

INIBIZIONE COLLAGENASI, ELASTASI, IALURONIDASI, β-GLUCURONIDASI con *Vitis vinifera* L.

Attività antiossidante

Tra gli elementi di rischio di aterosclerosi si attribuisce un ruolo dominante ai processi perossidativi che determinano la formazione dei radicali liberi. Questi sono specie reattive dell'ossigeno che determinano, a diversi livelli, un caratteristico stress ossidativo che può portare un danno diretto alle cellule, per esempio con l'insorgere di mutazioni genetiche, o un danno cronico, come quello che si verifica nell'aterosclerosi. In presenza di un aumento di radicali liberi dell'ossigeno, quali l'OH e l'O₂, le cellule endoteliali vengono danneggiate e viene ridotta, così, la loro potenzialità nell'indurre vasodilatazione. In tal modo viene aumentata l'adesione dei monociti all'endotelio i quali, poi, si trasformano prima in macrofagi e, quindi, in cellule schiumose con lo sviluppo delle classiche placche ateromatose. Altra conseguenza della perossidazione lipidica sono le cosiddette sindromi da ischemia-riperfusion che incrementano la comparsa di radicali liberi, in particolare l'OH e l'O₂.

La riperfusion precoce del miocardio ischemico è il solo intervento idoneo a ripristinare le funzioni cellulari alterate dall'ischemia. Tuttavia la riperfusion si accompagna a svariate modifiche, funzionali e metaboliche, che definiscono il cosiddetto "danno da ischemia-riperfusion", caratterizzato, tra gli altri, dal danno indotto dai radicali liberi dell'ossigeno (stress ossidativo).

Le procianidine sono potenti agenti antiossidanti, free radical scavengers ed inibitori della perossidazione lipidica. Il meccanismo free radical scavenging è esercitato dalle procianidine intrappolando i radicali dell'ossigeno lesivi a livello dei tessuti che derivano dalle cellule endoteliali nel corso dei disordini ischemici. Le proprietà free radical scavenging del flavan-3,4-diolo, una delle strutture base dei tannini condensati, è stata dimostrata in vitro su diversi modelli biochimici che mimano le precondizioni di situazioni patologiche quali ischemia, infiammazione e diabete.

E' stata studiata l'azione antiossidante delle procianidine misurando l'attività scavenging contro l'anione superossido, generato dalla reazione della fenazina metosulfato in presenza di NADH⁺ e ossigeno molecolare, e la proprietà di inibizione della perossidazione lipidica, indotta da ADP/Fe²⁺ e ascorbato nei microsomi di fegato di ratto. Gli effetti sono stati paragonati a quelli ottenuti con i tannini di *Cupressus sempervirens*, antocianidine di *Vaccinium myrtillus* e *Ribes nigrum*. Le procianidine di *Vitis vinifera* si sono dimostrate le più attive sia contro l'anione superossido che contro la perossidazione lipidica.

Le procianidine, inoltre, posseggono importanti proprietà di chelazione nei confronti di Fe²⁺ e Cu²⁺, che sono ioni metallici catalizzatori della cascata dei radicali liberi su entrambe le superfici dell'endotelio vascolare e all'interno dei miociti cardiaci. Le procianidine danno un'inibizione dose-dipendente della perossidazione lipidica promossa dal ferro e si sono dimostrate più potenti della catechina, unità monomera usata come riferimento.

In un altro modello di perossidazione lipidica indotta da ultrasuoni, le procianidine sono state in grado di ridurre marcatamente la formazione di dieni coniugati (marker della perossidazione lipidica) nella fase di induzione del fenomeno. Tale effetto è mediato dall'interazione diretta delle procianidine con i radicali OH. Anche durante la fase di propagazione, caratterizzata da un incremento progressivo dei dieni coniugati, l'incubazione con procianidine ha dato un'inibizione dose-dipendente dei dieni coniugati. Inoltre le procianidine danno un'inibizione non competitiva della xantina ossidasi, enzima promotore della formazione di anione superossido, con una potenza paragonabile a quella del composto di riferimento allopurinolo.

Attività antiproteasica e antiglicosidasi

La *Vitis vinifera* possiede una valida azione flebotrofica, venotonica e capillarotropica.

I processi infiammatori sono caratterizzati da attivazione leucocitaria seguita da un massiccio afflusso di polimorfonucleati nel luogo della flogosi, dove queste cellule secernono numerose proteasi

lisosomiali, incluse quelle che degradano l'elastina, ed inducono un largo incremento di forme attivate dell'ossigeno, legate ad un aumento del consumo d'ossigeno. Le proteasi, e le forme attivate dell'ossigeno, quando sono presenti in quantità anormali, possono danneggiare le fibre elastiche e le membrane delle cellule endoteliali attraverso una lisi delle fibre elastiche e collageniche, che sono essenziali per assicurare robustezza ed elasticità ai vasi sanguigni ed, in particolare, a quelli venosi.

La stabilità del collagene dipende soprattutto dai legami che si stabiliscono tra le catene peptidiche della molecola, formando in tal modo un'armatura che rinforza tutta la struttura. Gli enzimi elastasici, così come il calore, rompono questi legami e causano la denaturazione delle molecole.

Le procianidine esercitano una forte inibizione contro collagenasi, elastasi, ialuronidasi e β -glucuronidasi, tutti enzimi coinvolti nella degradazione del collagene, elastina ed acido ialuronico, principali componenti strutturali della matrice extravascolare.

Queste sostanze si fissano elettivamente sulla membrana cellulare delle cellule dell'endotelio vasale contribuendo, così, a stabilizzarla ed a proteggerla contro le aggressioni enzimatiche. Inoltre, essi stimolano la formazione di microfibrille di collagene a livello membranario le quali incrementano la solidità e la coesione della membrana basale ed inoltre, favoriscono la creazione dei legami tra le molecole peptidiche delle strutture collageniche permettendo, così, la formazione di fibrille più stabili. Le procianidine prevengono la degradazione del collagene anche attraverso l'intrappolamento delle specie reattive dell'ossigeno e modulando le attività degli enzimi proteolitici quali collagenasi ed elastasi.

Tra l'altro esse possono proteggere l'integrità dell'acido ialuronico mantenendo le macromolecole in una forma altamente polarizzata, inibendo le attività dei sistemi enzimatici specifici (ialuronidasi) ed aspecifici (β -glucuronidasi) coinvolti nella fisiologica depolarizzazione.

Come risultato le procianidine possono prevenire il danno ossidativo all'endotelio vascolare attraverso meccanismi differenti, specifici e complementari (fig.2).

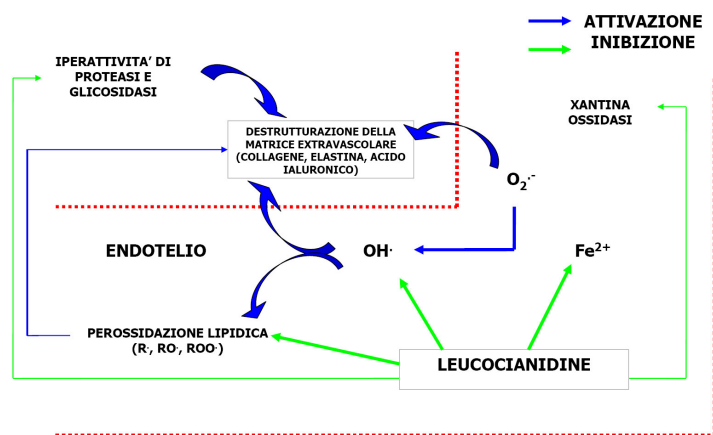


Fig.2 Meccanismi d'azione dell'attività protettiva vascolare delle leucocianidine

Attività sulla permeabilità capillare

La capacità delle procianidine, estratte dai semi della *Vitis vinifera*, di ridurre uno stato di alterata permeabilità capillare nei modelli animali è ben conosciuta.

Le procianidine sono efficaci angioprotettori in diversi modelli di aumentata permeabilità capillare indotta da somministrazione intradermica di istamina, bradichinina etc.

Robert et al studiarono l'attività delle procianidine nei ratti in cui la permeabilità dei capillari cerebrali, del muscolo cardiaco e dell'aorta, era stata aumentata da somministrazione intravenosa di collagenasi. Gli autori dimostrarono che un pretrattamento orale di 21 giorni con 50mg/kg/die dava una protezione totale contro l'aumento di permeabilità indotto dall'iniezione di collagenasi.

Per le procianidine è stato descritto, inoltre, un effetto antiessudativo. Le procianidine, alla dose di 6mg/kg/die, somministrate oralmente per 6 giorni, hanno inibito l'edema indotto da carragenina nel ratto. Inoltre, prevengono l'incremento della permeabilità capillare causata dall'applicazione orale di xilene.

E' stato descritto anche un effetto delle procianidine sul linfedema acuto sperimentale dell'arto posteriore del ratto. Dopo interruzione chirurgica del sistema linfatico dell'arto posteriore, i ratti svilupparono edema periferico. Le procianidine alla dose di 400mg/kg/die, somministrate per via orale, 7 giorni prima dell'interruzione chirurgica e 7 giorni dopo lo sviluppo del linfedema, diminuirono il volume dell'arto di circa il 50%. Questi risultati sono interessanti visto che implicano la possibilità di somministrare procianidine con lo scopo di ridurre o prevenire l'edema acuto postoperatorio.

Inoltre, nei conigli ipercolesterolemici, ripetute somministrazioni di procianidine hanno ridotto la quantità di colesterolo legato all'elastina aortica.

BIBLIOGRAFIA DISPONIBILE SU RICHIESTA