

O Efeito Protetor dos Flavonoides na Aterosclerose

Gonçalo Manuel Neves dos Santos Calvário

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutora Maria Elisa Cairrão

maio de 2021

Dedicatória

Dedico esta dissertação, assim como a conclusão do curso de Medicina, aos meus melhores amigos, os meus pais.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais pelo apoio incondicional em todas as fases da minha vida, tanto pessoal como académica e, principalmente, por me terem proporcionado desde muito cedo todas as condições para que pudesse desenhar um percurso de sucesso nas várias competências humanas e profissionais/técnicas. Agradeço, com orgulho, a família que construíram e que tem tornado todas as fases do percurso mais fáceis.

Em segundo lugar, dirijo-me às minhas irmãs, cunhados e sobrinhos que sempre foram um alicerce fundamental no meu percurso. Agradeço-lhes pela presença assídua nos momentos importantes ao longo da minha vida, salientando o enorme apoio e motivação que me transmitiram ao longo do curso.

Deixo um agradecimento especial à Ana, pelo seu apoio incondicional ao longo de praticamente todo o curso, tendo ela sido o meu maior suporte na Covilhã ao longo de todos estes anos.

Agradeço ainda à Professora Elisa Cairrão pela orientação na realização desta dissertação, bem como pela disponibilidade praticamente imediata e pelas sugestões lançadas ao longo do trabalho, sendo parte fundamental da minha aprendizagem e do produto final deste documento.

Por fim, agradeço aos amigos que conheci na Covilhã, incluindo os meus companheiros da GSE e colegas de casa (do Tio Alvim), Tiago e Pedro, por momentos e memórias inesquecíveis que levo para a vida e que ajudaram a moldar a pessoa que sou hoje e serei no futuro. Aos meus amigos do Porto, que são como a minha segunda família, fica também um agradecimento por me apoiarem e estarem presentes no meu percurso académico, ainda que à distância.

Resumo

Os flavonoides são compostos naturais do grupo dos polifenóis, que podem ser encontrados em diversos alimentos da nossa dieta, na sua grande maioria em frutas e vegetais. Através de diversos mecanismos de ação, estes compostos têm demonstrado a capacidade de exercer efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-hipertensores, antiplaquetários e anticoagulantes, bem como um papel relevante na regulação lipídica. Desta forma, acredita-se que uma dieta rica em flavonoides possa desempenhar um papel protetor em relação à diabetes mellitus tipo 2 e outras patologias do foro inflamatório e cardiovascular.

A aterosclerose é uma condição crônica, imunoinflamatória, com doença fibroproliferativa das artérias de médio e grande calibre. Esta refere-se a uma acumulação lipídica excessiva e patológica na camada mais interna dessas mesmas artérias, a íntima. À medida que a doença vai progredindo a placa de ateroma vai-se tornando cada vez maior e mais instável, tornando esta patologia a principal causa de doença cardiovascular em todo o mundo.

Com a diminuição da carga lipídica e a inibição de processos, como a disfunção endotelial, o stress oxidativo e as cascatas inflamatória e da coagulação, estes compostos têm vindo a ganhar um enorme relevo como uma opção terapêutica e/ou preventiva muito promissora no futuro. Atualmente, há bastante informação que corrobora essa mesma ideia.

Palavras-chave

Aterosclerose; Flavonoides; Efeitos Protetores; Mecanismos de Ação

Abstract

Flavonoids are natural compounds from the group of polyphenols, which can be found in a variety of our diet foods, mostly in fruits and vegetables. Through several mechanisms of action, these compounds have demonstrated the capability to exert antioxidante, anti-inflammatory, antihypertensive, antiplatelet and anticoagulant effects, as well as a relevant role in lipid regulation. Thus, it is believed that a diet rich in flavonoids can play a protective role towards type 2 diabetes mellitus and other inflammatory and cardiovascular pathologies.

Atherosclerosis is a chronic, immunoinflammatory condition, with fibroproliferative disease of the medium and large caliber arteries. This refers to an excessive and pathological lipid accumulation in the innermost layer of these same arteries, the intima. As the disease progresses, the atheroma plaque becomes bigger and more unstable, making this pathology the leading cause of cardiovascular disease worldwide.

With the decrease in lipid load and the inhibition of processes, such as endothelial dysfunction, oxidative stress and the inflammatory and coagulation cascades, theses compounds have been gaining enormous prominence as a very promising therapeutic and/or preventive option in the future. Currently, there is a lot of information that corroborates this same idea.

Keywords

Atherosclerosis;Flavonoids;Protective Effects;Mechanisms of Action

Índice

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Palavras-chave	vii
Abstract.....	ix
Keywords	ix
Lista de Figuras.....	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Acrónimos	xvii
Introdução	1
Objetivos	5
Material e Métodos	7
1. Aterosclerose	9
1.1. Definição, Epidemiologia e Fatores de Risco	9
1.2. Fisiologia da Parede Arterial	11
1.3. Fisiopatologia da Aterosclerose	11
2. Flavonoides	15
3. Efeitos Protetores dos Flavonoides na Aterosclerose.....	19
3.1. Efeitos Antioxidante e Protetor da Função Endotelial	19
3.2. Efeito Anti-inflamatório	22
3.3. Efeito na Regulação Lipídica	24
3.4. Efeitos Antiplaquetário e Anticoagulante.....	26
3.5. Efeitos Anti-hipertensor e Vasodilatador	29
Conclusão.....	33
Referências bibliográficas.....	35

Lista de Figuras

Figura 1 - Diagrama ilustrativo da metodologia utilizada para a realização do trabalho	7
Figura 2 – Fatores de risco e processos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento da doença aterosclerótica.....	10
Figura 3 – Processo fisiopatológico inicial e progressão da aterosclerose.....	12
Figura 4 – Estruturas químicas e fontes alimentares de alguns flavonoides.....	16

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Efeitos protetores e mecanismos de ação dos flavonoides na aterosclerose.....	17
--	----

Lista de Acrónimos

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AVC	Acidente Vascular Cerebral
AIT	Acidente Isquémico Transitório
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina
AMPK	Proteína Cinase Ativada pelo Monofosfato Cíclico de Adenosina
ApoB100	Apolipoproteína B100
ATPase	Adenosinatrifosfatase
COX	Cicloxigenase
DCV	Doença Cardiovascular
DMF	Dilatação Mediada por Fluxo
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
EAM	Enfarte Agudo do Miocárdio
ECA	Enzima Conversora da Angiotensina
ENaC	Canal Epitelial de Sódio
eNOS	Óxido Nítrico Sintetase Endotelial
ERO	Espécies Reativas de Oxigénio
ET-1	Endotelina 1
FT	Fator Tecidual
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HTA	Hipertensão Arterial
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular 1
I κ B α	Inibidor Alfa do Fator Nuclear Kappa B
IL	Interleucina
iNOS	Óxido Nítrico Sintetase Induzida
INF γ	Interferão Gamma
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MCP-1	Proteína 1 Químioatraente de Monócitos
NADPH	Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
Na ⁺	Catião Sódio
NF- κ B	Fator Nuclear Kappa B
ON	Óxido Nítrico
PAF	Fator de Ativação Plaquetário
PECAM-1	Molécula 1 de Adesão Celular Endotelial Plaquetária
PPAR α	Recetor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Alfa

TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TP	Tempo de Protrombina
TTPa	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado
VCAM-1	Molécula 1 de Adesão de Células Vasculares

Introdução

Os flavonoides são compostos naturais do grupo dos polifenóis, um grupo diverso e heterogêneo de nutrientes à base de plantas. São responsáveis pela proteção das plantas contra a radiação ultravioleta, herbívoros e variadíssimos patógenos.(1) Eles representam uma parte significativa da dieta humana e são encontrados numa grande variedade de alimentos (incluindo frutas cítricas, vegetais, nozes, cacau, azeitonas e soja) e bebidas (incluindo café, chá e vinho tinto), sendo habitualmente ingeridos na quantidade de até 7 g/dia, na América do Norte e Europa.(2) São os antioxidantes mais abundantes encontrados nas dietas comuns do cotidiano, havendo mais de 10000 diferentes flavonoides, principalmente devido ao processo de glicosilação, já que diferentes açúcares se podem ligar em várias posições nas moléculas dos flavonoides.(3) A sua estrutura consiste num esqueleto de carbono comum de difenil propano e dois anéis de benzeno (anel A e B), que são unidos por uma cadeia linear de 3 carbonos (C6-C3-C6), formando, habitualmente, um núcleo oxigenado heterocíclico, denominado de núcleo flavonoide (Anel C).(1,4,5)

Eles podem existir na forma de aglicona ou livre, mas são frequentemente ligados a glicosídeos (mais comumente à glicose) e, nesta forma, tendem a ser solúveis em água.(2,6) Todos os flavonoides presentes na dieta, à exceção dos flavanóis, são encontrados na sua forma glicosilada, sendo o processo de deglicosilação um passo fundamental no processo de absorção e metabolismo de todos os flavonoides ligados a glicosídeos.(7) A microflora intestinal decompõe glicosídeos flavonoides na sua forma aglicona, sendo então nesta última forma absorvidos. Após a sua absorção, os flavonoides podem ser metabolizados de diferentes formas: pela adição de grupos hidroxilo, podendo também ser metilados, glicuronados ou conjugados a sulfatos, principalmente pelo fígado. O seu metabolismo depende do padrão de hidroxilação, que irá influenciar a sua suscetibilidade à hidrólise e clivagem do anel heterocíclico por espécies microbianas no cólon.(2,6) Desta feita, tendo em conta, especificamente, o estado/grau de oxidação do Anel central C, estes compostos podem ser subdivididos em 6 classes diferentes, incluindo: Flavonóis (Flavonols), Flavonas (Flavones), Flavanonas (Flavanones), Flavanóis (Flavanols ou flavan-3-ols), Isoflavonas (Isoflavones) e Antocianinas (Anthocyanins).(1,8,9)

Muitos estudos têm vindo a comprovar que estes compostos flavonoides são capazes de desempenhar um efeito protetor na progressão da doença aterosclerótica. Têm

demonstrado, ao longo do tempo, desempenhar um importante papel antioxidante, anti-inflamatório, antiviral e antibacteriano, bem como ações na regulação da função plaquetária, do metabolismo lipídico, da função endotelial e também um efeito na resistência à insulina.(1,3,10)

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, referente à anormal acumulação/deposição de gordura, colesterol e/ou material fibroso na camada mais interna das artérias de médio e grande calibre, a íntima.(8,11) Com o passar do tempo e o avançar da doença, esta acumulação pode levar à formação de placas lipídicas, denominadas de placas de ateroma, responsáveis pela invasão do lúmen arterial. Estas placas, aquando da ocupação do lúmen podem provocar uma obstrução local do fluxo sanguíneo por redução do diâmetro do lúmen arterial.(4,7,11) Como complicação mais tardia e grave, pode dar-se a rutura das placas ateromatosas, provocando assim o desenvolvimento de um processo trombótico local, com oclusão parcial ou total da artéria afetada, que pode culminar em isquemia tecidual.(12)

Alguns dos mecanismos explicativos da fisiopatologia da doença incluem um desequilíbrio entre o excesso de produção de ERO e uma diminuição da produção de “defesas” antioxidantes endógenas, culminando no processo conhecido como stress oxidativo. Este desequilíbrio, promovido por uma panóplia de fatores de risco cardiovasculares, nos quais se inserem, por exemplo, a dislipidemia (associada a valores elevados de LDL e triglicéridos), consumo de tabaco, hábitos etílicos, HTA, DM2 e obesidade, tem uma enorme contribuição no processo de disrupção e disfunção endotelial, outro dos mecanismos chave e intimamente ligado à progressão da doença.(7,12)

A doença aterosclerótica é, atualmente, a principal causa de DCV em todo o mundo, podendo levar ao desenvolvimento de um síndrome coronário agudo, incluindo EAM, ou condições crônicas como angina estável, AVC/AIT, aneurismas (como o da aorta abdominal) e, aquando da afetação de artérias mais periféricas, pode condicionar o aparecimento de claudicação intermitente ou até mesmo de ulceração e/ou gangrena, com perda da viabilidade de um membro. Sendo a DCV a principal causa de morte no mundo, responsável por 33% das mortes totais, e a doença isquémica cardíaca a principal causa de morte prematura em adultos a nível mundial, salienta-se a importância de combater estas patologias através de um reforço da prevenção.(11,13)

Ao longo das últimas décadas, através de estudos de investigação, ensaios clínicos e variadas fases de experimentação, tem-se conseguido um enorme avanço na área médico-científica, neste caso específico, na área das patologias cardíaca e vascular e suas interligações. No entanto, estas continuam a ser as maiores causas de mortalidade a nível mundial. Desta forma, e apesar da relevante melhoria clínica e da diminuição dos números epidemiológicos anexados a estas doenças, que revelam um enorme sucesso, ainda há muito para ser feito ao nível da validação de mecanismos propostos, assim como ao nível de opções de prevenção e tratamento, incluindo alterações nutricionais nas dietas quotidianas.

Com este trabalho, pretende-se realizar uma revisão sistemática em relação a uma possível hipótese, muito promissora, de combate à doença aterosclerótica e, por conseguinte, à doença cardiovascular: uma dieta rica em compostos flavonoides nos doentes com história de doença cardiovascular documentada ou com fatores de risco para a desenvolver no futuro.

Objetivos

O objetivo principal deste trabalho prende-se com ideia de relacionar os desenvolvimentos mais recentes, no que toca ao estudo dos flavonoides e os seus potenciais efeitos protetores/preventivos no desenvolvimento da doença aterosclerótica. Estudos realizados em torno destes dois temas têm tentado alcançar uma relação inegável entre uma dieta baseada em produtos alimentares ricos em flavonoides e a sua contribuição para uma prevenção e proteção cada vez mais eficaz da doença cardiovascular no geral e, mais especificamente, da aterosclerose.

Desta forma, através da análise dos efeitos biológicos dos flavonoides, pretende-se encontrar uma relação direta entre a ingestão destes compostos e a sua ação preventiva/protetora no desenvolvimento e progressão da aterosclerose. Com esta ligação estabelecida espera-se que os flavonoides venham a desempenhar, futuramente, um papel importante no controlo e prevenção da doença.

Material e Métodos

A metodologia utilizada para a realização desta dissertação consistiu na pesquisa de artigos científicos, publicados entre os anos de 2007 e 2021, recorrendo às bases de dados online PubMed, Web of Science e SciELO utilizando as palavras-chave: “Atherosclerosis” e “Flavonoids”. Inicialmente, obtiveram-se 279 artigos, os quais foram reduzidos para 61 após leitura dos respetivos resumos. Por fim, o número de artigos lidos integralmente foi reduzido para 46, após se terem retirado aqueles aos quais não se conseguiu acesso. (Figura 1)

De todos os artigos encontrados nesta janela temporal, foram selecionados apenas artigos nas línguas portuguesa e inglesa e ao longo da pesquisa foi realizado um esforço para evitar informação desatualizada, dando preferência a artigos mais recentes, ainda que haja menção a artigos mais antigos, dado o seu importante contributo na discussão do tema.

A seleção dos artigos foi realizada de modo que se pudesse encontrar, em primeiro lugar, informação isolada acerca dos dois temas em causa, explicando os processos e ações envolventes em casa um deles e, posteriormente, informação que relacionasse diretamente ambos os temas, com vista a alcançar uma conclusão bem sustentada.

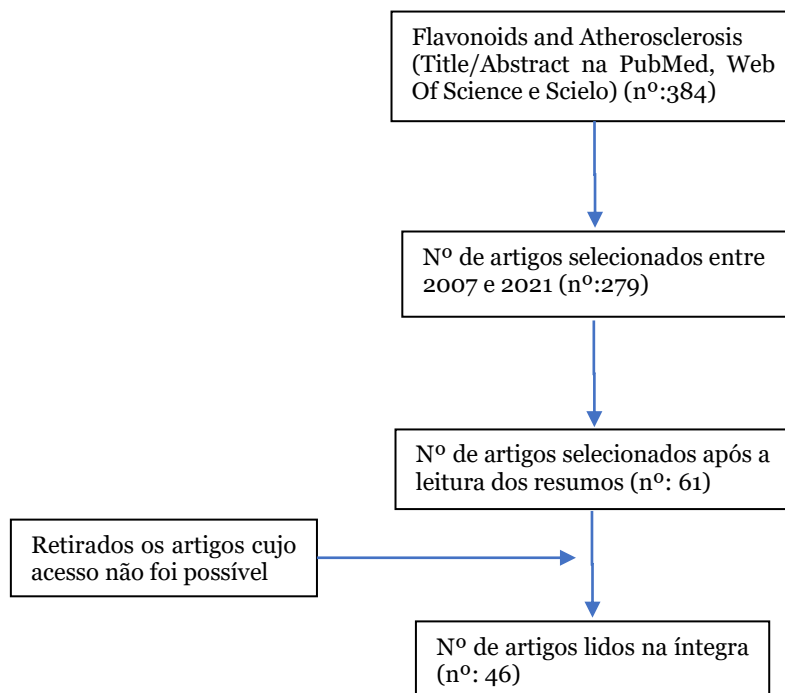


Figura 1 - Diagrama ilustrativo da metodologia utilizada para a realização do trabalho.

1. Aterosclerose

1.1. Definição, Epidemiologia e Fatores de Risco

A aterosclerose é uma condição patológica caracterizada pela anormal acumulação de lípidos, resposta inflamatória excessiva, morte celular e fibrose da parede arterial.(14) Com o avançar da doença, as estrias gordurosas, gradualmente, acabam por desenvolver placas de ateroma. A sua rutura pode provocar a formação de trombos e, conseqüentemente, levar a uma oclusão parcial ou total da artéria afetada.(15)

Esta doença, a principal causa de DCV em todo o mundo, mais especificamente de doença isquémica cardíaca e AVC, tem ganho muita preponderância ao nível dos cuidados de saúde primários, no que diz respeito ao controlo e prevenção dos seus fatores de risco, coincidentes com aqueles que fazem parte do grupo mais extenso de todas as patologias cardiovasculares. Esta disponibilização de recursos tanto ao nível da prevenção como do tratamento, tem permitido uma clara diminuição da morbidade e mortalidade da DCV, principalmente em países de elevado rendimento e sobretudo desde a entrada no novo século.(11–13,16)

Alguns dos fatores de risco, nos quais se incide uma maior atenção, incluem condições patológicas bem conhecidas e prevalentes na sociedade moderna, como a HTA, DM2, hipercolesterolemia e obesidade, assim como comportamentos nocivos como o tabagismo e o sedentarismo. Por fim, a existência de história familiar e idade avançada também se inserem neste grupo.(17,18) (Figura 2)

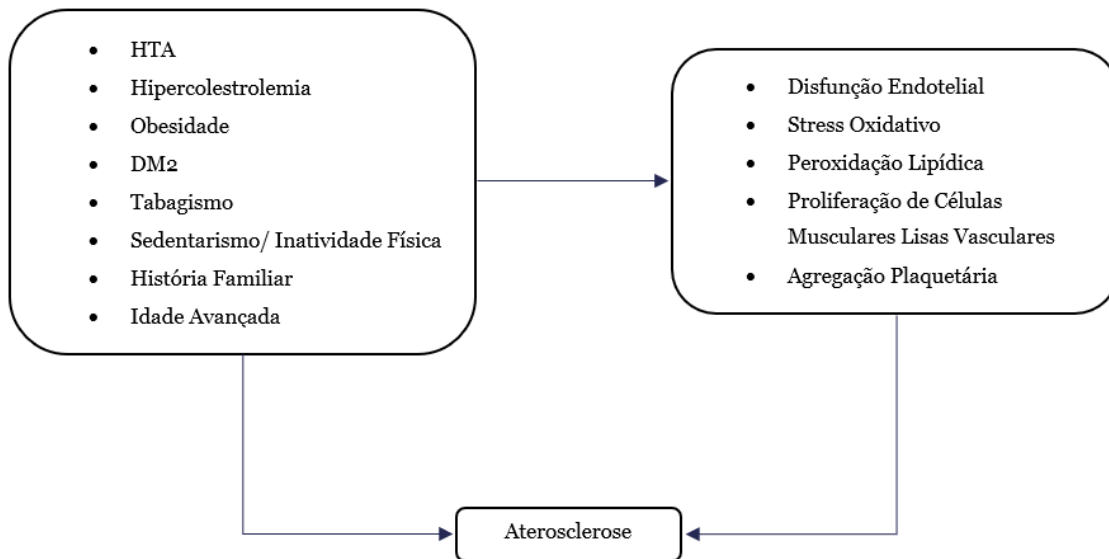


Figura 2 – Fatores de risco e processos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento da doença aterosclerótica.

Ao longo dos anos, tem-se tentado comprovar, não só a já certificada relação direta entre o aumento das concentrações de LDL e o risco de desenvolvimento de doença aterosclerótica, mas também uma relação inversa entre esse mesmo risco e os níveis do “bom colesterol” (HDL). Mais de 200 estudos, que envolveram mais de 2 milhões de participantes a uma escala global, demonstraram, de forma consistente, uma forte associação entre a magnitude da exposição a elevadas concentrações de LDL e um aumento do risco de desenvolver aterosclerose.(19) Apesar de em estudos animais se ter chegado à conclusão de que níveis de HDL mais elevados poderiam resultar num decréscimo da probabilidade de desenvolver aterosclerose, outros estudos, baseados na evidência genética humana, nem sempre têm sido capazes de o comprovar. Ainda assim, este é um capítulo que em sido deixado em aberto pela comunidade científica, devido à grande crença que no futuro se consiga provar esta relação, com vista a dar passos importantes na prevenção e tratamento da doença.(20)

1.2. Fisiologia da Parede Arterial

Antes de mencionar e explicar os mecanismos fisiopatológicos da doença aterosclerótica, será importante compreender a constituição e normal função de toda a parede arterial. Esta é constituída por três camadas laminares, as túnicas adventícia, média e íntima.(11) Esta última, a camada mais interna da parede arterial, é constituída por células endoteliais, que se dispõem sobre uma camada subendotelial de tecido conjuntivo frouxo. Nas artérias, esta camada apresenta ainda uma lâmina elástica interna, que separa a túnica íntima da túnica média. As células endoteliais desempenham um papel fundamental na homeostase corporal, através de alguns mecanismos, como o controlo da permeabilidade vascular, a regulação do tónus vascular e a manutenção de um transporte adequado através da parede do lúmen arterial, apresentando uma grande capacidade de mediar respostas imunoinflamatórias aquando da presença de situações de lesão ou infeção.(21) A túnica média, por sua vez, é constituída por células musculares lisas no estado de quiescência e uma matriz extracelular composta por elastina, colagénio e outras macromoléculas. Já a túnica adventícia, a camada mais externa da parede arterial, contém terminações nervosas, mastócitos e microvasos responsáveis pela sua nutrição (os *vasa vasorum*). (11)

1.3. Fisiopatologia da Aterosclerose

O transporte ao longo da membrana e a entrada das LDL para a camada mais interna da parede vascular é, provavelmente, o mecanismo de iniciação e progressão principal no desenvolvimento e estimulação da aterogénese.(19) Alguns estudos e investigações, assentes em terapêuticas farmacológicas, sugerem que a aterosclerose não se conseguisse desenvolver na ausência de um excesso na concentração de LDL, isto é, em concentrações consideradas benéficas para a saúde, na ordem dos 10-30 mg/dl.(3) Apesar de muitos anos de estudo e investigação, ainda hoje permanecem incertos os mecanismos pelos quais o excesso de concentração de LDL promova o desenvolvimento de um estado pró-aterosclerótico, no entanto tem sido muito suportada a teoria de que as partículas de LDL oxidadas são um importante ponto de partida.(22)

Como mencionado anteriormente, sabe-se que a placa aterosclerótica se forma através da camada íntima. Nas fases iniciais da aterogénese, as LDL acumuladas nesta camada deixam de estar expostas aos antioxidantes endógenos presentes no plasma. Desta forma, ficam disponíveis para o processo de oxidação, passando a desempenhar um papel pró-inflamatório e ganhando habilidades imunogénicas. Entretanto, à medida

que este estado pró-aterosclerótico se vai desenvolvendo, através de alguns mecanismos, como a produção de citocinas quimioatraentes, os monócitos circulantes no plasma ligam-se às moléculas de adesão, presentes nas células endoteliais ativadas.(18) Estas moléculas de adesão, de que são exemplo a selectina endotelial, a VCAM-1, a ICAM-1 e o fator de Von Willebrand, produzidas pelas células endoteliais em resposta à libertação de citocinas como o TNF- α , e as ILs 1, 6 e 8, estimulam a adesão dos leucócitos ao endotélio.(23) Desta forma, quimiocinas, como a MCP-1, promovem a migração transendotelial dos monócitos para o interior da parede arterial. Uma vez dentro da túnica íntima, os monócitos sofrem um processo de maturação, transformando-se em macrófagos. Estas últimas células, posteriormente, expressam recetores sequestradores (“scavenger”) que permitem a sua ligação às partículas lipoproteicas e, conseqüentemente, a formação das denominadas células espumosas (“foams cells”).(11,17) (Figura 3)

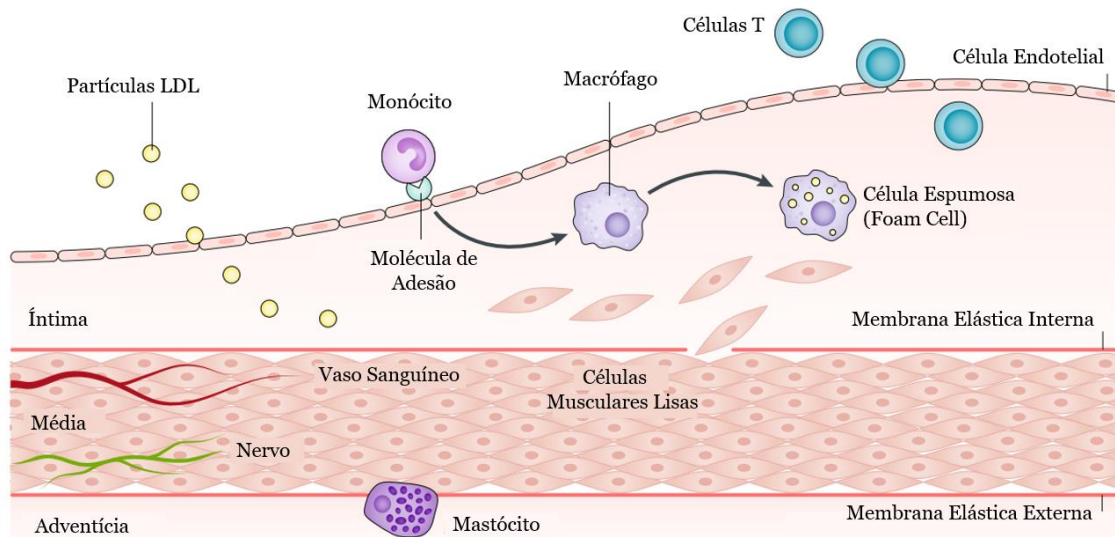


Figura 3 – Processo fisiopatológico inicial e progressão da aterosclerose. Adaptada do artigo (11)

Durante todo este processo há também uma migração das células musculares lisas da túnica média para a íntima, estimulada quer pelos leucócitos, quer por algumas células T e também pelos macrófagos, através da libertação do fator de crescimento derivado de plaquetas. Estudos recentes indicam que estas últimas e alguns fagócitos mononucleares, através de um processo de metaplasia, podem também adquirir a capacidade de se ligarem às lipoproteínas e contribuir para o aumento da produção de células espumosas.(24) Estas células, provenientes da túnica média, ao longo dos anos vão proliferando cada vez mais para a camada mais interna da parede vascular. Assim, dão origem a uma matriz extracelular de macromoléculas, com aumento da síntese de colagénio, elastina, proteoglicanos e glicosaminoglicanos, preenchendo uma grande

parte do volume da placa aterosclerótica e conferindo-lhe um estado de proteção através de uma camada fibrosa.(8,11,13) Cada uma destas macromoléculas, que se vão acumulando na túnica íntima, têm a capacidade de se ligar a lipoproteínas e promover o processo de acumulação lipídica. No entanto, mediadores libertados pelas células T, como o INF- γ , podem prejudicar a capacidade de síntese de colagénio intersticial, o que diminui a reparação e manutenção da capa fibrosa que recobre o core da placa. Além disso, macrófagos ativados aumentam a produção de enzimas da família das metaloproteinases, responsáveis pela degradação do colagénio.(11) Estes dois processos, de forma sinérgica, contribuem para um enfraquecimento do tecido fibroso estrutural, aumentando bastante a suscetibilidade da placa a uma rutura. À medida que a doença vai avançando, as células musculares lisas, os macrófagos e as células espumosas vão sofrendo morte celular, causando uma acumulação dos detritos apoptóticos, com formação de um núcleo necrótico rico em lípidos.(11,13)

Ao longo de todo o mecanismo fisiopatológico, algumas placas de ateroma podem também desenvolver calcificações, devido a uma desregulação no metabolismo do cálcio. Este processo de deposição de minerais de cálcio em zonas da placa está também associado a uma instabilidade mecânica da mesma e, conseqüentemente, a um aumento da tendência natural de rutura e formação de trombos.(25)

A rutura de placas de ateroma é o desencadeante mais comum de uma trombose coronária aguda, responsável pelo surgimento de um EAM.(15) Para além disso, é também um importante ponto de partida de qualquer evento isquémico, incluindo os AVC e também para o agravamento de uma doença arterial periférica quando as extremidades inferiores são afetadas.

A aterosclerose é, nos dias de hoje, a principal causa de DCV em todo o mundo e está bastante associada a uma elevada prevalência de morte prematura em casos de doença coronária aguda. No entanto, nos últimos anos, tanto os cuidados de saúde e seus profissionais, através das suas campanhas de sensibilização e da promoção de bons hábitos de vida diários, como as próprias populações, têm conseguido baixar significativamente os números assustadores de há algumas décadas. Cada vez mais, as pessoas mostram interesse e preocupação com a sua saúde cardiovascular, estando dispostas a adotar medidas de prevenção mais apertadas e rigorosas, no que toca à sua atividade física, sono e alimentação.

Existem fortes evidências científicas de que os flavonoides, num futuro próximo, possam e devam fazer parte das medidas dietéticas de prevenção e combate à pandemia da doença aterosclerótica e, por conseguinte, à DCV no geral.

2. Flavonoides

Os Polifenóis são um grupo de fitoquímicos presentes em alimentos derivados de plantas que se dividem em ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos e flavonoides, sendo estes os mais abundantes na natureza.(1) Estes últimos compostos naturais, que contribuem para a cor e sabor de vários alimentos e seus derivados, podem-se dividir em seis grupos.(6) Os Flavonóis, principalmente a quercetina e o kaempferol, estão presentes em maiores concentrações em alcaparras, bróculos, cebola, mirtilos e no vinho tinto. As isoflavonas, das quais se destacam a genistina (genistein), daidzina (daidzein) e a gliciteína (glycitein), são encontradas, quase exclusivamente, em plantas leguminosas, com destaque para a soja e seus produtos processados. Os flavanóis, que se podem apresentar na sua forma monomérica (catequinas [catechins]) ou polimérica (proantocianidinas [proanthocyanidins]) são encontrados numa larga variedade de frutas, como o morango e o pêsego e também no vinho tinto, chocolate negro e chá verde. As antocianinas, produzidas pelas plantas como resposta fisiológica ao stress, que se subdividem em 6 grupos: cianidina (cyanidin), delfinidina (delphinidin), malvidina (malvidin), pelargonidina (pelargonidin), peonidina (peonidin) e petunidina (petunidin), podendo ser encontradas no vinho tinto, em frutas e em alguns vegetais como a beringela, repolho, feijão e cebola roxa. De destacar que esta classe é responsável pela pigmentação vermelha, roxa ou azul dos produtos naturais em que se encontram. Por último, destacam-se as classes de flavanonas e flavonas . As flavanonas são encontradas, por exemplo, em tomates e na hortelã no entanto, estão presentes em maiores concentrações nas frutas cítricas como a toranja, laranja, tangerina, limão e lima, sendo uma fonte importante e significativa do aporte de flavonoides presentes nas dietas típicas do quotidiano. Desta subclasse fazem parte a Naringenina (Naringenin), Naringina (Naringin), Hesperetina (Hesperetin), Hesperidina (Hesperidin) e o Eriodictiol (Eriodictyol). Tal como no caso das flavanonas, as flavonas, de que são exemplo a Nobiletina (Nobiletin), a Tangeretina (Tangeretin) e a Baicaleína (Baicalein), também se encontram em maiores concentrações nas frutas cítricas.(1,2,7,26–29) (Figura 4) Estas últimas duas classes de compostos presentes nos citrinos, apresentam valores de consumo diário de aproximadamente das 10 mg na América do Norte e Europa.(2)

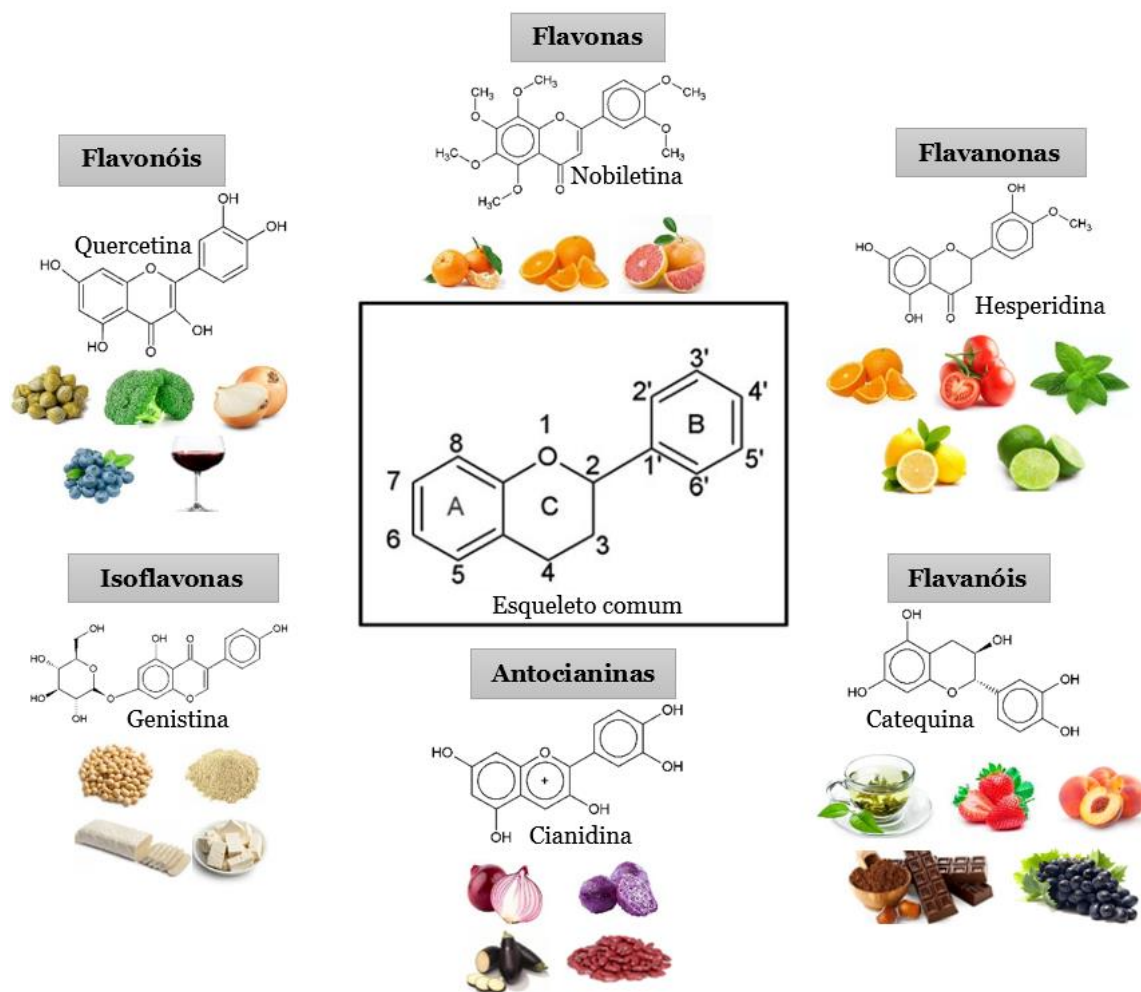


Figura 4 – Estruturas químicas e fontes alimentares de alguns flavonoides.

Na sua generalidade, os compostos flavonoides têm uma estrutura que lhes permite, através de diversos mecanismos de ação, desempenhar uma regulação protetora, estando o seu consumo diário associado a menor risco de doenças como a aterosclerose, doença coronária, AVC, DM2 e tumores.(2,3,30) Apesar desta hipótese, ainda não foi definida uma recomendação oficial em relação à quantidade exata de flavonoides que devem ser ingeridos, para que estes possam desempenhar essa mesma função protetora e preventiva na vida diária.(31)

Estas suas capacidades protetoras têm, ao longo dos anos, ganho maior relevo, principalmente ao nível das DCV. Além da sua função antioxidante, anti-inflamatória e anti-hipertensora, destacam-se a capacidade de inibição do processo de peroxidação lipídica (fundamentalmente das LDL), os mecanismos anti-plaquetário e anticoagulante, a promoção da vasodilatação e os efeitos protetores da função endotelial, o aumento da sensibilidade à insulina, e também, a sua habilidade em limitar e inibir o stress oxidativo.(1,2,7,31) (Tabela 1)

Tabela 1 – Efeitos protetores e mecanismos de ação dos flavonoides na aterosclerose. Adaptada dos artigos(1,2,9,13,16,32)

Efeito	Mecanismo de Ação	Flavonoide
Antioxidante	Eliminação direta de radicais livres	Kaempferol
	Inibição de enzimas produtoras de ERO	Nobiletina
	Aumento da produção e expressão de enzimas antioxidantes	Hesperidina
	Estimulação da ação e expressão da eNOS	Quercetina
	Inibição da ação e expressão da iNOS	Kaempferol
	Inibição do processo de peroxidação das LDL	Hesperidina
	Inibição da ação e expressão das metaloproteínas	Kaempferol
Anti-inflamatório	Inibição das COX 1 e 2 e das lipoxigenases	Quercetina
	Inibição da via NF- κ B	Kaempferol
	Diminuição das IL-1, IL-6 e TNF- α (citocinas pró-inflamatórias)	Naringenina
	Aumento da IL-10 (citocina anti-inflamatória)	Quercetina
	Inibição da ação e expressão da iNOS	Kaempferol
	Inibição da expressão de moléculas de adesão	Naringenina
	Inibição da ação das fosfodiesterases	Cianidina
Regulação lipídica	Diminuição da absorção lipídica a nível intestinal	Catequina
	Diminuição da secreção hepática de ApoB100	Naringenina
	Aumento da concentração plasmática de HDL	Quercetina
	Diminuição da concentração plasmática de LDL, triglicéridos e colesterol total	Morina
	Aumento do catabolismo dos ácidos gordos por ativação do PPAR α	Tangeritina
Antiplaquetário e Anticoagulante	Inibição de enzimas produtoras de ERO	Nobiletina
	Ativação do PECAM-1	Catequina
	Inibição do PAF	Baicaleína
	Inibição da ação do FT	Nobiletina
	Prolongamento do TP e TTPa	Epicatequina
	Efeito antagonista sobre o TxA2	Genistina
Anti-hipertensor e Vasodilatador	Aumento da Vasodilatação mediada por ON com melhoria dos níveis da DMF	Catequina
	Estimulação da ação e expressão da eNOS	Quercetina
	Inibição do ENaC no rim	Quercetina
	Inibição da ECA	Quercetina
	Inibição da produção e ação da ET-1	Quercetina

3. Efeitos Protetores dos Flavonoides na Aterosclerose

3.1. Efeitos Antioxidante e Protetor da Função Endotelial

Ainda que seja um importante substrato para o metabolismo celular, o oxigênio em excesso pode causar lesão celular grave, com repercussões fisiopatológicas. Em condições normais/homeostáticas há um equilíbrio entre substâncias oxidativas e não oxidativas, devido à existência de algumas enzimas, como a catalase ou a glutatona e outros antioxidantes, como a vitamina E e o ascorbato.(1,31,33) Contudo, aquando do desenvolvimento do processo de stress oxidativo há um desequilíbrio desse sistema, promovido pelos fatores de risco cardiovasculares, que cursa com um aumento das ERO, seus radicais livres e uma diminuição da biodisponibilidade do ON. Como consequência, há uma diminuição das suas ações de inibição da inflamação, trombose e proliferação celular.(4,9) Com o avançar do tempo, alguns dos efeitos descritos em diferentes alvos biológicos poderão ser: a diminuição ou até mesmo perda da função proteica, o aumento da peroxidação lipídica, que contribui para uma alteração das propriedades das membranas celulares e também alterações no ADN, que podem promover mutações genéticas e alterações da expressão génica, com consequente indução da apoptose e morte celular.(31,34)

Os flavonoides, estudados desde há cerca de 85 anos, como acima descrito têm sido visados devido a uma variedade de propriedades, ainda assim é o seu efeito antioxidante aquele que tem sido melhor descrito ao longo dos anos, nos vários estudos, investigações e artigos científicos. Estes compostos polifenóis exercem a sua ação antioxidante através de vários mecanismos de ação.

Em primeiro lugar, e porque pode ser definido como o mecanismo mais relevante, têm a capacidade de eliminar, diretamente, radicais livres.(1,6,35) Alguns flavonoides, como a naringenina, a catequina e o kaempferol têm precisamente demonstrado essa habilidade.(7,8) Eles são oxidados por radicais livres, dando lugar a um radical flavonoide mais estável e menos reativo, o que lhe confere uma elevada capacidade reativa contra ERO e espécies reativas de nitrogénio.(7) Ao eliminar esses radicais livres acabam por desempenhar um papel importante na inibição da oxidação das LDL e, conseqüentemente, da aterogénese, já que as LDL oxidadas são um substrato

fundamental para dar início a esse processo. Como exemplo, estudos demonstram que a naringenina e a hesperidina, ambas da classe das flavononas, apresentam uma capacidade direta de inibir o processo denominado de peroxidação lipídica.(36,37)

A enzima NADPH oxidase é considerada a fonte mais importante de ERO do sistema vascular.(4) Alguns estudos demonstraram que flavonoides, como a flavanona hesperidina ou a flavona nobiletina, seriam responsáveis pela supressão da ação da NADPH oxidase, levando à limitação e inibição do stress oxidativo, pela supressão da produção de ERO.(7) Conseqüentemente, este feito leva a uma diminuição do dano provocado ao endotélio vascular, inibindo o desenvolvimento do processo aterosclerótico. Outras enzimas que têm sido intimamente ligadas à lesão oxidativa dos tecidos são a lipoxigenase, a cicloxigenase, a xantina oxidase e a eNOS desacoplada, que tem sido descrita como enzima central na regulação homeostática do endotélio.(4,16,38) Estas últimas enzimas têm sido abordadas em vários estudos como alvo de ação dos flavonoides. Como exemplo, a rutina ou vitamina P, um bioflavonoide solúvel em metanol, exercem a sua forte ação de eliminação de radicais através da sua habilidade em inibir a ação da xantina oxidase.(7) Assim, tem-se chegado à conclusão que parte do efeito antioxidante mediado por estes compostos está intimamente relacionado com a sua capacidade de inibir a expressão e ação de enzimas cuja ação promove um estado pró-oxidante.

Como mencionado anteriormente, endogenamente o corpo humano produz substâncias que contribuem para o equilíbrio oxidativo, como a vitamina E e a glutathiona. Estudos têm também encontrado dados que favorecem a hipótese de que os flavonoides estimulam a expressão e ação destas substâncias antioxidantes, podendo, desta forma, combater e retardar o desenvolvimento de condições de stress vascular.(4) Um desses estudos, já mencionado, encontrou uma relação, na qual a presença de naringenina promovia um aumento dos níveis de glutathiona.(36) Um estudo diferente, demonstrou que um flavonoide da mesma classe, a hesperidina, para além da capacidade inibitória sobre o processo de peroxidação lipídica, referida anteriormente, era responsável pelo aumento dos níveis de glutathiona, vitamina E, superóxido dismutase e catalase.(37)

O ON produzido pelas células endoteliais através da ação da eNOS (responsável pela conversão da L-arginina em citrulina) desempenha um papel fundamental na manutenção do equilíbrio entre os estados de vasodilatação e vasoconstrição, sendo um potente vasodilatador.(4,9,39) As outras duas isoformas da ON sintetase são a ON sintetase constitutiva (cNOS), produzida por células do sistema nervoso central,

periférico e pelas plaquetas e a iNOS, encontrada em miócitos, macrófagos e também nas células endoteliais, sendo esta última ativada por estímulos imunoinflamatórios.(4,16) Fisiologicamente a produção de ON a partir da eNOS é um processo benéfico para o sistema cardiovascular, no entanto, e de forma muito interessante, esta enzima num estado de disfunção endotelial pode mudar a sua atividade, passando também ela a produzir ERO, processo denominado de desacoplamento da eNOS. Pelas suas capacidades antioxidantes, alguns flavonoides cítricos são também capazes de impedir este processo, contribuindo para a prevenção da disfunção endotelial.(7,9) Diferentemente, a produção de ON pela iNOS favorece a síntese de peroxinitrito citotóxico, constituinte promotor de alterações funcionais e estruturais nas células endoteliais, contribuindo para um estado pró-aterosclerótico. Vários estudos definiram que os flavonoides, como por exemplo o kaempferol, têm efeitos benéficos no que diz respeito à manutenção do equilíbrio da vasodilatação mediada pelo ON através de ações diretas, tanto na inativação da iNOS (conferindo-lhe também uma capacidade anti-inflamatória), com consequente diminuição da formação de peroxinitrito de ON, como no aumento dos níveis de produção de eNOS e subsequente aumento na produção de ON.(1,4,8,9,40) Pela sua ação vasodilatadora, todo o anterior mecanismo contribui também para algum efeito anti hipertensor.

Como mencionado na fisiopatologia da doença aterosclerótica, as metaloproteinases são responsáveis por parte da remodelação tecidual e degradação da matriz extracelular de colagénio. Num estado de homeostasia a sua ação está reduzida e controlada por inibidores teciduais.(38) Tal como acontecia no stress oxidativo, um desequilíbrio entre as metaloproteinases e os seus inibidores teciduais contribui para o início e progressão do processo inflamatório. Estudos demonstraram que a suplementação de kaempferol, em doentes com artrite reumatóide, tinha efeitos inibitórios sobre a expressão das metaloproteinases, protegendo e impedindo a degradação da matriz extracelular.(41) Desta forma, sendo que estas enzimas desempenham um papel na aterosclerose, este mecanismo é mais um exemplo promissor dos efeitos benéficos dos flavonoides, apesar de poucos estudos o abordarem.

No que diz respeito ao seus papéis antioxidante e protetor da função endotelial, foi proposto que estes efeitos dos flavonoides tenham um maior impacto previamente à formação da placa aterosclerótica, do que à “posteriori”.(42)

3.2. Efeito Anti-inflamatório

A inflamação é um processo natural e muito importante na resposta de cura e recuperação do ser humano a lesões induzidas por diversos agentes causais, incluindo situações de trauma e/ou patógenos. A inflamação crónica tem vindo a ser associada a diferentes tipos de doença, bem conhecidas da prática clínica, desde reumatológicas, alérgicas, intestinais, cancerígenas e, com especial foco nesta revisão, em algumas DCV, de como é exemplo a aterosclerose.(32,43)

Como mencionado anteriormente, aquando da sumarização da fisiopatologia da aterosclerose, níveis elevados de LDL e colesterol total estão intimamente relacionados com stress oxidativo e com o processo de peroxidação lipídica.(13) Após a formação das células espumosas, ocorre uma migração e proliferação de células musculares lisas e a estimulação de uma extensa resposta inflamatória. Vários estudos têm vindo a demonstrar que os flavonoides exercem a sua atividade anti-inflamatória através de vários mecanismos, entre os quais se inserem a destruição de radicais livres de oxigénio, o efeito sobre as ciclo e lipoxigenases, a regulação da produção das eNOS e iNOS, a diminuição de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α , o aumento na expressão da IL-10, uma citocina anti-inflamatória, a inibição da via NF- κ B e, também, a inibição da expressão de moléculas de adesão ao endotélio vascular.(1,4,7,32,34)

O stress oxidativo e as ERO dele resultantes desempenham um papel importante no recrutamento leucocitário. Este papel, em parte, baseia-se no facto destas ERO servirem de substrato para o processo de oxidação lipídica. Posteriormente à oxidação das LDL, estas estimulam as células vascular locais a produzirem a MCP-1, uma citocina pró-inflamatória, capaz de promover o recrutamento de monócitos e a libertação de lípidos e enzimas lisossomais para o espaço extravascular, dando um forte contributo para a lesão aterosclerótica.(44) A adesão de monócitos às células endoteliais é, como descrito anteriormente, uma das etapas iniciais no desenvolvimento da aterogénese. Vários estudos, tanto in vivo como in vitro, têm vindo a demonstrar a capacidade de flavonoides cítricos diminuírem a expressão de moléculas de adesão como o VCAM-1, o ICAM-1 e a selectina endotelial.(9,45) Um estudo, realizado em coelhos brancos neozelandeses, encontrou resultados significativos em relação aos mecanismos de ação exercidos pelos flavonoides no processo de adesão de leucócitos ao endotélio vascular. Este mesmo estudo, concluiu que a naringina e a naringenina inibem a expressão da VCAM-1 e da MCP-1,

prevenindo a adesão de monócitos às células endoteliais e, conseqüentemente, prevenindo o desenvolvimento do processo aterosclerótico.(44) Ainda um outro estudo demonstrou a diminuição dos níveis de ICAM-1, aquando da suplementação, em fumadores saudáveis, durante duas semanas, com um sumo de uva rico em flavonoides.(46) Em oposição, um outro estudo não verificou mudanças significativas nos valores dos VCAM e ICAM.(47)

As ciclo e lipoxigenases são enzimas fundamentais para o metabolismo do ácido araquidónico e para a produção de prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos, produtos que desempenham um papel importante na resposta inflamatória.(32) Apesar de apresentarem um efeito inibitório fraco sobre a COX-1, alguns flavonoides, de como são exemplo a quercetina e o kaempferol, demonstraram um forte papel inibitório sobre a COX-2. Para além disto, compostos também da classe dos flavonóis, como a morina, estão associados a uma inibição da lipoxigenase e, conseqüentemente, a uma diminuição da produção de leucotrienos.(1,48)

Como visto anteriormente, a aterosclerose tem na sua origem e progressão uma contribuição fulcral de variadas moléculas/mediadores envolvidos na cascata inflamatória, desde leucócitos, a moléculas de adesão e, com enorme preponderância, as citocinas. Vários estudos têm focado o efeito anti-inflamatório dos flavonoides, sustentando-se na tese de que estes desempenham um papel regulador ao nível da expressão de genes de citocinas pró e anti-inflamatórias. A naringenina e a hesperidina demonstraram, em diversos ensaios laboratoriais, a capacidade de diminuir a expressão genética das ILs 1, 6 e 8 e do TNF- α , citocinas pró-inflamatórias.(37) Para além disso, outros estudos concluíram que flavonoides como a quercetina e catequinas tinham a capacidade de aumentar a produção e libertação da IL-10, citocina anti-inflamatória.(1,49,50)

Outra das ações anti-inflamatórias destes agentes advém da sua capacidade de intervir na transdução de sinais durante a ativação celular, ao longo da cascata inflamatória e na modulação de proteínas cinases, através da inibição de fatores de transcrição, como por exemplo o NF- κ B. Especificamente, este fator de transcrição é responsável pela regulação de diversas células envolvidas no processo inflamatório, como citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão celular. O I κ -B α atua como uma molécula inibitória do NF- κ B. No decorrer da inflamação esta molécula sofre um processo de fosforilação e degradação. Desta forma, o NF- κ B pode ser translocado do citoplasma para o núcleo, onde irá exercer a sua atividade, estimulando a expressão de diferentes

genes pró-inflamatórios. Estudos demonstraram a capacidade de os flavonoides regularem esta via de sinalização inflamatória, com impacto direto no $\text{I}\kappa\text{-B}\alpha$, impedindo a sua fosforilação e degradação, exercendo, desta forma, um efeito anti-inflamatório. Um dos flavonoides estudados que demonstrou a sua capacidade anti-inflamatória através deste mecanismo de ação foi o kaempferol.(38) Também os flavanóis epicatequina e catequina foram capazes de regular a resposta imunitária, através da modulação do fator de transcrição $\text{NF-}\kappa\text{B}$.(51) Através da regulação desta via, estes compostos são também capazes de diminuir a adesão de células inflamatórias ao endotélio.

Os flavonoides apresentam também uma ação sobre as fosfodiesterases. O AMPc é considerado um mensageiro chave na regulação de diversas funções celulares, durante o vasto processo da inflamação. Níveis mais elevados desta molécula mostraram-se relacionados com um aumento de ações anti-inflamatórias. As fosfodiesterases são responsáveis pela hidrólise do AMPc, para que os seus níveis se mantenham dentro dos valores normais.(32) Tem sido estudado o efeito dos flavonoides sobre estas enzimas, sendo que parece haver um potencial inibitório sobre as mesmas, impedindo, desta forma, a degradação do AMPc e promovendo o prolongamento da sua sinalização, o que se traduz em mais uma prova das suas capacidades anti-inflamatórias. De forma a corroborar esta ideia, um estudo realizado com um extrato, denominado de sinetrol, uma mistura polifenólica de antocianinas (cianidina) e flavanonas (naringina), demonstrou precisamente uma ação inibitória direta sobre as fosfodiesterases.(52) Ainda outros estudos, de forma concordante, descreveram este mesmo mecanismo de ação exercido pela hesperidina.(10)

3.3. Efeito na Regulação Lipídica

O colesterol é, obviamente, uma substância fundamental na manutenção do equilíbrio homeostático do sistema cardiovascular. Em especial, os valores de HDL, LDL, colesterol total e triglicéridos, têm sido estudados e utilizados na monitorização e seguimento de doentes com patologia cardiovascular ou fatores de risco que predisponham um evento dessa ordem. Ainda dentro de todo este equilíbrio cardiovascular, o metabolismo dos ácidos gordos desempenha um papel importante, já que desequilíbrios do mesmo podem resultar num excesso de acumulação lipídica, diretamente relacionada com o desenvolvimento da doença aterosclerótica.

Vários estudos ao longo dos anos têm demonstrado que os flavonoides são capazes de desempenhar diversos papéis ao nível da regulação lipídica.(53) Tem sido comprovado que estes compostos, como por exemplo alguns da classe das procianidinas, diminuem e retardam a absorção lipídica a nível intestinal.(1,54) Um estudo, realizado através da extração de uma mistura de catequinas do chá verde japonês, chegou à conclusão que algumas dessas possuíam um forte efeito inibitório sobre a absorção intestinal de colesterol, sendo a galato de epigallocatequina a que demonstrou ser mais potente.(55)

Um estudo, realizado com diversos flavonoides em ratos hiperlipidémicos, obteve resultados muito significativos no que toca à sua influência sobre a regulação lipídica. Neste estudo a administração de flavonoides de diferentes classes como a morina e a quercetina, ambas flavonóis, a baicaleína, uma flavona e a naringenina, da classe das flavanonas, comprovaram uma redução da carga lipídica plasmática. A título de exemplo, a morina foi capaz de reduzir as concentrações plasmáticas de triglicéridos, LDL e colesterol total. Já a quercetina teve um efeito positivo nos níveis de HDL.(56) Ainda que os mecanismos não estejam totalmente identificados, outros estudos indicam, da mesma forma, que estes compostos desempenham um papel importante na regulação positiva do HDL, o chamado “bom colesterol”.(14,57) A partir de um pó extraído da bergamota, uma espécie de pera, um sumo enriquecido em flavonoides, demonstrou também um papel importante na diminuição da concentração sérica de triglicéridos, LDL e colesterol total, ainda que não se tenha verificado uma diminuição do peso corporal.(58) De forma contrária, uma revisão sistemática e meta-análise que visava perceber os efeitos dos flavonoides na aterosclerose aórtica em ratos, não verificou qualquer mudança significativa nos parâmetros lipídicos acima mencionados.(42)

A ApoB100, uma apolipoproteína sintetizada pelo fígado, faz parte das principais frações lipoproteicas consideradas aterogénicas. Responsável pelo transporte de moléculas de colesterol para os tecidos, é também essencial para a ligação das LDL aos seus recetores celulares, permitindo assim a sua entrada dentro das células.(59) Um outro mecanismo de ação verificado nos flavonoides é a inibição da secreção hepática de apoB100 como, por exemplo, demonstra um estudo sobre a naringenina.(60) Assim sendo, esta ação inibitória irá levar a uma diminuição da acumulação de colesterol nos tecidos, ao impedir o seu transporte, e de partículas de LDL, por falta de substrato para que estas se liguem às células.(61)

Por último, os flavonoides podem regular, através da via AMPK, a utilização de ácidos gordos. Esta sua ação é mediada pela adiponectina e pela ativação do PPAR α no fígado, tecido adiposo castanho, rim e músculo, que levam a um aumento da produção de enzimas responsáveis pelo catabolismo dos ácidos gordos.(1,62) Para além deste papel na regulação lipídica, o PPAR α desempenha um importante papel no metabolismo da glicose, no aumento da sensibilização à insulina e também atua como anti-inflamatório, reduzindo o recrutamento de monócitos, ao inibir a ação de moléculas como o VCAM-1, MCP-1 e a IL-6. A título de exemplo a tangeritina, assim como a naringenina, demonstraram, em diferentes estudos, uma forte capacidade de ativar o PPAR α a nível hepático.(62) Esta ativação do PPAR α constitui uma ajuda importante na redução da formação de células espumosas, através da diminuição da captação lipídica pelos macrófagos em áreas potencialmente aterogénicas, contribuindo para a inibição da aterogénese.(63)

3.4. Efeitos Antiplaquetário e Anticoagulante

A falha de diversos mecanismos fisiológicos que contribuem para o processo de anti coagulação, seja por motivos genéticos, seja por motivos secundários a uma causa adquirida, pode acabar por resultar na estimulação de um status pró-trombótico. Muitos estudos demonstraram que a trombose é a principal causa de algumas doenças graves, com elevado risco de mortalidade, de como são exemplo o EAM, AVC, tromboembolismo pulmonar e trombose venosa profunda.(64) Além disso, a formação de trombos constitui uma fase mais avançada da aterosclerose, surgindo como uma consequência severa de todo o processo.(11)

Como mencionado anteriormente, os flavonoides desempenham um papel importante na regulação e manutenção do equilíbrio oxidativo, assim como da normal função do endotélio, desempenhando um papel preventivo no processo trombótico.(1,65) Cada vez mais se tem aprofundado o estudo sobre estes compostos, dada a crença de que apresentam bastantes mais funções do que aquelas já bem documentados há muitos anos.

No que concerne ao stress oxidativo, estudos têm indicado que a formação de ERO desempenha um papel importante no recrutamento, ativação e agregação plaquetária.(65) Como referido anteriormente, vários estudos comprovaram a

capacidade de muitos flavonoides impedirem a formação das ERO e inibirem todo o processo de stress oxidativo.(1,6,35)

A PECAM-1, também conhecida como CD31, é uma glicoproteína, considerada um dos mais importantes mecanorreceptores, altamente presente nas junções das células endoteliais e na superfície das plaquetas e leucócitos.(66) Ao longo do processo trombótico, esta molécula é responsável pela transdução direta de forças mecânicas, não só nos macrófagos, mas também nas células endoteliais. Algumas das suas ações passam pela regulação de várias etapas chave da fisiopatologia da aterosclerose: migração transendotelial de leucócitos, ativação de células T, ativação plaquetária e angiogénese.(67) Um estudo, cujo objetivo era compreender o efeito de um extrato de folha de louro (*Syzygium polyanthum*) na integridade das células endoteliais, concluiu que o mesmo aumentava os níveis de expressão do CD31, atribuindo esta ação em grande parte aos compostos flavonoides constituintes desse mesmo extrato.(67) Em concordância, flavonoides obtidos através de extratos de uva, parecem promover a ativação do PECAM-1.(68) Um aumento da expressão e níveis da PECAM-1 estão ligados a um efeito protetor de manutenção da integridade da barreira endotelial vascular, desempenhando também um importante papel anticoagulante.(69)

O PAF, potente mediador químico, derivado dos fosfolípidos de membrana de neutrófilos, monócitos, basófilos, células endoteliais, plaquetas, está envolvido em processos como a inflamação, reações alérgicas e reprodução, entre outros. Estimulação da adesão leucocitária, quimiotaxia e agregação plaquetária, assim como o aumento da permeabilidade vascular são alguns exemplos de ações diretas do PAF.(70) Através de dados recolhidos num estudo que visava perceber a possível modulação da ação do PAF por flavonoides, chegou-se à conclusão de que o efeito protetor exercido por estes compostos sobre as células endoteliais, durante um período de stress oxidativo, se deveu à sua capacidade de inibir a síntese de PAF e, também, ao facto de redirecionarem o restante PAF produzido para a síntese de análogos com menor atividade.(1,71) Ainda um outro estudo, sobre o efeito dos flavonoides da *viscum coloratum* em lesões isquémicas miocárdicas, definiu que a sua ação protetora sobre a isquemia cardíaca advinha da capacidade de bloqueio da ação do PAF.(72) Corroborando esta teoria, outros autores demonstraram que a baicaleína tinha uma ação inibitória no processo de síntese do PAF e que, flavonoides presentes na *chromolaena odorata*, também denominada de erva do Sião, se mostraram como fortes inibidores da ligação do PAF aos seus recetores.(70,73)

O FT, também conhecido como tromboplastina, desempenha uma função crucial como desencadeante do processo trombótico.(74) Este fator é uma glicoproteína transmembrana, que funciona como cofator do fator VII plasmático, ativando diretamente o fator X. Por sua vez, esta ativação dá origem à via extrínseca da coagulação. Para além desta ligação fisiológica, o FT pode ser encontrado na superfície de várias células do sistema imunitário, por exemplo como resposta a uma infeção, ainda que esta expressão, por si só, possa não ser suficiente para induzir a formação de um coágulo. Vários mecanismos são responsáveis por transformar a tromboplastina com pouco efeito trombótico, numa molécula com elevado teor pró-trombótico, processo conhecido como descriptação.(64) Um desses mecanismos, muito importante, é precisamente o desequilíbrio oxidativo, tendo sido comprovado que a formação de partículas LDL oxidadas induz a expressão de FT em células endoteliais. Um estudo demonstrou que a nobiletina tinha a capacidade de inibir este processo de oxidação, impedindo a expressão de FT nas células endoteliais.(74) Dessa forma, é também capaz de impedir o processo de descriptação. Um outro estudo, realizado a partir da *flaveria bidentis*, uma planta colhida na argentina, obteve evidências de que a quercetina tinha a capacidade de inibir a expressão de FT, demonstrando, mais uma vez, a capacidade antitrombótica dos flavonoides.(75)

Outros autores demonstram, através de uma monitorização *in vitro*, que constituintes flavonoides, como a catequina e a epicatequina, foram capazes de prolongar o TTPa e o TP, indicativos de uma ação anticoagulante, assim como de inibir a agregação plaquetária por indução do ácido araquidónico.(76) Estes dados são consistentes com outro estudo, que confirma este efeito inibitório sobre a agregação plaquetária de alguns flavonoides, como o kaempferol, a galangina ou a quercetina.(77) Dentro da classe dos flavonoides, tem-se tentado descrever ainda o papel dos isoflavonoides como agentes antiplaquetários. Estudos revelaram o seu potencial através da capacidade de agirem como inibidores da COX-1 (ação descrita como sendo semelhante à do ácido acetilsalicílico), bem como o seu efeito antagonista sobre os recetores do tromboxano A₂, afetando desta forma a cascata de agregação plaquetária, com base no metabolismo do ácido araquidónico. Ainda assim, nenhum estudo conseguiu demonstrar um efeito inibitório direto dos flavonoides sobre a tromboxano A₂ sintetase.(64,78)

3.5. Efeitos Anti-hipertensor e Vasodilatador

Os flavonoides atuam relaxando os músculos do sistema vascular.(79) Alguns estudos têm vindo a demonstrar uma diminuição significativa nas pressões arteriais sistólica e diastólica após a ingestão de produtos à base de uva, como por exemplo um suco a partir de extratos de casca de uva.(40) Esta capacidade atribui-se em grande parte, e como mencionado anteriormente, aos efeitos dos compostos flavonoides na regulação do ON. Sendo que a promoção da sua libertação junto do endotélio vascular promove a vasodilatação, exercendo por consequência um efeito hipotensor. Ainda outros dois estudos demonstraram efeitos benéficos de flavonoides ao nível da pressão arterial. Um primeiro, demonstrou que a ingestão diária de 90g de chocolate preto estava associada a uma diminuição da pressão arterial sistólica, enquanto que um segundo associou a ingestão de cacau a efeitos hipotensores tanto na pressão sistólica como diastólica.(26,80) Contrariamente, dois estudos mais recentes não verificaram quaisquer melhorias nos níveis de pressão arterial após suplementação com flavonoides.(47,81)

No que concerne ao estudo e monitorização de algumas populações específicas, também relacionada com a fisiologia do ON, a dilatação mediada por fluxo (DMF), uma forma de avaliação não invasiva da função endotelial, habitualmente realizada na artéria braquial, tem ganho uma maior preponderância como um marcador de risco, no contexto de uma patologia cardiovascular.(82) Ainda que os valores deste conceito de DMF possam ser influenciados por alguns fatores como o stress, consumo de tabaco, cafeína ou chá nas 24 horas antes da sua medição, existem já bastantes estudos que corroboram a sua utilização, não só como marcador de previsão do risco cardiovascular, mas também como um biomarcador importante antes da realização de uma cirurgia vascular.(83) Alguns estudos têm considerado que efeitos positivos, provenientes de uma suplementação com cacau, estão intimamente relacionados com os seus efeitos na DMF. Um estudo verificou um aumento da DMF (em média de 1,3%) numa população suplementada diariamente com chocolate, que continha elevadas concentrações de flavonoides (259mg), quando comparado com o grupo controlo, ao longo de duas semanas.(84) Um outro exemplo remete para um estudo no qual, ao fim de um mês, se obtiveram resultados semelhantes, com aumentos de 1,2% na DMF, aquando do consumo diário de uma bebida de cacau, contendo 900 mg de flavonoides totais.(85) Embora estes aumentos na DMF de cerca 1% pareçam pouco significativos, poder-se-á concluir que, na verdade, estes serão dados bastante promissores. Dado o facto de um aumento de apenas 1% na DMF ter sido associado a uma diminuição de

cerca de 13% na probabilidade de ocorrência de um evento cardiovascular na população.(82) Ainda que alguns estudos, realizados na base de suplementação com epicatequina, não tenham alcançado qualquer aumento significativo, a grande maioria tem demonstrado efeitos muito benéficos nos valores da DMF.(9,40)

Como mencionado anteriormente, o ON e as enzimas envolvidas na sua produção desempenham um papel muito importante na manutenção do equilíbrio do endotélio vascular. Um estudo concluiu que a quercetina exercia parte dos seus efeitos através do aumento das concentrações do eNOS a nível aórtico e das concentrações plasmáticas de ON, contribuindo, desta forma, para uma redução da pressão arterial, devido ao seu potente efeito vasodilatador.(86) Também outros estudos demonstraram a capacidade dos flavonoides em estimular a atividade da eNOS, aumentando os níveis de vasodilatação mediada pelo ON.(40)

Um outro mecanismo proposto para explicar o efeito anti-hipertensor dos flavonoides é a sua possível ação inibitória sobre a expressão do ENaC no rim.(1) Este canal desempenha um papel importante na regulação da pressão arterial, exercendo a sua ação através da reabsorção de Na⁺ no segmento distal do túbulo renal. A sua expressão é regulada pelo sistema renina- angiotensina-aldosterona, que mantém a normal volemia e pressão arterial, através do balanço dos níveis plasmáticos de Na⁺.(87) Um estudo realizado em ratos hipertensivos, demonstrou que a quercetina diminuía a expressão do ENaC no rim e, conseqüentemente os níveis de pressão arterial, pela manutenção dos níveis de volemia em valores homeostáticos.(87) Ainda assim, mais estudos serão necessários para definir melhor este mecanismo de ação.

Outro exemplo do efeito anti-hipertensor dos flavonoides, assenta na capacidade de flavonoides, como a quercetina e seus metabolitos, exercerem uma ação inibitória sobre a enzima conversora da angiotensina (ECA).(88) A ECA nos vasos pulmonares é responsável pela conversão da angiotensina I em angiotensina II. Esta última através de mecanismos como a contração da arteríola eferente (e, conseqüente, aumento da taxa de filtração glomerular) ou a estimulação da libertação de aldosterona pelas glândulas suprarrenais (aumentando a reabsorção de água e Na⁺) é responsável pelo aumento da volemia e da pressão arterial. Um outro estudo propôs que a quercetina desempenhava o seu papel hipotensor através do aumento do débito urinário, aumento da excreção de Na⁺, diminuição dos níveis de aldosterona e de angiotensina I.(89)

A ET-1, para além do seu principal efeito vasoconstritor está também associada a níveis aumentados de stress oxidativo e disfunção endotelial. Este péptido estimula a produção de superóxido e a vasoconstrição, através da ativação da NADPH oxidase e da NOS desacoplada, ambas já mencionadas no contexto do stress oxidativo. A ET-1 é ainda responsável por uma diminuição da biodisponibilidade de ON, por interferir com a expressão da eNOS.(90) Apesar de apresentar uma amostra pequena, um ensaio clínico randomizado em homens saudáveis, permitiu concluir que a quercetina impedia a produção de ET-1.(91) Contudo, num estudo realizado em pessoas com doença coronária, que receberam uma suplementação de 200 mg/dia durante 8 semanas de um extrato de casca de pinheiro, rico em catequinas e procianidinas, não se verificou uma modificação relevante nos valores de ET-1.(47)

Conclusão

Atualmente, a grande maioria dos estudos existentes acerca dos flavonoides e os seus efeitos biológicos no ser humano, sugerem que os mesmos apresentam uma forte ação protetora e preventiva sobre algumas patologias crônicas como a DM2, doenças do foro inflamatório, neurológico e hepático, assim como cânceros e DCV. Há ainda alguns estudos que têm tentado comprovar o possível efeito destes compostos em tornar o envelhecimento mais ativo, ou seja, com maior capacidade de atividade física e movimentação.(92)

Neste trabalho pretendia-se relacionar os efeitos protetores e preventivos de alguns flavonoides, previamente estudados, no desenvolvimento da doença aterosclerótica. Na sua generalidade, através das propriedades antioxidante, anti-inflamatória, anti trombótica e das suas capacidades de regulação lipídica e da função endotelial, ficou então demonstrado que estes compostos se apresentam como uma opção muito promissora de ataque à pandemia das DCV e, em concreto, à aterosclerose.

Ao longo do trabalho, foram mencionados vários estudos, os quais abordavam mecanismos de ação e efeitos desempenhados por diferentes flavonoides, dos quais a classe das flavanonas, representada particularmente pela hesperidina e naringenina, a classe dos flavonóis, em particular a quercetina e o kaempferol e, por fim, a classe dos flavanóis, maioritariamente representada pelas catequinas, foram as classes mais mencionadas e cujos efeitos se mostram mais promissores, pela quantidade de informação e estudos já disponíveis.

Ainda assim, e apesar de abundante, a maioria da informação disponível acerca dos flavonoides, baseia-se em ensaios laboratoriais, ainda que alguns ensaios clínicos venham a ser cada vez mais utilizados. Para além disto, alguns mecanismos de ação não estão totalmente compreendidos e não há ainda um consenso alargado, no que toca à opinião sobre as dosagens terapêuticas a ser instauradas, assim como, em relação às quantidades de alimentos presentes na dieta que devam ser ingeridos.

Desta forma, pode concluir-se que, antes de se proporem, de forma oficial e universal, como arma terapêutica de combate à doença aterosclerótica, é necessária mais investigação. Será importante a realização, mais aprofundada, de estudos clínicos randomizados, com maior duração e uma amostra maior que permitam compreender as dosagens ideais a administrar na presença de determinado flavonoide. Talvez através destes estudos se possam chegar a conclusões mais evidentes e cada vez mais

sustentadas, não só na explicação de todos os mecanismos de ação envolvidos, mas também na base de dados estatísticos clínicos.

Em jeito de conclusão, dada a enorme facilidade em encontrar estes compostos naturais na dieta mediterrânica, como em frutas, vegetais, leguminosas, cacau, café, chá e vinho tinto, entre outros, será de esperar que nos próximos anos se consigam alcançar estratégias alimentares concretas que possam servir de muleta para a proteção e prevenção das DCV e, especificamente, da aterosclerose.

Referências bibliográficas

1. Siasos G, Tousoulis D, Tsigkou V, Kokkou E, Oikonomou E, Vavuranakis M, et al. Flavonoids in Atherosclerosis: An Overview of Their Mechanisms of Action. *Curr Med Chem*. 2013;20(21):2641–60.
2. Mulvihill EE, Burke AC, Huff MW. Citrus Flavonoids as Regulators of Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis. *Annu Rev Nutr*. 2016;36(April):275–99.
3. Kozłowska A, Szostak-Wegierek D. Flavonoids--food sources and health benefits. *Rocz Państwowego Zakładu Hig*. 2014;65(2):79–85.
4. Grassi D, Desideri G, Ferri C. Flavonoids: Antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients*. 2010;2(8):890–902.
5. Shen CY, Lin JJ, Jiang JG, Wang TX, Zhu W. Potential roles of dietary flavonoids from: *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl. in atherosclerosis development. *Food Funct*. 2020;11(1):561–71.
6. Croft KD. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann N Y Acad Sci*. 1998;854:435–42.
7. Mahmoud AM, Hernández Bautista RJ, Sandhu MA, Hussein OE. Beneficial effects of citrus flavonoids on cardiovascular and metabolic health. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019.
8. Sharif H, Akash MSH, Rehman K, Irshad K, Imran I. Pathophysiology of atherosclerosis: Association of risk factors and treatment strategies using plant-based bioactive compounds. *J Food Biochem*. 2020;44(11):1–29.
9. Yamagata K, Yamori Y. Inhibition of Endothelial Dysfunction by Dietary Flavonoids and Preventive Effects against Cardiovascular Disease. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2019;75(1):1–9.
10. Barreca D, Gattuso G, Bellocco E, Calderaro A, Trombetta D, Smeriglio A, et al. Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors*. 2017;43(4):495–506.
11. Libby P, Buring JE, Badimon L, Hansson GK, Deanfield J, Bittencourt MS, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Prim*. 2019;5(1):1–18.

12. Herrington W, Lacey B, Sherliker P, Armitage J, Lewington S. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res.* 2016;118(4):535–46.
13. Moss JWE, Williams JO, Ramji DP. Nutraceuticals as therapeutic agents for atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2018;1864(5):1562–72. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.02.006>
14. Wang HH, Garruti G, Liu M, Portincasa P, Wang DQH. Cholesterol and lipoprotein metabolism and atherosclerosis: Recent advances in reverse cholesterol transport. *Ann Hepatol* [Internet]. 2017;16:s27–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.5604/01.3001.0010.5495>
15. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res.* 2014;114(12):1852–66.
16. Cheng YC, Sheen JM, Hu WL, Hung YC. Polyphenols and Oxidative Stress in Atherosclerosis-Related Ischemic Heart Disease and Stroke. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017.
17. Ziegler T, Abdel Rahman F, Jurisch V, Kupatt C. Atherosclerosis and the Capillary Network; Pathophysiology and Potential Therapeutic Strategies. *Cells.* 2019;9(1):1–13.
18. Di Pietro N, Formoso G, Pandolfi A. Physiology and pathophysiology of oxLDL uptake by vascular wall cells in atherosclerosis. *Vascul Pharmacol.* 2016;84:1–7.
19. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2017;38(32):2459–72.
20. Breiding MJ. Surprises From Genetic Analyses of Lipid Risk Factors for Atherosclerosis: HHS Public Access. *Physiol Behav.* 2014;63(8):1–18.
21. Bracamonte-baran W, Daniela Č. The Immunology of Cardiovascular Homeostasis and Pathology; Chapter 4: Endothelial Cells. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2017;1003:187–221. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-57613-8>
22. Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: The role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res.* 2004;45(6):993–1007.

23. Dower JI, Geleijnse JM, Gijbbers L, Schalkwijk C, Kromhout D, Hollman PC. Supplementation of the pure flavonoids epicatechin and quercetin affects some biomarkers of endothelial dysfunction and inflammation in (pre)hypertensive adults: A randomized double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *J Nutr.* 2015;145(7):1459–63.
24. Breiding MJ. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis: Martin HHS Public Access. *Physiol Behav.* 2014;63(8):1–18.
25. Ruiz JL, Weinbaum S, Aikawa E, Hutcheson JD. Zooming in on the genesis of atherosclerotic plaque microcalcifications. *J Physiol.* 2016;594(11):2915–27.
26. Hooper L, Kroon PA, Rimm EB, Cohn JS, Harvey I, Le Cornu KA, et al. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(1):38–50.
27. Kent K, Charlton K, O’Sullivan T, Oddy WH. Estimated intake and major food sources of flavonoids among Australian adolescents. *Eur J Nutr [Internet].* 2020;59(8):3841–56. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02218-z>
28. Tresserra-Rimbau A, Rimm EB, Medina-Remón A, Martínez-González MA, de la Torre R, Corella D, et al. Inverse association between habitual polyphenol intake and incidence of cardiovascular events in the PREDIMED study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis [Internet].* 2014;24(6):639–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2013.12.014>
29. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci.* 2016;5.
30. Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, Tuomainen TP, Kurl S, Salonen JT. Flavonoid intake and the risk of ischaemic stroke and CVD mortality in middle-aged Finnish men: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Br J Nutr.* 2008;100(4):890–5.
31. Minetto CN. Flavonóides na doença cardiovascular. *Rev Aliment Humana.* 2009;15(3):61–5.
32. Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem.* 2019;299(July).
33. Zdeňka Ďuračková. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res [Internet].* 2010;8408:459–69. Available from: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/59/59_459.pdf

34. Zaidun NH, Thent ZC, Latiff AA. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sci.* 2018;208(July):111–22.
35. Schewe T, Steffen Y, Sies H. How do dietary flavanols improve vascular function? A position paper. *Arch Biochem Biophys.* 2008;476(2):102–6.
36. Hernández-Aquino E, Muriel P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms. *World J Gastroenterol.* 2018;24(16):1679–707.
37. Mahmoud AM, Ashour MB, Abdel-Moneim A, Ahmed OM. Hesperidin and naringin attenuate hyperglycemia-mediated oxidative stress and proinflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2012;26(6):483–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.06.001>
38. Kim JM, Lee EK, Kim DH, Yu BP, Chung HY. Kaempferol modulates pro-inflammatory NF- κ B activation by suppressing advanced glycation endproducts-induced NADPH oxidase. *Age (Omaha).* 2010;32(2):197–208.
39. Gimbrone MA, García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016;118(4):620–36.
40. Rees A, Dodd GF, Spencer JPE. The effects of flavonoids on cardiovascular health: A review of human intervention trials and implications for cerebrovascular function. *Nutrients.* 2018;10(12).
41. Yoon HY, Lee EG, Lee H, Cho IJ, Choi YJ, Sung MS, et al. Kaempferol inhibits IL-1 β -induced proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and the production of COX-2, PGE₂ and MMPs. *Int J Mol Med.* 2013;32(4):971–7.
42. Phie J, Krishna SM, Moxon J V., Omer SM, Kinobe R, Golledge J. Flavonols reduce aortic atherosclerosis lesion area in apolipoprotein E deficient mice: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12(7):1–13.
43. Devi KP, Malar DS, Nabavi SF, Sureda A, Xiao J, Nabavi SM, et al. Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacol Res* [Internet]. 2015;99:1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2015.05.002>
44. Lee CH, Jeong TS, Choi YK, Hyun BH, Oh GT, Kim EH, et al. Anti-atherogenic effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, associated with hepatic ACAT and aortic VCAM-1 and MCP-1 in high cholesterol-fed rabbits. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;284(3):681–8.

45. Fuior EV, Deleanu M, Ana Constantinescu C, Rebleanu D, Voicu G, Simionescu M, et al. Functional role of VCAM-1 targeted flavonoid-loaded lipid nanoemulsions in reducing endothelium inflammation. *Pharmaceutics*. 2019;11(8).
46. Kokkou E, Siasos G, Georgiopoulos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Vavuranakis M, et al. The impact of dietary flavonoid supplementation on smoking-induced inflammatory process and fibrinolytic impairment. *Atherosclerosis*. 2016;251:266–72.
47. Enseleit F, Sudano I, Périat D, Winnik S, Wolfrum M, Flammer AJ, et al. Effects of Pycnogenol on endothelial function in patients with stable coronary artery disease: A double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over study. *Eur Heart J*. 2012;33(13):1589–97.
48. Chen GL, Fan MX, Wu JL, Li N, Guo MQ. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule. *Food Chem*. 2019;277:706–12.
49. Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, Di Benedetto R, Filesi C, Masella R. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita*. 2007;43(4):394–405.
50. Crouvezier S, Powell B, Keir D, Yaqoob P. The effects of phenolic components of tea on the production of pro- and anti-inflammatory cytokines by human leukocytes in vitro. *Cytokine*. 2001;13(5):280–6.
51. Mackenzie GG, Carrasquedo F, Delfino JM, Keen CL, Fraga CG, Oteiza PI. Epicatechin, catechin, and dimeric procyanidins inhibit PMA-induced NF-kappaB activation at multiple steps in Jurkat T cells. *FASEB J*. 2004;18(1):167–9.
52. Dallas C, Gerbi A, Tenca G, Juchaux F, Bernard FX. Lipolytic effect of a polyphenolic citrus dry extract of red orange, grapefruit, orange (SINETROL) in human body fat adipocytes. Mechanism of action by inhibition of cAMP-phosphodiesterase (PDE). *Phytomedicine*. 2008;15(10):783–92.
53. Yi L, Jin X, Chen CY, Fu YJ, Zhang T, Chang H, et al. Chemical structures of 4-oxo-flavonoids in relation to inhibition of oxidized low-density lipoprotein (LDL)-induced vascular endothelial dysfunction. *Int J Mol Sci*. 2011;12(9):5471–89.
54. Bladé C, Arola L, Salvadó MJ. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. *Mol Nutr Food Res*. 2010;54(1):37–59.

55. Koo SI, Noh SK. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *J Nutr Biochem.* 2007;18(3):179–83.
56. OLIVEIRA TT de, GOMES SM, NAGEM TJ, COSTA NMB, SECOM PR. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. *Rev Nutr.* 2002;15(1):45–51.
57. Millar CL, Duclos Q, Blesso CN. Effects of dietary flavonoids on reverse cholesterol transport, HDL metabolism, and HDL function. *Adv Nutr.* 2017;8(2):226–39.
58. Capomolla AS, Janda E, Parafati M, Paone S, Sawicki T, Mollace R, et al. Metabolic Syndrome Patients Treated with A Novel Pectin-Enriched Formulation of Bergamot Polyphenols. *Nutrients.* 2019;11(6):1–13.
59. De A. APOLIPOPROTEÍNAS B E A-I: FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR? 2007;51(5):261–4.
60. Borradaile NM, De Dreu LE, Barrett PHR, Huff MW. Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin: Enhanced rapid intracellular degradation independent of reduced microsomal cholesteryl esters. *J Lipid Res.* 2002;43(9):1544–54.
61. Borradaile NM, Dreu LEDE, Wilcox LJ, Edwards JY, Huff MW. Soya phytoestrogens, genistein and daidzein, decrease apolipoprotein B secretion from HepG2 cells through multiple mechanisms. 2002;539:531–9.
62. Mulvihill EE, Huff MW. Protection from metabolic dysregulation, obesity, and atherosclerosis by citrus flavonoids: Activation of hepatic PGC1 α -mediated fatty acid oxidation. *PPAR Res.* 2012;2012.
63. Van Bilsen M, Van Nieuwenhoven FA. PPARs as therapeutic targets in cardiovascular disease. *Expert Opin Ther Targets.* 2010;14(10):1029–45.
64. Vazhappilly CG, Ansari SA, Al-Jaleeli R, Al-Azawi AM, Ramadan WS, Menon V, et al. Role of flavonoids in thrombotic, cardiovascular, and inflammatory diseases. *Inflammopharmacology* [Internet]. 2019;27(5):863–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00612-6>
65. Freedman JE. Oxidative stress and platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(3).

66. Serebruany VL, Gurbel PA. Effect of thrombolytic therapy on platelet expression and plasma concentration of PECAM-1 (CD31) in patients with acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(1):153–8.
67. Hasan R, Siregar GA, Lindarto D. The effect of bay leaf extract (*Syzygium polyanthum*) on vascular endothelial growth factor (VEGF) and CD31 (PECAM-1) expression in acute coronary syndrome. *Med Glas.* 2020;17(2):434–40.
68. De Lange DW, Verhoef S, Gorter G, Kraaijenhagen RJ, Van De Wiel A, Akkerman JWN. Polyphenolic grape extract inhibits platelet activation through PECAM-1: An explanation for the French paradox. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(8):1308–14.
69. Clement M, Fornasa G, Guedj K, Mkaddem S Ben, Gaston AT, Khallou-Laschet J, et al. CD31 is a key coinhibitory receptor in the development of immunogenic dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(12).
70. Ling SK, Pizar MM, Man S. Platelet-activating factor (PAF) receptor binding antagonist activity of the methanol extracts and isolated flavonoids from *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson. *Biol Pharm Bull.* 2007;30(6):1150–2.
71. Balestrieri ML, Castaldo D, Balestrieri C, Quagliuolo L, Giovane A, Servillo L. Modulation by flavonoids of PAF and related phospholipids in endothelial cells during oxidative stress. *J Lipid Res.* 2003;44(2):380–7.
72. Jang MH, Piao XL, Kim JM, Kwon SW, Park JH. Inhibition of cholinesterase and amyloid- β aggregation by resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. *Phyther Res* [Internet]. 2008;22(4):544–549. Available from: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/117934759/abstract>
73. Sugatani J, Fukazawa N, Ujihara K, Yoshinari K, Abe I, Noguchi H, et al. Tea polyphenols inhibit acetyl-CoA:1-alkyl-sn-glycero-3-phosphocholine acetyltransferase (a key enzyme in platelet-activating factor biosynthesis) and platelet-activating factor-induced platelet aggregation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004;134(1):17–28.
74. Cirillo P, Conte S, Cimmino G, Pellegrino G, Ziviello F, Barra G, et al. Nobiletin inhibits oxidized-LDL mediated expression of Tissue Factor in human endothelial cells through inhibition of NF- κ B. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2017;128:26–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.016>

75. Guglielmone HA, Nuñez-Montoya SC, Agnese AM, Pellizas CG, Cabrera JL, Donadio AC. Quercetin 3,7,3',4'-tetrasulphated isolated from *Flaveria bidentis* inhibits tissue factor expression in human monocyte. *Phytomedicine*. 2012;19(12):1068–71.
76. Ryu R, Jung UJ, Seo YR, Kim HJ, Moon BS, Bae JS, et al. Beneficial effect of persimmon leaves and bioactive compounds on thrombosis. *Food Sci Biotechnol*. 2015;24(1):233–40.
77. Zhang YX, Yang TT, Xia L, Zhang WF, Wang JF, Wu YP. Inhibitory Effect of Propolis on Platelet Aggregation in Vitro. *J Healthc Eng*. 2017;2017.
78. Karličková J, Říha M, Filipský T, Macáková K, Hrdina R, Mladěnka P. Antiplatelet Effects of Flavonoids Mediated by Inhibition of Arachidonic Acid Based Pathway. *Planta Med*. 2015;82(1–2):76–83.
79. Lopes HF. Hipertensão, obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. *Rev Bras Hipertens* [Internet]. 2005;12(3):154–8. Available from: [http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/vol 12 \(3\) 2005.pdf#page=14](http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/vol%2012%20(3)%202005.pdf#page=14)
80. 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(3):611–4.
81. Curtis PJ, Potter J, Kroon PA, Wilson P, Dhatariya K, Sampson M, et al. Vascular function and atherosclerosis progression after 1 y of flavonoid intake in statin-treated postmenopausal women with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2013;97(5):936–42.
82. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: A meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2010;26(6):631–40.
83. Bellamkonda K, Williams M, Handa A, Lee R. Flow mediated dilatation as a biomarker in vascular surgery research. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(8):779–87.
84. Engler MB, Engler MM, Browne A, Chiu EY, Mietus-Snyder ML, Paul SM, et al. Flavonoid-Rich Dark Chocolate Improves Endothelial Function and Increases Plasma Epicatechin Concentrations in Healthy Adults. *J Am Coll Nutr*. 2004;23(3):197–204.

85. Sansone R, Rodriguez-Mateos A, Heuel J, Falk D, Schuler D, Wagstaff R, et al. Cocoa flavanol intake improves endothelial function and Framingham Risk Score in healthy men and women: A randomised, controlled, double-masked trial: the Flaviola Health Study. *Br J Nutr.* 2015;114(8):1246–55.
86. Maaliki D, Shaito AA, Pintus G, El-Yazbi A, Eid AH. Flavonoids in hypertension: a brief review of the underlying mechanisms. *Curr Opin Pharmacol [Internet].* 2019;45:57–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.04.014>
87. Aoi W, Niisato N, Miyazaki H, Marunaka Y. Flavonoid-induced reduction of ENaC expression in the kidney of Dahl salt-sensitive hypertensive rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;315(4):892–6.
88. Häckl LPN, Cuttle G, Sanches Dovichi S, Lima-Landman MT, Nicolau M. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by quercetin alters the vascular response to bradykinin and angiotensin I. *Pharmacology.* 2002;65(4):182–6.
89. Mackraj I, Govender T, Ramesar S. The antihypertensive effects of quercetin in a salt-sensitive model of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008;51(3):239–45.
90. Ramzy D, Rao V, Tumiati LC, Xu N, Sheshgiri R, Miriuka S, et al. Elevated endothelin-1 levels impair nitric oxide homeostasis through a PKC-dependent pathway. *Circulation.* 2006;114(SUPPL. 1):319–27.
91. Loke WM, Hodgson JM, Proudfoot JM, McKinley AJ, Puddey IB, Croft KD. Pure dietary flavonoids quercetin and (-)-epicatechin augment nitric oxide products and reduce endothelin-1 acutely in healthy men. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(4):1018–25.
92. Munguia L, Rubio-Gayosso I, Ramirez-Sanchez I, Ortiz A, Hidalgo I, Gonzalez C, et al. High flavonoid cocoa supplement ameliorates plasma oxidative stress and inflammation levels while improving mobility and quality of life in older subjects: A double-blind randomized clinical trial. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2019;74(10):1620–7.

