FELSOCEM

EL VINO TINTO CHILENO RICO EN POLIFENOLES AUMENTA LAS DEFENSAS ANTIOXIDANTES DEL PLASMA Y RIÑÓN.

Jaime Kriman, Matías House, Samuel Vásquez, Ramón Rodrigo.
Laboratorio de Fisiopatología Renal. Programa de Farmacología Molecular y Clínica. ICBM. Facultad de Medicina Universidad de Chile.

RESUMEN

Diversas investigaciones señalan los beneficios del consumo moderado de vino tinto en la protección cardiovascular. Estos efectos pueden obedecer tanto a la presencia del etanol como de algunos componentes no alcohólicos, tales como los polifenoles con propiedades antioxidantes. Los estudios disponibles acerca del consumo crónico moderado de vino tinto y etanol sobre el potencial antioxidante del plasma (PAOP), glutatión y enzimas antioxidantes son escasos, realizados en periodos cortos y en órganos diferentes al riñón. En este trabajo se analiza el efecto del vino tinto sobre el PAOP y el sistema antioxidante del riñón. Ratas Wistar recibieron, durante 10 semanas, como única bebida: agua, solución acuosa de etanol 12,5% o vino tinto (Cabernet Sauvignon 12,5°) de alto contenido en polifenoles. En los riñones se midió glutatión, malondialdehido y actividad de las principales enzimas antioxidantes. En el plasma se determinó el PAOP. Como resultado se observó un aumento en el PAOP sólo en el grupo que recibió vino. En el riñón, tanto el etanol como el vino aumentaron la actividad de las enzimas antioxidantes, sin embargo sólo el vino disminuyó el índice de lipoperoxidación. Podemos concluir que la elevación del PAOP se produce sólo por los componentes no alcohólicos del vino. En el riñón ya que sólo el vino disminuye el índice de lipoperoxidación, podríamos sugerir que su consumo crónico moderado protege al riñón de algunas enfermedades en cuya patogenia participan las especies reactivas del oxígeno.

Financiado por: Proyecto FONDECYT 1990784 y Viña Lomas de Cauquenes.

Palabras clave: 1. Lipoperoxidación, 2. Etanol, 3. Vino Tinto.

INTRODUCCIÓN

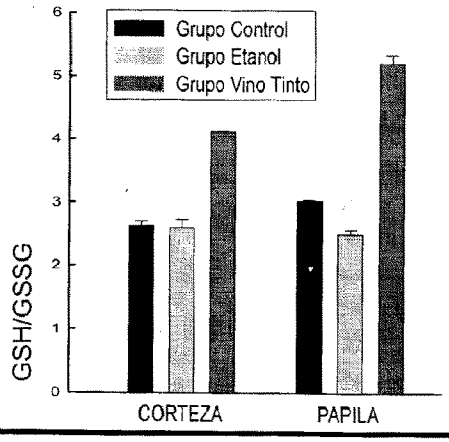
El alcohol administrado tanto en forma aguda como crónica genera importantes efectos en la lipoperoxidación. Así, se han señalado alteraciones en parámetros de estrés oxidativo después de la ingesta de alcohol, tales como la concentración de glutatión oxidado (GSSG), glutatión reducido (GSH) y activación de glutatión peroxidasa (GSHpx), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y producción de malondialdehido (MDA) en orina [1], cerebro, testículo, páncreas, hígado, entre otros.

Por otra parte, se han publicado estudios que revelan los beneficios del vino tinto en cuanto a la protección de enfermedades cardiovasculares, arteriosclerosis y disminución de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) [2], aumento de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y reducción de la tendencia trombótica [3].

Se ha postulado que estos efectos se generan tanto a través del etanol como de los componentes no alcohólicos, tales como los polifenoles que alcanzan en el vino tinto chileno concentraciones mas altas que en sus homólogos de otras regiones [4]. Sin embargo, trabajos acerca del consumo crónico moderado de vino tinto y/o etanol en cuanto a sus efectos en el glutatión, enzimas antioxidantes y potencial antioxidante del plasma (PAOP) son escasos, realizados en diversos protocolos experimentales, por un periodo inferior a 10 semanas y realizados en órganos diferentes del riñón, lo que dificulta su correcto análisis e interpretación.

Ray et al [5] encontraron que uno de los componentes no alcohólicos del vino, el resveratrol, es un importante protector cardiovascular, ya que es un potente atrapador de radicales peroxilos. Durak et al [6] también encontraron que el vino tinto aumenta el PAOP y la concentración de MDA se mantiene en

FIGURA 1. Efecto del vino tinto y del etanol sobre la relación GSH/GSSG en corteza renal y papila renal.



presencia de un estrés oxidativo, lo que no ocurrió con las ratas controles, que elevaron la producción de MDA. Aun cuando se sabe que el vino tinto favorece el sistema antioxidante del organismo, el mecanismo por el cual lo hace y la importancia relativa de los componentes alcohólicos y no alcohólicos aun no se han dilucidado.

El objetivo del presente trabajo ha sido determinar la contribución del etanol y los componentes no alcohólicos del vino en los beneficios observados en el sistema antioxidante y los posibles efectos en el riñón, para lo cual se utilizo un vino tinto chileno de alto contenido en polifenoles.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales:

Para este estudio se utilizaron 33 ratas macho albinas de la cepa Wistar con pesos entre 200 y 230 g, que fueron puestas en jaulas individuales, mantenidas en una sala temperada en 21° C y bajo control de luz por un período de 10 semanas. La alimentación y la bebida fueron entregadas ad libitum. Todo el tiempo recibieron un manejo por parte de los humanos de acuerdo a los principios éticos internacionalmente aceptados.

Los animales se dividieron en tres grupos experimentales con once ratas cada uno que recibieron una dieta nutricionalmente balanceada y bebida de la manera que se indica:

1.-Grupo control: con libre acceso al agua

2.-Grupo vino: con libre acceso a vino tinto (12,5° v/v, Cabernet Sauvignon, de alto contenido en polifenoles, cosecha 1998, Viña Lomas de Cauquenes, Cauquenes, Chile), como única bebida.

3.-Grupo etanol: tuvo libre acceso a una solución acuosa de etanol de la misma graduación alcohólica que el vino utilizado en el grupo anterior.

El consumo de alimento y bebida se midió diariamente, la bebida líquida se midió por medio de tubos graduados de Richter. La alimentación se midió a través de un control diario de peso, para lo cual se utilizó una balanza (Ohaus) de triple barra, midiendo el incremento diario de peso y calculando las calorías ingeridas y el porcentaje de éstas que correspondían a la dieta o a alcohol.

Luego de un período de 10 semanas se tomaron muestras de sangre y se extirparon los riñones, para determinar los siguientes parámetros:

Determinación de capacidad antioxidante del plasma.

Se obtuvo una muestra de sangre del plexo venoso del saco lagrimal, previa anestesia con eter etílico, la sangre fue recibida en tubos de plásticos de 3ml con EDTA como anticoagulantes. Luego se separó el plasma sobre el cual se aplicó el método de Benzie and Strai[7], basado en la reducción del hierro férrico a hierro ferroso el cual se hizo reaccionar con 2,4,6-tripiridil-3-triazina a 37°C en buffer acetato Ph 3.6, analizando la cinética de la reacción por espectrofotometría a 594nm. Se construyó una curva de calibración utilizando una solución estándar de sulfato ferroso.

Preparación de las muestras de tejido

Para extraer los riñones, primero se anestesiaron a los animales con pentobarbital sódico (40mg/Kg), luego se aisló la vena yugular y perfundió con una solución de KCL 1,15%, Tris 10mM, Ph 7.4, con el fin de desplazar los glóbulos rojos del compartimiento intravascular de los órganos. Para esto se utilizó una bomba de infusión continua (Braun, Perfusor G,Germany) a una velocidad de 40 ml/kg/minuto. Se sacrificaron los animales, se extrajeron ambos riñones y se depositaron en un vaso precipitado sobre hielo que contenía KCL 1.15% , Tris 10Mm, Ph 7.4 para muestras destinadas a GSHpx,SOD y CAT; suero fisiológico para las destinadas a MDA; buffer fosfato 0,1 M, EDTA 5mM, Ph 8.0, para GSH y GSSG.

FIGURA 2. Producción de malondialdehido en corteza y papila renal de ratas controles y tratadas con etanol o vino tinto.

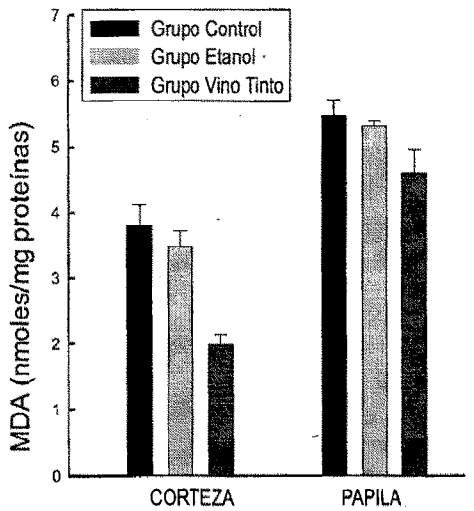


FIGURA 3. Capacidad antioxidante del plasma en ratas control, tratadas con etanol o vino tinto.

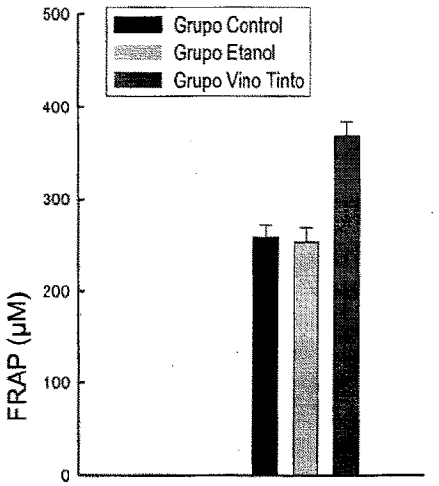


Tabla 1. Ganancia de peso,ingesta energética y consumo de líquido de los grupos experimentales. Universidad de Chile, Chile Abril, 2000.

	(gr / día) Ganancia de peso	K cal / día /100 gr. rata Total	Porcentaje de la dieta	Porcentaje del etanol	mL /día/100gr rata
Control	2,03 ± 0,70	18,0 ± 2,0	100	0	10,0 ± 1,45
Vino	1,85 ± 0,48	19,9 ± 1,8	69 ± 6,7 *	30 ± 6,7 *	7,98 ± 1,29
Etanol	2,85 ± 0,51	21,4 ± 1,8	77 ± 3,0 *	22 ± 3,0 *	7,15 ± 0,63

*= $p < 0,05$ vs control

Determinación de actividad de las enzimas glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa

Posteriormente se procedió a separar la papila y la corteza renal y se prepararon homogenizados en corteza al 20% en KCL 1,15%, tris 10Mm, PH 7.4 y en papila al 2,2 %. Luego se homogeneizaron los tejidos utilizados en homogenizador de Potter-Elvehjem de vidrio con vástago de teflón a 1750 r.p.m., aplicando 18 strokes. Los homogenizados se centrifugaron a 100.000 g, por 60 min, a 4°C, en ultracentrífuga Sorvall, modelo GTD-GSB (USA). En el sobrenadante se determinó la actividad de GSH px, SOD y CAT.

Para determinar la actividad de GSHpx (EC 1.11.1.9) se usó el método basado en la oxidación de GSH a GSSG, según método de Flohé y Günzler[8], siguiendo la cinética de reacción por espectrofotometría UV a 340 nm. Una unidad de GSHpx corresponde a la oxidación de un mol de NADPH en un minuto. La actividad de GSHpx se expresó en U/mg de proteína.

Para medir la actividad de SOD (EC 1.15.1.1) se utilizó el ensayo basado en el incremento de la velocidad de auto-oxidación de 5,6,6a,11b-tetrahidro-3,9,10-trihidroxibenzofluoreno, en solución acuosa alcalina para dar un cromóforo con una absorbancia máxima a 525nm[9]. La medición cinética del cambio de absorbancia se realiza durante un minuto. Una unidad de actividad de SOD se define como la actividad que duplica el nivel de auto-oxidación. Los resultados se expresaron como U/mg de proteína.

La actividad de la enzima CAT (EC 1.11.1.6) se midió espectrofotométricamente a partir de la cinética de descomposición del peróxido de hidrógeno a 240 nm[10]. La actividad de esta enzima se expresó sobre la base de la constante de primer orden para esta reacción (k/mg de proteína).

Ensayo de lipoperoxidación

La lipoperoxidación se midió sobre homogenizados al 10%en KCL 1,15% de los tejidos a analizar. Se midió la formación de MDA, según el método de Okawa[11] basado en la reacción con ácido tiobarbitúrico a PH 3.5 y posterior extracción con una mezcla de butanol: piridina como 15:1. La intensidad de la coloración se midió por espectrofotometría a 532 nm, construyendo previamente una curva de calibración con 1,1,3,3-tetrametoxipropano como estándar. Los resultados se expresaron en nmoles de MDA/mg de proteínas.

Determinación de GSH y GSSG

Para la determinación de GSH y GSSG los tejidos fueron homogenizados al 1,5% en solución de buffer fosfato 0,1%, EDTA 5 mM, PH 8.0. Posteriormente se adicionó HPO3 al 25% en una cantidad que corresponde al 20% del volumen total y se centrifugó a 100.000 g a 0°C por 30min. El sobrenadante se utilizó para medir GSH y GSSG por fluorimetría según método de Hissin y Hilf [12]. Los resultados se expresaron como moles/g tejido. Además se calculó la relación GSH/GSSG.

Análisis estadístico

Método estadístico: los resultados se expresaron como promedios error estándar de la media y las diferencias significativas se determinaron mediante el análisis de varianza (ANDEVA) no paramátrico, usando el test de Kruskal-Wallis 2 del software STATA 5.1. Se consideró significativas las diferencias con un $p < 0.05$.

RESULTADOS

La ingesta crónica moderada de vino tinto o etanol, por un período de diez semanas generó efectos cuantificados de acuerdo a los siguientes resultados . La ingesta diaria de alimentos disminuyó tanto en el grupo vino como etanol, sin embargo las calorias totales calculadas fueron similares, sin diferencia significativa. La ganancia de peso no tuvo valores estadísticamente significativos. En cuanto a la ingesta líquida diaria no se observó diferencias significativas (**Tabla 1**).

La **Tabla 2** muestra los efectos de una ingesta crónica moderada de vino tinto y del etanol en la concentración de GSH, GSSG y actividad de GSHpx, SOD y CAT en la corteza renal. Con respecto al etanol encontramos que el GSSG disminuyó y que la actividad de GSHpx, SOD y CAT aumentó, no se observó diferencia significativa en los demás parámetros. En cuanto al vino tinto, aumentó la concentración de GSH, la actividad de GSHpx ,SOD y CAT. Por el contrario, la concentración de GSSG experimentó una disminución . Estos efectos se asociaron a una aumento de la relación GSH/GSSG (**Figura 1**) y disminución de los niveles de MDA (**Figura 2**).

Concerniente a la papila renal se pudo observar que el etanol ocasionó una disminución en la concentración de GSSG y GSH (**Tabla 3**) sin embargo, este último en números absolutos disminuyó más, lo que llevó a una disminución de la relación GSH/GSSG (**Figura 1**). En cuanto a la actividad de GSHpx, SOD y CAT aumentó; no hubo cambios significativos en los demás parámetros (**Tabla 3**). Con respecto a los

efectos del vino se pudo observar un aumento en la actividad de GSHpx, CAT y SOD y una disminución en la concentración GSSG, en tanto que la concentración de GSH aumentó, lo que repercutió en un aumento en la relación GSH/GSSG (**Figura 1**). Esto se asoció a una disminución en la concentración de MDA (**Figura 2**).

El poder antioxidante del plasma se midió mediante el parámetro FRAP, cuyos resultados aparecen en la figura 3, se observa un aumento de este parámetro en el grupo vino, no así en el grupo etanol.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se analizaron los efectos del vino sobre la capacidad antioxidante del plasma y el sistema de defensa antioxidante del riñón, luego de una ingesta crónica moderada de vino tinto o etanol, midiendo los principales parámetros de estrés oxidativo. Para analizar en forma separada la contribución del etanol y de los componentes no alcohólicos del vino, se incluyó un grupo sometido a tratamiento con solución acuosa de etanol con la misma graduación alcohólica que el vino seleccionado para el estudio. Para apreciar en forma clara la acción de los componentes antioxidantes se utilizó un vino altamente rico en polifenoles, que de acuerdo a la literatura mundial corresponde al vino tinto chileno de la cepa Cabernet Sauvignon[4]. En relación a los resultados obtenidos acerca de ganancia de peso, consumo de dieta, calorías y líquido; podemos concluir que a pesar de haber ingerido alimento en menor cantidad ambos grupos experimentales, ingirieron en total las mismas calorías que el grupo control. Por lo tanto, los resultados obtenidos para los parámetros de estrés oxidativo, no están modificados por la cantidad de calorías ingeridas. Por otro lado, ya que la ingesta de líquido tampoco alcanzó una diferencia significativa, ésta no jugaría un papel en la modificación de estos parámetros.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo caracterizan por primera vez en forma completa los efectos favorecedores de las defensas antioxidantes del vino tinto rico en polifenoles, tanto a nivel del plasma como del riñón.

En primer lugar, se podría señalar que el aumento de los niveles de FRAP que sólo se observó en el grupo tratado con vino, es concordante con estudios realizados en humanos con ingesta crónica prolongada de vino tinto y vino desalcoholizado[13], podría corresponder a la presencia de los componentes reductores del vino en el plasma, entre los que se encuentran los polifenoles. Aunque la biodisponibilidad de estos compuestos aún no ha sido completamente dilucidada, se ha visto que son de rápida absorción en el tracto digestivo alto[14] y que una vez en el plasma pueden actuar como atrapadores de especies reactivas del oxígeno, quelantes del hierro y moduladores enzimáticos[15]. Debido a que los EROs intervienen en reacciones de propagación de radicales libres el aumento del FRAP puede representar una forma de detener la propagación de radicales libres y además pueden actuar en la protección de estructuras celulares contra la reacción de peroxidación.

En el plasma se ha visto que los EROs oxidan a los LDL, iniciando una cadena que conduce a la ateromatosis[16]. La administración de vino, y vino desalcoholizado provoca una disminución de la susceptibilidad de las LDL a la oxidación[17], modula la apoptosis[18] y aumenta las lipoproteínas de alto peso molecular (HDL)[3].

En el riñón, que las enzimas hallan aumentado con el vino y etanol, sugiere que esto es un efecto generado por este ultimo. En cambio ya que el GSH/GSSG, solo se elevo por el tratamiento con vino tinto, lleva a pensar en un efecto de los componentes no alcohólicos del vino sobre este parámetro. Además, ya que los polifenoles son agentes reductores y atrapadores de radicales libres, podrían contribuir a esta función junto con el GSH, impidiendo de esta manera que disminuya su concentración. Por el contrario, en el caso del etanol, esta función queda entregada solamente al GSH por lo que disminuye su concentración. Por lo anterior, pensamos que la lipoperoxidación debería disminuir en el grupo vino y en el grupo etanol podría haber disminuido en una menor proporción por el efecto protector de las enzimas. Por esto, medimos la producción de MDA, el cual confirmo nuestra hipótesis en el caso del vino y en el caso del etanol, se observo que el índice de lipoperoxidación no tuvo cambios significativos.

Estos resultados son concordantes con otros investigado-

TABLA 2. Efectos del etanol y del vino sobre los niveles de glutation Oxidado, reducido y las actividades de las enzimas antioxidantes en la Corteza renal.
Universidad de chile. Chile abril 2000

PARÁMETROS	GRUPO CONTROL	GRUPO ETANOL	GRUPO VINO
GSH (µmol / g)	0,215 ± 0,004	0,173 ± 0,001*	0,246 ± 0,005*
GSSG (µmol / g)	0,080 ± 0,003	0,066 ± 0,004*	0,059 ± 0,001*
GSHpx (U / mg proteína)	0,308 ± 0,017	0,449 ± 0,015*	0,493 ± 0,009*
CAT (k / mg proteína)	0,328 ± 0,023	0,462 ± 0,027*	0,445 ± 0,017*
SOD (U / mg proteína)	8,260 ± 0,260	11,880 ± 0,54*	11,280 ± 0,320*

1. = p < 0,05 vs control.

TABLA 3. Efectos del etanol y del vino sobre los niveles de Glutation oxidado reducido y las actividades de las enzimas Antioxidantes en la papila renal. Universidad de chile. Chile Abril 2000

PARÁMETROS	GRUPO CONTROL	GRUPO ETANOL	GRUPO VINO
GSH(µmol/g)	0,215±0,004	0,173±0,001*	0,246±0,005*
GSSG(µmol/g)	0,080±0,003	0,066±0,004*	0,059±0,001*
GSHpx(U/mg.proteína)	0,308±0,017	0,449±0,015*	0,493±0,009*
CAT(k/mg.proteína)	0,328±0,023	0,462±0,027*	0,445±0,017*
SOD(U/mg.proteína)	8,260±0,260	11,880±0,54*	11,280±0,320*

1. = p < 0,05 vs control.

res que han comunicado que el vino disminuye la lipoperoxidación. Los factores propuestos para explicar esta acción han sido el resveratrol, potente atrapador de radicales peróxidos[5]; el etanol y otros componentes no alcohólicos, no solo por su acción directa sino además por gatillar un aumento de la concentración de citocromos tales como b5 en el hígado[19].

Apoyado en lo anterior y debido a que en nuestro trabajo las ratas tratadas con etanol no acusaron un aumento en el FRAP lo que sí se observó en las ratas tratadas con vino, se podría atribuir, el efecto protector a los componentes no alcohólicos del vino. Las acciones señaladas por los polifenoles junto con los antecedentes antes señalados del vino seleccionado para este trabajo (rico en polifenoles) llevan a concluir que la protección puede ser atribuida principalmente a estos componentes.

Al considerar los efectos renales del vino y etanol se puede apreciar que tanto el vino como el etanol activan a las enzimas antioxidantes aquí analizadas, sin embargo solo el vino tinto disminuye significativamente la lipoperoxidación renal, esto podría deberse a que el etanol además de activar a estas enzimas, genera un estrés oxidativo, tan documentado tanto en efecto agudo como crónico[20]; este estrés sería de tal magnitud que contrarrestaría esta acción protectora, causando de esta manera que no haya cambios en el MDA. Por otra parte el vino tinto al poseer además de etanol, compuestos no alcohólicos, pensamos que son estos los que no solo contrarrestan los efectos deletéreos del etanol contenido en el vino, sino que además ejercen un poder protector en el riñón en estado basal. Esto nos lleva a hipotetizar que el consumo crónico moderado de vino tinto podría no solo prevenir enfermedades cardiovasculares, cuya acción ya esta bien documentada, sino que además podría prevenir enfermedades renales, tales como la fibrosis túbulo intersticial producida por hiperlipidemia y otras en que los radicales libres tuvieran algún papel en su patogenia. Sin embargo mayor cantidad de estudios debieran ser realizados para confirmar esta hipótesis.

En resumen: En el presente trabajo encontramos evidencia que la ingesta crónica moderada de vino tinto rico en polifenoles favorece el sistema defensivo antioxidante, tanto a nivel del plasma como del riñón. En el plasma estos efectos son atribuibles a los componentes no alcohólicos del vino. En el riñón sin embargo, existen efectos que son atribuibles tanto al etanol como a los componentes no alcohólicos del vino. Sin embargo el efecto final en la lipoperoxidación solo disminuye con el vino. Lo anterior nos lleva a la hipótesis de que la ingesta crónica moderada de vino tinto podría prevenir no solo de enfermedades cardiovasculares, sino que además, de enfermedades renales en las cuales los radicales libres jueguen algún rol.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 Moser J, Badchi D, Asubue PI, Stohs SJ. Excretion of malondialdehyde, formaldehyde,acetaldehyde and acetate in the urine of rats following acute and chronic administration of ethanol. Alcohol-Alcohol.1993; 28: 287-295.

2 Aviram M. Interaction of oxidized low density lipoprotein with macrophages in atherosclerosis, and the antiatherogenicity of antioxidants. Eur.J.Clin.Biochem. 1996; 34:599-608.

3 Renaud S, Logeril M.Wine, alcohol, platelets, and French paradox of coronary desease. Lancet. 1992; 339: 1523-1526.

4 Mc Donald M.S., Hughes M., Burns J., Lean M.E.J., Mattews D et al. Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins. J. Agric. Food Chem. 1998; 46: 368-375.

5 Ray Ps, Maulik G, Cordis GA, Bertelli AA, Das DK. The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from isquemia reperfusion injury. Free.Radic.Bio.Med.1999; 27: 160-169.

6 Durak I, Cimen MY, Buyukkocak S, Kacmay M, Ozturk HS. The effect of red wine on blood antioxidant potential.Curr-Med-Res-Opin.1999;15(3):208-13.

7 Benzie I.F.F. and Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. The FRAP assay Anal-Biochem.1996; 239: 70-76.

8 Flohé L. and Gunzler W.A. Assays of glutathione peroxidase. In : Methods in Enzymology, Colowic and N.O. Kaplan(Eds). Academic Press,New York. 1984; 105: 114-121.

9 Nebot C, Moutet M, Huet P, Xu JZ, Yadan JC et al. Spectrophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autoxidation of a tetracyclic cathechol. Anal. Biochem. 1993; 214: 442-451.

10 Aebi H. Catalase. In : Bergmeyer HU, editor. Methods in Enzymatic Analysis, 29 nd Ed. New York: Academic Press. 1974; 673-678.

11 Ohkawa H; Ohishi N.; and Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal.Biochem.1979; 95: 351-358.

12 Hissin P.J., Hilf R.A. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. Anal. Biochem.1976; 74: 214-226.

13 Duthie GG, Pedersen MW, Gardner PT, Morrice PC, Jenkinson AM et al. The effect of whisky and wine consumption on total phenol content and antioxidant capacity of plasma from healthy volunteers. European Journal of Clinical *Nutrition. 1998; 52: 733-736.*

14 Serafini M, Malani G, Ferro-Luzzi A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Nutrition. 1998; 128: 1003-1007.*

15 Pietta P.,Simonetti P.,Gardana C., Brusamolino A., Morazzoni P et al. Relationship between rate and extent of cathechin absorption and plasma antioxidant status. Biochem.Mol.Biol.Int.1998; 46: 895-903.

16 Sies H. Antioxidant activity in cells and organs. A m. Rev. Respir. Dis. 1987; 136: 478-480.

17 Frémont L., Belguendouz L., Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. Life Sci. 1999: 64, 2511.

18 Galle J., Heermeier K., Wanner C. Atherogenic lipoproteins, oxidative stress, and cell death. Kidney Int. 1999; 56: S62-S65.

19 Mc Donald M.S., Hughes M., Burns J., Lean M.E.J., Mattews D et al. Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins. J. Agric. Food Chem. 1998; 46: 368-375.

20 C.S. Lieber. Metabolic effects of acetaldehyde. Biochem. Soc. Trans. 1998; 16: 241-247.