaCat, se pudo observar un importante descenso en la expresión de los genes que codifican las calgranulinas A y B, proteínas pertenecientes a una familia implicada en la reorganización, calcio-dependiente, de los filamentos del citoesqueleto que se observa en distintas dermatosis inflamatorias, a la vez que se encuentran sobre-expresadas en queratinocitos anormales como los que aparecen en la psoriasis. Estos datos apuntan hacia un posible papel positivo de los extractos de corteza de pino marítimo en distintas afecciones dermatológicas<sup>(20)</sup>.

En estudios *in vitro* se pudo constatar que tanto la catequina como las proantocianidinas oligoméricas presentes en el PG, son capaces de unirse a la elastina insoluble, dando lugar a una mayor resistencia de la elastina a la degradación por elastasa leucocitaria, tanto porcina como humana. En ensayos *in vivo* se constató la resistencia, a la elastasa tanto porcina como humana, de las fibras de

elastina insoluble previamente tratadas con el extracto de corteza de pino marítimo<sup>(21)</sup>. De acuerdo con estos datos se ha sugerido un posible potencial terapéutico del PG en la prevención de la degradación de la elastina que acontece en los procesos inflamatorios. A ello se añaden los resultados que confirman la protección de la elastina y del colágeno frente al ataque enzimático<sup>(21, 22)</sup>.

También se ha descrito para el PG un efecto inhibitorio *in vitro* de la agregación plaquetaria inducida por la adrenalina<sup>(23)</sup>, así como una disminución en los valores del tromboxano B<sub>2</sub>, principal metabolito del TX A<sub>2</sub>, en ratas a las que se indujo un estado diabético mediante inyección de estreptozotocina<sup>(24)</sup>.

Otro aspecto a tener en cuenta es la capacidad *in vitro* de este extracto de inducir una vaso-relajación endotelio-dependiente mediante un mecanismo que implica un incremento en los niveles de NO, consecuencia, al menos en parte, de la actividad antioxidante de sus componentes, que protegerían a este vasodilatador fisiológico<sup>(12)</sup>, así como a la activación de la eNOS (óxido nítrico sintasa endotelial)<sup>(25)</sup>. Debido a que el NO posee otros efectos vasoprotectores tales como la inhibición de la agregación plaquetaria, disminución de la adhesión de plaquetas y leucocitos, inhibición de la lipoperoxidación y posible reducción de la proliferación de las células del músculo liso vascular, parece razonable pensar que el sistema cardiovascular es una de las principales dianas de actuación del PG. A ello se añade el hecho de que, en ensayos *in vitro*, el PG puede dar lugar a una disminución del efecto vasoconstrictor de las catecolaminas, atribuyéndose estas actuaciones a las proantocianidinas de mayor peso molecular presentes en el extracto<sup>(12)</sup>. Por otra parte el PG reduce *in vitro*, de forma dosis-dependiente, la inducción por el TNF $\alpha$  de las moléculas de adhesión VCAM e ICAM, implicadas en distintos procesos patológicos tales como la arteriosclerosis, inflamación, diabetes, etc.<sup>(26)</sup>. Además de estos efectos que justificarían una posible actuación protectora del PG frente a distintos factores de riesgo cardiovascular, los resultados procedentes de un estudio *in vivo* apuntan hacia su capacidad de prevenir el remodelado miocárdico inducido por la L-NAME (L-nitro arginina metil éster), a través de la modulación de la expresión de los genes que codifican distintas metaloproteinasas (MMPs)<sup>(27)</sup>. La actuación sobre las MMPs ha sido constatada por Grimm *et al.*<sup>(28)</sup>, no solo para el PG, sino también para sus principales metabolitos formados *in vivo* tras su administración oral (3,4- dihidroxifenil valerolactona y 3-metoxi-4-hidroxifenil valerolactona).

Captación de radicales libres de O y N
↓ Generación de radicales libres
Inhibición de enzimas prooxidantes
TrxR
Xantin oxidasa
Xantin dehidrogenasa
Peroxidasa
Lipooxigenasa
Catalasa
Activación de enzimas antioxidantes
SOD
Glutation

TABLA 1. Mecanismos de la actividad antioxidante de los extractos de corteza de pino marítimo. TrxR: tiorredoxin reductasa; SOD: superóxido dismutasa.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

A estas actuaciones del PG sobre el sistema cardiovascular se podría añadir, según resultados obtenidos en experiencias *in vivo*, su posible papel cardioprotector frente al daño que determinados fármacos antitumorales pueden ocasionar en el corazón, como es el caso de la doxorubicina, ya que la administración de PG a animales tratados con el antitumoral, previno la elevación de los valores plasmáticos de la creatinina fosfoquinasa, indicador de daño cardíaco, apreciándose igualmente un efecto protector sobre la médula ósea, y todo ello sin antagonizar los efectos antitumorales de la doxorubicina <sup>(29)</sup> (TABLA 2).

La actuación sobre la función inmune ha podido ser constatada en experiencias *in vivo*, en las que se pudo observar que la administración de PG a ratones infectados con retrovirus daba lugar a una disminución de la producción de IL-6 junto a un aumento de la citotoxicidad de las células *natural killer* <sup>(30)</sup>.

En relación con la actuación del PG en otros procesos patológicos tales como el inflamatorio, los resultados obtenidos en un ensayo *in vivo*, demuestran que la administración tópica de una loción de PG reduce de forma dosis-dependiente los efectos derivados de la exposición de la piel a las radiaciones UV (formación de edema y fotoinmunosupresión). Estos efectos fueron más marcados cuando los animales de experimentación fueron tratados con la loción de PG tras la exposición a las radiaciones UV, que cuando la aplicación de la loción se realizó previamente a dicha exposición <sup>(31)</sup>. Por otra parte, la adición de PG al medio de cultivo de la línea celular de queratinocitos humanos HaCaT, dio lugar a la inhibición dosis-dependiente de la expresión del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) inducida por radiaciones UV. Debido a que el NF- $\kappa$ B desempeña un importante papel en la aparición de eritemas solares, la inhibición del mismo explicaría, al menos en parte, el efecto protector del PG frente a las radiaciones UV, en un grupo de voluntarios sanos a los que se administró durante cuatro semanas por vía oral (1,66 mg/kg de peso corporal) <sup>(32)</sup>. Un aspecto relevante en el proceso inflamatorio es el concerniente a la expresión de ciertas citocinas proinflamatorias como IL-1 e IL-2. Los ensayos realizados sobre células RAW 264.7 y Jurkat E6.1 estimuladas con lipopolisacárido (LPS), demostraron que el pretratamiento con PG reducía, de forma dosis dependiente, tanto la producción de IL-1 $\beta$  así como los niveles de su mRNA, inhibiendo igualmente la activación del NF- $\kappa$ B y de la proteína activadora 1 (AP-1), dos de los principales factores de transcripción implicados en la expresión génica de la IL-1. El pretratamiento con PG también impidió la degradación por el LPS de la

Mejora del status oxidativo
↓ Valores TX A <sub>2</sub>
↓ Agregación plaquetaria
Vaso-relajación endotelio-dependiente
↑ eNOS
↓ Proliferación músculo liso vascular
↓ Efecto vasoconstrictor de las catecolaminas
↓ Moléculas de adhesión ICAM y VCAM
Protección frente al daño cardíaco ocasionado por doxorubicina

TABLA 2. Efectos del extracto de la corteza de pino marítimo sobre factores de riesgo cardiovascular. TX A<sub>2</sub>: tromboxano A<sub>2</sub>; eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial.

IL-1 $\beta$ . En cuanto a la actuación de las proantocianidinas de pino marítimo sobre la IL-2, los resultados obtenidos por estos mismos autores fueron demostrativos de que estos compuestos inhiben la expresión de esta citocina inducida conjuntamente por ésteres del forbol e ionomicina. Estos resultados apuntan a que el PG podría ser empleado como agente terapéutico en distintos procesos inflamatorios así como frente a enfermedades autoinmunes <sup>(33)</sup>. El efecto antiinflamatorio fue estudiado igualmente en un modelo experimental de inflamación intestinal inducida por TNBS (ácido 2,4,6, trinitrobenzensulfónico). Los datos obtenidos mostraron que en los animales tratados con PG se producía una disminución dosis-dependiente tanto del daño macroscópico intestinal como de los valores de MPO <sup>(34)</sup>.

La posible actuación del PG en la diabetes tipo II ha sido objeto de distintos ensayos preclínicos. Así, en un ensayo *in vitro* realizado con adipocitos, se constató que aumentó la recaptación de glucosa, con incremento tanto del GLUT4 como de la AktmRNA a través la vía de la 3-fosfatidil inositol cinasa (PI3K) <sup>(35)</sup>. Además, en un ensayo *in vivo*, en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, se observó un descenso en los valores de TBAR,s, así como de distintas enzimas antioxidantes (Glutathion.S-transferasa, catalasa, SOD, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa, con descenso en los valores de hemoglobina glicosilada (HbA1c) <sup>(36)</sup>.

En cuanto a su efecto inhibitorio enzimático, a su capacidad de actuar sobre distintos enzimas implicados en el estrés oxidativo, así como sobre las MMPs, se une la inhibición

de las  $\alpha$ -glucosidasas<sup>(37)</sup>, siendo más marcado este efecto para las fracciones del extracto que contenían a las prociandinas oligoméricas de mayor peso molecular. Esta acción inhibitoria ha sido observada también cuando las enzimas implicadas fueron la COX-1 y la COX-2, según se puso de manifiesto en un ensayo realizado sobre voluntarios sanos, en los que se pudo apreciar que transcurridos tan solo 30 minutos tras la administración oral del PG (300 mg), los niveles plasmáticos de ambas enzimas habían experimentado un descenso significativo, lo cual habla de una buena biodisponibilidad de los componentes implicados en este efecto inhibitorio así como de que uno de los mecanismos que podrían justificar el efecto antiinflamatorio del PG sería la inhibición de COX-1 y COX-2<sup>(38)</sup>. Estos resultados muestran unas ciertas divergencias con los obtenidos posteriormente en un ensayo *ex vivo* realizado sobre leucocitos sometidos a un estímulo inflamatorio, que habían sido aislados de la sangre de voluntarios sanos a los que se había administrado 150 mg/día de PG durante cinco días, ya que se observó que el PG inhibía la actividad de 5-lipooxigenasa (5-LOX), ciclooxigenasa 2 (COX-2), y de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, con una regulación al alza de la expresión de la COX-1, a diferencia de lo descrito en el anterior ensayo<sup>(39)</sup>. Como consecuencia, el PG dio lugar a una disminución en la producción de leukotrienos, pero no en la de prostaglandinas, lo cual puede ser atribuido al descenso de la actividad de la COX-2 a favor de la COX-1. Otra enzima inhibida por el PG es la ECA (enzima convertidora de la angiotensina). La capacidad de estos extractos para inhibir a la ECA se asocian con un efecto moderado en la mejoría de la hipertensión arterial<sup>(40)</sup>.

La expresión de la glicerofosfato dehidrogenasa es también inhibida *in vitro* de forma significativa ( $p < 0,01$ ) por el PG, lo cual indicaría que es capaz de producir una inhibición de la acumulación de lípidos en el tejido adiposo<sup>(41)</sup>. Por otra parte, las proantocianidinas presentes en el PG incrementan, *in vitro*, el proceso de lipólisis, mediante un mecanismo que implica la activación de la lipasa sensible a hormonas (HSL); además, estas proantocianidinas son capaces de interactuar con los receptores  $\beta_3$  de los adipocitos, dando lugar a un incremento de los niveles de AMPc<sup>(42)</sup>.

Los extractos de la corteza de pino marítimo han sido igualmente objeto de estudios con distintas líneas celulares cancerosas en los que se ha podido constatar su efecto proapoptótico<sup>(43)</sup>. En este sentido, la apoptosis de células pertenecientes a la línea celular MCF-7 fue detectada en cultivos tratados con PG en los que se produjo una dismi-

nución significativa de la fragmentación de ADN, hecho no observado en la línea celular MCF-10. Estos resultados sugieren que el PG induce de forma selectiva la muerte celular en células cancerosas mamarias humanas (MCF-7) y no en células mamarias humanas normales (MCF-10). Igualmente, se han observado cambios favorables en la relación Bcl-2/Bax en una línea celular de cáncer de próstata andrógeno-dependiente (LNCaP) tras tratamiento con proantocianidinas oligoméricas procedentes de un extracto de la corteza de pino marítimo. Además, este extracto dio lugar a un aumento de las proteinasas p44 y p42, lo cual sugiere una inducción de la diferenciación celular<sup>(44)</sup>. En cuanto a su posible papel como quimiopreventivo, según los datos obtenidos en un ensayo realizado sobre líneas celulares de ovario, el PG previno el efecto carcinogénico del talco sobre dicha línea celular<sup>(45)</sup>.

Al igual que ocurre con otros derivados fenólicos (caso de las proantocianidinas de *Vaccinium macrocarpon*), se ha podido constatar en estudios *in vitro* la actividad antimicrobiana de los PG frente a *Helicobacter pylori*<sup>(46)</sup>, tanto en lo que se refiere a la inhibición del crecimiento bacteriano como a la disminución de la adhesión del microorganismo, cercana al 70%, a las células gástricas. Por otra parte, en un ensayo *in vitro*, se ha podido demostrar que el PG inhibe la unión del VIH-1 a las células hospedadoras, así como la replicación en células sensibles<sup>(47)</sup>.

### Toxicidad

Los datos procedentes de distintos ensayos toxicológicos junto con la experiencia clínica han puesto de manifiesto que el PG puede ser considerado como un producto seguro. Así, mediante la aplicación del test de Ames se pudo demostrar que los extractos de corteza de pino marítimo no presentan efectos mutagénicos, no observándose aberraciones cromosómicas en los ensayos realizados tanto sobre células de médula ósea de ratones como en linfocitos humanos tras la exposición al PG<sup>(40)</sup>.

### Evidencias clínicas

Los extractos de la corteza de pino marítimo y, en particular, los elaborados bajo la marca registrada de Pycnogenol® (Horphag Research) han sido sometidos en la última década a numerosos ensayos clínicos, que implican a distintas situaciones patológicas (TABLAS 3 y 4). En la TABLA 3 se muestran las dosis empleadas en los estudios para diferentes patologías y los niveles de evidencia según los criterios de Jadad. Dicha tabla muestra que existe una buena evidencia clínica en insuficiencia venosa crónica y

en asma, pero que todavía se requieren más estudios en otras patologías.

### Insuficiencia venosa crónica

En un ensayo clínico doble ciego, aleatorizado, frente a placebo, en el que participaron 40 pacientes con insuficiencia venosa crónica (IVC) y varices en las piernas, y que tuvo una duración de dos meses, se observó que en el grupo tratado con 150 mg/día de PG se produjo una mejoría significativa en los distintos parámetros evaluados (pesadez de piernas, disminución del edema y del dolor muscular), mientras que los integrantes del grupo placebo no experimentaron variación en su sintomatología<sup>(48, 49)</sup>. Igualmente, en otro ensayo clínico de cuatro semanas de duración, aleatorizado, a doble ciego y controlado con placebo, en el que tomaron parte pacientes afectados de claudicación o microangiopatías diabéticas, se observó una disminución significativa ( $p$

$< 0,05$ ) en el grupo de pacientes tratados con 200 mg/día de PG tanto en la aparición de calambres como en el dolor muscular<sup>(50)</sup>. En un estudio abierto y controlado, de cuatro semanas de duración, se comparó la eficacia del PG (360 mg/día) en el tratamiento de la insuficiencia venosa crónica frente a otro preparado que contenía escina, un extracto de semillas de castaño de Indias (Venostasin®). Los datos obtenidos mostraron una disminución de la circunferencia de la parte inferior de las piernas, así como una disminución del número de calambres y de la intensidad del dolor muscular en mayor medida que el grupo de pacientes tratados con Venostasin, observándose un descenso significativo en los niveles plasmáticos de colesterol total y LDL<sup>(51)</sup>. En otro ensayo clínico, de ocho semanas de duración, en el que se comparó la eficacia del PG frente a un preparado que contenía diosmina y hesperidina en pacientes

Patología		Posología diaria	Nivel de evidencia*
Cardiovascular	Insuficiencia venosa crónica	150-360 mg	B
	Reducción del riesgo cardiovascular	120-360 mg	C
	Función plaquetaria	25-200 mg	C
	Microangiopatía diabética	200 mg	C
Reproductor	Dismenorrea	30-60 mg	C
	Endometriosis	60 mg	C
	Perimenopausia	200 mg	C
	Disfunción eréctil	120 mg	C
	Fertilidad masculina	120-200 mg	C
SNC	Déficit de atención/hiperactividad	1 mg/kg/día	C
	Déficit congitivo	150 mg/día	C
Locomotor	Osteoartritis	100-150 mg	C
	Calambres musculares	200 mg	C
Endocrino	Diabetes tipo 2	50-200 mg	C
Respiratorio	Asma	2,2 mg/kg (hasta 200 mg/día)	B
Dermatología	Cloasma	75 mg/día	C
Otros	Lupus eritematoso sistémico	60-120 mg/día	C

\* Niveles de evidencia, en una escala de 5 puntos, basada en los criterios de evaluación de estudios clínicos de Jadad *et al.*<sup>(67)</sup>: A: evidencia científica fuerte; B: buena evidencia científica; C: Evidencia científica insuficiente; D: Evidencia negativa significativa; F: Fuerte evidencia negativa.

TABLA 3. Patologías sobre las que se han realizado ensayos clínicos con extractos de la corteza de pino marítimo, posología diaria empleada en los mismos y nivel de evidencia para las diferentes indicaciones. Tabla modificada de Natural Standard ([www.naturalstandard.com](http://www.naturalstandard.com)).

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

Autores, año, referencia	Patología	Diseño, duración, dosis	Resultado
Arcangeli, 2000 <sup>(48)</sup>	IVC	Aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo 40 pacientes, 2 meses PG: 300 mg/día	Reducción significativa de la pesadez, inflamación y dolor en comparación con placebo en el día 30 y el día 60. Al final del estudio, en un 60% de los pacientes tratados desapareció el edema. Se observó un 54% de reducción en la sensación de pesadez, 64% en la inflamación y 64% en el dolor frente a una reducción del 3%, 7% y 18% respectivamente, en el grupo placebo. En ambos grupos, sin cambios en flujo venoso (ecografía Doppler).
Cesarone <i>et al.</i> , 2006 <sup>(53)</sup>		Abierto, controlado. 39 pacientes con hipertensión venosa severa e historial de ulceraciones, 8 semanas. PG: 150 mg/día.	A las 4 y 8 semanas, en todos los tratados con PG, la microcirculación y evaluaciones clínicas indicaron una disminución progresiva en el flujo en la piel, indicativo de una mejora de la microangiopatía, una disminución progresiva de la filtración capilar, con mejoría significativa en la puntuación de los síntomas y reducción del edema, en comparación con el inicio ( $p < 0,05$ ) y con el grupo control, en el que no se observaron cambios respecto a la situación inicial ( $p < 0,05$ ).
Cesarone <i>et al.</i> , 2006 <sup>(52)</sup>		Aleatorizado, controlado 86 pacientes con hipertensión venosa, 8 semanas PG: 2 grupos (150 mg y 300 mg/día) Daflon® (diosmina + hesperidina): 1.000 mg/día	Con ambas dosis de PG, mejoría significativa respecto a la situación inicial, más rápida y de intensidad superior a la del Daflon en todos los síntomas y los parámetros de la microcirculación (flujo en reposo, tasa de hinchazón de los tobillos, edema y síntomas subjetivos).
Cesarone <i>et al.</i> , 2010 <sup>(55)</sup>		Aleatorizado, controlado 98 pacientes, 8 semanas. 3 grupos: PG (150 mg/día); medias elásticas y PG (150 mg) + medias elásticas.	El tratamiento combinado fue el más eficaz. Sin embargo, PG fue superior, en todos los parámetros a las medias elásticas como tratamiento único.
Koch, 2002 <sup>(51)</sup>		Abierto, aleatorizado, controlado. 40 pacientes, 4 semanas PG: 360 mg/vuelo Extracto de semilla de castaño de indias (Venostasin®): 600 mg/vuelo	PG produjo una disminución significativamente mayor en pesadez, calambres, y edema nocturno en las dos piernas ( $p < 0,05$ ). PG redujo significativamente el edema de las piernas respecto al inicio del tratamiento ( $p < 0,01$ ).
Petraasi <i>et al.</i> , 2000 <sup>(49)</sup>		Estudio en dos fases: aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo (20 pacientes) / abierto (20 pacientes). 40 pacientes, 2 meses cada fase. PG: 200-300 mg/día	PG es más efectivo que la escina en el tratamiento de la IVC, produciendo una reducción significativamente mayor del edema y de la sensación de pesadez en las piernas. Al día 60 día: disminución del 60% en la sensación de pesadez y del 74% en la hinchazón, en los pacientes tratados con PG frente a resultados no significativos en el grupo tratado con escina. En la fase de estudio abierto, los resultados fueron similares.

TABLA 4. Selección de estudios clínicos realizados con PG.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

Autores, año, referencia	Patología	Diseño, duración, dosis	Resultado
Cesarone <i>et al.</i> , 2005 <sup>(56)</sup>	Edema tras vuelos largos	Aleatorizado, doble ciego, comparado con placebo. 211 sujetos. PG: 200 mg 2-3 horas antes del vuelo + 200 mg 6 horas más tarde + 100 mg el día siguiente.	Después del vuelo, la puntuación de edema sólo aumento un 17,9% en el grupo tratado con PG frente al 58,3% en el grupo placebo ( $p < 0,05$ ). La circunferencia del tobillo aumentó un 6% en el grupo de tratamiento y el 11% en el grupo placebo ( $p < 0,05$ ). La tasa de hinchazón de los tobillos aumentó un 36% en el grupo de PG y 91% en el grupo placebo ( $p < 0,05$ ).
Belcaro <i>et al.</i> , 2004 <sup>(57)</sup>	Trombosis tras vuelos largos	211 pacientes con riesgo de trombosis leve a moderado. 2 días. PG: 200 mg 2-3 horas antes del vuelo + 200 mg 6 horas más tarde + 100 mg el día siguiente.	Tras el vuelo (duración media de 8 h 15 min, 5 episodios trombóticos en el grupo placebo y en el grupo tratado ninguno ( $p < 0,025$ ), sólo un caso de flebitis no trombótica.
Belcaro <i>et al.</i> , 2010 <sup>(64)</sup>	Crisis hemorroidal aguda	Aleatorizado, controlado con placebo. 84 pacientes, 1 semana Grupo 1: PG 300 mg/día (4 días) + 150 mg/día (3 días). Grupo 2: dosis oral (= grupo 1) + crema 0,5% PG. Grupo 3: placebo.	Mejoría significativa en los síntomas. Cese del sangrado en el 100% de los casos a los 7 días. Mayor eficacia en el grupo 2 (PG oral y tópico).
Nishioka <i>et al.</i> , 2007 <sup>(61)</sup>	Función endotelial	Aleatorizado, doble ciego frente a placebo 16 voluntarios sanos, 2 semanas PG: 180 mg/día	Aumento de la vasodilatación endotelio-dependiente por incremento en la producción de NO.
Belcaro <i>et al.</i> , 2006 <sup>(58)</sup>	Edema por tratamiento con antihipertensivos	Controlado con placebo. 53 pacientes en tratamiento con antagonistas del calcio (Nifedipina) o IECA. 8 semanas PG: 150 mg/día	Reducción significativa de la filtración capilar anormal y del edema. Permitted reducir la dosis de antihipertensivos.
Liu <i>et al.</i> , 2004 <sup>(60)</sup>	Diabetes tipo 2	Doble ciego, aleatorizado, frente a placebo 77 pacientes, 12 semanas PG: 100 mg/día	Descenso en los niveles de glucemia en comparación con el grupo placebo, con descenso de los valores de HbA1c, aunque la diferencia solo fue significativa durante las cuatro primeras semanas de tratamiento <sup>(60)</sup> .
Zibadi <i>et al.</i> , 2008 <sup>(59)</sup>	Riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes tipo 2	Aleatorizado, doble ciego frente a placebo. 48 pacientes en tratamiento con IECA, 12 semanas. PG: 125 mg/día	Mejora de los parámetros tensionales en 58,3% de los casos, con disminución al 50% de las dosis del antihipertensivo. Reducción de la endotelina 1 (3,9 pg/mL) y del LDLc (r12,7 mg/dL). Disminución de 23,7 mg/dL en la glucemia y del 0,8% en la HbA1c.
Liu <i>et al.</i> , 2004 <sup>(60)</sup>		Aleatorizado, doble ciego frente a placebo, multicéntrico. 77 pacientes, 12 semanas. PG: 100 mg	Descenso en la glucemia y HbA1(c). Mejoría de la función endotelial: reducción significativa de la endotelina-1 y aumento de la 6-ketoprostaglandina F(1a) plasmática.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

Autores, año, referencia	Patología	Diseño, duración, dosis	Resultado
Belcaro <i>et al.</i> , 2006 <sup>(58)</sup>	Úlceras diabéticas	Aleatorizado, controlado con placebo 30 pacientes insulino-dependientes con úlceras diabéticas. 4 grupos: PG oral (150 mg/día) PG oral (150 mg/día) + PG tópico (100 mg) PG tópico (100 mg) medidas compresivas (sin PG)	Tanto el tratamiento oral como el local fueron significativamente más efectivos que el tratamiento de compresión para reducir el tamaño de la úlcera ( $p < 0,01$ ). La terapia combinada fue más efectiva que la terapia local u oral solo. La respiración transcutánea (pO <sub>2</sub> y pCO <sub>2</sub> ), la micro-circulación de la sangre y la respuesta micro-vascular (láser-doppler) mejoraron significativamente con el tratamiento oral o tópico oral en comparación con la línea base ( $p < 0,05$ ).
Cesarone <i>et al.</i> , 2005 <sup>(54)</sup>	Microangiopatía diabética	Estudio abierto, controlado con placebo. 60 pacientes con historial de úlceras diabéticas. 4 semanas. PG: 150 mg/día	La evaluación clínica y de la microcirculación mostraron, en el grupo tratado, una reducción progresiva del flujo cutáneo en reposo (indicativo de una mejora de la microangiopatía), una disminución progresiva de la filtración capilar, y un aumento significativo en la respuesta arteriolar.
Schönlau <i>et al.</i> , 2002 <sup>(63)</sup>	Retinopatía diabética	Revisión de 5 estudios clínicos: 2 abiertos, 2 doble ciego (1 controlado con dobesilato y otro con placebo), 1 multicéntrico (1.169 pacientes) 1.289 pacientes	PG produjo un bloqueo en la progresión de la retinopatía, reduciéndose el edema al aumentar la resistencia capilar y recuperando parcialmente la agudeza visual. La eficacia del PG fue comparable con la del dobesilato.
Steigerwalt <i>et al.</i> , 2009 <sup>(64)</sup>		Aleatorizado, doble ciego frente a placebo 46 pacientes diabéticos afectados de retinopatía, tres meses. PG: 150 mg/día	Mejoría estadísticamente significativa de la circulación retiniana en 18/24 pacientes del grupo PG (medida con láser doppler), mejora de la agudeza visual, con regresión del edema retiniano.
Belcaro <i>et al.</i> , 2010 <sup>(66)</sup>	Osteoartritis	Aleatorizado, doble ciego, frente a placebo. 55 pacientes con osteoartritis de miembros inferiores y PCR elevada, 3 meses. PG: 100 mg/día	Descenso PCR ( $p < 0,05$ ), junto con una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de los valores de fibrinógeno y mejora de las defensas antioxidantes.
Cisár <i>et al.</i> , 2008 <sup>(67)</sup>		Aleatorizado, doble ciego controlado con placebo. 156 pacientes, 3 meses PG: 100 mg/día	Mejoría significativa respecto a placebo en la escala analógico-visual ( $p < 0,04$ ) y descenso del 56% en la puntuación del cuestionario WOMAC ( $p < 0,05$ ), con reducción del dolor y aumento de la funcionalidad articular. Menor requerimiento de fármacos antiinflamatorios en el grupo tratado con PG.
Roseff, 2002 <sup>(68)</sup>	Parámetros espermáticos	Prospectivo, no aleatorizado. 19 hombres subfértiles, 3 meses. PG: 200 mg/día	38% mejora de la morfología espermática (Ham's F-10).
Stanislavov <i>et al.</i> , 2009 <sup>(69)</sup>		Aleatorizado, doble ciego frente a placebo, cruzado. 50 pacientes con infertilidad, 1 mes. 80 mg/día PG + 3 g/día de aspartato de L-arginina.	Aumento volumen espermático, concentración de espermatozoides y porcentaje de espermatozoides móviles y con morfología normal. Al cesar el tratamiento se redujeron nuevamente los índices de fertilidad.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

Autores, año, referencia	Patología	Diseño, duración, dosis	Resultado
Stanislavov <i>et al.</i> , 2003 <sup>(70)</sup>	Disfunción eréctil	Estudio abierto. 40 hombres (25-45 años) con disfunción eréctil, 3 meses  1,7 mg/día L-arginina, 3 meses + 40 mg/día PG (2º mes) + 120 mg/día PG (3º mes)	1º mes (L-arginina), erección normal en 5% pacientes. 2º mes: normalización potencia en 80% casos; 3º mes erección normal en 92,5% de los hombres.
Suzuki <i>et al.</i> , 2008 <sup>(71)</sup>	Dismenorrea	Aleatorizado, multicéntrico, doble ciego comparado con placebo. 116 mujeres, 4 meses PG: 60 mg/día	Reducción intensidad de los dolores dismenorreicos, menor necesidad de tomar medicación analgésica, incluso tras la finalización del tratamiento.
Kohama <i>et al.</i> , 2007 <sup>(72)</sup>	Endometriosis	Abierto, aleatorizado, comparado con acetato de leuprorelina 58 pacientes, 48 semanas PG: 60 mg/día	En el grupo sometido a tratamiento con PG se observó una mejoría en la sintomatología, especialmente en las pacientes con pequeños endometriomas. En el grupo tratado con Gn-RHa (análogo del factor hipotalámico de liberación de gonadotropina) la mejoría fue mayor, aunque tras cesar el tratamiento se produjo un efecto rebote. En ambos casos se produjo una disminución de la mucoproteína CA-125 (aumentada en pacientes con endometriosis).
Yang <i>et al.</i> , 2007 <sup>(73)</sup>	Perimenopausia	Aleatorizado, doble ciego frente a placebo 200 mujeres, 6 meses PG: 200 mg/día	Mejoría en todos los síntomas incluidos en el WHQ (Women's Health Questionnaire) en comparación con el grupo placebo, al igual que en sus defensas antioxidantes y en la relación LDL/HDL, no observándose efectos secundarios en ningún caso.
Trebatická <i>et al.</i> , 2006 <sup>(74)</sup>	Déficit de atención/hiperactividad	Aleatorizado, doble ciego, frente a placebo. 61 niños, 1 mes. PG: 1 mg/kg/día	Reducción significativa de la hiperactividad, con mejoría de la atención, coordinación visual-motora y concentración, en comparación con el grupo placebo.
Ryan <i>et al.</i> , 2008 <sup>(82)</sup>	Deterioro cognitivo	Aleatorizado, doble ciego, frente a placebo. 101 pacientes, 3 meses. PG: 150 mg/día	Mejoría en la atención, memoria reciente y rendimiento psicomotor, así como en el perfil lipídico de los pacientes tratados con PG.
Hosseini <i>et al.</i> , 2001 <sup>(80)</sup>	Asma	Aleatorizado, doble ciego frente a placebo. 26 pacientes, 8 semanas. PG: 2,20 mg/kg/día, hasta un máximo de 200 mg/día.	Mejoría en la espirometría y alivio de la sintomatología asmática. Disminución significativa en la concentración de leucotrienos.
Lau <i>et al.</i> , 2004 <sup>(81)</sup>		Aleatorizado, doble ciego controlado con placebo. 60 pacientes, 3 meses. PG: 2,2 mg/kg/día	Mejoría espirométrica, con un 88% de mejora de la sintomatología respiratoria. Disminución de la necesidad de uso de inhaladores de rescate en un 91%.

Fuente: [www.fitoterapia.net](http://www.fitoterapia.net)

Autores, año, referencia	Patología	Diseño, duración, dosis	Resultado
Wilson <i>et al.</i> , 2010 <sup>(84)</sup>	Alergia	Aleatorio, doble ciego comparado con placebo. 39 pacientes, 5-8 semanas. PG: 100 mg/día	Mejoría en la sintomatología ocular (35% menos síntomas) y nasal (-20,5%) comparada con placebo. La mejoría fue más evidente cuanto antes se inició el tratamiento (mayor número de semanas de tratamiento antes de la exposición al polen).  La IgE específica de la alergia estacional al abedul aumentó un 31,9% en el grupo placebo, frente al 19,4% en el grupo PG.
Stefanescu <i>et al.</i> , 2001 <sup>(83)</sup>	Lupus eritematoso sistémico	Estudio piloto. 11 pacientes, 2 meses. PG: 120 mg/día (30 días) + 60 mg/día (30 días).	Disminución en la producción de radicales libres, apoptosis, actividad de p56 y sedimentación eritrocitaria, además de un significativo descenso en el índice de actividad del lupus (SLEDAI) ( $p = 0,018$ ). Los resultados sugieren que el PG puede ser un interesante complemento para reducir la inflamación en el lupus sistémico.
Ni <i>et al.</i> , 2002 <sup>(86)</sup>	Cloasma	Estudio abierto 30 mujeres, 30 días PG: 75 mg/día	Disminución significativa del área de pigmentación y de su intensidad. Simultáneamente mejoraron otros síntomas asociados (fatiga, estreñimiento, dolores corporales y ansiedad).

TABLA 4. Selección de estudios clínicos realizados con PG.

afectados de insuficiencia venosa crónica <sup>(52)</sup>, los pacientes tratados con el extracto de corteza de pino marítimo experimentan una mejoría en todos los parámetros superior a la observada en el grupo tratado con diosmina-hesperidina. Estos efectos positivos del PG en pacientes con IVC o con microangiopatías diabéticas han sido ratificados en otros ensayos clínicos <sup>(53-54)</sup>. La eficacia del tratamiento con PG en cuanto a mejora de la sintomatología dolorosa y la formación de edemas en las extremidades inferiores, ha sido comparada recientemente en un ensayo clínico, con el uso de medias elásticas compresoras. Los resultados obtenidos muestran que el grupo tratado con PG experimentó una mejoría significativa ( $p < 0,05$ ) respecto al grupo que usaba medias elásticas <sup>(55)</sup>.

Otro aspecto considerado en algunos de los ensayos clínicos realizados con PG es el relativo a su posible efecto antitrombótico y antiedematoso en personas sometidas a largos periodos de inmovilidad (vuelos transoceánicos, etc.). Los resultados obtenidos en estos ensayos <sup>(56, 57)</sup> en los que participaron un total de 367 voluntarios, mostraron que la formación de edema y la incidencia de eventos tromboticos fue significativamente inferior en el grupo tratado con PG que en el grupo placebo. Este efecto antitrombótico

podría ser debido, al menos en parte, al efecto inhibitorio del PG sobre la agregación plaquetaria, así como a su actuación sobre los valores del TX B<sub>2</sub> <sup>(23, 24)</sup>.

El efecto antiedematoso del PG ha podido ser constatado igualmente en pacientes en los cuales el edema aparecía como efecto colateral del tratamiento con fármacos antihipertensivos (antagonistas del calcio e inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina) <sup>(58)</sup>.

#### Factores de riesgo cardiovascular

En un ensayo clínico doble ciego, aleatorizado, frente a placebo, en el que los 48 participantes estaban diagnosticados de diabetes tipo 2, hipertensión moderada y tratados con inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina (IECAS), en el grupo tratado concomitantemente durante 12 semanas con 125 mg/día de PG, se observó una disminución en los valores de distintos factores de riesgo cardiovascular, tales como endotelina 1 y LDL. A su vez, se pudo constatar una disminución en los valores de glucemia, junto con la posibilidad de disminución de las dosis del IECA a administrar <sup>(59)</sup>. El descenso tanto en los valores de glucemia como en los de endotelina 1 fue igualmente constatado en otro ensayo clínico doble ciego, aleatorizado, frente

a placebo, en el que tomaron parte 77 pacientes afectados de diabetes tipo 2 <sup>(60)</sup>. Los resultados obtenidos en ambos ensayos clínicos son indicativos de que el PG, además de disminuir los valores de glucemia anormalmente elevados, parece mejorar la función endotelial. Esta mejoría de la función endotelial ha sido igualmente objeto de estudio en un ensayo clínico, doble ciego frente a placebo, en el que participaron voluntarios no afectados por IVC, a los que se administró una dosis diaria de 180 mg de PG durante un periodo de dos semanas. Los datos procedentes de este ensayo sugieren que el PG produce un aumento de la vasodilatación endotelial dependiente mediante el incremento de la producción de óxido nítrico <sup>(61)</sup>. Este incremento en la producción de NO por los extractos fenólicos de corteza de pino marítimo ha sido puesto de manifiesto en un modelo experimental de ratas hipertensas (DOCA-salt), en las que favoreció la expresión de la NO-sintasa y la vasorrelajación endotelial dependiente <sup>(62)</sup>.

#### Microangiopatías diabéticas. Retinopatías

Otro aspecto a tener en cuenta en los pacientes diabéticos es el concerniente a la posibilidad de aparición de microangiopatías. Así, la retinopatía diabética, caracterizada por lesiones vasculares que pueden ocasionar la disminución de la visión e incluso, en los casos más graves, una pérdida de la misma. Es una microangiopatía que afecta a un número importante de pacientes diabéticos. El interés por el PG, como posible agente terapéutico en el tratamiento de las retinopatías diabéticas, se ha traducido en la realización de distintos ensayos clínicos (dos de ellos doble ciego, aleatorizados, frente a placebo) <sup>(63)</sup> en los que han participado más de dos mil pacientes. Los resultados obtenidos son indicativos de que el PG frena la progresión de la retinopatía, con una eficacia comparable a la del dobesilato de calcio, siendo bien tolerado por la mayoría de los pacientes. Además, en otro ensayo doble ciego, aleatorizado, frente a placebo, en el que tomaron parte 40 pacientes diabéticos afectados de retinopatía, se observó, tras tres meses de tratamiento con PG, una mejoría estadísticamente significativa en distintos parámetros tales como la circulación retiniana, mejoría en la visión y en la agudeza de la misma, con regresión del edema retiniano <sup>(64)</sup>.

#### Hemorroides

En cuanto al posible interés del PG en proctología, según los datos procedentes de un ensayo controlado y aleatorizado en el que participaron 84 voluntarios afectados de hemorroides <sup>(65)</sup>, la administración tanto oral como tópica de

preparados que contenían este extracto de corteza de pino marítimo, dio lugar a una significativa mejoría ( $p < 0,05$ ) en el grupo tratado frente al grupo placebo, obteniéndose los mejores resultados cuando se procedió al tratamiento concomitante por vía oral y tópica.

#### Osteoartritis

Otros ensayos clínicos han tenido como fin el estudio de la actividad antiinflamatoria de los extractos de la corteza de pino marítimo en procesos de osteoartritis. En los tres ensayos aleatorizados, doble ciego, frente a placebo, los grupos de pacientes afectados de osteoartritis en las extremidades inferiores y tratados con PG (100-150 mg /día) experimentaron una mejoría significativa ( $p < 0,05$ ) frente al grupo placebo, con un descenso del 56% en la puntuación del cuestionario WOMAC (Western Ontario and Mc Masters University), con disminución del dolor y aumento de la funcionalidad de las articulaciones. Esto dio lugar a un menor requerimiento de fármacos antiinflamatorios en los integrantes del grupo tratado con PG <sup>(66, 67)</sup>. Por otra parte, en uno de los ensayos en el que los pacientes presentaban valores elevados de proteína C reactiva, asociada con la progresión del proceso osteoartítico, se observó que en el grupo tratado con PG se producía un marcado descenso de la misma ( $p < 0,05$ ), acompañada de una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de los valores de fibrinógeno y mejora de las defensas antioxidantes <sup>(66)</sup>.

#### Disfunción sexual y parámetros espermáticos

Otro aspecto que ha sido objeto de consideración en distintos ensayos clínicos es el referido a la posible actuación del PG sobre la disfunción eréctil y sobre distintos parámetros seminales. En los tres ensayos realizados (dos abiertos y uno aleatorizado, doble ciego frente a placebo), los resultados muestran que en los pacientes tratados con PG se producía una mejoría de distintos parámetros seminales relacionados tanto con la morfología como con la funcionalidad de los espermatozoides <sup>(68-70)</sup>. En dos de estos ensayos, partiendo del hecho de que el PG da lugar a un aumento de la actividad de la NOS, se procedió a la administración conjunta con L-arginina (precursor del óxido nítrico), con lo cual, al menos en teoría, se produciría una vasorrelajación de los cuerpos cavernosos. Los resultados obtenidos en uno de ellos mostraron que, además de mejorar los parámetros espermáticos, con aumento del índice de fertilidad, se producía una recuperación de la actividad sexual en el 80% de los pacientes al mes de iniciado el tratamiento, porcentaje que ascendió al 92% a la conclusión del estudio (tres meses) <sup>(69)</sup>. Tanto los datos concernientes a

los parámetros seminales (volumen de semen, concentración de espermatozoides, porcentaje de espermatozoides móviles y porcentaje de espermatozoides con morfología normal) alcanzaron significación estadística en el único ensayo aleatorizado, doble ciego, frente a placebo realizado con PG y L-arginina, con normalización de la función sexual en el 100% de los pacientes al mes de iniciado el tratamiento, si bien el índice de fertilidad descendió hasta los valores iniciales al cese de la administración del preparado <sup>(70)</sup>.

### Afecciones ginecológicas

La posible utilidad terapéutica de los extractos de la corteza de pino marítimo en afecciones ginecológicas ha dado lugar a la realización de un reducido número de ensayos clínicos en los que se ha investigado el papel del PG en pacientes afectadas de dismenorrea o de endometriosis, así como su efecto sobre la sintomatología climatérica. En relación con la dismenorrea, en un ensayo aleatorizado, doble ciego, frente a placebo, en el que participaron 116 mujeres, se puso de manifiesto que en el grupo de las pacientes tratadas con PG (60 mg/día) disminuyó de forma significativa la sensación dolorosa, lo cual se tradujo en un significativo descenso del requerimiento de analgésicos, que se mantuvo tras la terminación del tratamiento <sup>(71)</sup>. En cuanto a la endometriosis, se realizó un ensayo clínico en el que participaron 58 mujeres diagnosticadas de esta afección y sometidas a intervención quirúrgica. Un grupo de las mismas fue tratado con Gn-RHa (análogo del factor hipotalámico de liberación de gonadotropina); un segundo grupo fue sometido a tratamiento con PG (60 mg/día). Si bien este último mostró mejoría en la sintomatología, con una mejor respuesta en las pacientes con pequeños endometriomas, ésta fue inferior a la experimentada por las componentes del grupo tratado con Gn-RHa. En ambos casos se produjo una disminución, de mayor grado en el grupo tratado con Gn-RHa, de la mucoproteína CA-125, cuyos valores se encuentran aumentados en pacientes con endometriosis <sup>(72)</sup>.

La actuación del PG sobre la sintomatología climatérica ha sido objeto de un único ensayo aleatorizado, doble ciego, frente a placebo, en el que tomaron parte 200 mujeres en etapa perimenopáusica. Según los resultados obtenidos, el grupo tratado con PG (200 mg/día) experimentó mejoría en todos los síntomas incluidos en el WHQ (Women's Health Questionnaire) en comparación con el grupo placebo, al igual que en sus defensas antioxidantes y en la relación LDL/HDL <sup>(73)</sup>, no observándose efectos secundarios en ningún caso.



FIGURA 4. Corteza de *Pinus pinaster* Aiton. Foto: J.P. Grandmond (Licencia Creative Commons).

### Déficit de atención/hiperactividad

El déficit de atención/hiperactividad (ADHD) es el trastorno psiquiátrico más común en niños, cuya conducta se caracteriza por un alto grado de distracción, hiperactividad e impulsividad. En la actualidad se sabe que en la patogénesis del ADHD desempeñan un importante papel factores tanto genéticos como no genéticos, estando aceptado que el estrés oxidativo es uno de estos últimos, ya que las defensas antioxidantes se encuentran disminuidas en estos pacientes. La importante actividad antioxidante del PG permite hipotetizar sobre su posible efecto positivo en pacientes afectados por ADHD. Esta hipótesis ha sido corroborada en un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, frente a placebo, de un mes de duración, en el que participaron 61 niños diagnosticados de ADHD, con edades comprendidas entre 6 y 14 años. En el grupo de niños tratados con PG (1 mg/kg/día) se observó, de acuerdo con las escalas aplicadas: CAP (Child attention problems), CTRS (escala de Conner para profesores), CPRS (escala de Conner para padres), una reducción significativa de la hiperactividad, con me-

jería de la atención, de la coordinación visual-motora y de la concentración en comparación con el grupo placebo <sup>(74)</sup> por lo cual el PG podría plantearse como una alternativa real en el tratamiento de los niños con ADHD. Y si bien en este ensayo no se investigó la actuación sobre el *status* oxidativo de los pacientes, los datos procedentes de otro ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, frente a placebo indican que en el grupo de niños tratados con PG las defensas antioxidantes se situaron en valores normales. Por otra parte, las catecolaminas presentes en orina se encuentran aumentadas en niños con ADHD, al igual que las concentraciones plasmáticas de glutatión oxidado. En este sentido, en otro ensayo clínico aleatorizado, doble ciego frente a placebo, se pudo constatar que en el grupo tratado con PG se normalizaron las concentraciones de catecolaminas, con disminución de los valores de glutatión oxidado <sup>(75, 76)</sup>. Los resultados obtenidos en otros dos ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego controlado con placebo corroboraron el efecto positivo del PG sobre el *status* oxidativo, observándose una disminución del daño oxidativo del ADN, aumentado en los niños con ADHD <sup>(77)</sup>. Asimismo, se normalizaba el metabolismo, alterado en pacientes con ADHD, de algunos elementos traza como el Cu y el Fe, y la relación Cu/Zn <sup>(78)</sup>. Si bien los datos en niños con ADHD son esperanzadores, no puede afirmarse lo mismo sobre los adultos afectados por este síndrome, ya que el único ensayo disponible (cruzado con metilfenidato, doble ciego, frente a placebo), no aportó evidencias positivas para ninguno de los dos fármacos <sup>(79)</sup>. Quizás, esta ausencia de eficacia puede ser debida, al menos en parte, a la administración de dosis insuficientes así como al hecho de que la duración de este estudio fue inferior a la de los realizados con niños, en los cuales los mejores resultados se obtuvieron tras un mes de tratamiento.

### Asma

Los posibles beneficios del PG en pacientes diagnosticados de procesos asmáticos leves o moderados ha sido investigada en dos ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego, frente a placebo <sup>(80, 81)</sup>. En ambos casos se observó una disminución significativa en la concentración de leucotrienos en el grupo tratado con PG, así como una mejoría en las funciones pulmonares con alivio de la sintomatología asmática en comparación con el grupo placebo. Además, en los grupos tratados con PG disminuyeron los requerimientos de uso de inhaladores de rescate.

### Otros

Además de las posibilidades terapéuticas descritas anteriormente para los extractos de la corteza de pino ma-

rítimo, existen una serie de ensayos que contemplan su actuación en humanos en distintas situaciones patológicas, tales como el deterioro cognitivo, objeto de un estudio aleatorizado, doble ciego, frente a placebo, en el que se apreció una mejoría en la memoria reciente <sup>(82)</sup>. Otro aspecto considerado ha sido el la actuación del PG en pacientes con lupus eritematoso. Así, en un ensayo piloto en el que participaron once pacientes afectados de lupus eritematoso sistémico, se observó que en el grupo tratado con PG se producía una disminución en la producción de radicales libres, apoptosis, actividad de p56 y sedimentación eritrocitaria, además de un significativo descenso en el índice de actividad del lupus (SLDAI) ( $p = 0,018$ ) <sup>(83)</sup>. Tampoco la diabetes mellitus (tipo II) ha sido ajena a los ensayos clínicos realizados con PG. Así, en un ensayo doble ciego, controlado con placebo, se observó que el grupo de pacientes tratados con PG (100 mg/día), con una duración de 12 semanas, experimentaba un descenso en los niveles de glucemia en comparación con el grupo placebo, con descenso de los valores de HbA1c, si bien la diferencia solo fue significativa durante las cuatro primeras semanas de tratamiento <sup>(80)</sup>.

También se dispone de datos clínicos relativos a la actuación del PG en pacientes con rinitis alérgica, si bien el escaso número de participantes no permite concluir sobre los beneficios de este producto en pacientes afectados por este proceso patológico. Ahora bien, los resultados apuntan que la mejoría en la sintomatología (ocular y nasal) se produciría cuando la administración del PG se inicia al menos cinco semanas antes del previsible contacto con los alérgenos del polen <sup>(84)</sup>.

Por otra parte, otros estudios realizados en humanos, han mostrado el posible interés del PG en situaciones tan diversas como la protección en pacientes con la función renal comprometida, en los que mejora el flujo cortical renal <sup>(85)</sup>, así como en el caso de un grupo de mujeres con cloasma que tomaron parte en un estudio abierto y en las que la administración durante un mes de 75 mg/día de PG, dio lugar a una disminución significativa del área de pigmentación y de la intensidad de la misma <sup>(86)</sup>.

La consideración conjunta de los datos preclínicos y clínicos, aunque una proporción destacada de estos últimos ha sido obtenida por un mismo grupo de trabajo, permite concluir que los extractos de corteza de pino marítimo, presentan un gran interés como posibles agentes terapéuticos en el tratamiento de distintos procesos patológicos, para algunos de los cuales se ha alcanzado un buen nivel de evidencia.

### Referencias bibliográficas

1. Packer L, Rimbach G, F. Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. *Free Rad Biol Med* 1999; 27: 704-724.
2. D'Andrea G. Pycnogenol: A blend of procyanidins with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia* 2010. En prensa.
3. Kim YG, Park HY. The effects of Pycnogenol on DNA damage in vitro and expression of superoxide dismutase and HP1 in *Escherichia coli* SOD and catalase deficient mutant cells. *Phytother Res* 2004;18: 900-905.
4. Sivonová M, Waczulíková I, Kilanczyk E, Hrnčiarová M, Bryszewska M, Klajnert B, Iuračková Z. The Effect of Pycnogenol on the Erythrocyte Membrane Fluidity. *Gen Physiol Biophys* 2004; 23: 39-41.
5. Gandin V, Nyström C, Rundlöf AK, Jönsson-Videsäter K, Schön-lau F, Hörkko J et al. Effects of the antioxidant Pycnogenol on cellular redox systems in U1285 human lung carcinoma cells. *FEBS Journal* 2009; 276: 532-540.
6. Siler-Marsiglio KI, Paiva M, Madorsky I, Serrano Y, Neeley A, Heaton MB. Protective Mechanisms of Pycnogenol in Ethanol-Insulted Cerebellar Granule Cells. *J Neurobiol* 2004; 61: 267-276.
7. Moini H, Guo Q, Packer L. Enzyme Inhibition and Protein-Binding Action of the Procyanidin-Rich French Maritime Pine Bark Extract, Pycnogenol: Effect on Xanthine Oxidase *J Agric Food Chem* 2000; 48: 5630-5639.
8. Kamuren ZT, McPeck CG, Sanders RA, Watkins JB. Effects of low-carbohydrate diet and Pycnogenol treatment on retinal antioxidant enzymes in normal and diabetic rats. *J Ocul Pharmacol Ther* 2006; 22: 10-18.
9. Khan MM, Hoda MN, Ishrat T, Ahmad A, Khan MB, Khuwaja G, et al. Amelioration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced behavioural dysfunction and oxidative stress by Pycnogenol in mouse model of Parkinson's disease. *Behav Pharmacol* 2010; 21:563-571.
10. Nelson AB, Lau BH, Ide N, Rong Y. Pycnogenol inhibits macrophage oxidative burst, lipoprotein oxidation, and hydroxyl radical-induced DNA damage. *Drug Dev Ind Pharm* 1998; 24: 139-144.
11. Rimbach G, Virgili F, Park YC, Packer L. Effects of procyanidins from *Pinus maritima* on glutathione levels in endothelial cells challenged by 3-morpholinolysynonimine or activated macrophages. *Redox Rep* 1999; 4: 171-177.
12. Fitzpatrick D, Bing B, Rohdewald P. Endothelium-Dependent Vascular Effects of Pycnogenol. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998; 32: 509-515.
13. Virgili F, Kobuchi H, Packer L. Procyanidins extracted from *Pinus maritima* (Pycnogenol): scavengers of free radical species and modulators of nitrogen monoxide metabolism in activated murine RAW 264.7 macrophages. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 1120-1129.
14. Rohdewald P. Pycnogenol Protects DNA against Oxidative Damage in vivo. *Phytother Res* 2005; 19, 262.
15. Peng QL, Buz'Zard AR, Lau BHS. Pycnogenol protects neurons from amyloid-beta peptide-induced apoptosis. *Mol Brain Res* 2002; 104: 55-65.
16. Liu F, Lau BH, Peng Q, Shah V. Pycnogenol protects vascular endothelial cells from beta-amyloid-induced injury. *Biol Pharm Bull* 2000; 23: 735-7.
17. Maritim A, Dene BA, Sanders RA, Watkins JB III. Effects of Pycnogenol Treatment on Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 193-199.
18. Aydin B, Unsal M, Sekeroglu ZA, Gülbahar Y. The Antioxidant and Antigenotoxic Effects of Pycnogenol on Rats Treated With Cisplatin. *Biol Trace Elem Res* DOI 10.1007/s12011-010-8781-3.
19. Devaraj S, Vega-López S, Kaul N, Schönlaue E, Rohdewald P, Jialal I. Supplementation with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile. *Lipids* 2002; 37: 931-934.
20. Rihn B, Saliou C, Bottin MC, Keith G, Packer L. From Ancient Remedies to Modern Therapeutics: Pine Bark Uses in Skin Disorders Revisited. *Phytother Res* 2001; 15: 76-78.
21. Tixier JM, Godeau G, Robert AM, Hornebeck W. Evidence by in vivo and in vitro studies that binding of pycnogenols to elastin affects its rate of degradation by elastases. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 3933-3939.
22. Kuttan R, Donnely PV, Di Ferrante N. Collagen treated with (+)-catechin becomes resistant to the action of mammalian collagenase. *Experientia* 1981; 37: 221-227.
23. Araghi-Niknam M, Hosseini S, Larson D, Rohdewald P, Watson RR. Pine bark extract reduces platelet aggregation. *Integr Med* 2000; 21: 73-77.
24. Nocun M, Ulicna O, Muchova J, Durackova Z, Watala C. French maritime pine bark extract (Pycnogenol) reduces thromboxane generation in blood from diabetic male rats. *Biomed Pharmacother* 2008; 62:168-172.
25. Kwak CJ, Kubo E, Fujii K, Nishimura Y, Kobuchi S, Ohkita M, et al. Antihypertensive effect of French maritime pine bark extract (Flavangenol): possible involvement of endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation. *J Hypertens* 2009; 27: 92-101.
26. Peng Q, Wei Z, Lau BH. Pycnogenol inhibits tumor necrosis factor alpha activation and adhesion molecule expression in human vascular endothelial cells. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 834-841.
27. Zibadi S, Yu Q, Rohdewald PJ, Larson DF, Watson RR. Impact of Pycnogenol on cardiac extracellular matrix remodeling induced by L-NAME administration to old mice. *Cardiovasc Toxicol* 2007; 7: 10-18.
28. Grimm T, Schäfer A, Högger P. Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract (Pycnogenol) *Free Radical Biology & Medicine* 2004; 36: 811- 822.
29. Feng WH, Wei HL, Liu GT. Effect of Pycnogenol on the toxicity of heart, bone marrow and immune organs as induced by antitumor drugs. *Phytother Res* 2002; 9: 414-418.
30. Cheshier JE, Ardestani-Kaboudanian S, Liang B, Araghnikhan M, Chung S, Lane L, et al. Immunomodulation by pycnogenol in retrovirus-infected or ethanol-fed mice. *Life Sci* 1996; 58: 87-96.
31. Sime S, Reeve VE. Protection from inflammation, immunosuppression and carcinogenesis induced by UV radiation in mice by topical Pycnogenol. *Photochem Photobiol* 2004; 79: 193-198.

32. Saliou C, Rimbach G, Moini H, MacLaughlin L, Hosseini S, Lee J, et al. Solar ultraviolet-induced erythema in human skin and nuclear factor kappa-b-dependent gene expression in keratinocytes are modulated by a French maritime pine bark extract. *Free Rad Biol Med* 2001; 30: 154-160.
33. Cho KJ, Yun CY, Packer L, Chung AS. Inhibition Mechanisms of Bioflavonoids Extracted from the Bark of *Pinus maritima* on the Expression of Proinflammatory Cytokines. *Ann NY Acad Sci* 2001; 928: 141-156.
34. Mochizuki M, Hasegawa N. Therapeutic Efficacy of Pycnogenol in Experimental Inflammatory Bowel Diseases. *Phytother Res* 2004; 18: 1027-1028.
35. Lee HH, Kim KJ, Lee OH, Lee BY. Effect of Pycnogenol on Glucose Transport in Mature 3T3-L1 Adipocytes. *Phytother Res* 2010; 24: 1242-1249.
36. Parveen K, Khana MR, Mujeebb M, Siddiqui WA. Protective effects of Pycnogenol on hyperglycemia-induced oxidative damage in the liver of type 2 diabetic rats. *Chem Biol Interact* 2010; 186: 219-227.
37. Schäfer A, Högger P. Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol) effectively inhibit  $\alpha$ -glucosidase. *Diabetes Res Clin Prac* 2007; 77: 41-46.
38. Schäfer A, Chovanová Z, Muchová J, Sumegová K, Liptáková A, Duracková Z, Högger P. Inhibition of COX-1 and COX-2 activity by plasma of human volunteers after ingestion of French maritime pine bark extract (Pycnogenol). *Biomed Pharmacother* 2005; 60: 5-9.
39. Canali R, Comitato R, Schonlau F, Virgili F. The anti-inflammatory pharmacology of Pycnogenol in humans involves COX-2 and 5-LOX mRNA expression in leukocytes. *Int Immunopharmacol* 2009; 9: 1145-1149.
40. Rohdewald P. A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int J Pharmacol Ther* 2002; 40: 158-168.
41. Hasegawa N. Inhibition of Lipogenesis by Pycnogenol. *Phytother Res* 2000; 14: 472-473.
42. Mochizuki M, Hasegawa N. Pycnogenol Stimulates Lipolysis in 3T3-L1 Cells via Stimulation of beta-Receptor Mediated Activity. *Phytother Res* 2004; 18: 1029-1030.
43. Huynh HT, Teel RW. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF-7) by pycnogenol. *Anticancer Res* 2000; 20: 2417-2420.
44. Neuwirt H, Cedeno Arias M, Puh M, Hobisch A, Culig Z. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes (OPC) Exert Anti-Proliferative and Pro-Apoptotic Effects on Prostate Cancer Cells. *The Prostate* 2008; 68:1647-1654.
45. Buz'Zard AR, Lau BHS. Pycnogenol reduces Talc-induced Neoplastic Transformation in Human Ovarian Cell Cultures. *Phytother Res* 2007; 21, 579-586.
46. Rohdewald P, Beil W. In Vitro Inhibition of *Helicobacter pylori* Growth and Adherence to Gastric Mucosal Cells by Pycnogenol. *Phytother Res* 2008; 22: 685-688.
47. Feng WY, Tanaka R, Inagaki Y, Saitoh Y, Chang MO, Amet T, et al. Pycnogenol, a procyanidin-rich extract from French maritime pine, inhibits intracellular replication of HIV-1 as well as the binding to host cells. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61: 279-285.
48. Arcangeli P. Pycnogenol in chronic venous insufficiency. *Fitoterapia* 2000; 71: 236-244.
49. Petrassi C, Mastromarino A, Spartera C. Pycnogenol in chronic venous insufficiency. *Phytomed* 2000; 7: 383-388.
50. Vinciguerra G, Belcaro G, Cesarone MR, Rohdewald P, Stuard S, Ricci A, et al. Cramps and Muscular Pain: Prevention with Pycnogenol in Normal Subjects, Venous Patients, Athletes, Claudicants and in Diabetic Microangiopathy. *Angiology* 2006; 57: 331-39.
51. Koch R. Comparative Study of Venostasin and Pycnogenol in Chronic Venous Insufficiency. *Phytother Res* 2002; 16: S1-S5.
52. Cesarone MR, Belcaro G, Rohdewald P, Pellegrini L, Ledda A, Vinciguerra G, et al. Comparison of Pycnogenol and Daflon in Treating Chronic Venous Insufficiency: A Prospective, Controlled Study. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006; 12: 205-212.
53. Cesarone MR, Belcaro G, Rohdewald P, Pellegrini L, Ledda A, Vinciguerra G, et al. Rapid Relief of Signs/Symptoms in Chronic Venous Microangiopathy With Pycnogenol: A Prospective, Controlled Study. *Angiology* 2006; 57: 569-576.
54. Cesarone MR, Belcaro G, Rohdewald P, Pellegrini L, Ledda A, Vinciguerra G, et al. Improvement of diabetic microangiopathy with Pycnogenol: A prospective, controlled study. *Angiology* 2006; 57:431-436.
55. Cesarone MR, Belcaro G, Rohdewald P, Pellegrini L, Ledda A, Vinciguerra G, et al. Improvement of signs and symptoms of chronic venous insufficiency and microangiopathy with Pycnogenol: A prospective, controlled study. *Phytomedicine* 2010; 17: 835-839.
56. Cesarone MR, Belcaro G, Rohdewald P, Pellegrini L, Ippolito E, Scocciati M. Prevention of Edema in Long Flights with Pycnogenol. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005; 11: 289-294.
57. Belcaro G, Cesarone MR, Rohdewald P, Ricci A, Ippolito E, Duggall M, et al. Prevention of Venous Thrombosis and Thrombophlebitis in Long-Haul Flights with Pycnogenol. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004; 10: 373-377.P
58. Belcaro G, Cesarone MR, Ricci A, Crnelli U, Rohdewald P, Ledda A. Control of Edema in Hypertensive Subjects Treated With Calcium Antagonist (Nifedipine) or Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors With Pycnogenol. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006; 12: 440-444.
59. Zibadi S, Rohdewald PJ, Park D, Watson RR. Reduction of cardiovascular risk factors in subjects with type 2 diabetes by Pycnogenol supplementation. *Nutr Res* 2008; 28: 315-320.
60. Liu X, Wei J, Tanb F, Zhouc S, Wqrthweind G, Rohdewald P. Antidiabetic effect of Pycnogenol French maritime pine bark extract in patients with diabetes type II. *Life Sci* 2004; 75: 2505-2513.
61. Nishioka K, Hidaka T, Nakamura S, Umemura T, Jitsuiki D, Soga J, et al. Pycnogenol, French maritime pine bark extract, augments endothelium-dependent vasodilation in humans. *Hypertens Res* 2007; 30: 775-780.
62. Kwak CJ, Kubo E, Fujii K, Nishimura Y, Kobuchi S, Ohkita M, et al. Aihypertensive effect of French maritime pine bark extract (Flavanganol): possible involvement of endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation. *J Hypertens* 2009; 27: 92-101.

63. Schönla F, Rohdewald P. Pycnogenol for diabetic retinopathy. A review. *Int Ophthalmol* 2002; 24: 161-171.
64. Steigerwalt R, Belcaro G, Cesarone MR, Di Renzo A, Grossi MG, Ricci A, et al. Pycnogenol improves microcirculation, retinal edema, and visual acuity in early diabetic retinopathy. *J Ocul Pharmacol Ther* 2009; 25: 537-540.
65. Belcaro G, Cesarone MR, Errichi B, Di Renzo A, Grossi MG, Ricci A, et al. Pycnogenol Treatment of Acute Hemorrhoidal Episodes. *Phytother Res* 2010; 24: 438-444.
66. Belcaro G, Cesarone MR, Errichi S, Zulli C, Errichi BM, Vinciguerra G, et al. Variations in C-reactive protein, plasma free radicals and fibrinogen values in patients with osteoarthritis treated with Pycnogenol. *Redox Rep* 2008; 13: 271-276.
67. Cisar P, Jány R, Waczulíková I, Sumegová K, Muchová J, Vojtássák J, et al. Effect of Pine Bark Extract (Pycnogenol) on Symptoms of Knee Osteoarthritis. *Phytother Res* 2008; 22: 1087-1092.
68. Roseff SJ. Improvement in sperm quality and function with French maritime pine tree bark extract. *J Reprod Med* 2002; 47: 821-824.
69. Stanislavov R, Nikolova V, Rohdewald P. Improvement of Seminal Parameters with Prelox: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Cross-over Trial. *Phytother Res* 2009; 23: 297-302.
70. Stanislavov R, Nikolova V. Treatment of erectile dysfunction with pycnogenol and L-arginine. *J Sex Marital Ther* 2003; 29: 207-213.
71. Suzuki N, Uebaba K, Kohama T, Moniwa N, Kanayama N, Koike K. French maritime pine bark extract significantly lowers the requirement for analgesic medication in dysmenorrhea: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Reprod Med* 2008; 53: 338-346.
72. Kohama T, Herai K, Inoue M. Effect of French maritime bark extract on endometriosis as compared with leuprolerin acetate. *J Reprod Med* 2007; 52: 703-708.
73. Yang HM, Liao MF, Zhu SY, Liao MN, Rohdewald P. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial on the effect of Pycnogenol on the climacteric syndrome in peri-menopausal women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007; 86: 978-985.
74. Trebatícká J, Kopasová S, Hradečná Z, Cinovský K, Skodáček I, Suba J, et al. Treatment of ADHD with French maritime pine bark extract, Pycnogenol. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2006; 15:329-335.
75. Dvoráková M, Sívonová M, Trebatícká J, Skodáček I, Waczulíková I, Muchová J, Duracková Z. The effect of polyphenolic extract from pine bark, Pycnogenol on the level of glutathione in children suffering from attention deficit hyperactivity disorder. *Redox Rep.* 2006;11: 163-72.
76. Dvoráková M, Jezová D, Blazíček P, Trebatícká J, Skodáček I, Suba J, et al. Urinary catecholamines in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): modulation by a polyphenolic extract from pine bark (pycnogenol). *Nutr Neurosci* 2007; 10: 151-157.
77. Chovanová Z, Muchová J, Sívonová M, Dvoráková M, Žitnanová I, Waczulíková I, et al. Effect of polyphenolic extract, Pycnogenol on the level of 8-oxoguanine in children suffering from attention deficit/hyperactivity disorder. *Free Rad Res* 2006; 40: 1003-1010.
78. Viktorinova A, Trebaticka J, Paduchova Z, Ursinyova M, Uhnakova I, Masanova V, Durackova Z. Natural polyphenols modify trace element status and improve clinical symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder. *Biomed Pharmacother.* Doi: 10.1016/j.biopha. 2009.04.040.
79. Tenenbaum S, Paull JC, Sparrow EP, Dodd DK, Green L. An experimental comparison of Pycnogenol and methylphenidate in adults with Attention-Deficit/hyperactivity Disorder (ADHD). *J Atten Disord* 2002; 6: 49-60.
80. Hosseini S, Pishnamazi S, Sadrzadeh SM, Farid F, Farid R, Watson RR. Pycnogenol in the management of Asthma. *J Med Food* 2001; 4:201-209.
81. Lau BH, Riesen SK, Truong KP, Lau EW, Rohdewald P, Barreta RA. Pycnogenol as an adjunct in the management of childhood asthma. *J Asthma* 2004; 41: 825- 832.
82. Ryan J, Croft K, Mori T, Wesnes K, Spong J, Downey L, et al. An examination of the effects of the antioxidant Pycnogenol on cognitive performance, serum lipid profile, endocrinological and oxidative stress biomarkers in an elderly population. *J Psychopharmacol* 2008; 22; 553.
83. Stefanescu M, Matache C, Onu A, Tanaseanu AS, Dragomir C, Constantinescu I, et al. Pycnogenol, Efficacy in the Treatment of Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Phytother Res* 2001; 15: 698-704.
84. Wilson D, Evans M, Guthrie N, Sharma P, Baisley J, Schonlau F, Burki C. A Randomized, Double-Blind, Placebo- Controlled Exploratory Study to evaluate the potential of Pycnogenol for Improving Allergic Rhinitis Symptoms. *Phytother Res* 2010; 24: 1115-1119.
85. Cesarone MR, Belcaro G, Stuard S, Schönla F, Di Renzo A, Grossi MG, et al. Kidney flow and function in hypertension: protective effects of pycnogenol in hypertensive participants: a controlled study. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2010; 15: 41-46.
86. Ni Z, Mu Y, Gulati O. Treatment of Melasma with Pycnogenol. *Phytother Res* 2002; 16: 567-571.
87. Jadad AR, Moore AR, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Controlled Clinical Trials* 1996; 17 (1): 1-12.