

Revisión

Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular

M. Quiñones¹, M. Miguel² y A. Aleixandre¹

¹Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. ²Instituto de Investigación en Ciencias de Alimentación (CIAL, CSIC-UAM). Madrid. España.

Resumen

En los últimos años numerosos estudios han avalado los efectos beneficiosos de la ingesta de polifenoles sobre la salud, especialmente sobre el sistema cardiovascular. Esto es importante, porque las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo. Los efectos de los polifenoles son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes. Estos compuestos presentan efectos vasodilatadores, son capaces además de mejorar el perfil lipídico y atenúan la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Presentan claros efectos antiinflamatorios y estos compuestos son a su vez capaces de modular los procesos de apoptosis en el endotelio vascular. Esta revisión define desde el punto de vista estructural, los distintos grupos de polifenoles que pueden formarse en los vegetales y actualiza los conocimientos sobre su biodisponibilidad. En ella se recopilan asimismo algunos de los estudios recientes que establecen sus propiedades beneficiosas a nivel cardiovascular.

(*Nutr Hosp.* 2011;27:76-89)

DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5418

Palabras clave: Enfermedad cardiovascular. Polifenoles. Salud.

Abreviaturas

Ca⁺⁺: Cation calcio.
CoA: Coenzima A.
COX: Ciclooxygenasa.
ECA: Enzima convertidora de angiotensina.
eNOS: Óxido nítrico sintasa endotelial.
GMP_c: Guanosín monofosfato cíclico.
HClO: Ácido hipocloroso.
HDL: Lipoproteína de alta densidad.

Correspondencia: Marta Miguel.
Instituto de Investigación en Ciencias de Alimentación (CIAL, CSIC-UAM)
C/ Nicolás Cabrera, 9.
28049 Madrid. España.
E-mail: marta.miguel@csic.es

Recibido: 27-VI-2011.
1.ª Revisión: 22-VII-2011.
Aceptado: 23-VII-2011.

THE POLYPHENOLS, NATURALLY OCCURRING COMPOUNDS WITH BENEFICIAL EFFECTS ON CARDIOVASCULAR DISEASE

Abstract

In recent years, a number of studies have endorsed the beneficial effects of polyphenols intake on health, especially on the cardiovascular system. This is important since cardiovascular diseases are the main death cause worldwide. The effects of polyphenols are mainly due to their antioxidant properties. These compounds present vasodilating effects, and they can improve the lipid profile and lessen the oxidation of low-density lipoproteins (LDL). They show clear antiinflammatory effects and they can modulate the apoptotic pathways in the vascular endothelium. This review defines from the structural viewpoint the different groups of polyphenols that may occur in vegetables, and updates the knowledge on their bioavailability. Some of the recent studies establishing their beneficial properties at a cardiovascular level are also included.

(*Nutr Hosp.* 2012;27:76-89)

DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5418

Key words: Cardiovascular disease. Polyphenols. Health.

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno.
iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible.
K⁺: Cation potasio.
LDL: lipoproteínas de baja densidad.
LPO: Lipooxygenasa.
MDA: Malonildialdehído
NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.
NO: Óxido nítrico.
NOS: Óxido nítrico sintasa.
O₂⁻: Anión superóxido.
PDE: Fosfodiesterasa.
PDE5A1: Fosfodiesterasa 5 A1.
PDGFR: Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas.
PGI₂: Prostaciclina.
ROS: Especies reactivas de oxígeno.
TNFα: Factor de necrosis tumoral-α.
TXA₂: Tromboxano A₂.

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo. Según datos publicados en septiembre de 2009, por la Organización Mundial de la Salud, en 2005 murieron 17,5 millones de personas como consecuencia de la enfermedad cardiovascular, lo cual representa un 30 % de todas las muertes registradas a nivel mundial. Se calcula que en 2015 morirán cerca de 20 millones de personas al año en el mundo por enfermedad cardiovascular.

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares^{1,2}.

La capacidad de los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas, y para interferir consecuentemente en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares, puede deberse, al menos en parte, a las características fisicoquímicas de estos compuestos, que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción. Sus propiedades antioxidantes justifican muchos de sus efectos beneficiosos. Esta revisión presenta información sobre el origen, la estructura y la distribución de los polifenoles. Se incluyen en ella algunos de los datos actuales sobre la biodisponibilidad de estos compuestos, y se recopilan los estudios más recientes que avalan los efectos beneficiosos de los mismos a nivel cardiovascular. Asimismo, se detallan algunos de los mecanismos que pueden justificar tales efectos.

Origen, estructura y distribución de los polifenoles

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracte-

rizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos podemos denominarlos polifenoles. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales. Otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc.).

Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (fig. 1).

La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido siquímico y la ruta de los poliacetatos³. La ruta del ácido siquímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La ruta de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas.

La ruta del ácido siquímico es dependiente de la luz. Se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fostato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, y el fosfoenolpiruvato, originario de la glucólisis. Tras diversas modificaciones, se obtiene el ácido siquímico, del que derivan directamente algunos fenoles. La vía del ácido siquímico puede continuar con la adhesión de una segunda molécula de fosfoenolpiruvato, dando lugar a la fenilalanina, un aminoácido esencial propio del metabolismo primario de las plantas. La fenilalanina entra a formar parte del metabolismo secundario por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, que cataliza la eliminación de un grupo amonio, transformando

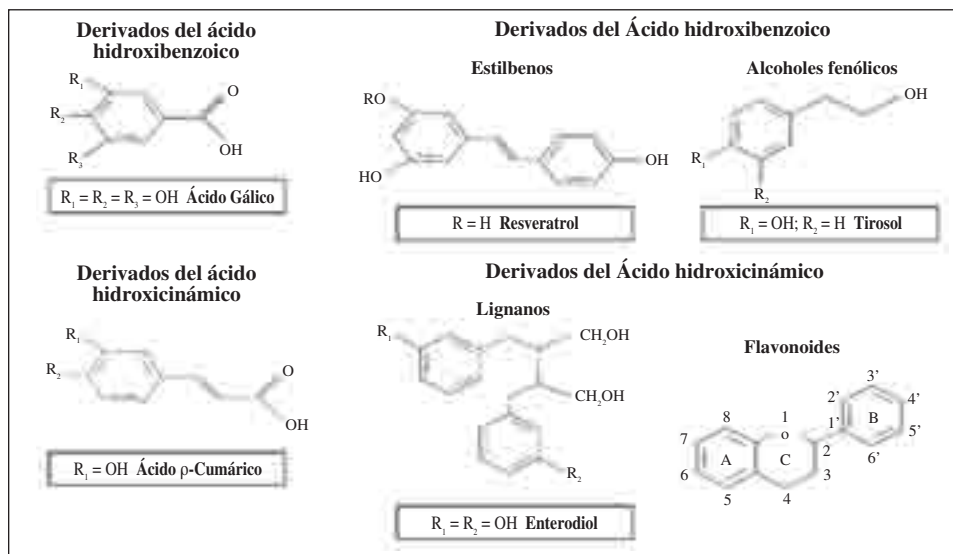


Fig. 1.—Núcleo estructural de los principales grupos de polifenoles. Se señalan los sustituyentes que corresponden a la estructura concreta de algunos compuestos. Se numeran los átomos de carbono del núcleo estructural de los flavonoides. En la figura 3 se presentarán asimismo los distintos núcleos estructurales de los flavonoides que derivan del núcleo principal que aparece en esta figura.

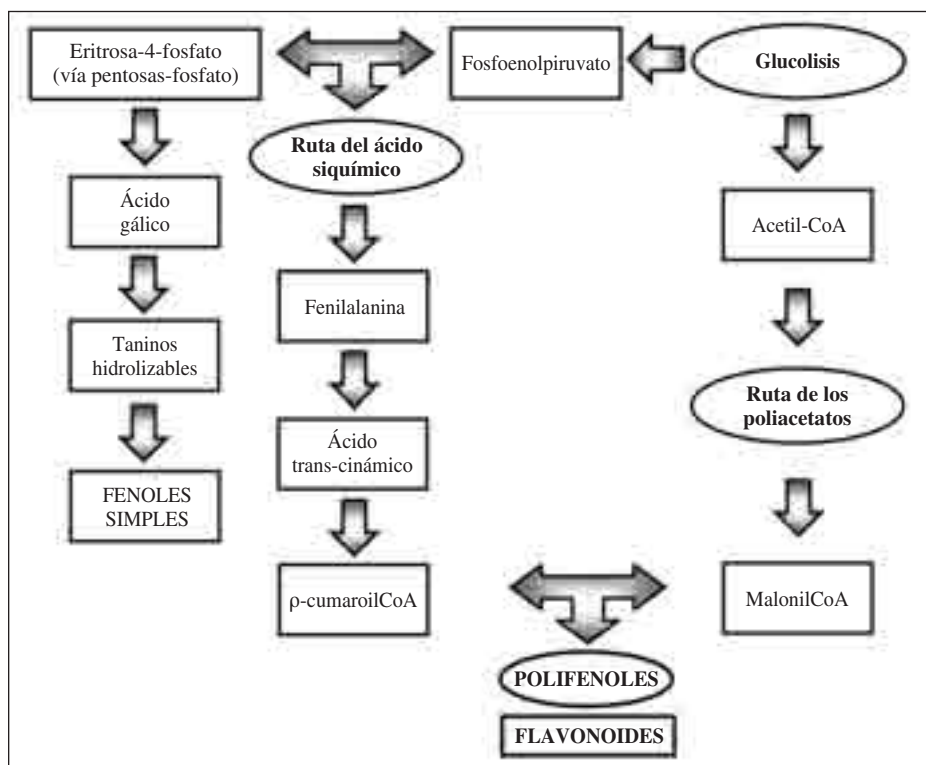


Fig. 2.—Esquema de la ruta biosintética de los polifenoles en las plantas. CoA = Coenzima A.

la fenilalanina en el ácido trans-cinámico. Posteriormente, el ácido trans-cinámico se transforma en ácido *p*-cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel del anillo aromático. La acción de una Coenzima A (CoA), la CoA-ligasa, transforma el ácido *p*-cumárico en *p*-cumaroilCoA, que es el precursor activo de la mayoría de los fenoles de origen vegetal.

La ruta de los poliacetatos comienza a partir de una molécula inicial de acetilCoA, y a través de una serie de condensaciones se originan los poliacetatos. Por reducción de los poliacetatos se forman los ácidos grasos, y por ciclación posterior se forman una gran variedad de compuestos aromáticos, como las quinonas y otros metabolitos que se generan a través de rutas mixtas. Las rutas mixtas combinan precursores tanto de la vía del ácido siquímico como de la ruta de los poliacetatos. Este es el caso de un importante grupo de moléculas biológicamente activas, denominadas genéricamente flavonoides (fig. 2).

Los flavonoides, nombre que deriva del latín “flavus”, cuyo significado es “amarillo”, constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal. El científico húngaro Albert Szent-Györgyi, premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1937, los descubrió en el siglo pasado cuando aisló de la cáscara de limón una sustancia, la citrina, y demostró que su consumo regulaba la permeabilidad de los capilares. A la citrina y a los compuestos afines los denominó “vitamina P” (por permeabilidad). Posteriormente, también observó que estos compuestos poseían propiedades similares a la vitamina C. Mejoraban la absorción de

esta vitamina y la protegían de la oxidación, y por ello también se denominaron *vitamina C₂*⁴. Sin embargo, no se pudo confirmar que los flavonoides fueran vitaminas, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950⁵.

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenilpirano (C₆-C₃-C₆), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Los átomos de carbono individuales de los anillos A, B y C se numeran mediante un sistema que utiliza números ordinarios para los anillos A y C, y números primos para el anillo B. De los tres anillos, el A se biosintetiza a través de la ruta de los poliacetatos, y el anillo B junto con la unidad C3 proceden de la ruta del ácido siquímico (fig. 3). Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos aromáticos, y son por lo tanto estructuras polifenólicas.

Los flavonoides se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre (también llamados agliconas flavonoides). Además, se pueden presentar como sulfatos, dímeros ó polímeros. Los glucósidos se pueden encontrar de dos formas: como O-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal), o como C-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de enlaces carbono-carbono. De todas estas formas naturales, los O-glucósidos son los mayoritarios.

Existen varios subgrupos de flavonoides. La clasificación de estos compuestos se hace en función del estado de oxidación del anillo heterocíclico (anillo C) y

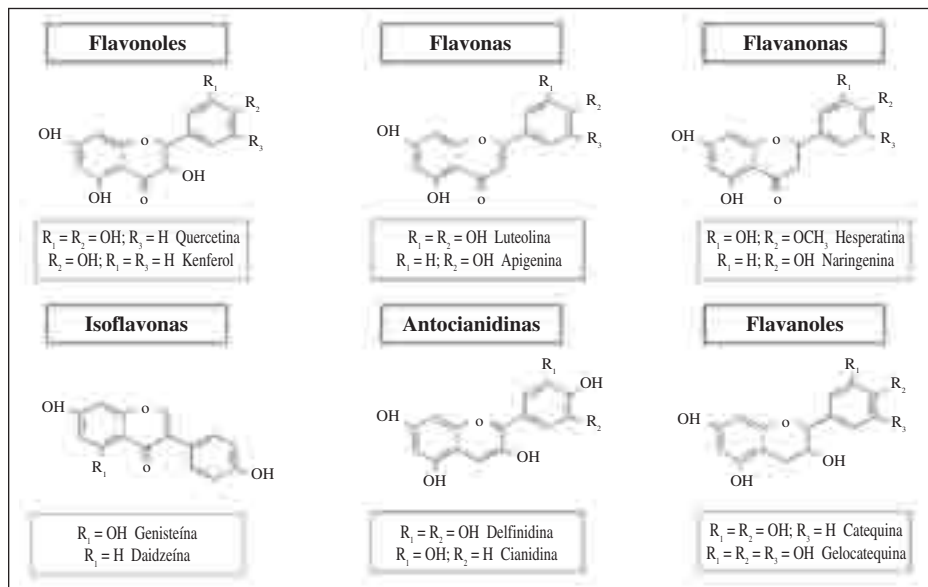


Fig. 3.—Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides. Se señalan ejemplos de algunos compuestos que son característicos de cada grupo.

de la posición del anillo B. Dentro de cada familia existen una gran variedad de compuestos, que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los distintos grupos funcionales que pueden presentar (metilos, azúcares, ácidos orgánicos). Los principales subgrupos de compuestos flavonoides son: flavonoles, flavonas, flavanonas (dihidroflavonas), isoflavonas, antocianidinas y flavanoles⁶ (fig. 3).

Flavonoles

Se caracterizan por poseer un grupo ceto en el carbono C_4 y una insaturación entre los carbonos C_2 y C_3 . Poseen además un grupo hidroxilo adicional en el carbono C_3 . Representan el grupo más ubicuo de polifenoles presente en los alimentos. La quercetina es el compuesto más representativo. Las principales fuentes de flavonoles son las verduras y las frutas. El té y el vino son también alimentos ricos en flavonoles. La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético. Por ello, estos compuestos se localizan principalmente en el tejido externo y aéreo de la planta. La distribución y la concentración de los flavonoles puede ser distinta incluso en frutas procedentes de la misma planta; esto se debe a que la localización de los frutos condiciona la exposición al sol.

Flavonas

Poseen un grupo ceto en el carbono C_4 y una insaturación entre los carbonos C_2 y C_3 . Son los flavonoides menos abundantes en los alimentos. Perejil y apio representan la única fuente comestible de flavonas. La piel de las frutas también posee grandes cantidades de flavonas polimetoxiladas.

Flavanonas

Son análogos de las flavonas con el anillo C saturado. Se glucosilan principalmente por la unión de un disacárido en el carbono C_7 . Constituyen un grupo minoritario en los alimentos. Las flavanonas aparecen a altas concentraciones en cítricos y en tomates, y también se encuentran en ciertas plantas aromáticas como la menta. Las flavanonas se localizan mayoritariamente en las partes sólidas de la fruta, en particular en el albedo (membranas que separan los segmentos de las frutas). Por ello, su concentración es hasta cinco veces mayor en la fruta que en los zumos.

Isoflavonas

Poseen un anillo bencénico lateral en posición C_3 . Su estructura recuerda a la de los estrógenos. Las isoflavonas poseen grupos hidroxilos en los carbonos C_7 y C_4 , al igual que sucede en la estructura molecular de la hormona estriol (uno de los tres estrógenos mayoritarios junto al estradiol y la estrona). En realidad, las isoflavonas se pueden unir a receptores de estrógenos, y por ello se clasifican como fitoestrógenos. Se pueden presentar como agliconas, o a menudo conjugadas con glucosa, pero son termosensibles y pueden hidrolizarse durante su procesamiento industrial y durante su conservación. Se presentan casi exclusivamente en plantas leguminosas, siendo la soja y sus derivados la principal fuente de isoflavonas.

Antocianidinas

Son compuestos hidrosolubles, y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Se

encuentran principalmente como heterósidos con los tres anillos de su estructura conjugados. La glucosilación ocurre principalmente en la posición 3 del anillo C ó en las posiciones 5 y 7 del anillo A. También es posible la glucosilación de las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B, aunque esta glucosilación aparece con menos frecuencia. Las antocianidinas están ampliamente distribuidas en la dieta humana. Se pueden encontrar en ciertas variedades de cereales, en el vino tinto y en algunos vegetales, aunque aparecen mayoritariamente en las frutas.

Flavanoles

Poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono C₃. Pueden aparecer como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización. A diferencia de otros grupos de flavonoides, sus combinaciones de tipo heterosídico (entre el grupo reductor del azúcar y un grupo tiol) son poco habituales. Los flavanoles más representativos en los alimentos son de tipo flavan-3-ol, y estos pueden aparecer como monómeros (catequinas), como dímeros condensados entre sí y como oligómeros (procianidinas), o bien pueden aparecer como polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). Epicatequina y catequina son los compuestos mayoritarios en frutas. Las catequinas también se encuentran en el vino y en el chocolate, que son las fuentes mayoritarias. En cambio, galocatequina, epigalocatequina y epigalocatequina galato aparecen principalmente en el té⁷. Es bastante complejo valorar el contenido de proantocianidinas en los alimentos, debido a que poseen un amplio rango estructural y pesos moleculares muy variables⁸. Los datos mayoritarios disponibles, en cuanto a la caracterización de estos compuestos, hacen referencia principalmente a dímeros y trímeros de catequinas, que representan las formas mayoritarias⁹. Aún así, en los últimos años, se están desarrollando nuevas técnicas de análisis, que conlleva a una mejor caracterización de todos estos compuestos¹⁰.

Los flavonoides son pigmentos ampliamente distribuidos en el reino vegetal, mayoritariamente en angiospermas, aunque de forma minoritaria también se encuentran en hongos y algas. Pueden localizarse en distintas zonas de la planta, aunque principalmente aparecen en las partes aéreas. Son compuestos necesarios para el desarrollo fisiológico de los vegetales, y se ubican en la membrana del tilacoide de los cloroplastos. Estas sustancias participan en la vía de expresión de dos enzimas multigénicas, la fenilalanina amonio liasa y la chalcona sintasa, que son enzimas importantes en el proceso de pigmentación de los vegetales. Además, los flavonoides juegan un papel importante en los sistemas de defensa frente a agentes agresores externos. Los flavonoides también pueden actuar como señalizadores químicos, y pueden ejercer distintos efectos directos o indirectos sobre determinadas enzi-

mas que afectan a la fisiología y el metabolismo de los vegetales.

Algunos polifenoles son específicos de determinados alimentos (flavononas en cítricos, isoflavonas en soja). Otros, como la quercetina, se pueden encontrar en un gran número de plantas (frutas, vegetales, cereales, leguminosas, té, vino, etc.). Generalmente, los alimentos contienen una mezcla compleja de polifenoles. Además, numerosos factores medioambientales como la luz, el grado de madurez o el grado de conservación, pueden afectar al contenido total de polifenoles. El clima (exposición al sol, precipitaciones, etc.) o factores agronómicos (diferentes tipos de cultivos, producción de fruta por el árbol, etc.) juegan un papel fundamental. La exposición a la luz es, en particular, uno de los principales condicionantes para determinar el contenido de la mayoría de los polifenoles. El grado de conservación puede también determinar el contenido en polifenoles fácilmente oxidables, permitiendo la formación de más o menos sustancias polimerizadas que afectan al color y a las características organolépticas de los alimentos. La conservación en frío, sin embargo, no afecta al contenido de polifenoles¹¹. El contenido de polifenoles en los alimentos está también influenciado por los métodos culinarios de preparación; así, el contenido de polifenoles de las frutas y de los vegetales pueden disminuir por el simple hecho de pelar estos alimentos, ya que estas sustancias están a menudo presentes en altas concentraciones en las partes externas de los mismos. La cocción de los alimentos puede disminuir hasta un 75% el contenido inicial de polifenoles¹¹.

El contenido cualitativo y cuantitativo de polifenoles es diferente en cada especie vegetal. Entre las plantas con alto contenido en polifenoles se encuentran el cacao (*Theobroma cacao*), la uva (*Vitis vinifera*), el té (*Camelia sinensis*), la manzana (*Malus domestica*) y diversas bayas. Así pues, las fuentes mayoritarias de polifenoles en la dieta humana son principalmente las frutas, el té, el vino y el chocolate. En el cacao los flavanoles, están principalmente en forma de epicatequinas, catequinas y procianidinas. El vino es rico en catequinas y procianidinas, y en el té los flavanoles se encuentran fundamentalmente como derivados de galatos¹²⁻¹⁴.

Biodisponibilidad de los polifenoles

La definición de biodisponibilidad más comúnmente aceptada hace referencia a "la proporción de nutrientes que se digieren, se absorben y se metabolizan a través de las rutas metabólicas habituales de asimilación"¹⁵. Es importante conocer la cantidad total de polifenoles que está presente en un alimento o ingrediente alimentario, pero, teniendo en cuenta la definición anterior de biodisponibilidad, es más importante conocer la cantidad de polifenoles que es biodisponible, dentro del contenido total de un alimento¹⁵.

El concepto de biodisponibilidad cobra una gran importancia, dado que los polifenoles más abundantes no siempre son los más activos en el organismo, ya sea porque tienen una menor actividad intrínseca, su absorción en el intestino es baja, son altamente metabolizados o se excretan rápidamente. En general, el metabolismo de los polifenoles se produce a través de una secuencia de reacciones común para todos ellos, que es similar a la detoxificación metabólica que sufren muchos xenobióticos para reducir su potencial efecto citotóxico, incrementar su hidrofiliabilidad y facilitar su eliminación urinaria o biliar⁶.

La mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, formas que no se pueden absorber. En realidad, en los alimentos, prácticamente todos los flavonoides, excepto los flavanoles, presentan formas glucosiladas. El destino de los glucósidos en el estómago aún no está claro. La mayoría de los glucósidos resisten probablemente la hidrólisis ácida del estómago y llegan intactos al intestino. Estas sustancias deben hidrolizarse por enzimas intestinales como la β -glucosidasa y la lactasa-florizina hidrolasa, o deben ser degradadas por la microflora del colon antes de poder asimilarse^{16,17}.

Durante el proceso de absorción, los polifenoles sufren, por tanto, diversas modificaciones. De hecho, estos compuestos se conjugan en las células del intestino y posteriormente sufren procesos de metilación, sulfatación y/o glucuronidación en el hígado. Como consecuencia de estos procesos, las formas que se encuentran en el plasma y en los tejidos son muy distintas de las que están presentes en los alimentos, y esto dificulta la tarea de identificación de los metabolitos y la evaluación de su actividad biológica^{18,19}. Los principales objetivos de los estudios de biodisponibilidad son, en realidad, determinar cuáles son los polifenoles que mejor se absorben, valorar que polifenoles dan lugar a metabolitos activos, y caracterizar la actividad biológica de estos metabolitos.

La estructura química de los polifenoles, más que su concentración, determina el rango de absorción y la naturaleza de los metabolitos circulantes en el plasma. La glucosilación afecta al grado de absorción de estos compuestos, y los polifenoles más comunes de nuestra dieta, no son necesariamente los que producen una mayor concentración de metabolitos activos en los tejidos diana¹⁷.

Para estudiar indirectamente la biodisponibilidad de los polifenoles se puede evaluar el incremento en la capacidad antioxidante del plasma tras el consumo de alimentos ricos en estos compuestos²⁰. Para realizar estudios directos de biodisponibilidad, se puede medir la concentración del compuesto en el plasma y en la orina tras la ingestión de alimentos con cantidades conocidas, de los polifenoles que se quieren analizar²¹.

Uno de los polifenoles más estudiado es la quercetina. Estudios experimentales en ratas, han demostrado que la quercetina puede absorberse a nivel gástrico, pero sus glucósidos no se absorben a este nivel²². La

glucosilación de la quercetina facilita, sin embargo, su absorción a nivel intestinal. Allí los glucósidos de quercetina se absorben mejor que su propia aglicona²³. Se ha sugerido que los glucósidos pueden ser transportados al interior del enterocito, por un transportador de glucosa dependiente de sodio²⁴ y el glucósido se hidrolizaría después por una β -glucosidasa citosólica²⁵. El metabolismo de la quercetina en humanos se ha caracterizado extensamente. En muestras de plasma de voluntarios que recibieron quercetina por vía oral, se encontraron formas conjugadas de quercetina distintas a las administradas²⁶.

En estudios realizados en ratas, las antocianinas también pueden absorberse en el estómago²⁷. Las proantocianidinas difieren del resto de polifenoles en su estructura polimérica, que les confiere un alto peso molecular. Su peso molecular limita su absorción en el intestino delgado; sobre todo cuando se trata de compuestos con estructura superior a trímeros²⁸.

Sabemos, por tanto, que una vez absorbidos, los polifenoles están sujetos a procesos de detoxificación metabólica, que incluyen distintas modificaciones como metilación, sulfatación y glucuronidación. Estos procesos aumentan la hidrofiliabilidad del compuesto y facilitan su excreción por vía urinaria o biliar. La frecuencia de estas modificaciones está condicionada por la naturaleza y la dosis de polifenol ingerida. El balance entre sulfatación y glucuronidación de los polifenoles varía en función de la especie y el sexo²⁹. Es importante identificar la posición de los grupos conjugados sobre la estructura polifenólica, ya que estas modificaciones pueden afectar a sus propiedades biológicas³⁰.

Los metabolitos circulantes se pueden unir a proteínas del plasma; principalmente a la albúmina. La afinidad de los polifenoles a la albúmina varía en función de su estructura química^{31,32}. La capacidad de unión a la albúmina puede determinar la presencia del metabolito en células y tejidos. Sin embargo, está poco claro si sus efectos biológicos están mediados por la unión a albúmina, como se ha demostrado para la quercetina³³. Un estudio reciente, ha demostrado que la unión de los flavonoides a la albúmina sérica, puede modularse por componentes del plasma. Más concretamente, se ha demostrado la posible participación de los ácidos grasos, en la modulación por inhibición alostérica, en la unión de los flavonoides a la albúmina en humanos, y de alguna forma esta inhibición podría interferir en sus efectos biológicos³⁴.

La concentración de polifenoles en el plasma es muy variable; depende principalmente de su estructura química y de su fuente de origen, y es necesario ingerir estos compuestos de forma reiterada a lo largo del tiempo para mantener sus concentraciones elevadas en el plasma³⁵. La concentración de los flavonoides intactos en el plasma no suele ser superior a 1 μM , mientras que en el caso de los metabolitos es de aproximadamente 10 μM . Estudios realizados en humanos han señalado que la concentración de polifenoles en plasma

no está directamente relacionada con la concentración de polifenoles en los tejidos. Además, la distribución entre plasma y tejidos difiere para los distintos tipos de polifenoles³⁶. Por lo tanto, puede ser incluso más importante determinar la concentración de polifenoles en los tejidos que conocer su concentración en el plasma. Principalmente, los polifenoles se encuentran en aquellos tejidos donde se han metabolizado (tejido hepático, estomacal, intestinal, colónico y nefrítico³⁷⁻³⁹), pero además también pueden acumularse en tejidos dianas específicos, como el tejido pulmonar, el pancreático, el cerebral, el cardíaco y el tejido esplénico^{40,41}.

Los polifenoles que no se pueden absorber en el intestino delgado alcanzan el colon, y allí la microflora hidroliza glucósidos en agliconas y metaboliza masivamente las agliconas en distintos ácidos aromáticos⁴². Las agliconas se hidrolizan por apertura del anillo heterocíclico en diferentes puntos, dependiendo de su estructura química, y además se pueden liberar diferentes ácidos que se metabolizan hasta generar ácido benzoico. La microflora del colon genera en ocasiones metabolitos activos específicos, como el equol, enterolactona y enterodiol. El equol parece que tiene propiedades fitoestrogénicas que son aún mayores, que los compuestos originales de la isoflavona⁴³ y la enterolactona y el enterodiol, producidos a partir de la linaza (semilla del lino), presentan efectos agonistas ó antagonistas sobre los estrógenos⁴⁴.

Los polifenoles y sus derivados se excretan por vía urinaria o por vía biliar. Diversos estudios han demostrado que el contenido de polifenoles no modificados presentes en la orina, varía según se trate de unos compuestos fenólicos u otros. La cantidad total de metabolitos excretados en orina puede correlacionarse, sin embargo, con la máxima concentración en el plasma. Las concentraciones halladas en la orina son de 0,5-6% para algunas catequinas del té⁴⁵, de 2-10% para las catequinas del vino⁴⁶ y de hasta un 30% para la epicatequina del cacao⁴⁷.

Propiedades beneficiosas de los polifenoles a nivel cardiovascular

Numerosos estudios han avalado las propiedades biológicas de los polifenoles^{1,2,3,48,49}. Estos efectos son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes que pueden usualmente justificar sus acciones vasodilatadoras y vasoprotectoras, así como sus acciones antitrombóticas, antilipémicas, antiateroscleróticas, antiinflamatorias y antiapoptóticas.

Los polifenoles son, en realidad, los principales antioxidantes de la dieta, y su ingesta es 10 veces superior a la de la vitamina C, y 100 veces superior a la de la vitamina E o los carotenoides⁵⁰. Algunos alimentos sabemos que destacan por su alto contenido en polifenoles. Entre ellos el té, el vino y el cacao. Los polifenoles contenidos en estos alimentos son altamente efectivos como defensa antioxidante⁵¹. Flavonoides como la

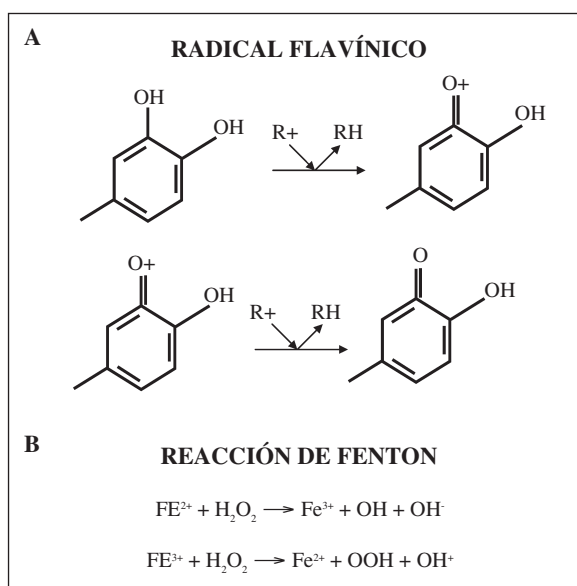


Fig. 4.—Formación del radical flavínico por la captura de radicales libres por los polifenoles (A). Reacción de Fenton (B).

catequina o la quercetina pueden directamente neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), como el O_2^- , el H_2O_2 ⁵² o el HClO ⁵³. La quercetina y la miricetina, seguidas por el kenferol, son los flavonoides que poseen mayor actividad neutralizadora de radicales libres. El grupo fenólico que poseen puede actuar directamente capturando electrones desapareados de las ROS, y genera así especies menos reactivas⁵⁴. Los flavonoides actúan fundamentalmente como tampones, y capturan radicales libres para generar el radical flavínico, mucho menos reactivo, ya que en él los electrones desapareados están más deslocalizados (fig. 4). Además, flavonoides como la quercetina pueden quelar iones metálicos de transición como el hierro o el cobre, evitando así la formación de las ROS producidas por la reacción de Fenton⁵⁵ (fig. 4).

Los polifenoles también pueden interferir con los sistemas de detoxificación celular, como la superóxido dismutasa, la catalasa o la glutatión peroxidasa⁵⁶. Además, estos compuestos pueden inhibir enzimas generadoras de ROS, como la xantina oxidasa y la nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa^{57,58}. Los polifenoles del té muestran una fuerte capacidad antioxidante *in vitro*, y su efecto es hasta 5 veces más efectivo que el de la vitamina C o la vitamina E⁵⁹. Recientemente, se ha observado que el flavonoide epigallocatequina galato, procedente del té, puede regular la producción de ROS, modulando la actividad del glutatión y de la enzima citocromo P450⁶⁰. El vino también es rico en polifenoles antioxidantes, principalmente ácidos fenólicos, resveratrol, flavonoles, flavanoles, procianidinas y antocianinas⁶¹. El cacao es uno de los alimentos que mayor cantidad de flavonoides contiene, principalmente epicatequina y catequina⁶². El estudio del cacao y sus derivados ha suscitado actualmente gran interés entre los científicos, pues, por su

elevado poder antioxidante, hoy día el cacao puede considerarse un buen candidato para su uso como alimento funcional en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y patologías asociadas al estrés oxidativo.

Como consecuencia de su acción antioxidante, los polifenoles poseen efectos vasodilatadores, antitrombóticos, antiinflamatorios y antiapoptóticos^{1,63-65}. Además de las propiedades vasodilatadoras que favorecen el control del tono arterial, se han descrito otras propiedades de los flavonoides que favorecen también su efecto cardioprotector. Los polifenoles poseen efectos antilipémicos y antiaterogénicos^{66,67,68}. Habría además que señalar, que algunos estudios han demostrado que estos compuestos también pueden inhibir la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), y la inhibición de esta enzima justificaría también sus efectos vasodilatadores y cardioprotectores^{69,70}. A continuación comentaremos más detalladamente algunos de los estudios que han demostrado todos estos efectos.

Efectos vasodilatadores

La homeostasis vascular se consigue gracias a una producción y una biodisponibilidad adecuada del NO. Este mediador juega un papel fundamental en la regulación del tono vascular. Varios estudios realizados en anillos de aorta o en arterias mesentéricas de ratas, muestran que los compuestos polifenólicos presentes en el vino tinto pueden inducir relajación endotelio-dependiente^{71,72}. Se ha descrito que este efecto está principalmente mediado por la producción de NO^{73,74}. En algún caso se ha descrito que los polifenoles modulan la producción de NO en células endoteliales a través de un mecanismo dependiente del calcio extracelular⁷⁵. El resveratrol y la quercetina se ha demostrado que inducen un incremento de la concentración intracelular de calcio en las células endoteliales, y lo hacen por activación de canales de K⁺ o por inhibición de las Ca⁺⁺-ATPasas del retículo endoplasmático^{76,77}. La delphinidina, una antocianina presente en el vino tinto, es también capaz de estimular las células endoteliales e inducir en ellas un incremento de Ca⁺⁺ intracelular. Todos estos estudios han revelado que el efecto vasodilatador de los flavonoides, se debe principalmente a la producción de óxido nítrico (NO) en el endotelio y al aumento del guanosín monofosfato cíclico (GMP_c)⁷⁸. Recientemente se ha descrito, además, que esta mejora en la función vascular está relacionada con mecanismos dependientes de la guanilil ciclasa soluble⁷⁹. También se ha comprobado que una dieta rica en quercetina ocasiona un incremento en la actividad de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), y con ello, aumento de la producción de NO y de GMP_c. La ausencia en la sobreexpresión del gen de la eNOS, indica que los mecanismos de acción implicados en la activación de la enzima no son transcripcionales⁸⁰. Sin embargo, algunos autores también han llegado a la conclusión de

que los flavonoides pueden modular la expresión de eNOS al mismo tiempo que se inhibe por vía transcripcional la expresión del gen de la NOS inducible (iNOS)^{81,82}. Los polifenoles del vino también pueden promover la liberación de NO endotelial a través de vías sensibles a procesos de óxido-reducción⁸³. También se ha descrito que los compuestos polifenólicos del vino tinto pueden modular los niveles de NO actuando sobre las fosfodiesterasas (PDE), en particular los polifenoles del vino, se ha demostrado que inhiben la actividad de la PDE5A1 que catalizan la degradación de GMP_c⁸⁴.

Es importante también el efecto antioxidante que ejercen los flavonoides a través de la neutralización y disminución de la formación de O₂⁻ que promueven. Algunos estudios realizados en animales y algunos ensayos clínicos demuestran que los polifenoles disminuyen los niveles cardíacos de ROS y de malonildialdehído (MDA), un metabolito que se forma cuando las ROS y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas atacan los ácidos grasos de las membranas celulares^{85,86}.

Efectos antilipémicos y antiaterogénicos

Una de las propiedades beneficiosas más estudiadas de los polifenoles es su capacidad para mejorar el perfil lipídico⁸⁷. De este modo, pueden prevenir el desarrollo y aparición de aterosclerosis. Esta enfermedad se caracteriza principalmente por la progresiva obstrucción de las arterias como consecuencia de la acumulación de lípidos en la pared arterial. Estos lípidos atraviesan el endotelio y se oxidan en las células endoteliales, en las células de la musculatura lisa vascular y en los macrófagos⁸⁸. La oxidación de las LDL y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) pueden amplificarse por la producción de ROS y especies reactivas de nitrógeno, y se acompaña de disfunción de las células endoteliales y de la formación de las células espumosas a partir de los macrófagos. También se produce la migración de las células del músculo liso desde la capa media a la íntima, con la consecuente proliferación de las células del músculo liso en la zona neointima. Todo ello provoca una excesiva deposición de matriz extracelular y la adhesión al endotelio vascular de leucocitos, monocitos y linfocitos T. La acumulación de macrófagos en ese lugar, para eliminar las moléculas de LDL oxidadas, provoca además un proceso inflamatorio, con un reclutamiento de células y con la proliferación y migración de células del músculo liso. También aumenta el depósito de matriz extracelular alrededor de la zona donde se localiza la inflamación, y esto permite la formación de la llamada placa de aterosclerosis, que ocluye más o menos el vaso⁸⁹. El paso final del proceso aterogénico es la ruptura de la placa aterosclerótica y la activación plaquetaria que provoca la formación de trombos⁹⁰. Todos estos procesos van acompañados de episodios de vasoconstricción, por inhibición de la formación de NO y por la pérdida de la capacidad natural de relajación que tienen las arterias⁹¹.

Los efectos beneficiosos de los polifenoles sobre la aterosclerosis se han estudiado ampliamente. Estos compuestos son capaces de atenuar el inicio y la progresión de esta enfermedad debido a su habilidad para atenuar la oxidación de las LDL. Son capaces además de producir un incremento en la concentración de colesterol HDL en el plasma, y también de inhibir la proliferación del músculo liso vascular^{92,93}.

Numerosos trabajos relacionan el efecto de los flavonoles, tanto monoméricos como oligoméricos, con la protección de la oxidación de las LDL^{94,95}. Se sabe, en realidad, que el consumo moderado de vino resulta beneficioso, y este hecho fue inicialmente descrito como la *paradoja francesa*⁹⁶. Concretamente, se ha demostrado que el resveratrol, uno de los principales polifenoles del vino, previene la oxidación de las LDL y disminuye la citotoxicidad producida por las LDL oxidadas en células endoteliales⁹⁷. Se ha observado también que los polifenoles procedentes del vino tinto y del zumo de uva reducen la concentración de lípidos plasmáticos⁹⁸. A largo plazo, los polifenoles del vino tinto tienen un efecto inmediato sobre la lipemia posprandial. El incremento de hidroperóxidos lipídicos, altamente aterogénicos y típicos de la situación posprandial, es mucho menor cuando se consume vino tinto en las comidas y, además, con el vino, el nivel de oxidación de las LDL posprandiales es mucho menor⁹⁹. También se ha descrito que la administración oral de polifenoles reduce el crecimiento de la neointima y la deposición de lípidos en la arteria iliaca de conejos hipercolesterolémicos¹⁰⁰.

Las flavonoides del cacao afectan también muy favorablemente al perfil lipoproteico^{101,102}. Se ha demostrado que la administración crónica de procianidinas en conejos alimentados con dieta hipercolesterolémica, disminuye los niveles plasmáticos de hidroperóxidos lipídicos e incrementa la capacidad antioxidante del plasma de estos animales. De hecho, esta administración previno la aparición de aterosclerosis e inhibió su progresión en los animales¹⁰³. También se comprobó que la administración crónica de polifenoles en hámsteres que desarrollan depósitos lipídicos aterogénicos similares a los que aparecen en humanos hipercolesterolémicos, reducía los niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos, apolipoproteína B y MDA, cuando los hámsteres se alimentaban con una dieta hipercolesterolémica. Este efecto se asoció con una disminución en los depósitos de células espumosas en la pared arterial y con una inhibición del desarrollo de la placa aterosclerótica¹⁰⁴. La administración aguda de procianidinas en ratas normolipémicas alimentadas con dieta estándar, produjo también una disminución drástica de los valores de triglicéridos, ácidos grasos libres y apolipoproteína B, así como un aumento del cociente colesterol-HDL/colesterol LDL en plasma, lo que representa una situación de lipemia posprandial claramente antiaterogénica¹⁰⁵. En algunos ensayos clínicos también se ha comprobado que los suplementos de procianidinas reducen significativamente los valores de las LDL oxidadas en pacientes diabéticos¹⁰⁶.

Se ha descrito también que las procianidinas del cacao inhiben el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), marcador pro-inflamatorio en las células endoteliales vasculares, reduciendo así la adhesión al endotelio de los linfocitos-T¹⁰⁷. Además, la epigallocatequina-3 galato y la catequina-3 galato se unen al receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR) e inhiben la señal proliferativa. Este efecto evita uno de los principales componentes de la inflamación crónica de los vasos sanguíneos que promueve la aterosclerosis¹⁰⁸.

Efecto antitrombótico

La agregación plaquetaria también juega un papel fundamental en el desarrollo de la aterosclerosis, y el efecto antiagregante puede asociarse con una menor incidencia y prevalencia de la enfermedad cardiovascular. En un estudio realizado con antocianinas pudo demostrarse que estos compuestos son capaces de inhibir la función plaquetaria¹⁰⁹. El efecto antitrombótico de los polifenoles puede justificarse en base a su capacidad para inhibir enzimas implicadas en la síntesis de eicosanoides, como el tromboxano A₂ (TXA₂), la ciclooxigenasa (COX), y la lipooxigenasa (LPO). Estos compuestos inhiben por lo tanto la síntesis de moléculas derivadas del ácido araquidónico que están directamente involucradas en la regulación de la homeostasis vascular¹¹⁰. También se ha demostrado, que las procianidinas del cacao estimulan la formación de prostaciclina (PGI₂), un inhibidor de la agregación plaquetaria e inhiben la formación de los leucotrienos agentes vasoconstrictores y estimulantes de la inflamación¹¹¹. Por ello, podemos decir que los polifenoles del cacao, inhiben la coagulación y favorecen la fluidez sanguínea, evitando la formación de trombos. Disminuyen, por tanto, el riesgo de un accidente vascular^{112,113}. Al parecer los polifenoles del cacao actúan en cierto modo a través de mecanismos diferentes a los de la aspirina, y sus efectos con ella serían complementarios¹¹⁴.

Efecto antiinflamatorio

Se sabe que en la enfermedad cardiovascular tiene lugar un importante proceso inflamatorio¹¹⁵. Se han publicado diversos estudios que implican a las células y a las moléculas relacionadas con la respuesta inmunológica en el proceso de la lesión vascular asociado a la aterosclerosis^{116,117}. El estrés oxidativo produce un aumento de enzimas tales como la COX y la LPO, implicadas en la liberación de factores tales como interleuquinas y quimocinas. Se ha demostrado que los polifenoles, y especialmente la quercetina, inhiben la COX y la LPO¹¹⁸. El resveratrol también se considera una molécula con acción antiinflamatoria, ya que es capaz de inhibir la biosíntesis de prostaglandinas¹¹⁹. Badia et al., en 2004, observaron que el consumo

moderado de vino tinto en humanos era capaz de reducir la adhesión de los monocitos a las células endoteliales, y este efecto se relacionaba con la regulación de las moléculas de adhesión localizadas sobre la superficie del monocito¹²⁰. Los polifenoles del cacao, también poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, y pueden modular y mejorar los mediadores inflamatorios, en pacientes con alto riesgo de enfermedad cardiovascular^{121,122,123}.

Efecto apoptótico y antiapoptótico

La apoptosis, o “muerte celular programada”, es una forma de suicidio celular genéticamente definida, que tiene lugar de forma fisiológica durante la morfogénesis y la renovación tisular, y también en los procesos de regulación del sistema inmunitario. La muerte celular programada es parte integral del desarrollo de los tejidos en los seres vivos. Cuando una célula muere por apoptosis, empaqueta su contenido genético y evita que se produzca la respuesta inflamatoria característica de la muerte accidental o necrosis. Las células en proceso de apoptosis reducen su tamaño y fragmentan su contenido genético. De esta manera, pueden ser eficientemente englobadas vía fagocitosis y, consecuentemente, sus componentes son reutilizados por macrófagos o por células del tejido adyacente. La aparición de trastornos en la regulación de los genes responsables del proceso apoptótico puede contribuir al desarrollo de diversas enfermedades como tumores, enfermedades autoinmunes, o enfermedades neurodegenerativas^{124,125}. En los últimos años se han publicado varios estudios que sugieren que las alteraciones de los procesos apoptóticos pueden estar relacionadas con la enfermedad cardiovascular^{126,127,128}.

La regulación de la proliferación y de la muerte celular por apoptosis en las células del músculo liso vascular, es un factor importante para la configuración de la estructura normal de la pared vascular en condiciones fisiológicas. Cuando la proliferación de las células del músculo liso vascular sobrepasa el fenómeno de apoptosis, se produce una acumulación de células en este tejido, y consecuentemente el engrosamiento de la capa media y la pared de las arterias pequeñas, característico de la hipertensión^{129,130}. La apoptosis es además el principal mecanismo de muerte celular en el endotelio en condiciones fisiológicas. El equilibrio proliferación-apoptosis de las células endoteliales, desempeña un papel fundamental en la formación y regresión de los vasos sanguíneos, especialmente en las arteriolas y los capilares. Una apoptosis excesiva de estas células puede provocar la disfunción endotelial característica de las enfermedades cardiovasculares, y merece especial consideración la apoptosis endotelial durante el desarrollo de la aterosclerosis^{131,132}.

Se ha descrito que los flavonoides poseen distintos efectos moduladores de la apoptosis. Se comprobó que algunos flavonoides como el resveratrol pueden inducir apoptosis en células endoteliales de vena umbilical humana¹³³. También se ha descrito que la teasinensina

A, un polímero formado por unidades de antocianidinas procedente del té de *oolong*, induce apoptosis en células tumorales¹³⁴. Los polifenoles también pueden modular el nivel de expresión de distintos factores pro-apoptóticos. De hecho, se ha descrito que el resveratrol induce procesos de apoptosis mediante la regulación de factores pro-apoptóticos^{135,136}.

Estudios *in vitro* en células endoteliales de aorta bovina y en fibroblastos, han demostrado que los polifenoles también poseen una actividad inhibitoria de la apoptosis inducida por la oxidación de las LDL y el H₂O₂¹³⁷.

Debido a las propiedades pleiotrópicas de los polifenoles y el potencial sinérgico de acción sobre el endotelio vascular, estos compuestos podrían considerarse buenos candidatos para la prevención y/o el tratamiento de la enfermedad cardiovascular. Queremos sin embargo señalar antes de concluir esta revisión, que los efectos saludables de los polifenoles no afectan solo al aparato cardiovascular. Aunque no se han estudiado tan extensamente los efectos beneficiosos de los polifenoles sobre otras patologías, existen varios estudios que demuestran que el chocolate, o los extractos del cacao, presentan algunos efectos sobre células tumorales de animales^{138,139}, sobre el daño gástrico y hepático producido por el alcohol¹⁴⁰, sobre la protección del intestino^{141,142}, sobre la estabilidad de los glóbulos rojos¹⁴³, sobre las cataratas inducidas por la diabetes¹⁴⁴, y sobre la inflamación¹⁴⁵. Todos estos estudios respaldan de algún modo el efecto beneficioso de los polifenoles sobre la salud.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por Consolider Ingenio 2010 (CSD-2007-00063 y AGL2008-01740).

Referencias

1. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, Sies H, Kwik-Urbe C, Schmitz HH, Kelm M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 1024-1029.
2. Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacol Rep* 2009; 61: 67-75.
3. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56: 317-333.
4. Singleton VL. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Adv Food Res* 1981; 27: 149-242.
5. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Flavonoids: properties and anti-oxidizing action. *Nutr Hosp* 2002; 17: 271-278.
6. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 727-747.
7. Arts IC, Van De Putte B, Hollman PC. Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 1752-1757.
8. Rasmussen SE, Frederiksen H, Struntze Krogholm K, Poulsen L. Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake,

- bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49: 159-174.
9. De Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 5331-5337.
 10. Valls J, Millán S, Martí MP, Borràs E, Arola L. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A* 2009; 1216: 7143-7172.
 11. Van der Sluis AA, Dekker M, de Jager A, Jongen WM. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 3606-3613.
 12. Unachukwu UJ, Ahmed S, Kavalier A, Lyles JT, Kennelly EJ. White and green teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): variation in phenolic, methylxanthine, and antioxidant profiles. *J Food Sci* 2010; 75: C541-C548.
 13. Guadalupe Z, Soldevilla A, Sáenz-Navajas MP, Ayestarán B. Analysis of polymeric phenolics in red wines using different techniques combined with gel permeation chromatography fractionation. *J Chromatogr A*. 2006; 1112: 112-120.
 14. Miller KB, Hurst WJ, Flannigan N, Ou B, Lee CY, Smith N, Stuart DA. Survey of commercially available chocolate- and cocoa-containing products in the United States. 2. Comparison of flavan-3-ol content with nonfat cocoa solids, total polyphenols, and percent cacao. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 9169-9180.
 15. Srinivasan VS. Bioavailability of nutrients: a practical approach to in vitro demonstration of the availability of nutrients in multivitamin-mineral combination products. *J Nutr* 2001; 131: 1349S-1350S.
 16. Németh K, Plumb GW, Berrin JG, Juge N, Jacob R, Naim HY, Williamson G, Swallow DM, Kroon PA. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr* 2003; 42: 29-42.
 17. D'Archivio M, Filesi C, Vari R, Scaccocchio B, Masella R. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversias. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 1321-1342.
 18. Day AJ, Williamson G. Biomarkers for exposure to dietary flavonoids: a review of the current evidence for identification of quercetin glycosides in plasma. *Br J Nutr* 2001; 1: 105-110.
 19. Natsume M, Osakabe N, Oyama M, Sasaki M, Baba S, Nakamura Y, Osawa T, Terao J. Structures of (-)-epicatechin glucuronide identified from plasma and urine after oral ingestion of (-)-epicatechin: differences between human and rat. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 840-849.
 20. Pecorari M, Villaño D, Testa MF, Schmid M, Serafini M. Biomarkers of antioxidant status following ingestion of green teas at different polyphenol concentrations and antioxidant capacity in human volunteers. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: S278-S283.
 21. Fitó M, de la Torre R, Farré-Albaladejo M, Khymentz O, Murrugat J, Covas MI. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans: a review. *Ann Ist Super Sanita* 2007; 43: 375-381.
 22. Crespy V, Morand C, Besson C, Manach C, Demigne C, Remesy C. Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 618-621.
 23. Morand C, Manach C, Crespy V, Remesy C. Respective bioavailability of quercetin aglycone and its glycosides in a rat model. *Biofactors* 2000; 12: 169-174.
 24. Gee JM, DuPont MS, Rhodes MJ, Johnson IT. Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 19-25.
 25. Day AJ, DuPont MS, Ridley S, Rhodes M, Rhodes MJ, Morgan MR, Williamson G. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity. *FEBS Lett* 1998; 436: 71-75.
 26. Sesink AL, O'Leary KA, Hollman PC. Quercetin glucuronides but not glucosides are present in human plasma after consumption of quercetin-3-glucoside or quercetin-4'-glucoside. *J Nutr* 2001; 131: 1938-1941.
 27. Talavéra S, Felgines C, Texier O, Besson C, Lamaison JL, Rémésy C. Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *J Nutr* 2003; 133: 4178-4182.
 28. Prasain JK, Peng N, Dai Y, Moore R, Arabshahi A, Wilson L, Barnes S, Michael Wyss J, Kim H, Watts RL. Liquid chromatography tandem mass spectrometry identification of proanthocyanidins in rat plasma after oral administration of grape seed extract. *Phytomedicine*. 2009; 16: 233-243.
 29. Piskula MK. Factors affecting flavonoids absorption. *Biofactors* 2000; 12: 175-180.
 30. Day AJ, Bao Y, Morgan MR, Williamson G. Conjugation position of quercetin glucuronides and effect on biological activity. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 1234-1243.
 31. Dufour C, Dangles O. Flavonoid-serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1721: 164-173.
 32. Bolli A, Marino M, Rimbach G, Fanali G, Fasano M, Ascenzi P. Flavonoid binding to human serum albumin. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 398: 444-449.
 33. Dufour C, Loonis M. Flavonoids and their oxidation products protect efficiently albumin-bound linoleic acid in a model of plasma oxidation. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1770: 958-965.
 34. Bolli A, Marino M, Rimbach G, Fanali G, Fasano M, Ascenzi P. Flavonoid binding to human serum albumin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010; 398: 444-449.
 35. Van het Hof KH, Wiseman SA, Yang CS, Tijburg LB. Plasma and lipoprotein levels of tea catechins following repeated tea consumption. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 220: 203-209.
 36. Henning SM, Aronson W, Niu Y, Conde F, Lee NH, Seeram NP, Lee RP, Lu J, Harris DM, Moro A, Hong J, Pak-Shan L, Barnard RJ, Ziaee HG, Csathy G, Go VL, Wang H, Heber D. Tea polyphenols and theaflavins are present in prostate tissue of humans and mice after green and black tea consumption. *J Nutr* 2006; 136: 1839-1843.
 37. Clifford MN. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. *Planta Med* 2004; 70: 1103-1114.
 38. Bieger J, Cermak R, Blank R, de Boer VC, Hollman PC, Kamphues J, Wolfram S. Tissue distribution of quercetin in pigs after long-term dietary supplementation. *J Nutr* 2008; 138: 1417-1420.
 39. Graf BA, Ameho C, Dolnikowski GG, Milbury PE, Chen CY, Blumberg JB. Rat gastrointestinal tissues metabolize quercetin. *J Nutr* 2006; 136: 39-44.
 40. Hong SJ, Kim SI, Kwon SM, Lee JR, Chung BC. Comparative study of concentration of isoflavones and lignans in plasma and prostatic tissues of normal control and benign prostatic hyperplasia. *Yonsei Med J* 2002; 43: 236-241.
 41. Parkar SG, Stevenson DE, Skinner MA. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. *Int J Food Microbiol* 2008; 124: 295-298.
 42. Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E. The clinical importance of the metabolite equol—a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr* 2002; 132: 3577-3584.
 43. Mousavi Y, Adlercreutz H. Enterolactone and estradiol inhibit each other's proliferative effect on MCF-7 breast cancer cells in culture. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 41: 615-619.
 44. Yang B, Arai K, Kusu F. Determination of catechins in human urine subsequent to tea ingestion by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Biochem* 2000; 283: 77-82.
 45. Donovan JL, Kasim-Karakas S, German JB, Waterhouse AL. Urinary excretion of catechin metabolites by human subjects after red wine consumption. *Br J Nutr* 2002; 87: 31-37.
 46. Baba S, Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Takizawa T, Nakamura T, Terao J. Bioavailability of (-)-epicatechin upon intake of chocolate and cocoa in human volunteers. *Free Radic Res* 2000; 33: 635-641.
 47. Grassi D, Lippi C, Necozione S, Desideri G, Ferri C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 611-614.
 48. Potenza MA, Marasciulo FL, Tarquinio M, Tiravanti E, Colantuono G, Federici A, Kim JA, Quon MJ, Montagnani M. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E1378-E1387.

49. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 673-751.
50. Rice-Evans CA, Miller NJ. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans* 1996; 24: 790-795.
51. Pannala AS, Rice-Evans CA, Halliwell B, Singh S. Inhibition of peroxynitrite-mediated tyrosine nitration by catechin polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232: 164-168.
52. Binsack R, Boersma BJ, Patel RP, Kirk M, White CR, Darley-Usmar V, Barnes S, Zhou F, Parks DA. Enhanced antioxidant activity after chlorination of quercetin by hypochlorous acid. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 434-443.
53. Cotellet N, Bernier JL, Cateau JP, Pommery J, Wallet JC, Gaydou EM. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 35-43.
54. Korkina LG, Afanas'ev IB. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 1997; 38: 151-163.
55. Krinsky NI. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 248-254.
56. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 418-425.
57. Orallo F, Alvarez E, Camiña M, Leiro JM, Gómez E, Fernández P. The possible implication of trans-Resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 2002; 61: 294-302.
58. Dreosti IE. Bioactive ingredients: antioxidants and polyphenols in tea. *Nutr Rev* 1996; 54: S51-S58.
59. Raza H, John A. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates oxidative stress in PC12 cell compartments. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 207: 212-220.
60. Leifert WR, Abeywardena MY. Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutr Res* 2008; 28: 729-737.
61. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and higher antioxidant capacity than teas and red wines. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 7292-7295.
62. Pérez-Vizcaino F, Ibarra M, Cogolludo AL, Duarte J, Zaragoza-Arnáez F, Moreno L, López-López G, Tamargo J. Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302: 66-72.
63. Dell'Agli M, Buscialà A, Bosisio E. Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovasc Res* 2004; 63: 593-602.
64. Williams MJ, Sutherland WH, Whelan AP, McCormick MP, de Jong SA. Acute effect of drinking red and white wines on circulating levels of inflammation-sensitive molecules in men with coronary artery disease. *Metabolism* 2004; 53: 318-323.
65. Ruf JC. Wine and polyphenols related to platelet aggregation and atherothrombosis. *Drugs Exp Clin Res* 1999; 25: 125-131.
66. Pal S, Ho N, Santos C, Dubois P, Mamo J, Croft K, Allister E. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *J Nutr* 2003; 133: 700-706.
67. Wilcox LJ, Borradaile NM, de Dreu LE, Huff MW. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. *J Lipid Res* 2001; 42: 725-734.
68. Actis-Goretta L, Ottaviani JJ, Fraga CG. Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 229-234.
69. Ojeda D, Jiménez-Ferrer E, Zamilpa A, Herrera-Arellano A, Torriello J, Alvarez L. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from Hibiscus sabdariffa. *J Ethnopharmacol* 2010; 127: 7-10.
70. Andriambelosen E, Kleschyov AL, Muller B, Beretz A, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *Br J Pharmacol* 1997; 120: 1053-1058.
71. Pérez-Vizcaino F, Duarte J, Andriantsitohaina R. Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic Res* 2006; 40: 1054-1065.
72. Zenebe W, Pechánová O, Andriantsitohaina R. Red wine polyphenols induce vasorelaxation by increased nitric oxide bioactivity. *Physiol Res* 2003; 52: 425-432.
73. Andriambelosen E, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Mechanism of endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat thoracic aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 248-254.
74. Duarte J, Andriambelosen E, Diebolt M, Andriantsitohaina R. Wine polyphenols stimulate superoxide anion production to promote calcium signaling and endothelial-dependent vasodilation. *Physiol Res* 2004; 53: 595-602.
75. Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca(2+)-activated K+ current in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 1035-1045.
76. McKenna E, Smith JS, Coll KE, Mazack EK, Mayer EJ, Antanavage J, Wiedmann RT, Johnson RG Jr. Dissociation of phospholamban regulation of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca2+ATPase by quercetin. *J Biol Chem* 1996; 271: 24517-24525.
77. Martin S, Andriantsitohaina R. Cellular mechanism of vasculoprotection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2002; 51: 304-315.
78. Botden IP, Langendonk JG, Meima ME, Boomsma F, Seynhaeve AL, ten Hagen TL, Jan Danser AH, Sijbrands EJ. Daily red wine consumption improves vascular function by a soluble guanylyl cyclase-dependent pathway. *Am J Hypertens* 2011; 24: 162-168.
79. Benito S, Lopez D, Sáiz MP, Buxaderas S, Sánchez J, Puig-Parellada P, Mitjavila MT. A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 910-916.
80. Mukai Y, Sato S. Polyphenol-containing azuki bean (*Vigna angularis*) extract attenuates blood pressure elevation and modulates nitric oxide synthase and caveolin-1 expressions in rats with hypertension. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19: 491-497.
81. Kim YW, Zhao RJ, Park SJ, Lee JR, Cho JJ, Yang CH, Kim SG, Kim SC. Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF-kappaB-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production. *Br J Pharmacol* 2008; 154: 165-173.
82. Ndiaye M, Chataigneau M, Lobysheva I, Chataigneau T, Schini-Kerth VB. Red wine polyphenol-induced, endothelium-dependent NO-mediated relaxation is due to the redox-sensitive PI3-kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NO-synthase in the isolated porcine coronary artery. *FASEB J* 2005; 19: 455-457.
83. Dell'Agli M, Galli GV, Vrhovsek U, Mattivi F, Bosisio E. In vitro inhibition of human cGMP-specific phosphodiesterase-5 by polyphenols from red grapes. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 1960-1965.
84. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, Vinson JA. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res* 2003; 523-524: 87-97. Review.
85. Fenercioglu AK, Saler T, Genc E, Sabuncu H, Altuntas Y. The effects of polyphenol-containing antioxidants on oxidative stress and lipid peroxidation in Type 2 diabetes mellitus without complications. *J Endocrinol Invest* 2010; 33: 118-124.
86. Fuhrman B, Aviram M. Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12: 41-48.
87. Aviram M, Rosenblat M. Macrophage-mediated oxidation of extracellular low density lipoprotein requires an initial binding of the lipoprotein to its receptor. *J Lipid Res* 1994; 35: 385-398.
88. Abu-Amsha R, Croft KD, Puddey IB, Proudfoot JM, Beilin LJ. Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clin Sci (Lond)* 1996; 91: 449-458.

89. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
90. Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation* 2004; 109: 6-19.
91. Mellor DD, Sathyapalan T, Kilpatrick ES, Beckett S, Atkin SL. High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves HDL cholesterol in Type 2 diabetes patients. *Diabet Med* 2010; 27: 1318-1321.
92. Abe R, Beckett J, Abe R, Nixon A, Rochier A, Yamashita N, Sumpio B. Olive Oil Polyphenol Oleuropein Inhibits Smooth Muscle Cell Proliferation. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2011; 41: 814-820.
93. Osakabe N, Baba S, Yasuda A, Iwamoto T, Kamiyama M, Takizawa T, Itakura H, Kondo K. Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free Radic Res* 2001; 34: 93-99.
94. Yang MY, Huang CN, Chan KC, Yang YS, Peng CH, Wang CJ. Mulberry Leaf Polyphenols Possess Antiatherogenesis Effect via Inhibiting LDL Oxidation and Foam Cell Formation. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 1985-1995.
95. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-1526.
96. Ou HC, Chou FP, Sheen HM, Lin TM, Yang CH, Huey-Herng Sheu W. Resveratrol, a polyphenolic compound in red wine, protects against oxidized LDL-induced cytotoxicity in endothelial cells. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 196-204.
97. Vinson JA, Teufel K, Wu N. Red wine, dealcoholized red wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model. *Atherosclerosis* 2001; 156: 67-72.
98. Ursini F, Zamburlini A, Cazzolato G, Maiorino M, Bon GB, Sevanian A. Postprandial plasma lipid hydroperoxides: a possible link between diet and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 250-252.
99. Elbaz M, Roul G, Alvès A, Andriantsitohaina R: Provinols, a polyphenolic extract of red wine inhibits in-stent neointimal growth in cholesterol-fed rabbit. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005; 98: 406.
100. Baba S, Natsume M, Yasuda A, Nakamura Y, Tamura T, Osakabe N, Kanegae M, Kondo K. Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo- and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder. *J Nutr* 2007; 137: 1436-1441.
101. Steffen Y, Schewe T, Sies H. Myeloperoxidase-mediated LDL oxidation and endothelial cell toxicity of oxidized LDL: attenuation by (-)-epicatechin. *Free Radic Res* 2006; 40: 1076-1085. Review.
102. Kurosawa T, Itoh F, Nozaki A, Nakano Y, Katsuda S, Osakabe N, Tsubone H, Kondo K, Itakura H. Suppressive effects of cacao liquor polyphenols (CLP) on LDL oxidation and the development of atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis* 2005; 179: 237-246.
103. Auger C, Gérain P, Laurent-Bichon F, Portet K, Bornet A, Caporiccio B, Cros G, Teissédre PL, Rouanet JM. Phenolics from commercialized grape extracts prevent early atherosclerotic lesions in hamsters by mechanisms other than antioxidant effect. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 5297-5302.
104. Del Bas JM, Fernández-Larrea J, Blay M, Ardèvol A, Salvadó MJ, Arola L, Bladé C. Grape seed procyanidins improve atherosclerotic risk index and induce liver CYP7A1 and SHP expression in healthy rats. *FASEB J* 2005; 19: 479-481.
105. Mellor DD, Sathyapalan T, Kilpatrick ES, Beckett S, Atkin SL. High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves HDL cholesterol in Type 2 diabetes patients. *Diabet Med* 2010; 27: 1318-1321.
106. Kim JE, Son JE, Jung SK, Kang NJ, Lee CY, Lee KW, Lee HJ. Cocoa polyphenols suppress TNF- α -induced vascular endothelial growth factor expression by inhibiting phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and mitogen-activated protein kinase kinase-1 (MEK1) activities in mouse epidermal cells. *Br J Nutr* 2010; 104: 957-964.
107. Sakata R, Ueno T, Nakamura T, Sakamoto M, Torimura T, Sata M. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic stellate cell line L190. *J Hepatol* 2004; 40: 52-59.
108. Rechner AR, Kroner C. Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. *Thromb Res* 2005; 116: 327-334.
109. De Gaetano G, De Curtis A, di Castelnuovo A, Donati MB, Iacoviello L, Rotondo S. Antithrombotic effect of polyphenols in experimental models: a mechanism of reduced vascular risk by moderate wine consumption. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 957: 174-188.
110. Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ, Turner AH, Mann NJ, Sinclair AJ. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (Theobroma cacao) inhibit platelet function. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1466-1473.
111. Schramm DD, Wang JF, Holt RR, Ensuna JL, Gonsalves JL, Lazarus SA, Schmitz HH, German JB, Keen CL. Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 36-40.
112. Schewe T, Sadik C, Klotz LO, Yoshimoto T, Kühn H, Sies H. Polyphenols of cocoa: inhibition of mammalian 15-lipoxygenase. *Biol Chem* 2001; 382: 1687-1696.
113. Pearson DA, Paglieroni TG, Rein D, Wun T, Schramm DD, Wang JF, Holt RR, Gosselin R, Schmitz HH, Keen CL. The effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex vivo platelet function. *Thromb Res* 2002; 106: 191-197.
114. Pate M, Damarla V, Chi DS, Negi S, Krishnaswamy G. Endothelial cell biology: role in the inflammatory response. *Adv Clin Chem* 2010; 52: 109-130.
115. Uno K, Nicholls SJ. Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis. *Biomark Med* 2010; 4: 361-373.
116. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 2011; 12: 204-212.
117. Crescente M, Jessen G, Momi S, Höltje HD, Gresele P, Cerletti C, de Gaetano G. Interactions of gallic acid, resveratrol, quercetin and aspirin at the platelet cyclooxygenase-1 level. Functional and modelling studies. *Thromb Haemost* 2009; 102: 336-346.
118. Fan E, Zhang L, Jiang S, Bai Y. Beneficial effects of resveratrol on atherosclerosis. *J Med Food* 2008; 11: 610-614.
119. Badía E, Sacanella E, Fernández-Solá J, Nicolás JM, Antúnez E, Rotilio D, de Gaetano G, Urbano-Márquez A, Estruch R. Decreased tumor necrosis factor-induced adhesion of human monocytes to endothelial cells after moderate alcohol consumption. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 225-230.
120. Monagas M, Khan N, Andres-Lacueva C, Casas R, Urpí-Sardà M, Llorach R, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 1144-1150.
121. Selmi C, Cocchi CA, Lanfredini M, Keen CL, Gershwin ME. Chocolate at heart: the anti-inflammatory impact of cocoa flavanols. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 1340-8.
122. Selmi C, Mao TK, Keen CL, Schmitz HH, Eric Gershwin M. The anti-inflammatory properties of cocoa flavanols. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47: S163-S171; discussion S172-S176.
123. Hajji N, Joseph B. Epigenetic regulation of cell life and death decisions and deregulation in cancer. *Essays Biochem* 2010; 48: 121-146.
124. Alves da Costa C, Checler F. Apoptosis in Parkinson's disease: Is p53 the missing link between genetic and sporadic Parkinsonism? *Cell Signal* 2011; 23: 963-968.
125. Erusalimsky JD. Vascular endothelial senescence: from mechanisms to pathophysiology. *J Appl Physiol* 2009; 106: 326-332.
126. Tedgui A, Mallat Z. Apoptosis, a major determinant of atherothrombosis. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2003; 96: 671-675.
127. González A, Fortuño MA, Querejeta R, Ravassa S, López B, López N, Díez J. Cardiomyocyte apoptosis in hypertensive cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 549-562. Review.

128. Hamet P. Proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995; 4: 1-7.
129. Apoptosis repressor with caspase recruitment domain is dramatically reduced in cardiac, skeletal, and vascular smooth muscle during hypertension. Quadriatero J, Bloemberg D. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 1437-1442.
130. Karsan A, Harlan JM. Modulation of endothelial cell apoptosis: mechanisms and pathophysiological roles. *J Atheroscler Thromb* 1996; 3: 75-80.
131. Ebert T, Fasshauer M. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2011; 215: 279-280.
132. Szende B, Tyihák E, Király-Véghely Z. Dose-dependent effect of resveratrol on proliferation and apoptosis in endothelial and tumor cell cultures. *Exp Mol Med* 2000; 32: 88-92.
133. Pan MH, Liang YC, Lin-Shiau SY, Zhu NQ, Ho CT, Lin JK. Induction of apoptosis by the oolong tea polyphenol theaeninsin A through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in human U937 cells. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 6337-6346.
134. Tinhofer I, Bernhard D, Senfter M, Anether G, Loeffler M, Kroemer G, Kofler R, Csordas A, Greil R. Resveratrol, a tumor-suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2. *FASEB J* 2001; 15: 1613-1615.
135. Delmas D, Solary E, Latruffe N. Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe. *Curr Med Chem* 2011; 18: 1100-1102.
136. Vieira O, Escargueil-Blanc I, Meilhac O, Basile JP, Laranjinha J, Almeida L, Salvayre R, Nègre-Salvayre A. Effect of dietary phenolic compounds on apoptosis of human cultured endothelial cells induced by oxidized LDL. *Br J Pharmacol* 1998; 123: 565-573.
137. Yamagishi M, Natsume M, Osakabe N, Nakamura H, Furukawa F, Imazawa T, Nishikawa A, Hirose M. Effects of cacao liquor proanthocyanidins on PhIP-induced mutagenesis in vitro, and in vivo mammary and pancreatic tumorigenesis in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Lett* 2002; 185: 123-130.
138. Yamagishi M, Natsume M, Osakabe N, Okazaki K, Furukawa F, Imazawa T, Nishikawa A, Hirose M. Chemoprevention of lung carcinogenesis by cacao liquor proanthocyanidins in a male rat multi-organ carcinogenesis model. *Cancer Lett* 2003; 191: 49-57.
139. McKim SE, Konno A, Gäbele E, Uesugi T, Froh M, Sies H, Thurman RG, Arteel GE. Cocoa extract protects against early alcohol-induced liver injury in the rat. *Arch Biochem Biophys* 2002; 406: 40-46.
140. Scalbert A, Dèprez S, Mila I, Albrecht AM, Huneau JF, Rabot S. Proanthocyanidins and human health: systemic effects and local effects in the gut. *Biofactors* 2000; 13: 115-120.
141. Martin FP, Rezzi S, Peré-Trepate E, Kamlage B, Collino S, Leibold E, Kastler J, Rein D, Fay LB, Kochhar S. Metabolic effects of dark chocolate consumption on energy, gut microbiota, and stress-related metabolism in free-living subjects. *J Proteome Res* 2009; 8: 5568-5579.
142. Zhu QY, Schramm DD, Gross HB, Holt RR, Kim SH, Yamaguchi T, Kwik-Urbe CL, Keen CL. Influence of cocoa flavanols and procyanidins on free radical-induced human erythrocyte hemolysis. *Clin Dev Immunol* 2005; 12: 27-34.
143. Osakabe N, Yamagishi M, Natsume M, Yasuda A, Osawa T. Ingestion of proanthocyanidins derived from cacao inhibits diabetes-induced cataract formation in rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004; 229: 33-39.
144. Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 304S-312S.