

# Efecto radioprotector del ácido tánico y vinos de la var *Vitis vinifera* L. cv Tannat en *Saccharomyces cerevisiae*

## Radioprotective effect of tannic acid and wines of the *Vitis vinifera* L. cv Tannat on *Saccharomyces cerevisiae*

### Proteção contra radiação por vinho tinto var Tannat e ácido tânico em *Saccharomyces cerevisiae*

Verónica Sosa<sup>1</sup>, Valeria Contreras<sup>2</sup>, Lourdes Blanc<sup>1</sup>, Eduardo Dellacassa<sup>3</sup>, Francisco Carrau<sup>4</sup>, Nelson Bracesco<sup>1</sup>

#### RESUMEN

El vino tinto variedad *Vitis vinifera* L. cv Tannat en los últimos años ha tomado relevancia por su alta concentración de polifenoles, esto le podría significar un rol protector sobre el genoma disminuyendo la formación de lesiones oxidativas.

Los efectos a nivel celular de las radiaciones ionizantes en blancos como el ADN, componentes de cascadas de transducción de señales, resultan en lesiones letales, mutagénicas y recombinogénicas y en retardos en el ciclo celular.

Se utilizó como modelo eucariota poblaciones de *Saccharomyces cerevisiae* en fase exponencial expuestas a radiación gamma (200 Gy) en presencia, o ausencia, de vino Tannat (10 % v/v) o de ácido tánico (60 µg/mL). Se estimaron las probabilidades de sobrevivida y frecuencia mutagénica en distintas condiciones.

Las muestras celulares expuestas a radiación ionizante presentaron una fracción de sobrevivida de  $0.21 \pm 0.02$  mientras que en las muestras irradiadas en presencia de vino Tannat o de ácido tánico la fracción de sobrevivida fue de  $0.33 \pm 0.03$  y  $0.30 \pm 0.03$  respectivamente.

Se observó en las poblaciones irradiadas un aumento significativo de la probabilidad de mutagénesis. En el caso de los tratamientos combinados se observó que la frecuencia mutagénica fue significativamente menor (gamma Tannat: 33%, gamma ácido tánico: 45%).

Estos resultados preliminares podrían indicar radioprotección moderada por parte de los compuestos estudiados, efecto que podría explicarse por las interacciones redox del ácido tánico y polifenoles contenidos en el vino con los radicales libres formados por las radiaciones ionizantes, además de la activación de vías de reparación genómica.

**Palabras clave:** vino Tannat, ácido tánico, radicales libres, radiación ionizante, reparación genómica, radioprotección.

#### ABSTRACT

The red wine variety *Vitis vinifera* L. cv Tannat in recent years has gained relevance due to its high concentration of polyphenols, this could mean a protective role on the genome, reducing the formation of oxidative lesions.

The effects at the cellular level of ionizing radiation on targets such as DNA, components of signal transduction cascades, result in lethal, mutagenic and recombinogenic lesions and delays in the cell cycle.

Exponential phase populations of *Saccharomyces cerevisiae*

exposed to gamma radiation (200 Gy) in the presence or absence of Tannat wine (10% v / v) or tannic acid (60 µg / ml) were used as a eukaryotic model. The probabilities of survival and mutagenic frequency in different conditions were estimated.

Cellular samples exposed to ionizing radiation presented a survival fraction of  $0.21 \pm 0.02$ , while in samples irradiated in the presence of Tannat wine or tannic acid, the survival fraction was  $0.33 \pm 0.03$  and  $0.30 \pm 0.03$  respectively.

A significant increase in the probability of mutagenesis was observed in irradiated populations. In the case of the combined treatments, it was observed that the mutagenic frequency was significantly lower (Tannat gamma: 33%, Tannic acid gamma: 45%).

These preliminary results could indicate moderate radioprotection by the compounds studied, an effect that could be explained by the redox interactions of tannic acid and polyphenols contained in wine with the free radicals formed by ionizing radiation, in addition to the activation of genomic repair pathways.

**Keywords:** Tannat wine, tannic acid, free radicals, ionizing radiation, genomic repair, radioprotection.

#### RESUMO

A variedade de vinho tinto *Vitis vinifera* L. cv Tannat nos últimos anos tem ganhado relevância devido à sua alta concentração de polifenóis, o que pode significar um papel protetor do genoma, reduzindo a formação de lesões oxidativas.

Os efeitos no nível celular da radiação ionizante em alvos como o DNA, componentes de cascatas de transdução de sinal, resultam em lesões letais, mutagénicas e recombinogénicas e atrasos no ciclo celular.

Populações de fase exponencial de *Saccharomyces cerevisiae* expostas à radiação gama (200 Gy) na presença ou ausência de vinho Tannat (10% v / v) ou ácido tânico (60 µg / ml) foram utilizadas como modelo eucariótico. Foram estimadas as probabilidades de sobrevivência e frequência mutagénica em diferentes condições.

As amostras celulares expostas à radiação ionizante apresentaram uma fração de sobrevivência de  $0,21 \pm 0,02$ , enquanto nas amostras irradiadas na presença de vinho Tannat ou ácido tânico, a fração de sobrevivência foi de  $0,33 \pm 0,03$  e  $0,30 \pm 0,03$ , respectivamente.

Um aumento significativo na probabilidade de mutagénesis foi observado nas populações irradiadas. No caso dos tratamentos combinados, observou-se que a frequência mutagénica foi significativamente menor (Tannat gama: 33%, ácido tânico gama:

<sup>1</sup>Laboratorio de Radiobiología. Dpto. de Biofísica. Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo - Uruguay. Correo electrónico: vsosa@fmed.edu.uy, louverblanc@gmail.com, nbracesco@fmed.edu.uy ORCID 0000-0001-8071-7308. ORCID 0000-0002-7213-0029. ORCID 0000-0001-5560-6200.

<sup>2</sup>Departamento de Neuropsicología. Instituto de Neurología - Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela" Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo - Uruguay. Correo electrónico: contrevale@hotmail.com ORCID 0000-0002-3044-5372.

<sup>3</sup>Laboratorio de Biotecnología de Aromas. Dpto. de Química Orgánica. Facultad de Química, Universidad de la República Montevideo - Uruguay. Correo electrónico: edellac@fq.edu.uy ORCID 0000-0002-4764-4212.

<sup>4</sup>Área de Enología y Biotecnología de Fermentaciones. Dpto. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo - Uruguay. Correo electrónico: fcarrau@fq.edu.uy ORCID 0000-0001-7871-2284.

45%).

Esses resultados preliminares podem indicar radioproteção moderada pelos compostos estudados, efeito que pode ser explicado pelas interações redox do ácido tânico e polifenóis contidos no vinho com os radicais livres formados pela radiação ionizante, além da ativação de vias de reparo genômico.

**Palabras-chave:** vinho Tannat, ácido tânico, radicais livres, radiação ionizante, reparo genômico, radioproteção.

## INTRODUCCIÓN

La variedad *Vitis vinifera* L. cv Tannat, introducida en Uruguay en el siglo XIX y adaptada a los suelos y clima del país, es la variedad tinta con mayor implantación: ocupando en la actualidad casi el 25 % de la superficie total de viñedos<sup>(1)</sup>.

En general, los vinos obtenidos a partir de esta variedad presentan elevados contenidos de polifenoles totales, antocianos, catequinas y proantocianidinas, una intensidad colorante superior y mayores tonalidades rojas que los vinos elaborados a partir de Cabernet Sauvignon y Merlot<sup>(2-5)</sup>.

Los polifenoles presentan valores medios de 2 g/L, de los cuales 65-70% son polifenoles neutros (catequinas y epicatequinas) y aproximadamente 15%, corresponde a quercetina y mircetina. La fracción restante estaría integrada por los ácidos gálico y cafeico, todos ellos con una potente acción antioxidante<sup>(6, 7)</sup>.

El consumo de vino tinto se asocia con la disminución del riesgo coronario y prevención de enfermedades crónicas vinculadas al estrés oxidativo (arterioesclerosis, artritis, demencia, cáncer). Las propiedades beneficiosas del vino se relacionan con su capacidad antioxidante por su alto contenido de compuestos fenólicos. Se ha demostrado que algunos compuestos fenólicos presentes en el vino, como el resveratrol, ácido gálico y quercetina, tienen actividades contra alergias, inflamación, hipertensión, artritis y carcinógenos (8-10).

Los vinos tintos elaborados a partir de la variedad Tannat poseen un alto contenido de taninos y color intenso, características que son responsables de la originalidad de estos vinos<sup>(11, 12)</sup> (**Tabla 1, Figura 1**). La caracterización química y polifenólica del vino Tannat, muestra un alto contenido de proantocianidinas conjugadas con ácido gálico<sup>(5)</sup>, comparado con otras variedades tintas. Algunos trabajos sostienen que estos taninos tienen una actividad antioxidante mayor que los taninos no conjugados con ácido gálico<sup>(13)</sup> y, mediante estudios epidemiológicos, se asocian con regiones de poblaciones longevas.

En otros trabajos se indica la capacidad antioxidante in vitro de estos vinos, en modelos de membranas celulares de cerebro de rata<sup>(14)</sup> y utilizando plasma

**Tabla 1.** Contenido total de pigmentos (expresado en mg de malvidin-3-glucósido por litro de vino) y porcentajes de las principales familias de pigmentos encontradas en Tannat<sup>(11)</sup>

Contenido total de pigmentos (mg/L)	762.4
Antocianinas monoglucosidadas (%)	45.2
Acetil derivados de monoglucósidos (%)	27.0
Cumaroil derivados de monoglucósidos (%)	13.7
Cefeoil derivados de monoglucósidos (%)	0.4
Piranoantocianinas (%)	5.5
Productos de condensación directa (%)	1.3
Productos de condensación mediados por acetaldehído	1.1
Otros compuestos (%)	5.8

Fuente: elaboración propia.

### Pigmentos en vinos Tannat



**Figura 1.** Contenido en porcentajes de pigmentos en vinos Tannat<sup>(11)</sup>

Fuente: elaboración propia.

humano, se observó que el vino Tannat inhibe in vitro la oxidación de la LDL humana producida por tres sistemas diferentes: inducción por Cu<sup>2+</sup>, peroxinitrito y lipoperoxidasa<sup>(15, 16)</sup>.

En estudios in vivo, se obtuvieron resultados que muestran una disminución significativa de las dobles roturas de ADN (DSB) inducidas por el peróxido de hidrógeno en presencia de vino Tannat y un aumento de la sobrevivencia celular, pudiéndose interpretar estos resultados sobre la base de dos mecanismos no excluyentes: protección de blancos críticos involucrados en las cascadas redox a nivel intracelular y estímulo de la reparación de ADN<sup>(17)</sup>.

El efecto protector del vino Tannat podría darse a distintos niveles por su capacidad de reducir o de captar las especies reactivas del oxígeno. Los radicales hidroxilos generados por la reacción de Haber-Weiss (a partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>- y Fe<sup>3+</sup>) podrían ser parte de un proceso general de óxido-reducción, donde el activador transcripcional Yap1 –en humanos AP (Jun-Fos)–, la tioredoxina, el NADPH, el GSH. En nuestro caso, derivados fenólicos contenidos en el vino Tannat, podrían actuar manteniendo cierto estado de óxido-reducción protegiendo blancos críticos (ej. ADN nuclear, membrana mitocondrial, enzimas de reparación) involucrados en la muerte celular y en la

inestabilidad genómica por lesiones oxidativas<sup>(18, 19)</sup>.

El ácido tánico (AT), es un compuesto polifenólico de bajo peso molecular que forma parte de los taninos hidrolizables. Estos compuestos son moléculas polihidroxiladas (polifenoles) que forman complejos insolubles con proteínas y polisacáridos y su acción es responsable de la astringencia de los alimentos ricos en taninos<sup>(20)</sup>.

Se ha reportado que el tratamiento con AT en tejidos cerebrales de rata reduce estadísticamente los niveles de malondialdehído en un grupo que recibió glutamato monosódico y AT en comparación con los valores correspondientes del grupo de control<sup>(21)</sup>. A su vez, las actividades de superóxido dismutasa (SOD) en hemolizados de sangre del grupo tratado con glutamato monosódico y AT aumentan en comparación con los valores correspondientes para el grupo sólo tratado con glutamato monosódico. Adicionalmente, el pretratamiento con AT reduce los niveles de glucosa en sangre de los animales en comparación con los niveles del grupo tratado con glutamato monosódico como único agente. Estos resultados muestran que el pretratamiento con AT en ratas adultas disminuye los niveles de glucosa en sangre y el estrés oxidativo<sup>(21)</sup>.

Otro estudio sugiere que el ácido tánico modula las vías de transductores de señales y activadores de la transcripción como EGF-R/Jak2/STAT1/3 y P38/STAT1/p21Waf1/Cip1 induciendo la detención del ciclo en G1 y la apoptosis intrínseca en carcinomas de mama<sup>(21, 22)</sup>.

También se observó una disminución en la frecuencia de revertantes inducidos por N-metil-N-nitrosourea (MNU) y N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) en la cepa TA100 de *Salmonella typhimurium* en presencia de los ácidos gálico y tánico<sup>(23)</sup>.

Otros autores observaron que el AT entre otros taninos mejoraron la resistencia de linfocitos a las roturas de la cadena de ADN inducidas por mutágenos de alimentos y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in vitro<sup>(24)</sup>. También en matrices alimentarias se demostró que el AT es un componente antioxidante natural eficaz que puede ser utilizado como agente conservante de alimentos o nutraceuticos<sup>(25)</sup>.

Ciertos agentes físicos como las radiaciones ionizantes (RI) pueden alterar la proliferación celular, fundamentalmente por sus efectos sobre el ADN, membranas y componentes de cascadas de transducción de señales, lo que resulta en retardos en el ciclo celular, lesiones letales (necrosis, apoptosis), mutagénicas y recombinogénicas<sup>(26)</sup>. Los daños moleculares son provocados principalmente por las reacciones de óxido-reducción de los radicales libres o especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Estos daños son el sustrato de enzimas de reparación y/o mecanismos de remoción de radicales libres<sup>(27)</sup>.

A partir de estos antecedentes, la hipótesis que se

plantea implica que ciertos compuestos presentes en el vino Tannat, aislados o en combinación, actúan como radioprotectores a nivel celular y molecular. Por lo tanto, en el presente trabajo se presentan los resultados del estudio sobre el daño producido por radiaciones ionizantes y la inducción de eventos potencialmente letales y mutagénicos en poblaciones celulares, así como su posible disminución en presencia de vino Tannat o componentes de este como el ácido tánico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Cepa de levadura y condiciones de crecimiento:** Se utilizaron poblaciones celulares de levaduras de la cepa haploide SC7K lys2-3, cultivadas en medio nutriente líquido YPD (1% extracto de levadura, 2% peptona y 2% dextrosa) a 30°C y bajo agitación continua hasta alcanzar la fase exponencial de crecimiento (N=1x10<sup>7</sup> cel/mL).

### AGENTE FÍSICO

**Gamma cell:** Nordion 220, tasa de dosis 13,4 KGy/h. Se realizó la dosimetría con un dosímetro de polimetil metacrilato Harwell Amber S 3042.

### AGENTES NATURALES

**-Vino Tinto *Vitis vinifera* cv. Tannat (VT).** Se ha demostrado, para los vinos de la variedad Tannat, que el proceso de envejecimiento estabiliza los cambios producidos en las principales familias de pigmentos (antocianinas, piranoantocianinas, productos de condensación flavanol-antocianina directa y mediada por acetaldehído)<sup>(28)</sup>. En consecuencia, se utilizaron muestras de vino tinto Tannat de la Región Cerro Chapeu, cosechado en 1997 (Lote L10832289) elaborado por Bodegas Carrau.

**-Ácido tánico:** 600 µg/mL (Merck, Darmstadt, Germany).

## TRATAMIENTOS

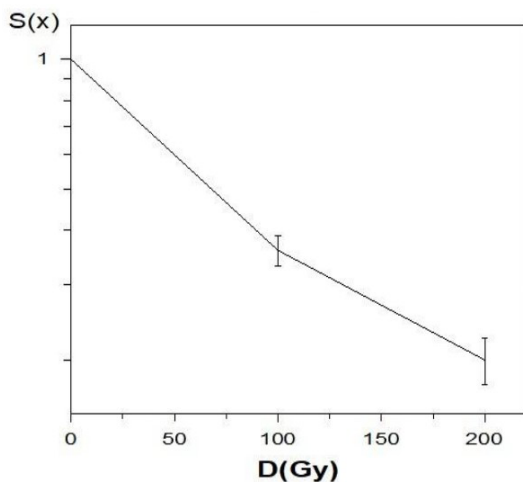
### TRATAMIENTOS SIMPLES Y COMBINADOS

A partir de los resultados obtenidos en curvas dosis-efecto de rayos gamma (50, 100 y 200 Gy), realizadas en nuestro laboratorio y considerando resultados publicados con dosis menores que no mostraron diferencias significativas; se seleccionó la dosis de radiación gamma de 200 Gy para los tratamientos simples y combinados (**Tabla 2, Figura 2**)<sup>(29, 30)</sup>.

**Tabla 2.** Muestra la fracción de sobrevivencia ( $S(x)$ ) en función de dosis crecientes de radiación y sus correspondientes intervalos de confianza<sup>(30)</sup>

Dosis Grey (Gy)	0	100	200
Sobrevivencia $S(x)$	$1.00 \pm 0.01$	$0.36 \pm 0.03$	$0.21 \pm 0.02$

Fuente: elaboración propia.



**Figura 2.** Curva dosis efecto: Fracción de sobrevivencia ( $S(x)$ ) a diferentes dosis de rayos gamma (50, 100 y 200 Gy)<sup>(30)</sup>

Fuente: elaboración propia.

Se partió de cultivos en fase exponencial de crecimiento con ( $N=1.2 \times 10^7$  cel/mL) los que fueron divididos en varios frascos y sometidos a tratamientos simples y sus combinaciones.

Tratamientos simples (un solo agente): rayos gamma dosis absorbida 200 Gy; AT 600  $\mu\text{g/mL}$  (10% v/v); vino Tannat (10% v/v) y un respectivo control no tratado.

Tratamientos combinados (2 agentes): diez minutos previos a la irradiación se trataron las alícuotas de células en medio nutriente con: AT y vino Tannat a las concentraciones antes señaladas para luego someterlas a una dosis de radiación gamma de 200 Gy. Las fracciones celulares tratadas, pero no irradiadas, y la fracción sin ningún tratamiento se utilizaron como controles paralelos.

Sobrevivencia y Mutagénesis: Para el estudio de los efectos letales se determinó la sobrevivencia a los distintos tratamientos en medio nutriente YPDA (YPD + 2% agar) y se calculó la fracción sobreviviente según:

$$S(x,y) = N_s/N_o$$

donde,  $N_s$ : número de células sobrevivientes capaces de generar clones por mL;  $N_o$ : número total de células tratadas por mL;  $x$ : dosis absorbida de rayos gamma,  $y$ : dosis de los productos naturales<sup>(29, 31)</sup>.

Para determinar la frecuencia mutagénica, las muestras de poblaciones celulares de levaduras, cepa SC7K *lys2-3*, con una concentración de 108 cel/mL se sembraron en placas de Petri (200  $\mu\text{L}$ ) conteniendo medio de selección OM (dextrosa 2%, base nitrogenada de levadura 0.67%, agar 2%) realizándose el ensayo por quintuplicado<sup>(29, 32)</sup>. Las placas se incubaron a 30°C durante 21 días y luego se realizó el conteo de

las colonias correspondientes a las revertantes de auxotrofia a prototrofia *lys*  $LYS^{(33, 34)}$ .

Se calculó la frecuencia de mutación  $M(x,y)$  para cada dosis y sus combinaciones según

$$M(x,y) = N_m/N_s$$

siendo:

$N_o$ : número de células tratadas por mL,

$N_m$ : número de mutantes por mL,

$x$ : dosis absorbida de rayos gamma,

$y$ : dosis de los productos naturales<sup>(31, 35, 36)</sup>.

## MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico de los resultados obtenidos para la fracción de sobrevivencia se realizó según la distribución binomial, considerando resultados significativos para  $p < 0.05$ . Para el análisis de frecuencia mutagénica se utilizó la distribución de Poisson.

## RESULTADOS

Con respecto a la fracción de sobrevivencia no se observó variación de las muestras tratadas con los agentes naturales como único agente en comparación con la muestra control.

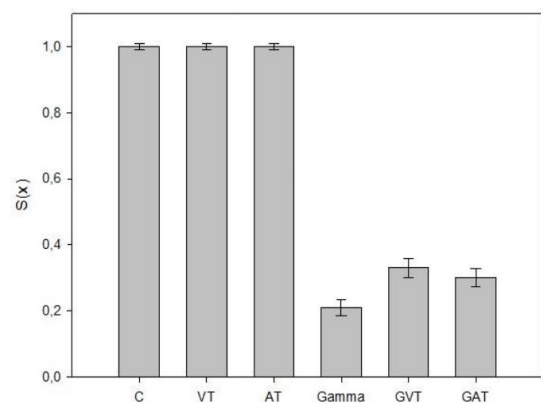
En poblaciones tratadas simultáneamente con VT y rayos gamma (R) así como con AT y R se observó un aumento significativo en la probabilidad de sobrevivencia ( $0.33 \pm 0.03$  y  $0.30 \pm 0.03$  respectivamente) comparada con la misma dosis de R actuando como único agente.

(Tabla 3, Figura 3).

**Tabla 3.** Muestra la Fracción de sobrevivencia ( $S(x)$ ) con sus correspondientes intervalos de confianza en tratamientos simples: Vino tinto (VT) y ácido tánico (AT) y combinados: Radiación Gamma y Vino tinto (+VT) y Radiación Gamma y ácido tánico (+AT).

Muestra	C	VT	AT	$\gamma$	$\gamma+VT$	$\gamma+AT$
$S(x)$	1,00	1,00	1,00	0,21	0,33	0,30
IC	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$

Fuente: elaboración propia.



**Figura 3.** Diagrama de barras donde se representa la fracción de sobrevivencia ( $S(x)$ ) con sus correspondientes intervalos de confianza en control y muestras tratadas con diferentes agentes. C: control; VT: vino tinto; AT: ácido tánico; G: Radiación gamma.

Fuente: elaboración propia.

Con relación a la frecuencia mutagénica, no se observaron diferencias significativas de la frecuencia mutagénica de los controles VT y AT con respecto a la frecuencia de mutación espontánea.

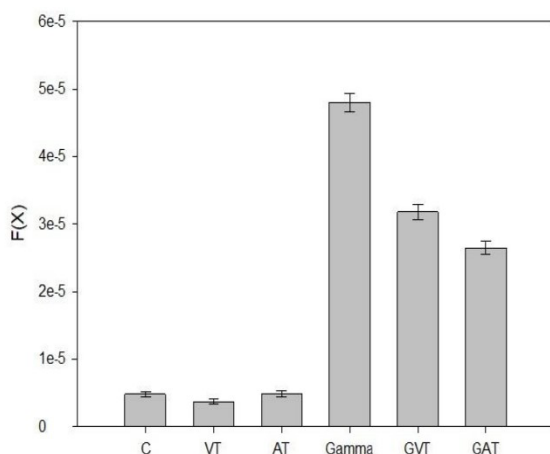
En las poblaciones tratadas con R (200 Gy) como único agente, se observó un aumento significativo de la probabilidad de mutagénesis 12 veces mayor que la frecuencia espontánea.

Por otra parte, en las poblaciones tratadas simultáneamente con R y VT, así como con R y AT, se observó que la frecuencia mutagénica fue significativamente menor con respecto a las tratadas con R como único agente (33%, 45% respectivamente) (Tabla 4, Figura 4).

**Tabla 4.** Muestra la Frecuencia mutagénica (FM) con sus correspondientes intervalos de confianza en tratamientos simples: Vino tinto (VT) y ácido tánico (AT) y combinados: Radiación Gamma y Vino tinto (+VT) y Radiación Gamma y ácido tánico (+AT).

Muestra	C	VT	AT	$\gamma$	$\gamma$ +VT	$\gamma$ +AT
FM	4.00e-6	3.70e-6	4.90 e-6	4.80e-5	3.20e-5	2.60e-5
IC	$\pm 3.99e-7$	$\pm 3.86e-7$	$\pm 4.42e-7$	$\pm 1.37e-6$	$\pm 1.13e-6$	$\pm 1.02e-6$

Fuente: elaboración propia.



**Figura 4.** Diagrama de barras donde se representa la frecuencia mutagénica  $M(x, y)$  con sus correspondientes intervalos de confianza en control y muestras tratadas con diferentes agentes. C: control; VT: vino tinto; AT: ácido tánico.

Fuente: elaboración propia.

## DISCUSIÓN

De acuerdo a los objetivos planteados, se estudió el posible efecto protector frente a la radiación ionizante gamma de un producto natural y uno de sus componentes: el vino tinto (derivado de la *Vitis vinifera* Cv. Tannat: Vt) y ácido tánico. Se estimaron las probabilidades de sobrevivencia y el potencial mutagénico de los distintos agentes. Para la definición de la dosis de radiación gamma fue utilizada curva y tabla de datos obtenidas en nuestro laboratorio (Tabla 2 y Figura 2)<sup>(30)</sup>. Este punto si bien puede ser considerado una debilidad desde el punto de vista metodológico se basa en la existencia de publicaciones con dosis

subletales que no mostraron diferencias significativas con la utilizada en este trabajo<sup>(29, 30)</sup>.

Cuando se analizaron los tratamientos combinados (ver Materiales y Métodos), se observó un aumento en la probabilidad de sobrevivencia en comparación con los tratamientos con rayos gamma como único agente (Figura 3), este dato podría indicar la existencia de uno o más mecanismos de defensa celular, ya sea por la capacidad antioxidante, de atrapamiento de radicales libres, y/o por acción indirecta sobre las vías de reparación del ADN de algún o algunos componentes presentes en los productos utilizados. Estos resultados van en línea con otros obtenidos en nuestro laboratorio y con resultados publicados por otros autores<sup>(15, 16, 17)</sup>.

En relación a la probabilidad de mutación, la exposición de las poblaciones celulares a radiación gamma (200 Gy), resultó en un aumento con respecto a la frecuencia mutagénica espontánea y estas modificaciones o lesiones moleculares se evidenciarían al disminuir la capacidad de defensa antioxidante a distintos niveles y en distintos blancos moleculares. Se expresarían entonces los sistemas de reparación con error, ya sea de recombinación no homóloga y/o postreplicativa, de bases mal apareadas, ambas interrelacionadas y dependientes de la ubiquitinación de histonas (gen RAD6).

En conjunto, estos resultados del estudio de la protección por ácido tánico y vino Tannat sumado a datos proporcionados por la bibliografía nos permiten plantear, la posible existencia de uno o más componentes del vino Tannat actuando solos o interactuando con otras moléculas para contrarrestar los efectos potencialmente letales y mutagénicos de la radiación gamma. Estos componentes con alta probabilidad serían polifenoles como el ácido tánico, el resveratrol, la rutina, y vitaminas como la nicotinamida, actuando como protectores a nivel del ADN y de otros blancos involucrados en la reparación y protección del ADN, ya sea por sus efectos antioxidantes, de atrapamiento de radicales y/o por modulación de mecanismos en red de muerte celular y mutagénesis. Frente al estrés oxidativo diferentes tipos de vías de reparación del ADN (ej. escisional, recombinacional y postreplicativa) podrían ser activadas (daño oxidativo del ADN, genes de respuesta al daño en el ADN).

La radioprotección presentada por los compuestos estudiados, podría explicarse entonces por interacciones de los polifenoles con cascadas de oxidoreducción perturbadas por la radiación gamma a nivel de los compartimientos extracelular e intracelulares (mitocondrias, núcleo), además de activación por cascadas de señalización redox de puntos nodales de control del ciclo celular los que interactúan modulando recombinación homóloga y unión de extremos no homólogos (HR y NHEJ) que determinan

la reparación genómica sobre roturas simples y dobles del ADN (ej. Mec1/Tel1/hATR,hATM)<sup>(47, 30, 37, 38)</sup>. En caso de daño oxidativo a nivel de bases actúan además los sistemas de reparación BER (reparación por escisión de bases), MMR (reparación de bases mal apareadas) y postreplicativo que pueden modularse por mecanismos redox<sup>(39)</sup>. Los resultados se interpretaron en base al modelo de óxido reducción polivalente de Wilson<sup>(40)</sup>, donde los polifenoles interactúan junto con grupos sulfhidrilo (ej.: tioles de la cisteína y glutatión) como interruptores de las cascadas de óxido reducción a nivel intracelular y extracelular. En este contexto también el etanol a las concentraciones presentes en VT podría actuar como un factor de defensa celular<sup>(41)</sup>.

En suma, se trata de un trabajo que indica el comienzo de una investigación donde se deberá analizar cada componente de estos productos naturales por separado y estudiar su posible efecto sinérgico o antagónico para determinar su rol como posible radioprotector.

## CONCLUSIONES

Los resultados preliminares que se reportan en este trabajo podrían indicar que los vinos de la variedad *Vitis vinifera* cv Tannat y el ácido tánico poseen efectos protectores y radioprotectores en las condiciones experimentales utilizadas.

Este efecto protector podría explicarse por la presencia de compuestos capaces de producir interacciones de tipo redox. La interacción entre el ácido tánico y polifenoles contenidos en el vino, con los radicales libres formados por las radiaciones ionizantes podrían además activar cascadas de transducción a nivel de vías de reparación genómica y control del ciclo celular.

La protección contra el daño producido por las radiaciones ionizantes sobre el ADN y los sistemas de reparación involucrados en el procesamiento del mismo son temas importantes con respecto a la salud humana. Es así que sería de interés continuar con más investigaciones para poder esclarecer los mecanismos por los cuales el vino Tannat y el ácido tánico presentan efecto radioprotector.

### Agradecimientos:

Agradecemos a: PROINBIO, CSIC - UR, ANII por el apoyo financiero.

## REFERENCIAS

1. **Disegna E, Ferrari V, Coniberti A.** Estudio comparativo de clones comerciales de Tannat (*Vitis vinifera* L.) en el sur del Uruguay. *Agrociencia Uruguay*. 2017;21(1):33-42.
2. **González-Neves G, Barreiro L, Gil G, Franco J, Ferrer M, Carbonneau A, Moutounet M.** Anthocyanic composition of Tannat grapes from the South region of Uruguay. *Anal Chim Acta*. 2004a;513(1):197-202.
3. **González-Neves G, Charamelo D, Balado J, Barreiro L, Boichicchio R, Gatto G, et al.** Phenolic potential of Tannat Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Anal Chim Acta*. 2004b;513(1):191-196.
4. **Boido E, Lloret A, Medina K, Farina L, Carrau F, Versini G, et al.** Aroma composition of *Vitis vinifera* Cv. Tannat: the typical red wine from Uruguay. *J Agric Food Chem*. 2003;51(18):5408-13.
5. **Carrau F, Boido E, Gaggero C, Medina K, Disegna E, Dellacassa E.** *Vitis vinifera* Tannat, chemical characterization and functional properties. Ten years of research. In: Filip R (Ed.). *Multidisciplinary Approaches on Food Science and Nutrition for the XXI Century*. Kerala, India: Transworld Research Network. 2011, p. 53-71.
6. **Leikert JF, Räthel TR, Wohlfart P, Cheynier V, Vollmar AM, Dirsch VM.** Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation*. 2002;106(13):1614-1617.
7. **López-Vélez M, Martínez-Martínez F, Del Valle-Ribes C.** The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2003;43(3):233-44.
8. **Mohamed Saleem TS, Darbar Basha S.** Red wine: A drink to your heart. *J Cardiovasc Dis Res*. 2010;1(4):171-176.
9. **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;24:6-27.
10. **Guilford JM, Pezzuto JM.** Wine and health: A review. *Am J Enol Vitic*. 2011;62(4):471-486.
11. **Alcalde-Eon C, Boido E, Carrau F, Dellacassa E, Rivas-Gonzalo JC.** Pigment profiles in monovarietal wines produced in Uruguay. *Am J Enol Vitic*. 2006;57(4):449-459.
12. **Boido E, Alcalde-Eon C, Carrau F, Dellacassa E, Rivas-Gonzalo JC.** Aging effect on the pigment composition and color of *Vitis vinifera* L. Cv. Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. *J Agric Food Chem*. 2006;54(18):6692-6704.
13. **Corder R, Mullen W, Khan NQ, Marks SC, Wood EG, Carrier MJ, et al.** Red wine procyanidins and vascular health. *Nature*. 2006;444(7119):566.
14. **Echeverry C, Blasina F, Arredondo F, Ferreira M, Abin-Carriquiry JA, Vasquez L, et al.** Cytoprotection by neutral fraction of Tannat red wine against oxidative stress-induced cell death. *J Agric Food Chem*. 2004;52(24):7395-7399.
15. **Gugliucci A, Carrau F, Menini T, Gioia O, Lugano C, Boido E, et al.** Efecto de diferentes tipos de vinificación en el potencial de inhibición in vitro de la oxidación de las LDL humanas de vinos Tannat. Resúmenes del VIII Congreso Latinoamericano de Vitivinicultura y Enología; 2001; Montevideo, Uruguay.
16. **Rice-Evans CA, Gopinathan V.** Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates. *Essays Biochem*. 1995;29:39-63.
17. **Bracesco N, Salvo VA, Rocha S, Dell M, Carrau F, Nunes E.** Exploración del efecto protector frente a radicales libres de derivados de la uva (*Vitis vinifera* L. Cv.Tannat) en *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev Argent Microbiol*. 2007;39(1):4-10.
18. **Kuge S, Arita M, Murayama A, Maeta K, Izawa S, Inoue Y, et al.** Regulation of the yeast Yap1p nuclear export signal is mediated by redox signal-induced reversible disulfide bond-formation. *Mol Cell Biol*. 2001;21(18):6139-6150.
19. **Kuge S, Jones N.** YAP1 dependent activation of TRX2 is essential for the response of *Saccharomyces cerevisiae* to oxidative stress by hydroperoxides. *EMBO J*. 1994;13:655-664.
20. **Ferrer Pastor P.** Efectos anticancerosos de polifenoles naturales: pterostilbeno y quercetina. *Universitat de València. Servei de Publicacions*. 2008, p. 302.
21. **Ugur Calis I, Turgut Cosan D, Saydam F, Kerem Kolac U, Soyocak**

- A, Kurt H, et al. The Effects of monosodium glutamate and tannic acid on adult rats. Iran Red Crescent Med J. 2011;18(10):e37912.
22. Darvin P, Joung YH, Kang DY, Sp N, Byun HJ, Hwang TS, et al. Tannic acid inhibits EGFR/STAT1/3 and enhances p38/STAT1 signalling axis in breast cancer cells. J Cell Mol Med. 2016;21(4):720-734.
23. Gichner T, Pospíšil F, Velemínský J, Volkeová V, Volke J. Two types of antimutagenic effects of gallic and tannic acids towards N-nitroso-compounds-induced mutagenicity in the Ames Salmonella assay. Folia Microbiol. 1987;32(1):55-62.
24. Wu LT, Chu CC, Chung JG, Chen C-H, Hsu L-S, Liu J-K, et al. Effects of tannic acid and its related compounds on food mutagens or hydrogen peroxide-induced DNA strands breaks in human lymphocytes. Mutat Res. 2004;556(1-2):75-82.
25. Ilhami Gu" lc, Zu" beyr Huyut, Mahfuz Elmastas, Hassan Y. Aboul-Enein. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. Arab J Chem. 2010;3(1):43-53.
26. Nunes E, Gelos U. Proliferación celular y su perturbación, aspectos cuantitativos y moleculares. Oficina del libro AEM. 2006.
27. Lillo O. Biofísica de Radiaciones Ionizantes. Aplicaciones Médicas. Oficina del libro FEFMUR. 2012
28. Boido E, García Marino M, Dellacassa E, Carrau F, Rivas Gonzalo JC, Escribano Bailon MT. Characterisation and evolution of grape polyphenol profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat during ripening and vinification. Austr J Grape Wine Res. 2011;17(3):383-393.
29. Lillo O, Bracesco N, Nunes E. Lethal and mutagenic interactions between  $\gamma$ -rays, cisplatin and etoposide at the cellular and molecular levels. Int J Radiat Biol. 2011;87(2):222-230
30. Bracesco N, Sosa V, Blanc L, Contreras V, Candreva EC, Salvo VA, et al. Analysis of radioprotection and antimutagenic effects of *Ilex paraguariensis* infusion and its component rutin. Braz J Med Biol Res. 2018;51(9):e7404.
31. Haynes RH. Formal, empirical and mechanistic equations in cellular radiation biology. In Quantitative Mathematical models in radiation biology. Kiefer, Springer-Verlag Heidelberg. Berlin, Alemania 1988, p. 181-189.
32. Rose M, Winston F, Hieter P. Methods in yeast genetics, A laboratory course manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA. 1990.
33. Bracesco N, Salvo VA, Nunes E. Paraquat - induced DNA damage is counteracted by alpha - tocopherol. Progr Biophys Mol Biol. 1996;65:83.
34. Bracesco N, Dell M, Rocha A, Behtash S, Menini T, Gugliucci A, Nunes E. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguariensis*: prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. J Altern Complement Med. 2003;9:379-387.
35. Severgnini A, Lillo O, Nunes E. Analysis of bleomycin-induced mutagenic function related to the *PSO4* (=XS9) gene of *Saccharomyces cerevisiae*. Environ Mol Mutagen. 1991;18(2):102-106.
36. Ager DD, Haynes RH. Quantitative aspects of the interactive killing effects between X rays and other mutagens in microorganisms. Radiat Res. 1988;115(1):124-140.
37. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Cell Signal. 2007;19(9):1807-1819.
38. Nunes E, Candreva E, Bracesco N, Sanchez A, Dell M. HDF1y RAD17 genes are involved in DN double-strand break repair in stationary phase *Saccharomyces cerevisiae*. Journl Biol Phys. 34(1-2): 63-71. Doi: 10.1007/S10867-008-9105-0. 2008
39. Curtin N. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. Nat Rev Cancer. 2012;12(12):801-817.
40. Willson R.I. Free radical protection: Why vitamin E not C,  $\beta$ -carotene or glutathione? In: Ciba Foundation Symposium 101 Pitman London. 1983, p. 19-37.
41. Bisson L, Butzke CH, and Ebeler S. The role of moderate ethanol

consumption in health and human nutrition. Am J Enol Vitic. 1995;46:449- 462.

#### Nota del autor:

Los autores son responsables por el contenido y la redacción del documento y no reportan conflictos de interés.

#### Nota de contribución:

Verónica Sosa: Concepción y diseño del estudio, realización de los experimentos, análisis e interpretación de los resultados, análisis estadísticos de los datos, elaboración de un borrador del manuscrito, escritura del manuscrito.

Valeria Contreras: Concepción y diseño del estudio, realización de los experimentos, análisis e interpretación de los resultados, análisis estadísticos de los datos.

Lourdes Blanc: Concepción y diseño del estudio.

Eduardo Dellacassa: Análisis e interpretación de los datos o resultados, elaboración de un borrador del manuscrito, escritura del manuscrito.

Francisco Carrau: Elaboración de un borrador del manuscrito, escritura del manuscrito.

Nelson Bracesco: Concepción y diseño del estudio, análisis e interpretación de los resultados, elaboración de un borrador del manuscrito, escritura del manuscrito, supervisión del trabajo.

#### Nota del Editor:

El presente manuscrito estuvo a cargo y fue aprobado para su publicación por Silvia Chifflet.

Recibido: 30/07/2020

Aceptado: 05/04/2021