

Universidad “Juan Agustín Maza”. Guaymallén. Mendoza. República Argentina

SOBRE EL EFECTO HIPOURICEMIANTE DE LAS PROANTOCIANIDINAS OLIGOMÉRICAS EN RATAS

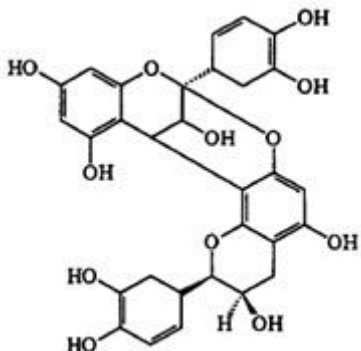
Marcos Gai^{1¶}, Manuel Alejandro Guevara^{2§}.

Las proantocianidinas oligoméricas (OPC) se han convertido en objeto de estudio en los últimos años en virtud de los (supuestos) efectos benéficos para la salud debido a las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que a las mismas se les conceden. Las proantocianidinas oligoméricas (OPC) fueron descubiertas en 1947 por el investigador francés Jacques Masquelier, quien desarrolló y patentó varias técnicas para la extracción de las OPC de la corteza del pino y las semillas de la uva (*Vitis vinifera*).

Las OPC (categoría química donde se incluyen también polímeros menos bioactivos y biodisponibles) representan varios flavan-3-oles condensados como las procianidinas, las prodelfinidinas y las propelargonidinas, y se pueden encontrar en numerosas fuentes vegetales, como las frutas (en especial las manzanas), la corteza del pino marítimo, la canela, los granos de cacao, la semilla de la uva (*Vitis vinifera*), la cáscara de la uva (rica en procianidinas y prodelfinidinas), y los vinos tintos obtenidos de la fermentación de la uva.¹ El contenido total de OPC (incluidos los flavan-3-oles como las catequinas) es sustancialmente mayor en los vinos tintos.¹

Muchos autores han evidenciado que las OPC pueden reducir el tamaño de los edemas causados por dificultades en el retorno venoso (lo que hablaría de un efecto diurético a la vez que tonificante del retorno venoso);² favorecer la cicatrización de las lesiones posquirúrgicas,³ y paliar la enfermedad periodontal. Las OPC también se han comercializado como nutracéuticos por la industria alimentaria como parte de la composición nutrimental de jugos, golosinas, mermeladas, y dulces, entre otros productos; debido a su reconocido poder antioxidante. Asimismo, las OPC se han empleado en la industria cosmética en la preparación de

Figura 1. Estructura química de las proantocianidinas oligoméricas. Se aprecia la naturaleza polifenólica de estos compuestos.



¹ Profesor. ² Profesor e Investigador.

¶ Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad “Juan Agustín Maza”. § Laboratorio de Neurociencias y Psicología Experimental. Área de Farmacología. Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Cuyo.

Recibido: 7 de Julio del 2019. Aceptado: 10 de Agosto del 2019.

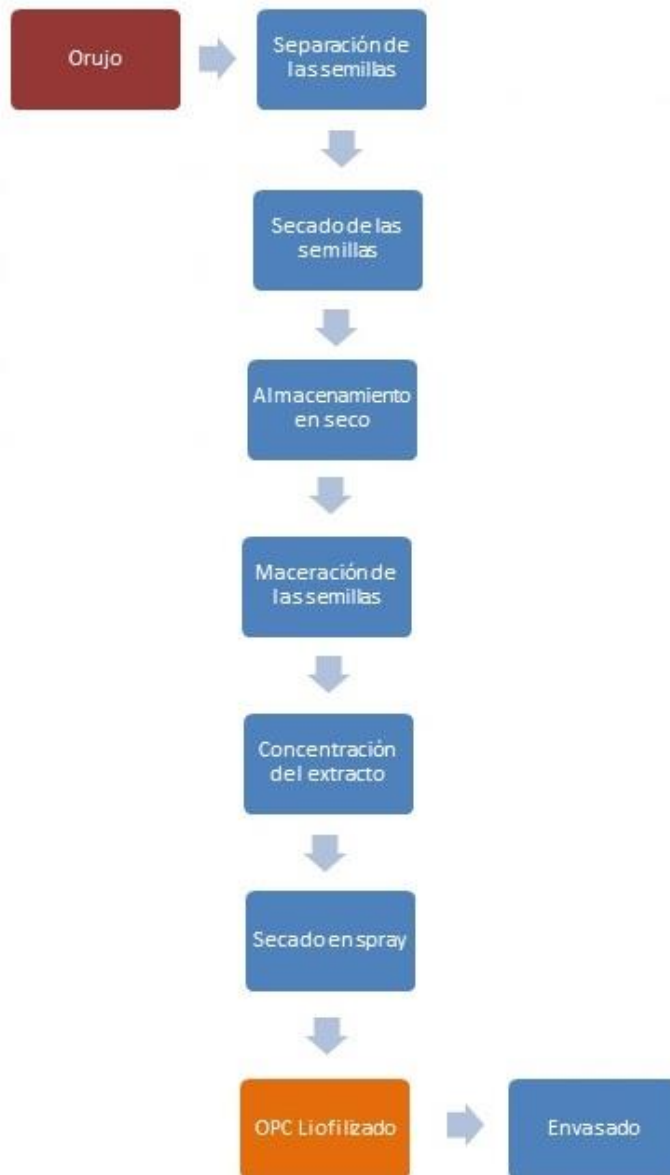
Marcos Gai. Universidad “Juan Agustín Maza”. Avenida Acceso Este y Lateral Sur 2245. Guaymallén. Mendoza. República Argentina.

Correo electrónico: mgiai@umaza.edu.ar.

artículos anti-envejecimiento y anti-arrugas para prevenir el deterioro de la piel. Se han reportado estudios del uso de las OPC en la prevención de las enfermedades cardíacas y la neuropatía periférica diabética.⁴⁻⁸

Fue del interés de los autores de la presente comunicación determinar el efecto de las OPC extraídas del orujo de la uva (*Vitis vinifera*) sobre indicadores metabólicos sanguíneos electos en ratas de

Figura 2. Proceso de elaboración de los extractos de las proantocianidinas oligoméricas. Para más detalles: Consulte el texto del presente ensayo.



Fuente: Empresa STAM S.A. (San Martín, Provincia de Mendoza, República Argentina).

experimentación. La industria vitivinícola es una fuente importante de OPC en la provincia argentina de Mendoza.

Las OPC se obtienen del orujo de la uva que se genera en las bodegas como un residuo orgánico de la elaboración de vinos y mostos. La Figura 2 describe el proceso de obtención de las OPC a partir del orujo de la uva. Las semillas desecadas son maceradas en agua caliente, y las OPC presentes se adsorben selectivamente sobre columnas cromatográficas que contienen resinas específicas, para ser eluidas posteriormente con alcohol etílico. Los eluatos se concentran y se liofilizan mediante un equipo *spray* para la conservación a temperatura de refrigeración hasta el momento del consumo. El liofilizado resultante contiene 500 gramos del producto, y ofrece una concentración de OPC del 85.0%.

En el ensayo experimental de las propiedades metabólicas de las OPC obtenidas según la metodología expuesta en la Figura 2 se utilizaron 20 ratas *Holtzman* machos de 90 días de vida y con un peso entre 280 – 310 gramos. Los animales fueron suministrados por el Bioterio del Laboratorio de Neurociencias y Psicología Experimental (adscrito al CONICET) de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo (Provincia Mendoza, República Argentina); y criados y mantenidos en jaulas individuales siguiendo las recomendaciones internacionales avanzadas para ello.⁹⁻¹⁰ El agua y los alimentos se le ofrecieron *ad libitum* a los animales durante la ventana de observación del estudio.

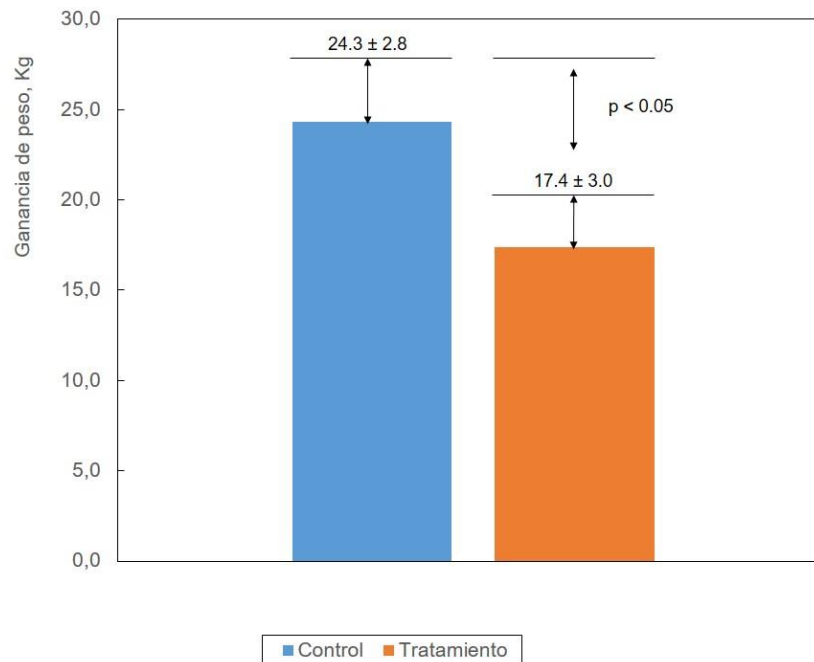
El modelo experimental previó la evaluación del efecto de dos dosis intraperitoneales de 40 mg de OPC por cada Kg de peso corporal administradas en días separados a 10 de las ratas. Las dosis de OPC fueron administradas en los días 1 y 7 del diseño experimental. El efecto de las OPC sobre los indicadores metabólicos

selectos fue evaluado en el día 14 del experimento. Las otras 10 ratas recibieron en paralelo dos dosis de solución salina en los días señalados por el diseño experimental, y en virtud de tal, sirvieron de grupo control. La fuente de las dosis experimentales de OPC que fueron administradas a las ratas comprendidas en el grupo tratamiento fue una solución madre a una concentración final de 800 mg.dL⁻¹ en solución salina a partir del liofilizado descrito más arriba.

La ventana de observación del estudio se clausuró en el día 14 del diseño experimental. En ese día, los animales fueron pesados y anestesiados a continuación con una solución de Ketamina/Xilacina (65.0/2.5, v/v) por vía intraperitoneal.¹¹ Con el animal restringido en posición de decúbito supino, y comprobadas la ausencia del reflejo corneano-palpal y la respuesta nociceptiva-flexora ante el estímulo doloroso de la planta de la pata trasera del animal, se procedió a la extracción de 5 mL de sangre venosa por punción intracardiaca que se recogieron en tubos plásticos que incluían un acelerador apropiado. Hecha la extracción de sangre, el animal fue sacrificado con una dosis de 300 mg/Kg de peso de Tiopental sódico.¹²⁻¹³ Las muestras de sangre se centrifugaron, y el suero obtenido después de decantación se empleó en las determinaciones bioquímicas previstas en el diseño experimental.

La Figura 3 muestra el efecto del extracto de OPC sobre el peso corporal. El tratamiento con OPC se trasladó a una menor ganancia de peso durante la ventana de observación del estudio: *Grupo Control*: Tratamiento con solución salina: 24.3 ± 2.8 Kg vs. *Grupo Tratamiento*: Tratamiento con OPC 40 mg.Kg⁻¹.dosis⁻¹: 17.4 ± 3.0 Kg (Δ = +6.9 Kg; p < 0.05; test t-Student de comparación de muestras independientes).

Figura 3. Ganancia de peso observada en los animales de experimentación después de dos dosis semanales de $40 \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{dosis}^{-1}$ de un extracto de proantocianidinas oligoméricas (800 mg.dL^{-1}). Las ratas-controles recibieron solución salina como placebo. Para más detalles: Consulte el texto del presente ensayo.



Fuente: Registros del estudio.
Tamaño de la serie: 20.

Por su parte, la Tabla 1 muestra el efecto del extracto de OPC sobre los indicadores bioquímicos selectos. El tratamiento con OPC se reflejó en una disminución significativa de los niveles sanguíneos de uratos: *Grupo Control*: $64.26 \pm 20.76 \mu\text{mol.L}^{-1}$ vs. *Grupo Tratamiento*: $17.25 \pm 7.65 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ($\Delta = +47.0 \mu\text{mol.L}^{-1}$; $p < 0.05$; test t-Student de comparación de muestras independientes).

Para muchos autores, los compuestos fenólicos (como las OPC) pueden interactuar con los mecanismos de secreción y reabsorción del ácido úrico, y con ello, provocar el aumento de los niveles de este metabolito en la sangre.¹⁴ Aún se discute sobre la llamada “paradoja francesa” cuando se ha descrito el efecto hiperuricemiante del vino.¹⁴⁻¹⁵ Yamamoto (1997) describió que el

aumento del ácido úrico plasmático estaría asociado al efecto del etanol sobre el metabolismo de la uridina y las purinas: sustratos de la vía de síntesis del ácido úrico.¹⁶ Sin embargo, la ingestión del mismo vino previamente dealcoholizado no produjo el efecto hiperuricemiante descrito más arriba.¹⁷⁻¹⁸ Durante la producción local de OPC a partir del orujo de la uva, se eliminan los restos alcohólicos, por lo que se supone que el efecto hipouricemiante de las OPC que se ha observado experimentalmente podría estar dado por la acción inhibitoria de la enzima xantino-oxidasa, tal como lo observara Zhai (2002) en su estudio sobre los efectos antioxidantes del *lei zhen zi*, una planta originaria de la China rica en proantocianidinas.¹⁹

Tabla 1. Efecto del extracto de proantocianidinas oligoméricas sobre los indicadores del metabolismo energético después de dos dosis semanales de 40 mg.Kg⁻¹.dosis⁻¹. Las ratas-controles recibieron solución salina como placebo.

Característica	Grupo Control	Grupo Tratamiento	Interpretación
Tamaño	10	10	
Glucosa, mmol.L ⁻¹	2.57 ± 0.59	2.47 ± 0.67	Δ = +0.10 (t = 0.356)
Urea, mmol.L ⁻¹	1.67 ± 0.34	1.53 ± 0.23	Δ = +0.14 (t = 0.356)
Uratos, μmol.L ⁻¹	64.26 ± 20.76	17.25 ± 7.65	Δ = +47.01 (t = 6.71) †
Triglicéridos, mmol.L ⁻¹	0.65 ± 0.13	0.60 ± 0.13	Δ = +0.05 (t = 0.76)
Colesterol total, mmol.L ⁻¹	1.62 ± 0.19	1.62 ± 0.19	Δ = +0.005 (t = 0.05)
HDL-Colesterol, mmol.L ⁻¹	0.85 ± 0.24	0.89 ± 0.31	Δ = -0.04 (t = -0.33)
Índice HDL/CT	0.41 ± 0.12	0.38 ± 0.09	Δ = +0.03 (t = 0.56)
HDL-Colesterol, mmol.L ⁻¹	0.85 ± 0.24	0.89 ± 0.30	Δ = +0.04 (t = -0.33)

Fuente: Registros del estudio.

Tamaño de la serie: 20.

Concluyendo, la administración intraperitoneal de OPC produce una menor ganancia de peso y la disminución de los valores sanguíneos de los uratos en ratas *Holtzman*. Estos efectos podrían ser independientes de la presencia del etanol constituyente de las bebidas obtenidas después de la fermentación de la uva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sánchez-Moreno C, Cao G, Ou B, Prior RL. Contenido de antocianina y proantocianidina en vinos blancos y rojos seleccionados. Comparación de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno con los vinos no tradicionales obtenidos de *Highbush blueberry*. Rev Quím Agríc Aliment 2003;51:4889-96.
2. Vannacci A, Gallo E, Mugelli A. La fitoterapia nel trattamento della stasi venosa e del linfedema. GIOT 2009;35:23-33. Disponible en: <http://www.giot.it/wp-content/uploads/2015/06/vannacci1.pdf>. Fecha de última visita: 16 de Abril del 2018.
3. Polagruto JA, Gross HB, Kamangar F, Kosuna K, Sun B, Fujii H; *et al*. Platelet reactivity in male smokers following the acute consumption of a flavanol-rich grapeseed extract. J Med Food 2007;10:725-30.

Disponible en: <http://doi:10.1021/jf030081t>. Fecha de última visita: 16 de Abril del 2018.

4. Cui XP, Li BY, Gao HQ, Wei N, Wang WL, Lu M. Effects of grape seed proanthocyanidin extracts on peripheral nerves in streptozocin-induced diabetic rats. *J Nutr Sci Vitamin* 2008;54:321-8. Disponible en: <https://doi.org/10.3177/jnsv.54.321>. Fecha de última visita: 18 de Abril del 2018.
5. Preuss HG, Wallerstedt D, Talpur N, Tutuncuoglu SO, Echard B, Myers A; *et al*. Effects of niacin-bound chromium and grape seed proanthocyanidin extract on the lipid profile of hypercholesterolemic subjects: A pilot study. *J Med* 2000;31:227-46.
6. Álvarez Lucero A, Solís Navarro L. Determinación del efecto del extracto seco estandarizado de semilla de *Vitis vinífera* en la disfunción endotelial vascular de ratas inducida por concentraciones altas de glucosa. Tesis de Grado. Escuela de Kinesiología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago de Chile: 2004. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/110598/alvarez_n.pdf?sequence=4. Fecha de última visita: 22 de Abril del 2018.
7. Busserolles J, Gueux E, Balasinska B, Piriou Y, Rock E, Rayssiguier Y, Mazur A. *In vivo* antioxidant activity of procyanidin-rich extracts from grape seed and pine (*Pinus maritima*) bark in rats. *Int J Vitamin Nutr Res* 2006;76:22-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1024/0300-9831.76.1.22>. Fecha de última visita: 19 de Abril del 2018.
8. Natella F, Ghiselli A, Guidi A, Ursini F, Scaccini C. Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. *Free Radic. Biol Med* 2001;30:1036-44.
9. ILAR/NRC. Occupational health and safety in the care and use of research animals. National Academy Press. Washington DC: 1997.
10. CDC/NIH. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Fourth Edition. US Government Printing Office. Washington DC: 1999.
11. Serrano S, Guevara M, Gargiulo P. Técnica neuroquirúrgica de esterotaxia en ratas para colocación de cánulas intracerebrales. *Rev Arg Neurol Vet* 2013;3:105-15.
12. AVMA Guidelines on eutanasia. Washington DC: 2003. Disponible en: <http://fcm.uncuyo.edu.ar/cicual>. Fecha de última visita: 20 de Abril del 2018.
13. Instituto Nacional de Tecnología de los Alimentos. Instructivo para anestesia-eutanasia. Comité Institucional para Cuidado y Uso de Animales de Experimentación. Santiago de Chile: 2013. Disponible en <http://fcm.uncuyo.edu.ar/cicual>. Fecha de última visita: 21 de Abril del 2018.
14. Galinski CN, Zwicker JI, Kennedy DR. Revisiting the mechanistic basis of the French Paradox: Red wine inhibits the activity of protein disulfide isomerase in vitro. *Thromb Res* 2016;137:169-73. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.thromres.2015.11.003>. Fecha de última visita: 21 de Abril del 2018.
15. Gendre PM, Laparra J, Barraud E. Protective effect of procyanidolic oligomers on experimental lathyrism in rats. *Ann Pharm Fr* 1985;43:61-71.
16. Yamamoto T, Moriwaki Y, Takahashi S, Yamakita J, Tsutsumi Z, Ohata H, Hiroishi K, Nakano T, Higashino K. Effect of ethanol and fructose on plasma uridine and purine bases. *Metabolism* 1997;46:544-7.

17. Caccetta RAA, Burke V, Mori TA, Beilin LJ, Puddey IB, Croft KD. Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects. *Free Rad Biol Med* 2001;30:636-42.
18. Fernández Pachón MS, Villaño D, Troncoso AM, García Parrilla MC. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. *ALAN Arch Latinoam Nutr* 2006;56: 110-22. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004. Fecha de última visita: 20 de Agosto del 2018.
19. Zhai, WY, Zhu ZQ, Chen JW, Wang YD, Zhao ZY, Hu TX. Effects of *lei zhen zi* health-care capsule on antioxidation and preventing DNA damage caused by hydroxyl radical. *Chinese J Luminescence* 2002;23:191-6.