

EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON VINO TINTO DISMINUYE EL DAÑO RENAL POR RABDOMIOLISIS

RODRIGO CASTILLO P.¹, MATÍAS HOUSE S.², RODRIGO CARRASCO L.¹,
YALDA LUCERO A.³, DR. RAMÓN RODRIGO S.⁴

CHRONIC TREATMENT WITH RED WINE LOWERS RENAL DAMAGE SECONDARY TO RABDOMYOLISIS

Background. Mioglobinuric renal failure is associated to oxidative stress, which may be lowered with red wine.

Methods. Rats received red wine for 10 weeks, and a control group received only water. Rhabdomyolysis was stimulated with a i.m. administration of glycerol 50% (10 ml/Kg). We evaluated the plasma antioxidant capacity (Ferric Reducing Ability of Plasma, FRAP), creatinemia, BUN and renal oxidative stress (lipoperoxidation, protein carbonilation, and antioxidant enzyme activity)

Results. In control group, rhabdomyolysis raised lipoperoxidation, protein carbonilation, creatinemia and BUN. These effects were lowered with the use of red wine, and raised FRAP in basal conditions. After the administration of glycerol, catalase and peroxide glutation activities were significantly higher than controls with glycerol.

Conclusions. Red wine protects the kidney against myoglobinuric oxidative damage raising the FRAP and renal antioxidant enzymes activity.

Key Words: rhabdomyolysis, oxidative stress, kidney, wine, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

La lisis de la fibra muscular, o rhabdomyolisis, produce la liberación de elementos tóxicos del miocito a la circulación. La consecuencia para el riñón de esta alteración ha sido atribuida a una intensa vasoconstricción con necrosis del túbulo renal (1). Es sabido que la mioglobina juega un papel importante en la fisiopatología de la insuficiencia renal aguda en variadas situaciones clínicas (2), siendo remedada experimentalmente mediante el modelo del glicerol (3). La mioglobina filtra fácilmente a través del glomérulo y a nivel tubular se concentra y precipita, causando la obstrucción del lumen y citotoxicidad directa al epitelio debida en parte al grupo heme, el cual produce lipoperoxidación de la membrana celular (4). La degradación intratubular de la mioglobina resulta en una liberación de hierro iónico (Fe^{+2}), el cual cataliza la producción de especies reactivas del oxígeno (EROS), a través de la reacción de Fenton, mecanismo que ha sido implicado en la patogenia

de numerosas enfermedades renales. Sin embargo, el riñón posee un sistema de defensa antioxidante que inactiva las EROS, el cual es desafiado por el estado pro-oxidante que ocurre durante la mioglobinuria.

En la actualidad se dispone de pruebas fehacientes que señalan que los vegetales, entre ellos algunas frutas, el té, y particularmente el vino tinto son una fuente natural de antioxidantes que complementan a los sistemas endógenos inactivadores de EROS (5). Estudios epidemiológicos han demostrado que estas sustancias disminuyen el riesgo de aterosclerosis y cardiopatía coronaria (6), sin embargo la protección a nivel renal se ha abordado muy recientemente (7). En relación al vino tinto, estos efectos pueden ser atribuibles tanto al etanol como a los componentes no alcohólicos del vino. Entre estos últimos se encuentran diversas biomoléculas, tales como flavonoides y polifenoles. Recientes estudios han señalado que el contenido de flavonoles de los vinos tintos chilenos Cabernet Sauvignon, Merlot y Pinot

¹ Estudiante 4º año Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ² Estudiante 7º año Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³ Estudiante 5º año Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁴ Químico Farmacéutico, Profesor Asociado, Instituto de Ciencias Biomédicas, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Noir, es más alto que el de sus homólogos procedentes de regiones geográficas diferentes (8). A su vez, los polifenoles estarían involucrados en el reforzamiento de los sistemas antioxidantes a través de sus propiedades de inactivadores de EROS, quelantes de metales y moduladores enzimáticos (9). Varios de ellos, tales como el resveratrol y la quercetina han demostrado protección renal ante el daño oxidativo (10). La quercetina es uno de los más importantes, ya que entre sus acciones se encuentran la quelación intracelular del hierro y la mantención de las propiedades antioxidantes del plasma (11).

A pesar de que el etanol a dosis elevadas (5g/kg) puede inducir estrés oxidativo en el riñón (12, 13), también se ha demostrado que ratas que consumen dosis moderadas de solución acuosa de etanol (20%) durante 10 semanas ad libitum, no experimentan trastornos de la función renal reflejados en la velocidad de filtración glomerular (14). Sin embargo, se eleva en forma significativa la actividad renal de la catalasa (CAT, EC 1.11.1.6) (15), efecto que puede contribuir al aumento de las defensas antioxidantes. También se ha comunicado que la actividad de la superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1) se eleva significativamente en el riñón de ratas que reciben dosis moderadas de etanol (20%) durante 32 semanas (16). La respuesta de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) no ha sido evaluada en consumo crónico de etanol y solo se conocen los efectos de la exposición aguda que eleva la actividad de esta enzima en forma dosis dependiente (17).

El propósito del presente estudio fue probar la hipótesis que el consumo crónico de vino tinto disminuye el daño renal por mioglobulinuria, lo que se refleja en una atenuación del estrés oxidativo y de los efectos funcionales observados en el riñón.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales de experimentación:

Ratas Wistar adultas macho, con peso de 210 ± 10 g, fueron seleccionadas del Bioterio del Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Los animales fueron separados en dos grupos, cada uno con 24 ratas, colocadas en jaulas individuales y mantenidas a 24° C con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y alimentadas con una dieta balanceada. Un primer grupo (grupo caso) bebió vino tinto (Cabernet Sauvignon, Cosecha 1998,

Lomas de Cauquenes, Valle de Cauquenes, Chile) como único fluido por un período de diez semanas. El otro (grupo control) sólo bebió agua potable. El vino tinto utilizado tenía una concentración de etanol de 12,5% (v/v) y un contenido de flavonoles de 55,2 mg/dl, calculado a partir de la medición de mirecetina y quercetina (18).

El volumen de líquido ingerido diariamente se midió utilizando tubos Richter graduados, y el alimento consumido se cuantificó gravimétricamente.

Falla renal aguda inducida por rabdomiólisis:

A los dos grupos de ratas se las privó de fluidos 24 horas antes de la inyección y bajo anestesia con éter, se les inyectó, en ambas extremidades inferiores, solución de glicerol al 50% (10 ml/kg, intramuscular), lo que produce una forma de falla renal aguda mioglobínica subletal (3). El grupo control fue inyectado con igual volumen de solución de NaCl 0,9%. Luego, los animales fueron colocados en jaulas metabólicas para obtener muestras de orina, permitiéndoles el libre acceso a agua o vino tinto. Seis horas después de la inyección de glicerol las ratas fueron anestesiadas con Ketamina (4mg/Kg) y se obtuvo muestras de sangre de la arteria carótida. Las muestras de sangre fueron guardadas en tubos plásticos que contenían EDTA al 5%, y se utilizaron para medir la capacidad antioxidante del plasma (FRAP, ferric reducing ability of plasma) (19), y niveles plasmáticos de creatinina y nitrógeno ureico.

Estudios bioquímicos:

Después de obtener las muestras de sangre y orina, los riñones de las ratas anestesiadas se perfundieron con solución salina balanceada de Earle's (pH 7,40) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). La actividad de las enzimas antioxidantes fue medida en homogenizados de corteza renal preparados en 0,25 M de sacarosa, para la determinación de la actividad de la SOD y en 1,15% de KCl - 0,010 M Tris pH 7,40, para la determinación de CAT y GSH-Px. Las cuantificación de SOD se basó en la medición del aumento de la tasa de autooxidación de 5,6,6a,11b-tetrahidro-3,9,10 trihidroxibenzo(c)fluoreno en solución acuosa alcalina la que produce un cromóforo con una absorbancia máxima a 525 nm (20). La unidad de SOD fue definida como la actividad que dobla la autooxidación basal. Los resultados fueron expresados en U/mg de proteínas. La actividad de la CAT se midió en el sobrenadante de 2400g

RESULTADOS

mediante la cinética de degradación del peróxido de hidrógeno a 240 nm (21) catalizada por el sobrenadante de 2400 g; ésta fue expresada basándose en la constante de la reacción de primer orden (k)/mg de proteína. La actividad de la GSH-Px fue medida en la fracción citosólica (sobrenadante de 100.000 g) por un método espectrofotométrico basado en la reducción de glutatión disulfuro acoplada a la oxidación NADPH por glutatión reductasa (22). La unidad de actividad de la GSH-Px fue definida como la actividad que oxida un μmol de NADPH por minuto. La actividad de la GSH-Px fue expresada en U/mg de proteína.

Lipoperoxidación:

El método fue desarrollado espectrofotométricamente a 532 nm por la reacción del ácido tiobarbitúrico a pH 3,5, seguida de la extracción con solvente mediante una mezcla de n-butanol/piridina (15/1, v/v) (23). Se utilizó tetrametoxipropano como estándar y el nivel de peróxidos de lípidos fue expresado como nmoles de malondialdehído (MDA)/mg de proteínas.

Carbonilación de proteínas:

La medición de la oxidación de proteínas fue desarrollada por la determinación espectrofotométrica del contenido de carbonilos, basada en la reacción de 2,4-dinitrofenilhidrazina con los grupos carbonilo de las proteínas. El resultado se expresó en nmol de carbonilos/mg de proteína.

Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

El manejo de las ratas fue llevado de acuerdo con las normas éticas aceptadas internacionalmente.

Análisis estadísticos:

Los resultados fueron expresados como promedios \pm EE (error estándar) para el número de ratas indicado. La fuente de las variaciones para las comparaciones múltiples fue establecida por el análisis de varianza unidireccional (ANOVA), complementado por el test de Bonferroni. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con un $p < 0,05$.

Consumo:

La Tabla 1 muestra los datos con respecto a ganancia de peso y consumo de fluidos en los grupos caso y control durante el período experimental. La ganancia de peso observada en el grupo de ratas que consumieron vino tinto no mostró diferencias significativas respecto a aquellas que bebieron sólo agua. A su vez, la ingesta de fluido no mostró diferencias significativas en ningún grupo.

Efecto de la rhabdomiólisis sobre la función renal:

La Tabla 2 muestra los niveles plasmáticos de creatinina y nitrógeno ureico (BUN). Seis horas después de la inyección de glicerol, la creatinemia y el BUN en el grupo control aumentaron 2,16 y 1,7 veces, respectivamente ($p < 0,05$). La administración de vino tinto disminuyó este efecto a 1,1 y 1,2 veces, respectivamente.

Tabla 1. Ganancia de peso y consumo de líquido de los grupos caso y control durante el período experimental.

Parámetro	Control	Caso
Ganancia de peso corporal (g/día/100g de PC)	2,84 \pm 0,17	2,69 \pm 0,15
Consumo de líquido (ml/día/100g de PC)	9,9 \pm 0,32	8,95 \pm 1,5

Los resultados corresponden al promedio \pm error estándar de la media (EE) para 18 a 20 ratas PC, peso corporal. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas entre los grupos con $p < 0,05$.

Tabla 2. Efectos de la rhabdomiólisis en la creatinina y el nitrógeno ureico plasmáticos de los grupos caso y control.

Parámetro mg/dl	Grupo caso		Grupo control	
	Basal	Glicerol ^{a,b}	Basal	Glicerol ^a
Creat.	0,56 \pm 0,02	0,62 \pm 0,027	0,5 \pm 0,04	1,08 \pm 0,02
BUN	20 \pm 1	24 \pm 1	19 \pm 1	34 \pm 2

Los resultados corresponden al promedio \pm error estándar de la media (EE) para 12 a 14 ratas. Las diferencias estadísticamente significativas, con $p < 0,05$, son indicadas en letras superíndice: ^av/s basal, ^bv/s control-glicerol.

Medición del estrés oxidativo:

Capacidad antioxidante del plasma: Los valores basales para la capacidad antioxidante del plasma expresada en el parámetro FRAP (ferric reducing

ability of plasma) (μM) para el grupo caso y el grupo control fueron $358,2 \pm 12$ y $251,7 \pm 8$ ($n = 20$), respectivamente, siendo significativamente mayores los valores del grupo caso.

Enzimas antioxidantes: La Tabla 3 muestra el efecto de la rabiomiólisis sobre la actividad de CAT, SOD y GSH-Px en corteza renal. Los valores basales de CAT y GSH-Px en el grupo caso, fueron significativamente más altos que en el grupo control. A su vez la actividad de SOD no resultó afectada por el tratamiento con vino tinto. Después de la inyección de glicerol, la actividad de las tres enzimas antioxidantes disminuyó en ambos grupos, pero en el grupo caso sometido a rabiomiólisis, esta actividad no fue significativamente diferente del valor basal del grupo control.

Lipoperoxidación y carbonilación de proteínas: La producción de MDA y el contenido de carbonilos (nmol/mg de proteínas) de la corteza renal del grupo control y el grupo caso, se muestran en la Tabla 4. En condiciones basales, la producción de MDA en el grupo caso fue significativamente más baja que en el grupo control ($p < 0,05$) y el contenido de carbonilos no fue diferente entre ambos grupos. Después de la inyección de glicerol, en el grupo control la producción de MDA y carbonilación de proteínas se incrementaron en forma significativa, mientras que en el grupo caso el MDA aumentó pero no así la carbonilación. Se puede decir que los valores de MDA y carbonilos de grupo caso sometido a inyección de glicerol, no fueron estadísticamente diferentes de los valores basales del grupo control.

Tabla 3. Efectos de la rabiomiólisis en la actividad de las enzimas catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y superóxido dismutasa (SOD) en la corteza renal de los grupos caso y control.

Parámetro	Grupo caso		Grupo control	
	Basal	Glicerol	Basal	Glicerol
CAT (k/mg prot)	$0,71 \pm 0,024^b$	$0,41 \pm 0,012^a$	$0,42 \pm 0,018^*$	$0,29 \pm 0,06^{a,*}$
GSH-Px (U/mg prot)	$0,47 \pm 0,021^b$	$0,35 \pm 0,022^a$	$0,30 \pm 0,026^*$	$0,16 \pm 0,012^{a,*}$
SOD (U/mg prot)	$11,36 \pm 0,84^*$	$9,89 \pm 0,63$	$10,31 \pm 0,82^*$	$8,63 \pm 0,42^{a,*}$

Los resultados corresponden al promedio \pm error estándar de la media (EE) para 15 a 17 ratas. Las diferencias estadísticamente significativas, con $p < 0,05$, son indicadas en letras superíndices: ^a v/s basal, ^b v/s control-basal. No significativamente diferente: * v/s caso, * v/s glicerol.

Tabla 4. Efectos de la rabiomiólisis en la lipoperoxidación (producción de MDA) y oxidación de proteínas (carbonilos) en la corteza renal de los grupos caso y control.

Parámetro (Mmol/mg prot)	Grupo caso		Grupo control	
	Basal	Glicerol	Basal	Glicerol
MDA	$2,10 \pm 0,1^b$	$3,50 \pm 0,20^a$	$3,56 \pm 0,2^*$	$6,02 \pm 0,30^{a,*}$
Carbonilos	$1,20 \pm 0,1^*$	$1,53 \pm 0,25$	$1,32 \pm 0,1^*$	$2,14 \pm 0,32^{a,*}$

En condiciones basales y a las seis horas siguientes de la inyección intramuscular de glicerol. Los resultados corresponden al promedio \pm error estándar de la media (EE) para 16 a 18 ratas. Las diferencias estadísticamente significativas, con $p < 0,05$, son indicadas en letras superíndices: ^a v/s basal, ^b v/s control-basal. No significativamente diferente: * v/s caso, * v/s glicerol.

DISCUSIÓN

La rabiomiólisis se reconoce como causa de falla renal aguda (2), siendo en parte atribuida a la ocurrencia de estrés oxidativo. El aumento del estrés oxidativo, a nivel renal, llevaría a daño tisular por lipoperoxidación de membranas celulares y carbonilación de proteínas, reflejándose en un incremento de MDA y carbonilos respectivamente. Esto se traduciría en

una disminución de la función glomerular y tubular llevando a un alza en los niveles plasmáticos de creatinina y nitrógeno ureico (Tabla 2).

Otro de los elementos importantes en el daño renal por rabiomiólisis es el aumento en la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las que generan un ambiente pro-oxidante a nivel renal (24) y estimulan la liberación del

grupo heme de la mioglobina por un mecanismo indirecto (25).

El mecanismo molecular de la injuria renal secundaria a mioglobinuria ocurre por dos vías. Una directa atribuida al efecto pro-oxidante del grupo heme y otra indirecta causada por la liberación de hierro conduciendo a la generación de EROS por la reacción de Fenton. La capacidad prooxidante del hierro estaría demostrada por la disminución de la lipoperoxidación y la mantención de la velocidad de filtración glomerular al administrar quelantes del hierro en conjunto con la inyección intramuscular de glicerol (24).

Dado que el riñón es un órgano altamente perfundido, recibiendo aproximadamente el 20% del gasto cardiaco (26), se podría esperar que la elevación de la capacidad antioxidante del plasma (FRAP) contribuyera a un aumento de las defensas del sistema antioxidante renal. Por otra parte el aumento del FRAP disminuiría la oxidación de LDL debido a que los polifenoles del vino tinto al adsorberse sobre la superficie de las partículas de LDL protegen a los grupos oxidables de éstas biomoléculas al interceptar la acción de los radicales libres sobre ellas. Este efecto debiera ser esperado a partir de nuestros resultados que indican una elevación significativa del FRAP en el grupo caso en relación al grupo control en condiciones basales (ver resultados).

Se sabe que la exposición aguda a etanol induce estrés oxidativo en el riñón de rata (12, 13), lo que se refleja en una caída de la relación GSH/GSSG (glutatión reducido/glutatión oxidado) y en un aumento de la actividad de GSH-Px, ambos efectos se ejercen en forma dosis dependiente cuando se administran dosis de etanol de 2 a 6 g/Kg (17). Por otra parte, en nuestro laboratorio, hemos encontrado que la exposición crónica de etanol (12,5%) ad libitum durante 10 semanas, resulta en una elevación de la actividad de GSH-Px y CAT en 61 y 165 % respectivamente (27). Sin embargo la actividad de SOD no resultó modificada en estas condiciones experimentales, lo que es concordante con estudios previos que revelaron que era necesario prolongar la exposición a 32 semanas para observar un incremento significativo de la actividad renal de SOD (16).

El aumento observado en la actividad de las enzimas antioxidantes debiera resultar en una mayor inactivación de EROS atenuando de esta manera los efectos deletéreos de los agentes pro-oxidantes. Esta observación concuerda con el menor efecto que tuvo la inyección de glicerol tanto en la función renal (Tabla 2) como en la

lipoperoxidación de membranas (Tabla 4) observadas las ratas previamente expuestas a etanol. A esta protección, en el caso de las ratas que recibieron vino, se debiera agregar el efecto renoprotector de los polifenoles del vino tinto de reconocido efecto antioxidante.

Los polifenoles son un grupo de biomoléculas antioxidantes que actúan aumentando los sistemas de defensa antioxidante a través de sus propiedades inactivadoras de EROS, quelantes de metales y moduladores enzimáticos (9). Ejemplos de esto incluyen sustancias como las antocianinas, el ácido gálico, las catequinas, miricetina y quercetina, entre otras. Otra acción de los polifenoles sería la capacidad de reducir la susceptibilidad de las LDL a la oxidación *in vitro* (28) e *in vivo* (29), este efecto se debería probablemente a la propiedad de inactivación de EROS. Además, los polifenoles son probablemente responsables de un aumento de la capacidad antioxidante del plasma (29 y 30). Por otra parte, el etanol contenido en el vino tinto facilita la absorción intestinal de polifenoles (31).

Como conclusión, podríamos decir que el tratamiento crónico con vino tinto disminuiría la severidad del daño renal secundario a estrés oxidativo en el modelo de mioglobinuria inducida por rabiomólisis. Este efecto se debería al aumento de los sistemas antioxidantes, tanto extracelular (FRAP) como intracelular (enzimas antioxidantes). Debiendo atribuirse tanto al etanol como a los componentes no alcohólicos, antioxidantes particularmente abundantes en el vino tinto.

RESUMEN

Antecedentes. La falla renal mioglobinúrica se asocia a estrés oxidativo, lo que podría atenuarse por ingesta de vino..

Métodos. Ratas recibieron vino tinto por 10 semanas, los controles sólo bebieron agua. La rabiomólisis fue causada por inyección intramuscular de glicerol al 50% (10 ml/Kg). Se evaluó la capacidad antioxidante del plasma (FRAP, ferric reducing ability of plasma), creatinemia y nitrógeno ureico (BUN) y estrés oxidativo en riñón (lipoperoxidación, carbonilación de proteínas y actividad de enzimas antioxidantes)

Resultados. En el grupo control, la rabiomólisis aumentó la lipoperoxidación, carbonilación de proteínas, creatinina y BUN. Estos efectos fueron atenuados por vino tinto, que elevó el FRAP en condiciones basales. Después de la inyección de glicerol, las actividades de catalasa y glutatión

peroxidasa fueron significativamente mayores que los controles inyectados con glicerol.

Conclusiones. El vino tinto protege al riñón contra el daño oxidativo mioglobinúrico aumentando el FRAP y la actividad de enzimas antioxidantes renales.

Palabras claves: rhabdomiolisis, estrés oxidativo, riñón, vino, antioxidantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. SLATER M S, AND MULLINS R J. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients. A review. *J Am Coll Surg* 1998; 186: 693-716.
2. VANHOLDER R, SEVER M S, EREK E, AND LAMEIRE N. RHABDOMYOLYSIS. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1553-1561.
3. ZAGER R A. Studies of mechanisms and protective maneuvers in myoglobinuric acute renal injury. *Lab Invest* 1989; 60: 619-629.
4. MOORE K P, HOLT S G, PATEL R P, SVISTUNENKO D A, ZACKERT W, GOODIER D, et al. A causative role for redox cycling of myoglobin and its inhibition by alkalization in the pathogenesis and treatment of rhabdomyolysis-induced renal failure. *J Biol Chem* 1998; 273: 31731-31737.
5. JACOB R A, AND BURRI B J. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 985S-990S.
6. GIUGLIANO D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10: 38-44.
7. RODRIGO R Y RIVERA G. Renal damage mediated by oxidative stress: A hypothesis of protective effects of red wine. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 409 - 422.
8. MCDONAL'D M S, HUGHES M, BURNS J, LEAN M E J, MATTHEWS D, AND CROZIE A. 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.
9. PIETTA P, SIMONETTI P, GARDANA C, BRUSAMOLINO A, MORAZZONI P, AND BOMBARDELLI E. Relationship between rate and extent of catechin absorption and plasma antioxidant status. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 46: 895-903.
10. GIOVANNINI L, MIGLIORI M, LONGONI B M, DAS D K, BERTELLI A A, PANICHI V, et al. Resveratrol, a polyphenol found in wine, reduces ischemia reperfusion injury in rat kidneys. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 37: 262-270.
11. SHOSKES D A. (1998). Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation* 1998; 66: 147-152.
12. FERNÁNDEZ V, AND VIDELA L A. Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione of various tissues of the rat. *Experientia* 1981; 37: 392-394.
13. KERA Y, OHBORA Y, AND KOMURA S. The metabolism of acetaldehyde and not acetaldehyde itself is responsible for in vivo ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 3633-3638.
14. RODRIGO R, NOVOA E, AND GRANATA P. Effects of chronic ethanol consumption on renal clearance of electrolytes in the rat. *Med Sci Res* 1993; 21: 47-49.
15. ORELLANA M, VALDÉS E, FERNÁNDEZ J, AND RODRIGO R. Effects of chronic ethanol consumption on extramitochondrial fatty acid oxidation and ethanol metabolism by rat kidney. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 719-723.
16. DREOSTI I E, MANUEL S J, AND BUCKLEY R A. Superoxide dismutase (EC 1.15.1.1), manganese and the effect of ethanol in adult and foetal rats. *Br J Nutr* 1998; 48: 205-210.
17. SCOTT RR, REDDY K S, HUSAIN K, SCHLORFF E C, RYBAK L P, AND SOMANI S M. Dose response of ethanol on antioxidant defense system of liver, lung, and kidney in the rat. *Pathophysiology* 2000; 7: 25-32.
18. ARAYA J, RODRIGO R, ORELLANA M, AND RIVERA G. Red wine raises plasma HDL and preserves long-chain polyunsaturated fatty acids in rat kidney and erythrocytes. *Br J Nutr* 2001; 86: 189-195.
19. 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.
20. NEBOT C, MOUTET M, HUET P, XU J Z, YADAN J C, AND CHAUDIERE J. Spectrophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autoxidation of a tetracyclic catechol. *Anal Biochem* 1993; 214: 442-451.
21. AEBI H. CATALASE. In *Methods in Enzymatic Analysis*. (H.U. Bergmeyer Ed.).

- New York: Ed. Academic Press 1974; 673-678.
22. FLOHÉ L, AND GUNZLER W A. Assays of glutathione peroxidase. In: *Methods in Enzymology*, (S.P. Colowic and N.O. Kaplan Eds.). New York: Ed Academic Press. 1984; 105: 114-121.
 23. OHKAWA H, OHISHI N, AND YAGI K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
 24. PALLER M S. Hemoglobin- and myoglobin-induced acute renal failure in rats: role of iron in nephrotoxicity. *Am J Physiol*. 1988; 255: F539-F544.
 25. ZAGER R A, BURKHART K. Mioglobin in proximal human kidney cells: roles of Fe^{++} , Ca^{2+} , H_2O_2 , a mitochondrial electron transport. *Kidney Int*. 1997; 51:728 – 738.
 26. STEINER A, MIDDLETON S. Circulación perisférica. *Aparato Circulatorio. Fisiología Humana*. Santiago: Editorial Universitaria, 1983; 91– 94.
 27. RODRIGO R, ORELLANA M, ARAYA J, BOSCO C. Rat kidney antioxidant response to long – term exposure to flavonol rich red wine. *Life Sci*. 2002. En prensa.
 28. KERRY N L, ABBEY M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis* 1997; 135: 93-102.
 29. DURAK I, CIMEN M Y, BÜYÜKKOÇAK S, CIMEN M Y, KAÇMAZ M, OMEROGU E, Omeroglu E, Ozturk H S. The effect of red wine on blood antioxidant potential. *Curr Med Res Opin* 1999; 15: 208-213.
 30. FERRALI M, SIGNORINI C, CACIOTTI B, SUGHERINI L, CICCOLI L, GIACHETTI D, et al. Protection against damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelatin activity. *Febs Lett* 1997; 416: 123-129.
 31. DUTHIE G G, PEDERSEN M W, GARDNER P T, MORRICE P C, JENKINSON A M, McPhail D B, Steele G M. The effect of whisky and wine consumption on total phenol content and antioxidant capacity of plasma from healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 733-736.

AGRADECIMIENTOS

A los funcionarios del Laboratorio de Fisiopatología Renal de la Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile y al Dr. Ramón Rodrigo.

Esta investigación fue financiada por el Fondo de Ciencia y Tecnología (FONDECYT, proyecto 1990784).

Correspondencia:

Rodrigo Castillo P.

dcoco@mapcity.com