



## Mecanismos biológicos: estudios clínicos y bioquímicos

*Continuación del artículo anterior: Los componentes del vino y sus efectos beneficiosos para la salud humana*

### CHILE

Se han propuesto básicamente tres mecanismos para explicar la menor enfermedad cardiovascular de los consumidores regulares y moderados de vino. Dos de ellos se deben principalmente al alcohol: uno mediado por la acción del alcohol sobre los niveles de lipoproteínas presentes en la sangre y el otro mediado por su influencia sobre la coagulación sanguínea. El tercer mecanismo estaría mediado por la capacidad de los componentes antioxidantes del vino de proteger de la oxidación las partículas de lipoproteínas de baja densidad de acuerdo con la hipótesis oxidativa de aterogénesis. Es decir este mecanismo se explica por los componentes polifenólicos del vino tinto.

### Efecto del Alcohol

Entre los efectos bioquímicos y celulares del alcohol, varios han sido propuestos para justificar el papel antiaterogénico de las bebidas alcohólicas. Entre ellos están, el papel del alcohol como elevador de los niveles de colesterol HDL en el plasma, la disminución de los niveles de colesterol LDL y la disminución de la coagulación de la sangre por un mecanismo antitrombótico (Seigneur, 1990; Renaud, 1992, Gaziano, 1999).

A nivel de coagulación, el consumo de alcohol y vino es antiaterogénico. Renaud y de Lorgeril al proponer la paradoja francesa, presentan resultados que sugieren que cambios hemostáticos pueden explicar buena parte del fenómeno (Renaud, 1992). Esencialmente, se observa que el alcohol disminuye la reactividad plaquetaria. Una interesante extensión de la relación entre consumo de alcohol y alteraciones de la coagulación es la respuesta paradójica que se produce en bebedores exagerados al cesar bruscamente el consumo.

En estos casos hay una elevación de la mortalidad que se atribuye a un rebote de activación de plaquetas; este fenómeno no se observa en quienes han consumido vino, y Ruf y colaboradores sugieren que los taninos del vino (procianidinas) son capaces de controlar el rebote de actividad plaquetaria al cesar el consumo de alcohol (Ruf, 1995). El efecto de bebidas alcohólicas sobre las plaquetas no parece deberse sólo al alcohol, ya que el vino es más eficiente que el alcohol puro, un efecto que inicialmente se atribuyó a los taninos (Seigneur, 1990; Demrow, 1995).

La coagulación sanguínea depende también de los llamados factores fibrinolíticos. Estos factores son modificados por la actividad del endotelio vascular. Se ha demostrado que vino, cerveza y alcoholes destilados por igual, a niveles de alcoholemia inferiores a 0.5 g/l, activan el sistema fibrinolítico disminuyendo la tendencia a coagular (Hendriks, 1994). Se encontró también una asociación entre consumo moderado de alcohol y concentración plasmática del activador de plasminógeno endógeno de tipo tisular (Ridker, 1994).

### Efecto de los compuestos polifenólicos del vino.

Los polifenoles son un gran grupo de compuestos presentes en la naturaleza que poseen anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos. Estos compuestos son en su mayoría potentes antioxidantes necesarios para el funcionamiento de las células vegetales; que se encuentran en frutas y verduras, por ejemplo, manzanas y cebollas, y en bebidas como té y vino (Kinsella, 1993).

La Hipótesis Oxidativa de Aterogénesis (Steinberg, 1989) permite explicar numerosas observaciones sobre factores de riesgo y sobre relaciones entre nutrición y arterioesclerosis. Propone esencialmente que el proceso de aterogénesis se desencadena cuando en la pared arterial, en el subendotelio, macrófagos captan descontroladamente lipoproteínas de baja densidad (LDL), ricas en colesterol, transformándose en células espumosas que se acumulan. En el espacio subendotelial los macrófagos captan LDL, pero, en lo que es central a esta hipótesis, sólo captan LDL previamente oxidadas. Las captan porque estas células tienen receptores específicos, llamados receptores de aseo o receptores multiligandos (Krieger, 1994). Se desarrolla así, la placa o ateroma, elemento central en la lesión vascular arterioesclerótica.

En cada partícula de LDL, junto a una molécula de proteína muy grande, hay aproximadamente 1700 moléculas de colesterol y 2700 de ácidos grasos de los cuales la mitad son ácidos grasos poliinsaturados. Para evitar la oxidación, cada partícula LDL protege sus casi 5000 moléculas lipídicas con sólo 6 moléculas de -tocoferol y cantidades mucho menores de carotenoides y otros antioxidantes.

Cuando los antioxidantes de las LDL se agotan, los ácidos grasos se fragmentan y oxidan produciendo daño en la proteína de la partícula. El daño de la proteína modifica sus cargas de superficie y se hace "reconocible" por los receptores de aseo de los macrófagos, y, simultáneamente, irreconocible a los receptores para LDL nativa o no oxidada presentes en general en todas las células, con excepción de los macrófagos.

Está demostrado, que el vino tiene propiedades antioxidantes y que estas se deben a sus componentes polifenólicos, el vino libre de polifenoles pierde dicha actividad (Abu-amsha, 1996). El contenido total de polifenoles de un vino correlaciona directamente con su capacidad antioxidante (Rice-Evans, 1997; Sato, 1998).

Por otro lado, está también completamente demostrado que los componentes fenólicos del vino inhiben la susceptibilidad de las LDL a la oxidación, *in vitro*. (Kinsella, 1993; Vinson, 1995; Frankel, 1995; Abu-Amsha, 1996; Caldu 1996; Hurtado 1997).

**Estudios *in vivo* de consumo agudo demuestran que la ingestión de vino tinto está asociada a un aumento de la capacidad antioxidante del plasma, (Whitehead, 1995; Maxwell, 1996; Serafini 1998).**

En estudios de intervención en humanos, de consumo moderado de vino tinto de mediano plazo, se ha demostrado una menor susceptibilidad de las LDL a la oxidación en voluntarios que habían bebido vino (Kondo, 1994; Fuhrman, 1995; Nigdikar SV, 1998).

**Es decir, el consumo regular de vino tinto aumenta la resistencia de las LDL a la oxidación, constituyendo una muy buena evidencia para explicar el efecto del vino según la hipótesis oxidativa de aterogénesis.**

### **Estudio de intervención**

A la luz de estas evidencias nosotros realizamos un estudio de intervención en humanos con la intención de evaluar los cambios bioquímicos y fisiológicos inducidos por dietas ricas o pobres en antioxidantes naturales y el efecto adicional de la suplementación con vino (Leighton, 1999). El estudio se realizó en dos grupos de 21 hombres. A un grupo se le proporcionó dieta rica en grasas. En la que el 41,4% de las calorías provenían de las grasas, el 17,9 de las proteínas y el 40,7% de los carbohidratos. Esta dieta consideró el consumo de 240 g diarios de frutas y verduras. Al otro grupo, en tanto, se le proporcionó una dieta tipo mediterránea. En ella solo un 25,5% de sus calorías provenían de las grasas, un 16,7% de las proteínas y un 57,5% de los carbohidratos. Este grupo consumió 675 g al día de frutas y verduras, grasa monoinsaturada en aceite de oliva -de hecho el 53,1% de los ácidos grasos eran monoinsaturados-, consumió menos carnes rojas y más pescado y pollo que el otro grupo.

El estudio duró 90 días. Durante treinta días los voluntarios consumieron sus dietas respectivas. Luego, entre el día 31 y 60 ambos grupos consumieron, además de su dieta, una porción diaria de 240 ml de vino tinto. En los treinta días siguientes se suprimió el vino y se mantuvieron las dietas. Los participantes permanecieron bajo estricta vigilancia médica y nutricional. A los 0, 30, 60, y 90

días, a cada individuo, se le realizó un chequeo médico y se le tomó muestras de sangre y orina. Se estudiaron aproximadamente 350 variables distintas en cada tiempo. Evaluamos, entre otros, capacidad antioxidante del plasma, polifenoles plasmáticos, daño oxidativo al DNA y función endotelial. En general los resultados obtenidos muestran que tanto el consumo de frutas y verduras, como el consumo moderado de vino es beneficioso para la salud. Y que una dieta rica en grasas induce un aumento en el estrés oxidativo.

Los valores obtenidos para la capacidad antioxidante total del plasma, medida como TAR, se muestran en la Tabla 1. En el grupo dieta tipo mediterránea, TAR aumenta a los 30 días por efecto de la dieta en un 28%, y luego de la suplementación con vino, a los 60 días, en un 56% respecto al día 0. En el grupo dieta rica en grasas, se observa un aumento solo luego de la suplementación con vino de un 23% sobre los valores basales.

Comparando ambos grupos, los valores para el grupo dieta tipo mediterránea son mayores que los del grupo dieta rica en grasas, en un 29%, 37% y 31% a los días 30, 60 y 90, respectivamente ( $p < 0.003$ ). Claramente la dieta tipo mediterránea induce un aumento en la capacidad antioxidante del plasma. Por otro lado la suplementación con vino aumenta la capacidad antioxidante del plasma tanto en el grupo dieta mediterránea como en el grupo dieta rica en grasas.

Analizamos los polifenoles plasmáticos por HPLC utilizando simultáneamente un detector electroquímico y un detector de arreglo de diodo, y estándares conocidos. En la Figura 1 se muestra la suma de algunos polifenoles identificados o detectados en plasma, para ambos grupos a distintos intervalos de tiempo. El grupo de polifenoles considerados son rutina, quercetina, ácido protocatecuico y pico 4 (aun no identificado) expresados como  $\mu\text{mol}$  equivalentes de rutina. Estos no son los únicos que presentan cambios, pero son los que hemos analizado por el momento.

El contenido de polifenoles plasmáticos es mayor en el grupo dieta mediterránea a los 30 y 90 días ( $p < 0.05$ ), mientras que a los 60 días, es decir luego de la suplementación con vino, se observa un aumento en ambos grupos alcanzando valores similares.

Los resultados muestran que la dieta tipo mediterránea aumenta el contenido de polifenoles en el plasma. Por otro lado la suplementación con vino aumenta el contenido de polifenoles plasmáticos en ambos grupos

El daño oxidativo al DNA se evaluó midiendo el contenido de 8-hidroxideoxiguanosina en DNA de leucocitos de sangre periférica. El nivel de 8-OHdG en ambos grupos a distintos tiempos se muestra en la Figura 2.

Los resultados indican que una dieta rica en grasas induce daño oxidativo al DNA mientras que la dieta tipo mediterránea protege al DNA. Los niveles de 8-OHdG detectados en el grupo dieta mediterránea son menores que en el grupo dieta rica en grasas a los 30 días ( $p < 0,05$ ). Por otro lado durante el período de suplementación con vino, los valores obtenidos a los 60 días en ambos grupos son estadísticamente iguales. Es decir con ambas dietas, el consumo de vino lleva a niveles de daño oxidativo al DNA muy bajos. En una dieta rica en grasas el consumo moderado de vino previene el daño oxidativo al DNA inducido por la dieta. En una dieta de tipo mediterránea el consumo moderado de vino confiere una protección adicional.

La función endotelial se midió como la vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial. Los resultados se expresaron como el porcentaje del cambio en el diámetro de la arteria braquial al minuto, luego de una oclusión arterial de cinco minutos en el antebrazo, en relación a medidas basales, **Tabla 2**.

La reactividad vascular mediada por el flujo es distinta entre los grupos durante el período sin vino. Después de la suplementación con vino las diferencias desaparecen. El grupo dieta rica en grasas muestra una completa pérdida de la reactividad vascular durante el período sin vino. La suplementación con vino revierte esta disfunción, recuperándose y alcanzando valores similares a los del grupo dieta tipo mediterránea. Aun cuando el grupo dieta tipo mediterránea presenta una reactividad vascular relativamente buena, la suplementación con vino mejora aun mas la función endotelial.

**Continuará la próxima semana**

**FUENTE:** *VII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología*  
*Mendoza - Argentina - 28 de Noviembre al 3 de Diciembre de 1999*  
*Facultad de Ciencias Biológicas*  
*Pontificia Universidad Católica de Chile*  
*Casilla 114-D, Santiago, Chile.*  
<http://www.bio.puc.cl/vinsalud/publica/componentes.doc>

