

Efecto de los polifenoles del vino tinto sobre el estado antioxidante y el estrés oxidativo en hipertensos

Effect of the polyphenols of red wine on the antioxidant status and oxidative stress on hypertensive patients

Alicia Fernández-Giusti¹, Ana María Muñoz-Jáuregui², Manuel Francisco Solís-Ustría³, Enma Norma Cambillo-Moyano⁴, Fernando Ramos-Escudero², Carlos Alvarado-Ortiz-Ureta⁵

RESUMEN

OBJETIVO. Determinar el efecto de los polifenoles del vino tinto (variedad tannat) sobre el estado antioxidante y el estrés oxidativo en hipertensos.

MATERIAL Y MÉTODOS. Estudio prospectivo, aleatorizado en 20 varones hipertensos, estadio I, entre 30 y 71 años, divididos aleatoriamente en 2 grupos; el primer grupo (n=10) ingirió vino por un mes y el grupo control (n=10) no ingirió vino. Se realizaron pruebas bioquímicas basales y a los 30 días. Se midieron enzimas antioxidantes: glutatión peroxidasa (GP), catalasa y superóxido dismutasa (SOD), estrés oxidativo por medición del malondialdehído (MDA) sérico y el estado antioxidante total (TAS).

RESULTADOS. El vino tannat contiene 134,08 mg/L de antocianinas, polifenoles totales: 1822,02 mg/L e inhibición de DPPH (CI 50%)=51 mg/ml. En los hipertensos, el consumo moderado de vino tinto aumentó el estado antioxidante (TAS) y la actividad de las enzimas SOD y GP.

CONCLUSIÓN. En hipertensos estadio I, el vino tannat incrementó el estado antioxidante.

PALABRAS CLAVE. Polifenoles, hipertensión arterial, vino tinto, estrés oxidativo, antioxidante.

ABSTRACT

OBJECTIVES. To determine the effect of the polyphenols of red wine on the antioxidant status and oxidative stress on hypertensive patients.

MATERIAL AND METHODS. A prospective, randomized study was carried on in 20 volunteers hypertensive males, stage I, between 30-71 year-old. They were randomly divided into

two groups: the intervention group (n=10) who consumed red wine for one month, and the control group (n=10) who abstained from alcohol for one month. Blood samples were collected before and after red wine consumption and were used for analysis of whole blood glutathione (GP), catalase and superoxide dismutase (SOD), plasma malondialdehyde (MDA) and serum total antioxidant status (TAS).

RESULTS. Tannat wine content was 134,08 mg/L of antocyanines, total polyphenols 1 822,02 mg/L and antioxidant state DPPH inhibition 51 mg/ml (CI 50%). In the hypertensive group, moderate consumption of red wine patients increased the plasma total antioxidant status (TAS) and the activities of the antioxidant enzymes SOD and GP.

CONCLUSION. In hypertensive persons, stage I, red wine consumption increased the antioxidant status.

KEY WORDS. Polyphenols, cardiovascular disease, red wine, oxidative stress.

1. Médico internista. Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Hospital Dos de Mayo de Lima.
2. Bioquímico(a) del Centro de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina Humana, Universidad San Martín de Porres.
3. Médico internista. Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Hospital Dos de Mayo de Lima.
4. Magister en Estadística. Departamento. de Estadística, Facultad de Ciencias Matemáticas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
5. Médico Patólogo. Universidad San Martín de Porres.

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HA) es una afección con una prevalencia elevada en la población general que supera a 30 %.¹ El incremento de los niveles de la presión arterial va en paralelo al riesgo de los eventos cerebrovasculares y/o coronarios. La reducción de al menos 10 mmHg en la presión arterial sistólica se acompañará de hasta un 40% de reducción de los eventos cerebrovasculares.²

Estudios en animales de experimentación y en el laboratorio sugieren que los compuestos fenólicos reducen el riesgo cardiovascular, lo que modifica los diversos mecanismos responsables de la aparición y progresión de la aterosclerosis.³ Los flavonoles (quercetina y miricetina) del vino tinto son capaces de neutralizar la acción deletérea de los radicales libres.⁴ La quercetina posee también la capacidad de vasodilatación coronaria, y este efecto es mayor en los vasos pequeños (80-150 μ m de diámetro interno). La concentración de 6, 8, y 30 μ M de quercetina, produce una significativa disminución de la resistencia en 32 %, 47 % y 82 %, respectivamente.⁵ El consumo de vino tinto aumenta el estado antioxidante y disminuye el estrés oxidativo en sujetos normales, y en una población de varones hipertensos se asoció a un menor riesgo de infarto de miocardio.^{5,6}

MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño del trabajo de investigación fue prospectivo y controlado. Se realizó en dos partes. En la primera parte se midió la capacidad antioxidante, el valor total de antocianinas y compuestos fenólicos totales en el vino tinto. El vino utilizado correspondió a un vino joven, la cepa fue 100 % variedad tannat cosecha 2007 (Queirolo®), con 13 % de grado alcohólico, procedente de Cañete e Ica, Perú. El contenido de polifenoles totales del vino fue determinado por el método Folin-Ciocalteu adaptado a volúmenes pequeños. Para la determinación del contenido en antocianos totales, se siguió el método por decoloración con metabisulfito, de Ribéreau-Gayon y Stonestreet.⁷ Y, la determinación de ácidos fenólicos y flavonoles por HPLC.⁸

En la segunda parte, de intervención, se seleccionaron 20 participantes varones, con edades entre 30 a 71 años, hipertensos estadio 1 (JNC VII),^{9,10} sin antecedentes de enfermedad hepática ni diabetes mellitus, del consultorio de cardiología, quienes dieron su consentimiento informado para participar en la investigación.

Los participantes fueron asignados aleatoriamente, 10 que bebieron vino y 10 de control que no bebieron vino. El vino se administró a razón de 0,375 g alcohol por kg de peso corporal durante cuatro semanas.¹¹ La gradación del vino fue de 13° y tomaron entre 100 y 150 mL/d. Las botellas de 750 mL fueron entregadas semanalmente a los pacientes. Por testimonios de los mismos individuos y sus familiares, la ingestión del vino fue de acuerdo a lo indicado.

Se les controló la dieta y se les asignó de acuerdo al peso magro, una cantidad de vino tinto que debían tomar una vez al día durante un mes. A los participantes de ambos grupos, se les hizo mediciones basales y a los 30 días de la actividad de las enzimas antioxidantes séricas glutatión peroxidasa (GP), catalasa y superóxido dismutasa (SOD), del estrés oxidativo por medición del malondialdehído (MDA) plasmático y del estado antioxidante total (TAS).

SE controló otros factores que podrían alterar el contenido de polifenoles en la dieta, como el consumo de otras bebidas alcohólicas, uvas o productos derivados durante el curso del estudio, así como las muestras fueron recolectadas luego de 12 a 14 horas de ayuno.

Análisis en suero humano

Ensayo de peroxidadas totales

El ensayo fue desarrollado por Laloue y col.¹² La reacción enzimática fue la mezcla de 0,1 M de *buffer* fosfato, 50 mM de guayacol y 0,2 mM de peróxido de hidrógeno. El cambio de absorbancia fue monitorizado por un periodo de 5 minutos.

Ensayo de superóxido dismutasa

La actividad de la SOD se realizó por el método descrito por Marklund y Marklund y Huang y col.^{13,14} La autooxidación del pirogalol en soluciones aeróbicas se lleva a cabo por el anión superóxido. El grado de inhibición puede ser usado para evaluar la cantidad de SOD en la muestra. La reacción se inició por la adición de 50 μ L de pirogalol. Se mezcló y se transfirió inmediatamente a una cubeta, se monitoreó el cambio de absorbancia a 420 nm durante 3 minutos.

Ensayo de catalasa

Se utilizó el método original por Beers y Sizer.¹⁵ Una solución que contiene 1,9 mL de agua destilada, 1 mL de 0,059 M de peróxido de hidrógeno en 0,05 M de *buffer* fosfato, pH 7. A esta mezcla se adicionó 25 μ L de



suero. La mezcla fue incubada en el espectrofotómetro durante 5 minutos para mantener la estabilidad. Después de este tiempo se leyó los datos durante 10 minutos a 240 nm. Una unidad de catalasa fue definida la cantidad necesaria para descomponer un micromol de H_2O_2 .

TAS

La actividad antioxidante total de las muestras fue determinada por inhibición del 1,1-difenil-2-picrilhidrazil, descrito por Randhir y col.¹⁶ La disminución de las absorbancias fue monitoreado a 515 nm; la reacción consistió en 50 μ L de suero, 1500 μ L de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil a 60 μ mol/L. El tiempo de reacción fue 15 minutos.

Ensayo de TBARS-MDA

El MDA fue determinado por una modificación al método desarrollado por Tamagnone y col.¹⁷ Una alícuota de 200 μ L de suero fue mezclado con 800 μ L de *buffer* fosfato, 500 μ L de ácido tricloroacético (TCA) y 1 mL de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Los tubos fueron incubados a 100 °C por 30 minutos. La absorbancia del sobrenadante fue medido a 532 nm y la concentración de MDA fue calculado usando el coeficiente de extinción molar ($\epsilon = 156 \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) y expresado como $\mu\text{mol/g}$.

Análisis estadístico

Análisis de varianza para cada una de las actividades enzimáticas en cada uno de los grupos para ver si hubo diferencias entre el inicio y final del experimento. Se utilizaron estadísticas descriptivas de las medidas al inicio y final en los dos grupos control y experimental para todas las enzimas.

La prueba t para la comparación de las medidas basales, con un nivel de significancia $p < 0,05$. Se utilizó el programa SPSS.

Tabla 1. Contenido de antocianinas y polifenoles del vino tannat.

Contenido	Promedio	DE
• Emergencia	396	$\pm 93,4$
• Antocianinas (mg/L)	134,08	$\pm 1,00$
• Flavanoles (mg GAE/L)*	199,20	$\pm 6,02$
• Polifenoles totales (mg GAE/L)*	1822,02	$\pm 41,30$
• FRAP (mmoltrolox/L)	4,50	$\pm 0,02$

*GAE: ácido gálico equivalente.

Tabla 2. Tasa de cambio de las enzimas catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa (SOD), total actividad antioxidante (TAA) y ácido tiobarbitúrico-malondialdehído (TBARS-MDA) en suero humano.

Tasa de cambio	Grupo		Estadística F
	Control	Experimental	
• Catalasa	34,7 \pm 17,6	68,3 \pm 14,4	0,155
• Total peroxidasa	7,1 \pm 3,5	63,5 \pm 7,3	0,000
• Superóxido dismutasa	37,7 \pm 8,4	83,7 \pm 14,6	0,017
• TAA	1,1 \pm 5,8	29,6 \pm 7,8	0,009
• MDA-TBARS	-59,8 \pm 10,2	-61,2 \pm 5,3	0,900

RESULTADOS

Cada 100 cm^3 de vino tinto en el presente trabajo contenía 182,2 mg de polifenoles totales y 13,4 mg de antocianinas (Tabla 1). El vino tannat presentó una capacidad de inhibición de radicales libres de DPPH (IC 50%) igual a 51 mg/mL.

En las actividades de las enzimas antioxidantes SOD, GP y la actividad antioxidante total (TAS) existieron diferencias significativas entre los que consumieron vino y el grupo control (Tabla 2).

En el análisis de varianza se puede concluir que existe diferencia estadística significativa (5% nivel de significancia) cuando se compara el grupo control y el intervenido en los cambios producidos en las enzimas peroxidasa y SOD, excepto en la enzima catalasa y el TBARS. (Figuras 1 y 2). En las medias se observa que las tasas de cambio de los dos grupos fueron cercanas.

Figura 1. Tasa de cambio de la actividad de peroxidasa en suero humano entre el grupo control y el que ingirió vino.

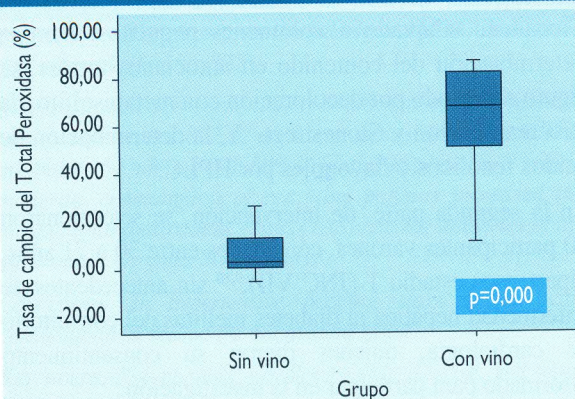
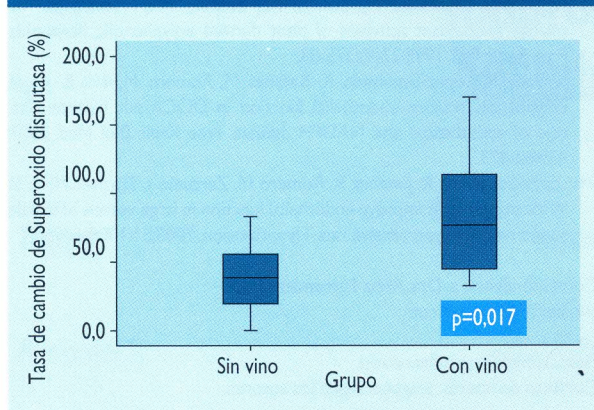


Figura 2. Tasa de cambio de la actividad de SOD en suero humano entre el grupo control y el que ingirió vino.



En las medias se observa que la tasa de cambio en todas las enzimas del grupo intervenido fue mayor que las tasa de cambio en el grupo control, evaluados a los 30 días, lo que sugiere que el consumo de vino tinto puede producir un efecto protector prolongado, opuesto a otros investigadores que afirman que el único pico de polifenoles plasmáticos se presenta tres horas luego del consumo.²²

En animales de experimentación, se ha descrito que luego de cinco semanas de consumo de polifenoles del vino tinto se produce un efecto antihipertensivo y la mejora de la función endotelial.^{23,24}

En conclusión, la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GP) y la actividad antioxidante total (TAS) fue mayor y estadísticamente significativa en los consumieron vino que en los del grupo control.

AGRADECIMIENTO

Al ingeniero Jorge Queirolo, por su apoyo en la investigación, y a la técnica de laboratorio señora Dina Huerta Bedón.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sociedad Peruana de Cardiología. Estudio TORNASOL. *Rev Per Cardiol*. 2006;32(2).
2. Medina PF Estudio HYVET. *Rev Per Cardiol*. 2008;XXXIV(1).
3. Coimbra SR, Lage SH, Brandizzi L. The action of red wine and purple grape juice on vascular reactivity is independent of plasma lipids in hypercholesterolemic patients. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38(9):1339-47.
4. Tojo R, Trabazo L. Alimentos funcionales o nutraceuticos. *Rev Esp Pediatr*. 2001;57(1):3-12.
5. Beulens J, Rimm E, Ascherio A, Spiegelman D. Alcohol consumption and risk for coronary heart disease among men with hypertension. *Ann Intern Med*. 2007;146(1).
6. Micallef M, Lexis L, Lewandowski P. Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans. *Nutr J*. 2007;6:27.
7. Ribéreau-Gayon J, Stonestreet J. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull Soc Chim France*. 1965;9:2649-2652.
8. Muñoz JAM, Fernández GA, Ramos-Escudero F, Alvarado-Ortiz UC. Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Rev Soc Quím Perú*. 2007;73(1):30.
9. Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNCVII). *JAMA* 2003; 289: 2560-2572.
10. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology. Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*. 2003;21:1011-53.
11. Sarandol E, Serdar Z. Effects of red wine consumption on serum paraoxonase/arylesterase activities and on lipoprotein oxidability in healthy men. *J Nutr Biochem*. 2003;4:507-12.
12. Laloue H, Weber-Lotfi F, Lucau-Danila A, Guillemaut P. Identification of ascorbate and guaiacol peroxidases in needle chloroplasts of spruce trees. *Plant Physiol Biochem*. 1997;35(5):341-346.

DISCUSIÓN

Muchos estudios han sido publicados sobre el consumo de alcohol que puede estar asociada con una reducción de la mortalidad debida a enfermedades del corazón en algunas poblaciones. Algunos investigadores han sugerido que el beneficio puede ser debido a los vinos, especialmente el vino tinto. Otros están estudiando los posibles beneficios de los componentes en el vino tinto, como ácidos fenólicos y flavonoides en la reducción de riesgo de enfermedades del corazón y cáncer.¹⁸

Sin duda, la capacidad antioxidante del vino está directamente relacionada con su contenido en polifenoles. El tipo de polifenoles determina en último término su capacidad antioxidante y su concentración cambia según variedad, área de producción, técnicas agrarias, proceso de vinificación, vendimia, año, edad, entre otros.

Los vinos tintos contienen una serie de polifenoles solubles en agua, que incluyen ácidos fenólicos, resveratrol, flavonoles, flavanoles, procianidinas y antocianinas; y, el vino tinto muestra mayor capacidad antioxidante que el vino blanco debido a su contenido fenólicos.¹⁹

Se señala que un vaso de vino aporta unos 100 mg de polifenoles aproximadamente y que aquellos vinos que se han criado en madera contienen una concentración mayor de fenoles.²⁰ En el presente estudio, según lo hallado, la cepa tannat tendría un mayor contenido de polifenoles comparado con la variedad malbec, cuyo contenido de polifenoles es de 128,15 mg pero con mayor contenido de antocianinas de 22,69 mg.²¹



13. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in autoxidation of pirogallol as a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 1987;47(3):469-474.
14. Huang GJ, Chang HY, Chen HJ, Lu TL, Chang YS, Sheu MJ, Lin YH. Effects of trypsin inhibitor on plasma antioxidant activity and lipid levels in mice from sweet potato roots. *J Sci Food Agricult.* 2008;88(14):2556-2562.
15. Beers RF, Sizer IV. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem.* 1952;195:133-140.
16. Randhir R, Vatter D, Shetty K. Antioxidant enzyme response studies in H₂O₂-stressed porcine muscle tissue following treatment with oregano phenolic extracts. *Process Biochem.* 2005;40(6):2123-2134.
17. Tamagnone L, Merida A, Stacey N, Plaskitt K, Parr A, Chang CF, Lynn D, Dow JM, Roberts K, Martin C. Inhibition of phenolic acid metabolism results in precocious cell death and altered cell morphology in leaves of transgenic tobacco plants. *Plant Cell.* 1998;10(11):1801-1816.
18. Meral R. Antioxidant effects of wine polyphenols. *Trakia J Sci.* 2008; 6(1): 57-62.
19. Waterhouse AL, Teissedre PL. Levels of phenolics in California varietal wine. In: Watkins T (Ed). *Wine: nutritional and therapeutic benefits.* Washington D.C.:American Chemical Society; 1997. pp. 12-23.
20. Lamuela RM, Andrés-Lacueva C, Estruch R. *Vino y salud.* Barcelona: Universidad de Barcelona; 2006.
21. Fernández G, Muñoz J, Cambillo M, Ramos E, Alvarado O. Efecto del consumo moderado de vino tinto sobre algunos marcadores de riesgo cardiovascular. *Acta Méd Peru.* 2007;24(3).
22. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* 1995;22(4):375-83.
23. Jiménez R, López-Sepúlveda R, Kadmiri M, Romero M, Vera R, y col. Polyphenols restore endothelial function in DOCA-salt hypertension: role of endothelin-1 and NADPH oxidase. *Free Radic Biol Med.* 2007; 43:462-473.
24. López-Sepúlveda R, Jiménez R, Romero M, Zarzuelo J, Sánchez M, et al. Wine polyphenols improve endothelial function in large vessels of female spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 2008;51:1088-1095.

Correspondencia a: Dra. Alicia Fernández Giusti
aliciafer76@hotmail.com

Financiamiento: autofinanciado.
Conflicto de interés: ninguno, según los autores.

Fecha de recepción: 28-01-2014.
Fecha de aprobación: 09-05-2014.