

Διερεύνηση των βοστρύχων αμπέλου (*Vitis vinifera*) ως πλούσιας πηγής βιοδραστικών πολυφαινολών και μελέτη της βιολογικής δράσης των εκχυλισμάτων τους

Άννα Αποστόλου¹, Δημήτριος Στάγκος², Δημήτριος Κουρέτας² και Σέρκος Χαρουτουγιάν¹

¹ Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Τμήμα, Εργαστήριο Χημείας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα

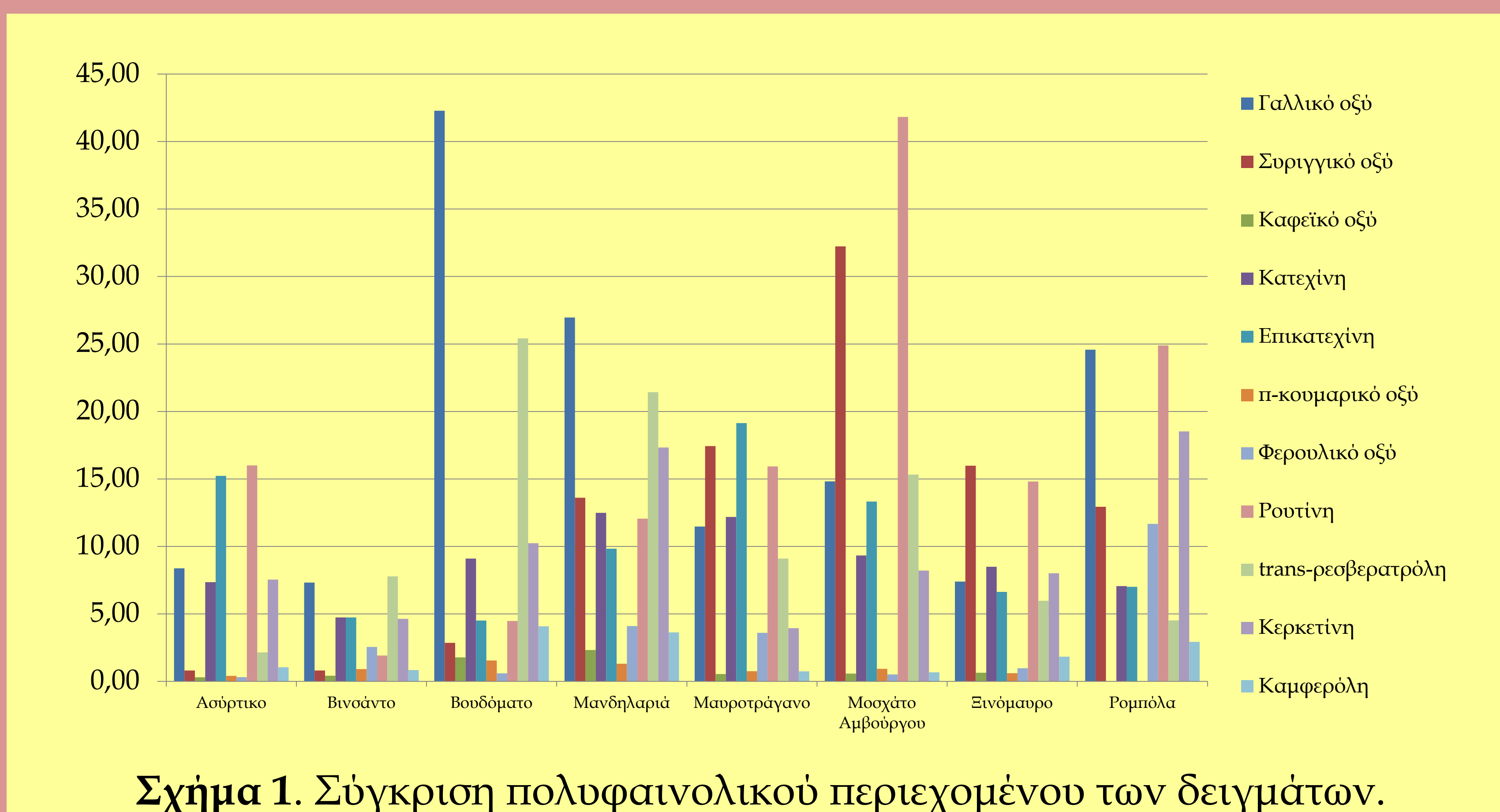
² Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πλούτωνος 26 & Αιόλου, Λάρισα

Εισαγωγή

Η αξιοσημείωτη βιοδραστικότητα των πολυφαινολών που εμπεριέχονται στα αμπελοκομικά προϊόντα έχουν αποτελέσει κινητήριο έναυσμα για τη λεπτομερή μελέτη τους. Τα μόρια αυτά έχει βρεθεί ότι επιδεικνύουν ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ αρκετές από τις πολυφαινόλες αυτές (*trans*-ρεσβερατρόλη, κατεχίνη, κερκετίνη, γαλλικό οξύ κλπ) διαθέτουν και σημαντικές αντιφλεγμονώδεις, αντιβακτηριακές, φυτοοιστρογονικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες. Από αυτά, η φυτοαλεξίνη *trans*-ρεσβερατρόλη έχει αποδειχτεί ότι διαθέτει και ισχυρή αντικαρκινική δράση. Σημαντικό ενδιαφέρον έχει προσελκύσει η μελέτη-αξιοποίηση των υποπροϊόντων της οινοποίησης (στέμφυλα, γίγαρτα και βόστρυχοι) που αντιστοιχούν στο 15% των οινοποιούμενων σταφυλιών. Στόχος της μελέτης αυτής είναι η αξιοποίηση των βοστρύχων ως πλούσιας πηγής βιοδραστικών πολυφαινολών. Στα πλαίσια αυτό, προσδιορίστηκε το πολυφαινολικό περιεχόμενο μιας σειράς εγχώριων ποικιλιών σταφυλιών (*Vitis vinifera*) και αξιολογήθηκε η βιοδραστικότητα των εκχυλισμάτων τους.

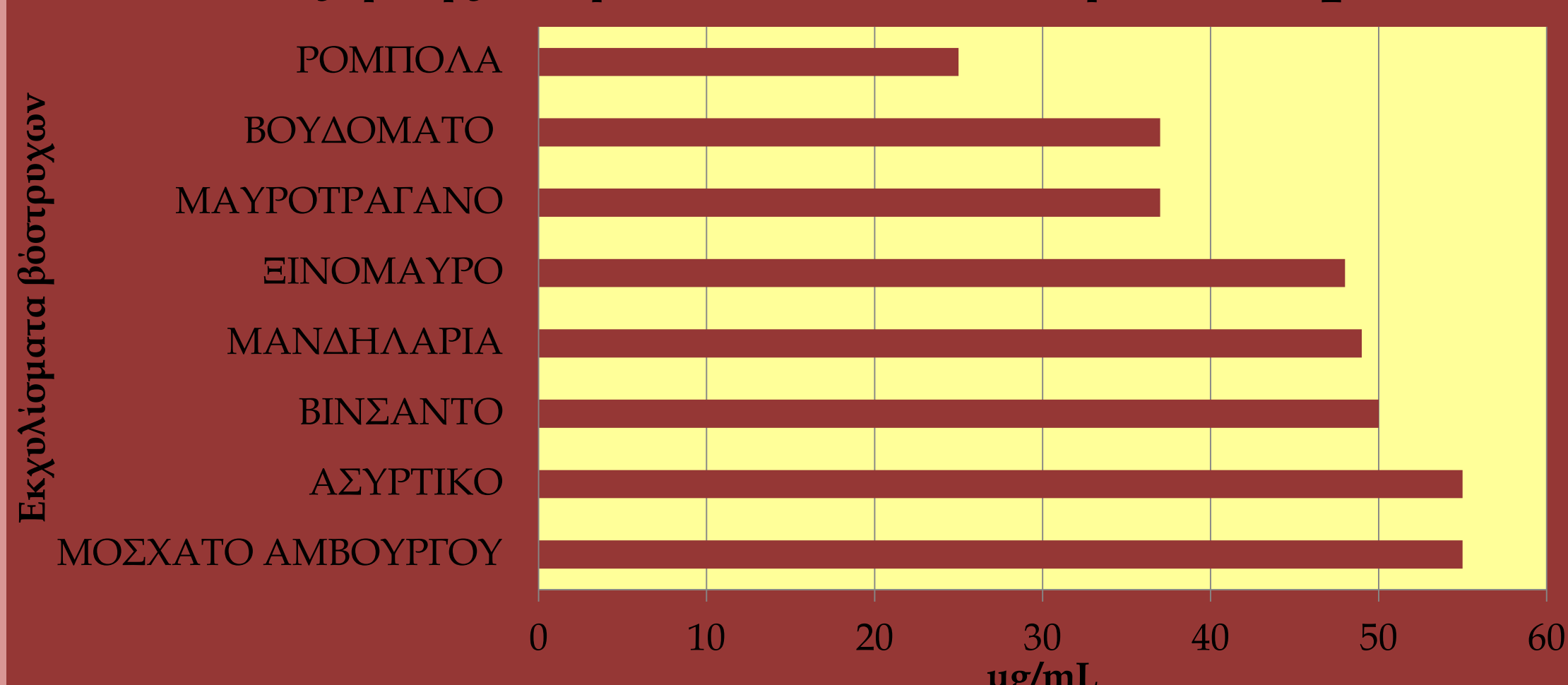
Μεθοδολογία

Τα δείγματα των βοστρύχων που μελετήθηκαν ήταν των οινοποιητικών περιόδων 2008 και 2009. Αυτά ξηράθηκαν στον ατμοσφαιρικό αέρα και στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου απουσία φωτός. Όλες οι εργαστηριακές διαδικασίες έγιναν απουσία φωτός και θερμοκρασία κάτω των 35°C. Έκαστο δείγμα βοστρύχων τεμαχίστηκε-κονιοποιήθηκε και ένα μέρος του (50g) εκχυλίστηκε. Οι προσδιορισμοί πραγματοποιήθηκαν με HPLC σε στήλη C18 ενώ ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε μίγμα ρυθμιστικού διαλύματος CH₃COOH/CH₃COONa (pH 2,7) και ακετονιτριλίου, με ροή διαλύτη 1,0 mL/min και μέτρηση της απορρόφησης σε 280 & 360 nm ή 320 nm.

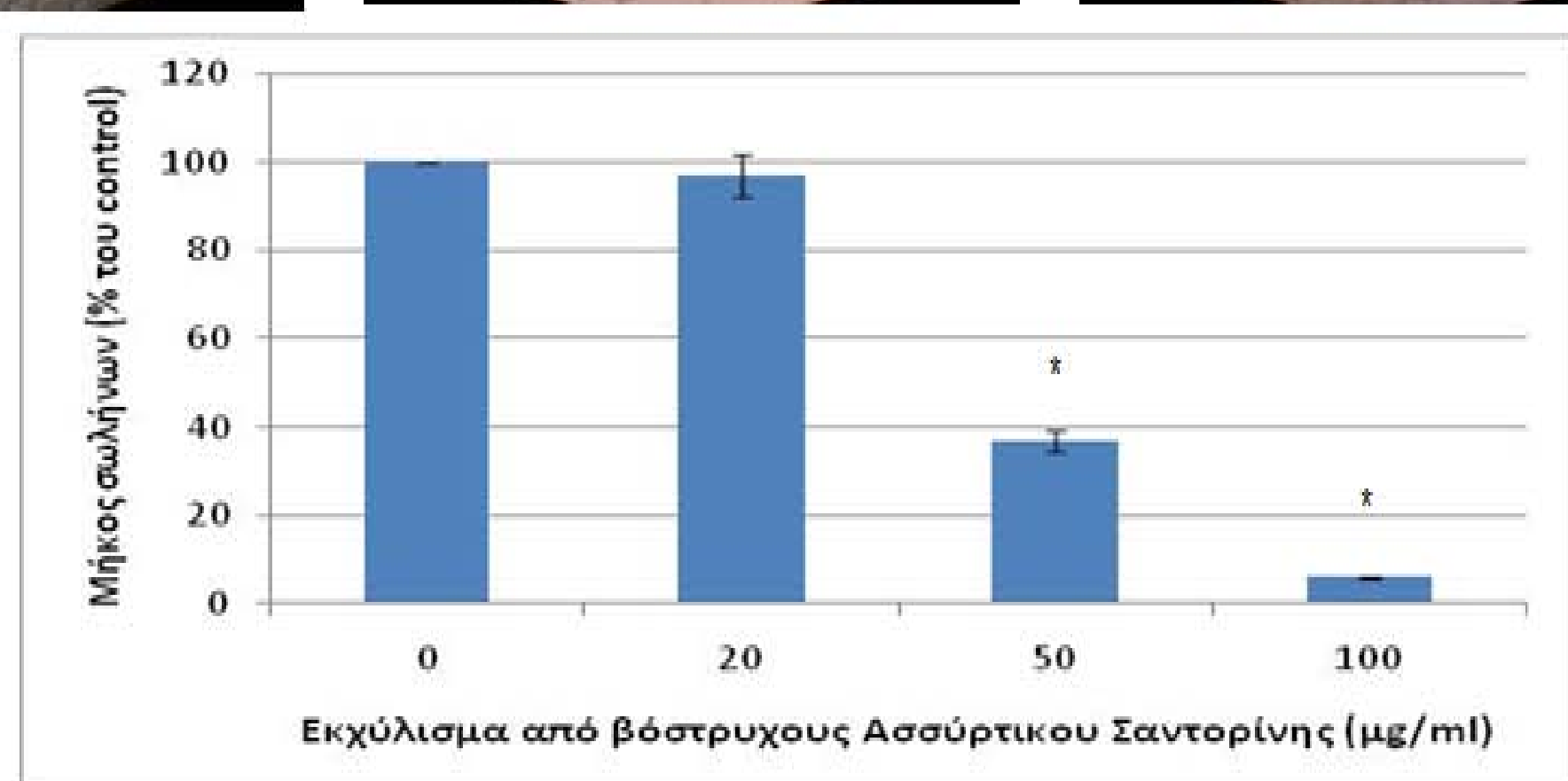
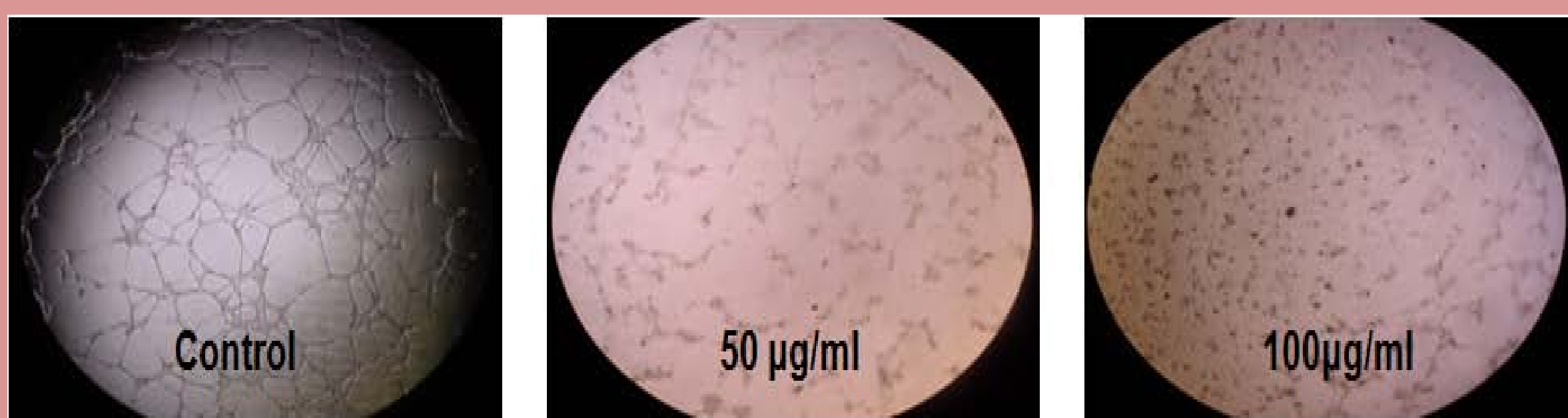


Σχήμα 1. Σύγκριση πολυφαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων.

Αναστολή εκχυλισμάτων κυτταρικής αύξησης καρκινικών κυττάρων HepG2



Σχήμα 2. IC₅₀ (µg/mL) των εκχυλισμάτων για την αναστολή της αύξησης των καρκινικών κυττάρων HepG2.



Σχήμα 3. In vitro αντι-αγγειογενετική δράση εκχυλισματος βόστρυχων Ασύρτικου Σαντορίνης σε ενδοθηλιακά κύτταρα EAh926.

Προσδιορισμός της αύξησης στα κύτταρα HepG2 με τη μέθοδο XTT

Σε τριβλίο με 96 θέσεις προστέθηκαν 10.000 κύτταρα ανά θέση. Στη συνέχεια προστέθηκαν οι εξεταζόμενες ουσίες και έγινε επώαση για 24 ώρες. Μετά την επώαση προστέθηκε το αντιδραστήριο XTT και ύστερα από 4 ώρες προσδιορίστηκε η απορρόφηση στα 450 nm.

Προσδιορισμός της αντι-αγγειογενετικής δράσης σε ενδοθηλιακά κύτταρα EAh926 με την μέθοδο Tube Formation Assay

Αρχικά 250 µl διαλύματος του υλικού Matrigel Matrix Growth Factor Reduced (BD) το οποίο διατηρείται στον πάγο, προστίθενται σε ένα τριβλίο 24 θέσεων και αφήνεται να πήξει για 1 ώρα στους 37°C. Στη συνέχεια προστέθηκαν 160.000 κύτταρα ανά θέση μαζί με το εξεταζόμενο εκχύλισμα. Μετά από επώαση 16 ωρών προσδιορίστηκε το συνολικό μήκος των σωληνίσκων σε 6 οπτικά πεδία ανά θέση με το πρόγραμμα ImageJ (NIH).

Συμπεράσματα

Τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι οι βόστρυχοι, που αποτελούν σημαντικά υποπροϊόντα της οινοποίησης, παρουσιάζουν σημαντικό ερευνητικό και οικονομικό ενδιαφέρον και αξιόλογες βιολογικές δράσεις. Ειδικότερα, οι προσδιορισμοί που διενεργήθηκαν στο πλαίσιο της μελέτης έδειξαν ότι οι βόστρυχοι εμπεριέχουν τις μεγάλες ποσότητες πολυφαινολών, με σημαντικότερες το γαλλικό οξύ και την *trans*-ρεσβερατρόλη στην ποικιλία Βοϋδόματο, τη ρουτίνη και το συριγγικό οξύ στην ποικιλία Μοσχάτο Αμβούργου και την επικατεχίνη στην ποικιλία Εινόμαυρο (Σχήμα 1). Όσον αφορά τη βιολογική τους δράση, τα εκχυλίσματα βοστρύχων των ποικιλιών Μαυροτράγανο και Βοϋδόματο διαθέτουν ισχυρότερη χημειοπροστατευτική αντικαρκινική δράση σε ηπατοκύτταρα (Σχήμα 2), ενώ τα εκχυλίσματα των βοστρύχων της ποικιλίας Ασύρτικο αναστέλλουν το σχηματισμό σωληνίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Σχήμα 3) γεγονός που αποτελεί ισχυρή ένδειξη για σημαντική αντιαγγειογενετική δράση.

Βιβλιογραφία

- Chan, M.M.-Y. (2002). Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochemical Pharmacology*, 63, 99-104.
- Hiroyuki, N., Yasuhiko, K., Yoshiko, U., Hideto, S., Nobuaki, S., Koshiro, H., Airo, T. (2001). Resveratrol inhibits human breast cancer cell growth and may mitigate the effect of linoleic acid, a potent breast cancer cell stimulator. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 127, 258-264.
- Russo, A., Palumbo, M., Aliano, C., Lempereur, L., Scoto, G., Renis, M. (2003). Red wine micronutrients as protective agents in Alzheimer-like induced insult. *Life Sciences*, 72, 2369-2379.