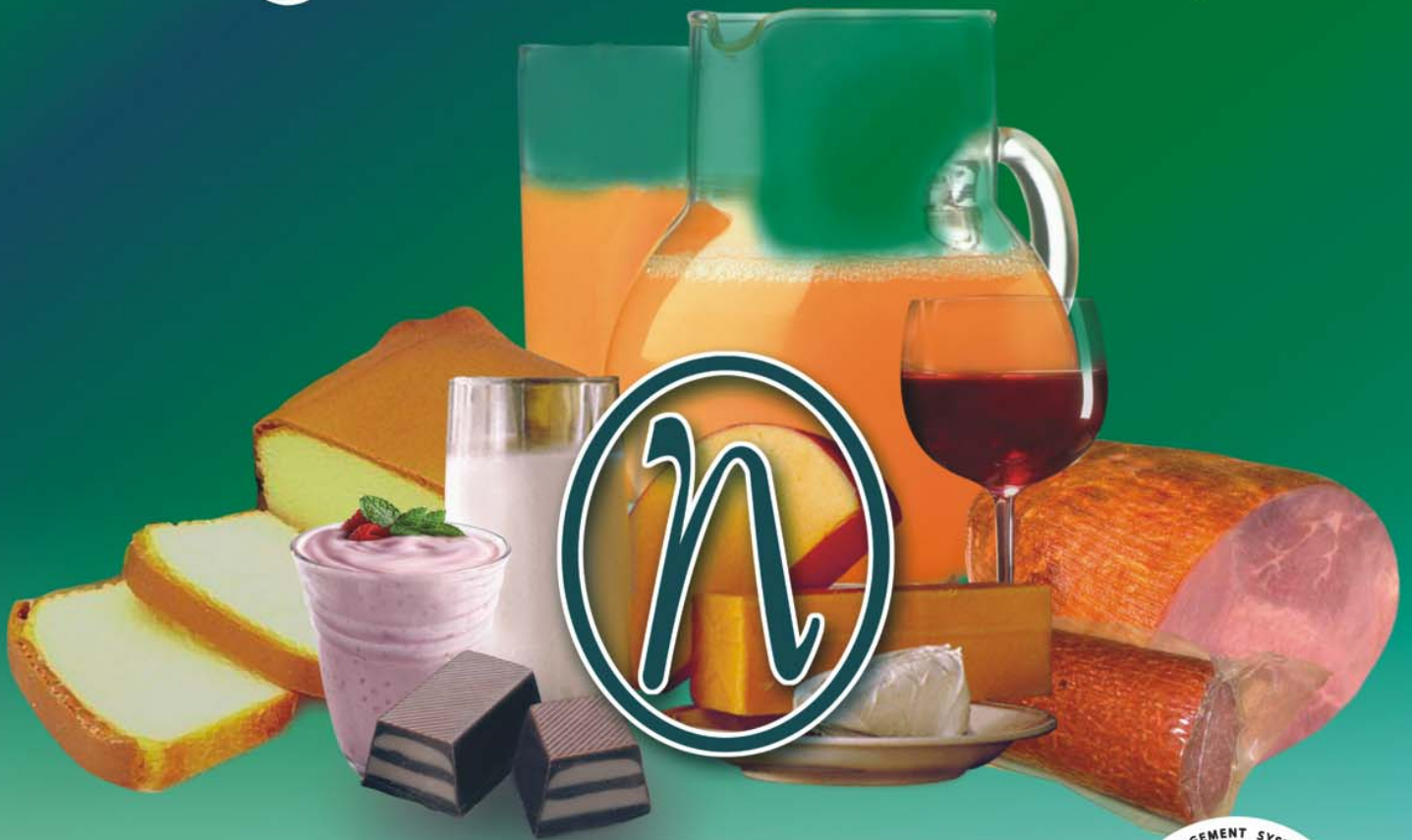


El ingrediente que le hacía falta



**NUTRER
S.A. DE C.V.**



especialista en aditivos para la Industria de Alimentos

www.nutrer.com.mx

BASF

BROSTE

SENSUS

COLCA APX
GRUPO INCA

Kimitsu
CHEMICAL INDUSTRIES

HSC
HOLLAND • SWEETENER • COMPANY

BIOCON
working with Nature

OMNICHEM
MIJIMOTO

FOREST FLAVORS
INTERNATIONAL, INC.



alimcarat

Daicel

Loders **Croklaan**

BORCULO DOMO
Ingredients

■ Matriz México:

Calle 4 no. 25-C Fracc. Alce Blanco
53370 Naucalpan, Edo. Méx.
E-mail: ventasfood@nutrer.com.mx
Tel: (0155) 1083-4500 Fax: 5358-9420

■ Sucursal Guadalajara:

Volcán Vesubio 5387
Col. El Colli, Urbano
45070 Zapopan, Jalisco
Tel/Fax: (0133) 1057-6770 al 75

■ Sucursal Monterrey:

Adolfo López Mateos 1099 - A Bodega 3
Col. Margarita Salazar
64610 San Nicolás de los Garza, Nuevo León
Tel/Fax: (0181) 8007-8800 al 05

El Resveratrol del Vino: ¿Molécula Anticáncer?

Norbert Latruffe*

El resveratrol, asociado o no al alcohol, inhibe *in vitro* la proliferación de células hepáticas tumorales, probablemente retardando o bloqueando las mitosis.

Los resultados son motivo de optimismo aunque se enfrenten a nuevas complejidades.

Tendencias



El interés de la problemática

Al protegerse de las agresiones exteriores, ¿es posible que la vid nos esté protegiendo frente a ciertos tipos de cáncer? En el origen de esta seductora idea se encuentra la analogía con las célebres conclusiones de la «paradoja francesa», respecto a la protección vascular: los bebedores regulares y moderados de vino están menos sujetos a sufrir un cáncer que los abstemios.

Estudios epidemiológicos revelan para esta enfermedad la misma curva en J que para las enfermedades cardiovasculares: una disminución significativa para cantidades de 2 o 3 vasos diarios, seguida por el contrario de un rápido aumento de la mortalidad al aumentar el consumo.

El paso a los estudios en animales de experimentación, realizados principalmente en la Universidad de California proporcionan una primera confirmación: los investigadores constataron un menor desarrollo de tumores cancerosos en ratones a los que se les había suministrado un extracto sólido de vino (sin alcohol), en comparación con un grupo control.

En 1997, trabajos que en principio no guardaban relación con las investigaciones efectuadas sobre el vino abrieron un nuevo campo de estudio: mientras buscaba moléculas anticancerosas en extractos de plantas, el equipo del Dr. Pezzuto, en Chicago, mostró la acción beneficiosa de un polifenol, el resveratrol, presente en numerosos frutos y legumbres. De todas las plantas en las que se intentó identificar una actividad quimiopreventiva anticancerosa, y de todos los compuestos examinados, éste resultaba ser el más prometedor. Dichos estudios demostraban que el resveratrol inhibe, *in vitro*, etapas primordiales en el desarrollo de células cancerosas.

Esta molécula está presente en la uva y se encuentra también en el vino. La vid produce resveratrol, una especie de fungicida natural, cuando es atacada por *Botrytis cinerea*, un hongo microscópico que da lugar a la podredumbre noble de

* Laboratorio de Biología Molecular y Celular
Facultad de Ciencias, Universidad de Borgoña, Dijon

la uva, y también, más habitualmente, cuando la vid se encuentra bajo condiciones de estrés, como la pérdida de la hoja.

El coloquio «Sangre y Vino», que tuvo lugar en Burdeos en abril del 2001, sacó de nuevo a la luz todo el interés de la comunidad científica por esta molécula. En dicha reunión, el Dr. Raul, de Estrasburgo, mostró resultados de un estudio *in vitro* sobre células cancerosas humanas e *in vivo* en ratones: la administración a ratones de 0,01% de resveratrol en el agua de bebida durante 7 semanas inhibe un 70% la formación de tumores en el intestino delgado.

Por nuestra parte, en el Laboratorio de Biología Molecular y Celular de la Universidad de Borgoña, hemos demostrado que el resveratrol actúa sobre dianas del ciclo celular, inhibiendo el crecimiento tumoral. Estos estudios se han realizado *in vitro* con células cancerosas humanas de hígado y de colon. También en este caso los resultados han sido significativos. A una dosis determinada, el resveratrol provoca incluso un «suicidio» de células cancerosas colorrectales (apoptosis).

A propósito, ¿qué es el resveratrol?

El resveratrol es un polifenol presente en ciertos frutos (moras, cacahuètes...y sobretodo uvas). Se sintetiza en la piel de la uva, y de ella pasa a los vinos tintos (Jeandet et al., 1991). Esta molécula fue descubierta en 1940 por un investigador japonés, y en 1977 los ingleses Langcake y Pryce describieron su estructura. Se trata del 3,5,4'-trihidroxi estilbeno, cuyo isómero *trans*, mayoritario, es la forma activa.

El *trans*-resveratrol posee propiedades espectroscópicas ultravioletas y de fluorescencia características. Es una molécula fotosensible que, por exposición a la luz o a otras radiaciones, se transforma irreversiblemente en el isómero *cis*. El resveratrol es también una fitoalexina de la vid (moléculas implicadas en una reacción de defensa de la planta) (Jeandet et al., 1991).

Estudios epidemiológicos (St Leger et al., 1979) y experimentales han mostrado una correlación entre el consumo moderado de vino y la prevención de los accidentes cardiovasculares. En este proceso, el resveratrol tendría, por sus propiedades antitrombóticas, un papel inhibidor de la agregación plaquetaria (Chung et al., 1992) o de antioxidante de lipoproteínas y pared vascular (Siemann et al., 1992).

Después que un estudio epidemiológico de Renaud et al. (1998) pusiera en evidencia una reducción del 21% en la mortalidad por cáncer entre una población de bebedores moderados de vino, numerosos trabajos experimentales han concluido en favor de un papel quimiopreventivo frente al cáncer de sus

polifenoles, en particular del resveratrol (Surh et al., 1999; Tomera et al., 1999; Fremont et al., 2000).

Propiedades antiproliferativas del resveratrol

Entre los descubrimientos más recientes se ha descrito en ratones la protección frente a un agente cancerígeno químico el DMBA (7,11 dimetil benzantraceno), que provoca en el animal tumores mamarios, de la piel o leucemias (Jang et al., 1997). También se ha demostrado que el resveratrol actúa de inhibidor de la ribonucleótido reductasa, implicada en la síntesis de los ribonucleótidos (guardando así relación con los ácidos nucleicos) (Fontecave et al., 1998), de inhibidor de células MCF-7 mamarias en cultivo (Mgbonyebi et al., 1998) y de activador del receptor de estrógenos (aunque a gran concentración) (Gehn et al., 1997).

Se ha descrito también que el resveratrol ejerce un efecto antiproliferativo sobre células de cáncer de colon (Schneider et al., 2000). Por consiguiente, el resveratrol es un antagonista de las dioxinas, moléculas bastante conocidas, responsables de efectos deletéreos sobre la salud, principalmente del cáncer (Cesper et al., 1999). Se ha descrito que ciertos derivados del resveratrol, como la viniferina (dímero de resveratrol) poseen igualmente propiedades antitumorales sobre numerosos modelos celulares (Ohyama et al., 1999).

No obstante, los datos de la literatura son fragmentados y a menudo contradictorios, tanto en el terreno cardiovascular (Turrens et al., 1999) como en el del cáncer (Soleas et al., 1997). Se ha demostrado recientemente que el *trans*-resveratrol inhibe la proliferación de los miofibroblastos hepáticos humanos en cultivo (Godichaud et al., 2000), implicados en la progresión del cáncer al nivel de este órgano.

Tales resultados convergentes sobre dos tipos de células hepáticas (epiteliales y fibroblásticas) refuerzan la hipótesis de un efecto preventivo del resveratrol frente al cáncer hepático (Delmas et al., 2000).

Y finalmente, se acaba de poner en evidencia una acción del resveratrol como inhibidor de la NO sintasa inducible, un enzima implicado en un proceso de iniciación tumoral (Chang et al., 2000).

El objetivo de nuestro trabajo es determinar la capacidad del resveratrol de inhibir la proliferación de líneas celulares derivadas de hepatocitos, dado que el hepatocarcinoma es uno de los tumores malignos más corrientes, así como una de las principales causas de muerte por cirrosis hepática.

Además, este órgano es esencial en la transformación de los nutrientes y los xenobióticos. Si el efecto antiproliferativo del resveratrol había sido descrito en numerosos tipos celular-

res, la acción de este polifenol del vino sobre las células hepáticas estaba aún por estudiar.

Durante el año 2000 nuestros trabajos han demostrado por primera vez un efecto inhibitor del resveratrol, dependiente de dosis y tiempo, sobre la proliferación de células hepáticas humanas de origen tumoral (Delmas et al., 2000). Así, hemos comparado el efecto del resveratrol sobre líneas de hepatoma de dos especies: las células Fao de hepatoma de rata, y las células HepG2 de hepatoblastoma humano. Nuestros resultados muestran que el resveratrol provoca una disminución en la velocidad de proliferación de ambos tipos celulares, en función del tiempo (a partir de 24 horas) y de la concentración de la molécula (escala micromolar).

Tras 48 horas de tratamiento con resveratrol en etanol al 0,1%, la concentración necesaria para obtener un 50% de inhibición es menor en las células Fao (8 μ M) que en las células HepG2 (14 μ M). La presencia del etanol tiene un efecto potenciador. Las pruebas de toxicidad muestran que el umbral es menor en el caso de las Fao que en el HepG2. Las concentraciones de resveratrol superiores a 50 μ M dan lugar a una lisis celular significativa, hecho evidenciado por un aumento de la lactato deshidrogenasa extracelular.

A 30mM, la inhibición del crecimiento de las células HepG2 en cultivo es reversible si se retira el resveratrol después de 48 horas de tratamiento, y de 24 horas para las células Fao. Los resultados del estudio de los niveles de inhibición por el resveratrol muestran que la síntesis de DNA (medida por la incorporación de timidina tritiada) no está inhibida, y que existe una acumulación de células en fases S y G2-M del ciclo celular (estudios de citometría de flujo). En resumen, el resveratrol, asociado o no al alcohol, inhibe *in vitro* la proliferación de células hepáticas tumorales, probablemente retardando o bloqueando las mitosis (Delmas(a) et al., 2000).

En la actualidad nuestras investigaciones se centran la acción del resveratrol sobre la expresión de genes diana implicados en la proliferación celular, a dos niveles: estudio del mecanismo responsable del efecto antiproliferativo del resveratrol en función de la dosis utilizada, en hepatomas y en otras líneas de células cancerosas humanas (en particular colorrectales); e investigaciones dirigidas a determinar si los procesos de apoptosis juegan un papel en el proceso y, en caso afirmativo, estudiar la sensibilidad frente a los distintos tipos celulares.

Resultados preliminares muestran una fuerte inhibición por resveratrol de la proliferación de una línea celular de cáncer colorrectal, asociada a un proceso de apoptosis (Delmas(b) et al., 2000) (figura 2).

Bioabsorción del resveratrol

Si se habla a menudo del papel beneficioso para la salud de sustancias naturales como los microconstituyentes de alimentos y bebidas, se debe a la existencia de pruebas indirectas (estudios epidemiológicos) o a la observación de los efectos biológicos sobre sistemas *in vitro* y animales de experimentación. A estos últimos se suelen administrar dosis farmacológicas. Por ello, es evidente que si se pueden identificar efectos protectores en productos naturales, tanto a nivel cardiovascular como de cáncer, no sólo es indispensable elucidar el modo de acción sobre las dianas celulares, sino también conocer los mecanismos de absorción y biodisponibilidad de los compuestos responsables, considerados bioactivos, lo que permitirá comparar las concentraciones circulantes e intracelulares con las dosis efectivas.

Además, estos procesos de bioabsorción suelen ser poco conocidos por poco estudiados, a menudo debido a dificultades técnicas de separación, detección y seguimiento de su biotransformación. En el caso de los polifenoles del vino de la familia de los estilbenos, en particular del resveratrol y sus derivados, el uso como marcador de trans-resveratrol radioactivo nos permitirá responder a las preguntas formuladas.

Así, la búsqueda de una eventual correlación entre los efectos beneficiosos del consumo moderado de vino y los del resveratrol, descritos en sistemas *in vitro*, es un paso esencial que requiere el establecimiento de una relación entre la tasas plasmática de resveratrol y la cantidad realmente absorbida por las células. Sin embargo, no existe hoy en día ninguna prueba bioquímica que apoye sólidamente esta hipótesis. En la actualidad, los valores de absorción de éste son poco conocidos, con la excepción de algunos trabajos que muestran la penetración del compuesto en las células (Blache et al., 1997) o los que describen la compatibilidad entre la concentración plasmática en ratas y los efectos biológicos a nivel hepático (Bertelli et al., 1998).

Los conocimientos generales sobre la biodisponibilidad de los polifenoles se recogen en una reciente revisión bibliográfica (Scalbert y Williamson, 2000). En el caso particular del resveratrol, se ha demostrado que se absorbe a nivel del intestino delgado de rata, mayoritariamente en forma glucuronada (Kuhnle et al., 2000; Andlauer et al., 2000). La forma mayoritaria del resveratrol en el cacahuate es el derivado glucosilado, denominado piceido (Ibern-Gomez et al., 2000).

Con el objetivo de estudiar la bioabsorción del resveratrol y sus derivados presentes en el vino (solos o asociados) por células escogidas en función de su papel fisiológico (hígado, intestino, vasculares), en relación o no con la presencia de etanol, hemos determinado por cromatografía de exclusión las interacciones del resveratrol con las proteínas plasmáticas.

Parece que el resveratrol interactúa con proteínas séricas, en especial con la albúmina, cuya fijación a diversos niveles parece estar favorecida por la presencia de ácidos grasos sobre la proteína. Por otro lado, se ha estudiado la captación de resveratrol en función del tiempo en dos tipos celulares distintos: células de origen hepático, la línea HepG2, procedente de un hepatoblastoma humano y células tumorales colorrectales humanas SW 480. Tras la extracción del resveratrol de los medios de cultivo con una microcolumna SepPak C18 y cuantificación por HPLC, hemos demostrado una entrada del resveratrol hacia el interior de las células HepG2 mayor del que se puede medir en células SW 480.

Estos resultados preliminares sugieren un tropismo preferencial por el hígado, datos que se correlacionan con nuestros resultados *in vitro* acerca de una inhibición de la proliferación de células de hepatomas por el resveratrol. Ambos constituyen un argumento en favor de un posible papel protector del resveratrol de origen alimentario (Jannin et al., 2001).

Perspectivas futuras

En lo relativo a la prevención del cáncer, a tenor de lo sucedido en la investigación de las enfermedades cardiovasculares, es de prever el paso a estudios *in vivo* en humanos, sistema problemático por sus implicaciones éticas, pero preciso en razón de nociones de biodisponibilidad y bioabsorción más próximas al organismo humano. Queda por determinar en qué medida la molécula de resveratrol se encuentra en el interior de las células, sin mencionar ya las sensibilidades genéticas individuales que puedan modificar los valores.

Un elemento más incita al investigador a la prudencia: los estudios se han realizado principalmente sobre una sustancia aislada, pero la complejidad del vino no permite la simplificación. Complejidad en el organismo humano, complejidad en el vino... Si bien los primeros resultados incitan al optimismo, es preciso seguir trabajando para poder confirmarlos en el futuro.

Bibliografía

Andlauer, W., Kolb, J., Siebert, K. y Furst, P.: «Assessment of resveratrol bioavailability in the perfused small intestine of the rat», *Drugs Exp Clin Res* 2000; 26: 47-55.

Bertelli, A., Bertelli, A.A.E., Gozzini, A. y Giovannini, L.: «Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity», *Drugs Exp Clin Res* 1998; 24: 133-138.

Blache, D., Rustan, J., Durand, P., et al.: «Gas chromatographic analysis of resveratrol in plasma, lipoproteins and cells after *in vitro* incubations», *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997; 702: 103-110.

Casper, R.F., Quesne, M., Rogers, I.M. et al.: «Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor: implications for prevention of dioxin toxicity», *Mol Pharmacol* 1999; 56: 784-790.

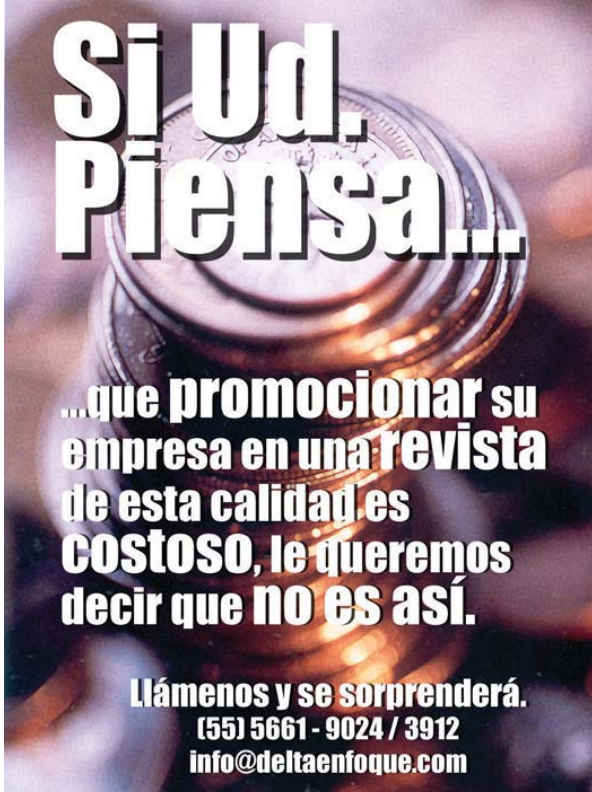
Chan, M.M., Mattiacci, J.A., Hwang, et al.: «Synergy between ethanol and grape polyphenols, quercetin, and resveratrol, in the inhibition of the inducible nitric oxide synthase pathway», *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1539-1548.

Chung, M.I., Teng, C.M., Cheng, K.L., et al.: «An antiplatelet principle of *veratrumformosum*», *Planta Med* 1992; 58: 274-278.

Delmas, D.(a), Jannin, B., Cherkaoui-Malki, M. y Latruffe, N.: «Inhibitory effect of resveratrol on the proliferation of human and rat hepatic derived cell lines», *Oncol Reports* 2000; 7: 847-852.

Delmas, D.(b), Jannin, B., Cherkaoui-Malki, M. y Latruffe, N.: «Inhibitory of colon tumor cell lines SW480 by resveratrol», *Biol Cell* 2000; 92: 163.

Delmas, D., Jannin, B., Cherkaoui-Malki, M. y Latruffe, N.: «Propriétés antiprolifératives du resveratrol (un polifenol du vin) – Effet de l'alcool», *Cahiers de l'Ireb* 2001 (En prensa).



Si Ud. Piensa...

...que promocionar su empresa en una revista de esta calidad es COSTOSO, le queremos decir que NO es así.

Llámenos y se sorprenderá.
(55) 5661 - 9024 / 3912
info@deltaenfoque.com

- Fontecave, M., Lepoivre, M., Elleingand, E., et al.: «Resveratrol, a remarkable inhibitor of ribonucleotide reductase», *FEBS Lett* 1998; 421: 277-279.
- Frémont, L.: «Minireview - Biological effects of resveratrol», *Life Sciences* 2000; 66: 663-673.
- Gehm, B.D., McAndrews, J.M., Chien, P.Y. y Jameson, J.L.: «Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor», *Proc Natl Acad Sci, USA* 1997; 94: 14138-14143.
- Godichaud, S., Krisa, S., Couronné, B. et al.: «Deactivation of cultured human liver myofibroblasts by trans-resveratrol, a grapevine-derived polyphenol», *Hepatology* 2000; 31: 922-931.
- Gutiérrez-Ruiz, M.C., Gómez, J.L., Souza, V., y Bucio, L.: «Chronic and acute ethanol treatment modifies fluidity and composition in plasma membranes of a human hepatic cell line (WRL-68)», *Cell Biol Toxicol* 1995; 11: 69-78.
- Ibern-Gómez, M., Roig-Pérez, S., Lamuela-Raventós, R.M. y de la Torre-Boronat, M.C.: «Resveratrol and piceid levels in natural and blended peanut butters», *J Agric Food Chem* 2000; 48: 6352-6354.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., et al.: «Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes», *Science* 1997; 275: 218-223.
- Jannin, B., Delmas, D., Valot, B., et al.: «Approches dans l'étude de la bioabsorption du resveratrol, un polyphénol du vin: interactions avec les protéines et captation par les cellules», XXVIe Congrès Mondial de la Vigne et du Vin (11-17 octobre 2001), Adelaïde, Australie (en prensa).
- Jeandet, P., Bessis, R. y Gautheron, B.: «The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages», *Am J Enol Vitic* 1991; 42: 41-46.
- Jeandet, P., Sbaghi, M., Bessis, R. et al.: «Production of the phytoalexin resveratrol by grapes as a response to Botrytis attack under natural conditions», *J Phytopathol* 1995; 143: 135-139.
- Kuhnle, G., Spencer, J.P., Chowrimootoo, G. et al.: «Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide», *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 272: 212-217.
- Langcake, P. y Pryce, R.J.: «A new class of phytoalexins from grapevines», *Experientia* 1977; 33: 151-152.
- Mgbonyebi, O.P., Russo, J. y Russo, I.H.: «Antiproliferative effect of synthetic resveratrol on human breast epithelium cells», *Int J Oncol* 1998; 12: 865-869.
- Ohyama, M., Tanaka, T., Ito, T. et al.: «Antitumor agents 200. Cytotoxicity of naturally occurring resveratrol oligomers and their acetate derivatives», *Bioorg Med Chem Lett* 1999; 9: 3057-3060.
- Rénaud, S.C., Guéguen, R., Schenker, J. y d'Houtaud, A.: «Alcohol and mortality in middle-aged men from Eastern France», *Epidemiology* 1998; 9: 184-188.
- Scalbert, A. y Williamson, G.: «Dietary intake and bioavailability of polyphenols», *J Nutr* 2000; 130: 2073S-2085S.
- Schneider, Y., Vincent, F., Duranton, B. et al.: «Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells», *Cancer Lett* 2000; 158: 85-91.
- Siemann, E.H. y Creasy, L.L.: «Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine», *Am J Enol Vitic* 1992; 43: 49-54.
- Soleas, G.J., Diamadis, E.P. y Goldberg, D.M.: «Resveratrol: a molecule whose time has come and gone?», *J Clin Lab Anal* 1997; 11: 287-313.
- St. Léger, A.S., Cockrane, A.L. y Moore, F.: «Ischaemic heart-disease and wine», *Lancet* 1979; 1: 1017-1020.
- Surh, Y.J.: «Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances», *Mutat Res* 1999; 428: 305-327.
- Tomera, J.F.: «Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption», *Trends Sci Tech* 1999; 10: 129-138.
- Turrens, J.F., Lariccia, J. y Gopal Nair, M.: «Resveratrol has no effect on lipoprotein profile and does not prevent peroxidation of serum lipid in normal rats», *Free Rad Res* 1997; 27: 557-562.

Fuente: ACE Revista Enológica
