



Revista CENIC. Ciencias Biológicas

ISSN: 0253-5688

editorial.cenic@cnic.edu.cu

Centro Nacional de Investigaciones Científicas  
Cuba

Menéndez, Roberto; Más, Rosa; Pérez, Yohani; González, Rosa Ma.; Jiménez, Sonia  
Estudio de los efectos de la administración oral de D-004 (50 - 800 mg/kg de peso) sobre la  
peroxidación lipídica en ratas.

Revista CENIC. Ciencias Biológicas, vol. 36, 2005  
Centro Nacional de Investigaciones Científicas  
Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220525048>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## **Estudio de los efectos de la administración oral de D-004 (50 - 800 mg/kg de peso) sobre la peroxidación lipídica en ratas.**

**Roberto Menéndez, Rosa Más, Yohani Pérez, Rosa Ma. González y Sonia Jiménez.**

Departamento de Farmacología, Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana, Cuba.

Dr. Roberto Menéndez. Laboratorio de Bioquímica. Centro de Productos Naturales. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Apartado Postal 6412. La Habana. Cuba. Email: cpn.bioquimica@cnic.edu.cu

**RESUMEN:** El D-004 es el extracto lipídico de los frutos de la palma real *Roystonea regia*, que presenta como componente mayoritario una mezcla de ácidos grasos primarios, compuesta por los ácidos caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, palmitoleico, estearico y oleico, el cual ha mostrado su eficacia en el tratamiento de la hiperplasia prostática (HP) en modelos experimentales. Teniendo en cuenta que diversas investigaciones adjudican a los ácidos grasos de diferentes largos de cadena efectos antioxidantes, que el estrés oxidativo (EO) a sido relacionado con la HP y que estudios previos muestran efectos antioxidantes del D-004 "in vitro" y tras la administración oral a ratas ovariectomizadas, el presente estudio tiene como objetivo investigar los efectos antioxidantes del D-004 administrado a ratas en una gama de dosis (50 y 800 mg/kg de peso durante dos semanas) comprendida dentro de las dosis en que se observó su eficacia en los modelos de HP en esta especie. El D-004 disminuye significativamente y de manera dosis dependiente los niveles plasmáticos de MDA, incrementa también de manera significativa la CAOP y disminuye significativamente la susceptibilidad de preparaciones microsomales de hígado y cerebro ante la PL "in vitro" inducida por sistemas enzimáticos en microsomas activos. En prácticamente todos los parámetros estudiados el efecto máximo se produce a la dosis de 400 mg/kg de peso con excepción del cerebro, donde ya a 50 mg/kg se observa una inhibición significativa de la PL, que alcanza el efecto máximo a la dosis de 100 mg/kg. El D-004 también protege a las proteínas del daño oxidativo, ya que su administración disminuye significativamente los grupos carbonilos asociados a proteínas en plasma, hígado y cerebro. Estos efectos que se manifiestan a dosis en que el D-004 inhibe significativamente la PL. Los efectos inhibitorios del D-004 sobre la PL observados en este trabajo son consistentes con los efectos inhibitorios D-004 sobre la PL tras su adición "in vitro" y tras su administración oral en ratas ovariectomizadas. La inhibición de la PL se observan en un rango de dosis análogo al que el D-004 previene la HPB en esta especie, lo cual puede representar un beneficio adicional del producto que coadyuve a la eficacia mostrada en este modelo. De este modo, futuros trabajos deben investigar si la administración oral del D-004 también inhibe la PL del tejido prostático en este mismo rango de dosis.

**ABSTRACT:** D-004 is a lipid extract of the ground fruits of the Cuban royal palm (*Roystonea regia*) containing a reproducible mixture of fatty acids. The mixture consists on saturated and monounsaturated fatty acids such as caprylic, capric, lauric, miristic, palmitic, palmitoleic, stearic and oleic acid. Oral treatment with D-004 inhibited prostate hyperplasia (PH) induced with testosterone, but not with dihydrotestosterone in rodents. D-004 has proven to inhibit microsomal lipid peroxidation (LP) "in vitro". Also, oral administration of D-004 (400 mg/kg) inhibited LP induced in ovariectomized rats. Since oxidative processes have been linked to PH, we tested the effect of D-004 on lipid peroxidation in the same dosage range for the

inhibition of PH in rats. D-004 significantly and in a dose dependent fashion, inhibited malondialdehyde (MDA) concentration in plasma, increased total antioxidant status (TAS) and decreased iron-induced LP in hepatic and brain native microsomes. The apparent maximum effect was observed at 400 mg/kg, except for brain, where the maximum effect was observed at 100 mg/kg. D-004 also inhibited carbonyl protein-associated groups in plasma, liver and brain simples. The present results are consistent with those found in "in vitro" experiment and after the oral administration of D-004 to ovariectomized rats. It is important to note that the inhibition of LP exerted by D-004 was produced at the same dosage range that those observed in the inhibition of PH in rats. Therefore, the anti lipid peroxidative effects of D-004 might contribute to its efficacy in PH in this model. However, future work must investigate the effect of D-004 in LP in prostate tissue.

**Palabras claves:** D-004, fatty acids, lipid peroxidation, prostatic hyperplasia

**Key words:** D-004, fatty acids, lipid peroxidation, prostatic hyperplasia.

## INTRODUCCIÓN.

El D-004 es el extracto lipídico de los frutos de la palma real *Roystonea regia*, que presenta como componente mayoritario una mezcla de ácidos grasos primarios, compuesta por los ácidos caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, palmitoleico, estearico y oleico. En dicha mezcla se presentan como componentes mayoritarios los ácidos oleico, laurico y palmítico. El D-004 ha demostrado su eficacia en el tratamiento de la hiperplasia prostática (HP) en modelos experimentales,<sup>1,2</sup> puesto que su administración oral disminuye significativamente el incremento del tamaño la próstata inducido por la inyección subcutánea de testosterona en roedores.

Teniendo en cuenta que diversas investigaciones adjudican a los ácidos grasos de diferentes largos de cadena efectos antioxidantes<sup>3-10</sup> y al hecho de que el estrés oxidativo (EO) a sido relacionado con la HP,<sup>12-15</sup> investigaciones precedentes fueron dirigidas a investigar los efectos del D-004 sobre la peroxidación lipídica (PL). Así, en un primer estudio "in vitro" se observó que la adición del D-004 (0.9 - 1000 mg/ml) inhibió la PL "in vitro" de fracciones microsomales de hígado y cerebros de ratas inducida por diferentes agentes (resultados no publicados).<sup>16</sup> Por otro lado, un estudio posterior mostró que su administración oral a una dosis efectiva en los modelos de HP (400 mg/kg), inhibió los procesos oxidativos inducidos por la ovariectomización en ratas.<sup>17</sup> Tales hechos indicaban no sólo los efectos antioxidantes "in vitro" y "ex vivo" del D-004, sino su posible impacto en la eficacia mostrada en el modelo de HP, puesto que su administración oral a una dosis efectiva en ese modelo inhibió la PL. Sin embargo, en este último estudio solamente se investigaron los efectos del D-004 administrado a 400 mg/kg, por lo que era necesario investigar el rango de dosis en que se manifiestan los efectos antioxidantes del D-004 tras su administración oral e investigar su dependencia de la dosis administrada.

A partir de estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo consistió en investigar si la administración oral de D-004 a ratas en una gama de dosis comprendida dentro de las dosis en que se observó su eficacia en los modelos de HP en ratas (50 y 800 mg/kg de peso durante dos semanas) inhibía la PL. Con tal objetivo, se investigó si el D-004 inhibía la PL "in vitro" inducida preparaciones membranosas obtenidas de hígados y cerebros, si disminuía significativamente los niveles plasmáticos de malondialdehído (MDA) e incrementaba la capacidad antioxidante total del plasma (CAOP). Con el objetivo de investigar los efectos del D004 sobre el daño a proteínas, se investigó los efectos del D-00 sobre la generación de grupos carbonilos asociados a proteínas.

## MATERIALES Y METODOS

**Animales y dosificación:** Se utilizaron ratas Wistar machos adultos jóvenes procedentes del CENPALAB (Centro para la Obtención de Animales de Laboratorio, La Habana), cuyos pesos oscilaban entre 150 y 200g. Antes de ser utilizados, los animales se mantuvieron en cuarentena al menos 7 días antes del inicio del experimento. Durante ese periodo, recibieron pienso estándar para ratas procedente del CENPALAB y agua "ad libitum". El D-004 fue preparado en forma de emulsión en vehículo carboximetil celulosa (CMC) / agua al 2% (p/v). Con tal objetivo, el D-004 una vez pesado se adicionó al vehículo previamente calentado a 40°C y la mezcla se agitó vigorosamente mediante succiones repetidas con la micropipeta automática. Los animales fueron administrados por entubación gástrica (1 ml/kg). Se emplearon 6 grupos experimentales (10 animales/grupo), un grupo control al cual se administro el vehículo solamente, y 5 grupos tratados con dosis de 50, 100, 200, 400 y 800 mg/kg. El D-004 fue administrado durante 2 semanas a razón de una administración diaria.

**Obtención de las muestras de plasma:** Transcurrido el periodo de tratamiento, los animales se anestesiaron en atmósfera de éter y fueron desangrados por la aorta abdominal. Las muestras de sangre se colectaron en tubos a los cuales se añadió previamente un volumen de solución de EDTA al 10%, de tal manera que la concentración final fue de 1 mg/ml de sangre. El plasma fue obtenido por centrifugación a 3000 rpm durante 10 min, y se almacenó -20°C hasta su utilización. Estas muestras de plasma fueron empleadas para las determinaciones de las concentraciones de MDA y grupos carbonilos. En paralelo, se colectaron muestras de sangre (1 ml) en tubos eppendorf previamente heparinizados (5 µl, heparina sódica 5000 UI/ml), cuyo plasma se utilizó para la determinación de la capacidad antioxidante del plasma (CAOP).

**Obtención de las preparaciones de membrana:** Luego del sacrificio de los animales, se disecaron los hígados y cerebros para la obtención de las fracciones membranosas. El procedimiento para la obtención de estas fracciones es análogo al descrito en los protocolos precedentes.<sup>18</sup>

**Sistemas oxidantes utilizados.** En todos los sistemas empleados se utilizó un volumen final de la mezcla de 1ml y se adicionó una concentración de proteína microsomal equivalente a 500 µg. Las determinaciones de proteína se realizaron por una modificación del método de Lowry.<sup>19</sup> Para este estudio se utilizaron microsomas activos, teniendo en cuenta que los efectos inhibitorios "in vitro" del D-004 fueron mas potentes preparaciones microsomales activas. Los sistemas oxidantes utilizados fueron; el sistema enzimático (NADPH/ADP/CiFe<sub>3</sub>) en membranas de hígado y la adición de FeCl<sub>3</sub> de membranas de cerebro. Las determinaciones se realizaron por triplicado para cada animal de cada grupo experimental. El grado de PL se determinó a través de la determinación de la sustancias reaccionantes con el barbitúrico (SRTB), para lo cual se utilizó la metodología descrita por Ohkawa et al,<sup>20</sup> de forma análoga a los trabajos precedentes. Para los cálculos de las concentraciones de MDA, se construyó una curva patrón con malondialdehído bis (dimethyl acetal). Los niveles de MDA se reportaron como nmol de MDA/mg de proteína o µM en el caso de las muestras de plasma. Las determinaciones se realizaron por triplicado en cada muestra de plasma o fracción de membrana.

**Determinación de la CAOP:** Para ello se utilizó el juego de reactivos de la firma Randox (NX2332). La captación de los radicales fue medida a través de la disminución del color que se produce al generarse del catión ABTS<sup>+</sup> en el medio de reacción, producto de la reacción de la peroxidasa (metamioglobina) y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La intensidad de color generado fue medida a través de espectrofotometría visible a 600 nm. Los valores de CAOP se reportaron en términos de concentración  $\mu$ M.

**Determinación de los grupos carbonilos:** Los grupos carbonilos fueron determinados en muestras de plasma, hígado y cerebro según el método descrito por Reznick et al.,<sup>21</sup>. En el caso de los tejidos, se tomó una alícuota de entre 150-200 mg la cual fue homogenizada suavemente en potter con un volumen de 3 ml de tampón de homogenización (tampón fosfato, 50 mM, pH, 7.4, que contenía, 0.1 % de digitonina, 40  $\mu$ g/ml de una mezcla de inhibidores de proteasa, y 1mM de EDTA). El homogenizado fue sometido a una centrifugación a 6000 g durante 15 minutos, y el sobrenadante así obtenido fue utilizado para la determinación. Tanto para las muestras de plasma como para el sobrenadante de los tejidos, previo a la determinación se realizó una lectura a 280/260nm, con el objetivo de descartar la presencia de ácidos nucleicos. En todos los casos, siempre que la razón fue mayor que 1, se procedió a un paso intermedio de precipitación con sulfato de estreptomicina al 1%, con el objetivo de eliminar los ácidos nucleicos. Posteriormente, a un volumen de plasma (equivalente a 50  $\mu$ g de proteína, determinado por Lowry) o 1 ml de sobrenadante se añadió 4 ml de solución de dinitrofenilhidracina (DNFH) a una concentración de 10mM disuelta en HCl 2.5 M. Tras agitación vigorosa, los tubos fueron guardados en oscuridad por espacio de 1 h. Ulteriormente, se añadieron 5 ml de ácido tricloroacético (TCA) a concentración final de 10% y el precipitado de proteínas, obtenido por centrifugación a 3000 rpm durante 15 min, fue lavado varias veces (3 como mínimo) con una mezcla de etanol:acetato de etilo (1:1, v/v) con el objetivo de eliminar el resto de DNFH que no reaccionaron con la proteína. Finalmente, el pellet de proteína fue disuelto en 2 mls de guanidina 6M y se procedió a la lectura en espectrofotómetro a 450 nm contra blanco. Para el cálculo de los grupos carbonilos presentes se utilizó el coeficiente de extinción molar de 22000M<sup>-1</sup>. Los datos se reportaron en nmol/mg de proteína. Para el caso de las muestras de tejido, la concentración de proteína fue determinada por lectura simultánea a 280nm y utilizando una curva patrón confeccionada con albúmina de suero bovino (BSA). Las determinaciones fueron hechas por duplicado.

**Estadística:** Las comparaciones entre grupos se realizaron utilizando la prueba de la U de Mann Whitney. A priori se estableció un nivel de significación  $\alpha= 0,05$  para la determinación de la significación estadística. Los datos fueron procesados de acuerdo al paquete de programas Statistic de Windows.

## RESULTADOS

La tabla 1 muestra las determinaciones de los niveles basales de MDA y CAOP en las muestras de plasma de los diferentes grupos experimentales. Como puede apreciarse, la administración de D-004 a dosis de 50 y 100 mg/kg, no modificó ninguno de los dos parámetros. Sin embargo, la administración de D-004 en el intervalo de dosis de 200 a 800 mg/kg, disminuyó significativamente los niveles de MDA e incrementó los de la CAOP. Para

ambos parámetros, la dosis de 400 mg/kg se comportó como la dosis máxima, puesto que la dosis de 800 mg/kg no produjo efectos adicionales.

La tabla 2 se muestran los resultados de las experiencias con fracciones microsomales de hígado y cerebro obtenidas tras el tratamiento con D-004. La administración oral de D-004 inhibió de manera dosis dependiente la generación de SRTB en fracciones microsomales activas de hígado de ratas en las cuales se indujo la PL en presencia de NADPH/ADP/CIFe<sub>3</sub>. Así, mientras que la dosis inferiores administradas (50 y 100 mg/kg), produjeron solamente una ligera disminución que no alcanzó niveles de significación, las dosis superiores (200, 400 y 800 mg/kg), produjeron un incremento gradual del efecto inhibitorio, el cual alcanzó significación estadística a partir de los 200 mg/kg. El efecto inhibitorio máximo (50.6%), se obtuvo con 400 mg/kg, puesto que la dosis de 800 mg/kg, no produjo efectos superiores.

El D-004 también inhibió la generación de SRTB inducida por hierro en los microsomas de cerebro activos. Sin embargo se observó una marcada diferencia con el hígado en lo relativo al rango de dosis efectivas, puesto que la dosis de 50 y 100 mg/kg inhibieron significativamente en un 32.8 y 60.8 %, respectivamente, las concentraciones de MDA. Además, en las experiencias realizadas con las fracciones de cerebro provenientes de los animales tratados con 200 mg/kg, la inhibición fue prácticamente similar a la encontrada con 100 mg/kg (59.3%), lo cual nos indica que la dosis de 100 mg/kg se comportó como la dosis máxima inhibitoria.

A partir de los resultados de estas experiencias, investigamos la presencia de grupos carbonilos en las muestras de plasma de los animales tratados con dosis de 400mg/kg y en el caso de órganos, investigamos aquellas dosis que se habían comportado como máximas inhibitorias de la PL inducida en microsomas. La figura 1 ilustra estos resultados, observándose que a la dosis en que se produjo la máxima reducción de los niveles de MDA y el máximo incremento de la CAOP (400 mg/kg) en plasma, se produce una disminución significativa de las concentraciones de grupos carbonilos en un 24.4 %. Análogamente a lo que ocurre en plasma, se observa también una reducción significativa de los grupos carbonilos en hígado 46.6% y en cerebro, 63.4%, a dosis en que fue demostrada previamente la inhibición máxima de la PL en estos tejidos.

**Tabla 1.** Efectos de la administración oral de D-004 sobre los niveles basales de malondialdehído la capacidad antioxidante total del plasma.

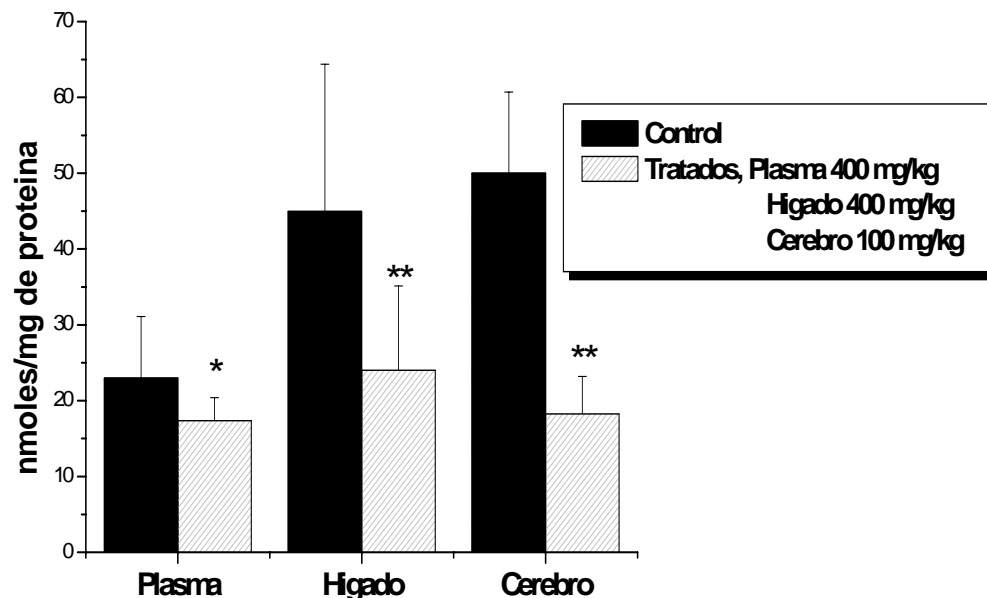
Tratamiento		Cambio relativo al control (%)
<b>SRTB</b>		
<b>(nmol MDA/mg</b>		
Control	13.94 ± 2.48	
D004 50 mg/kg	13.12 ± 1.31	- 5.8
100 mg/kg	13.04 ± 1.18	- 6.4
200 mg/kg	11.48 ± 1.61 *	- 17.6
400 mg/kg	9.49 ± 2.01 **	- 31.9
800 mg/kg	10.18 ± 3.20 **	- 26.9
<b>CAOP</b>		
Control	0.93 ± 0.13	
D004 50 mg/kg	0.95 ± 0.18	+ 2.1
100 mg/kg	1.02 ± 0.10	+ 9.6
200 mg/kg	1.12 ± 0.15 *	+ 20.4
400 mg/kg	1.56 ± 0.17 *	+ 67.7
800 mg/kg	1.52 ± 0.21 **	+ 63.4

Los valores son la media  $\pm$  DE para N = 10 animales. SRTB, sustancias reaccionantes con el tiobarbiturato. CAOP. Capacidad antioxidante del plasma  
 $p < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ , Comparación con el grupo control, U de Mann Whitney.

**Tabla 2.** Efectos de la administración oral de D-004 sobre la peroxidación lipídica inducida en microsomas activos de hígado y cerebro por los sistemas enzimáticos NADPH/ADP/CiFe<sub>3</sub>.y FeCl<sub>2</sub>, respectivamente.

Tratamiento	SRTB (nmol MDA/mg	Inhibición relativa al
<b>Microsomas de hígado</b>		
Control	34.89 $\pm$ 6.52	
D004 50 mg/kg	33.83 $\pm$ 8.85	- 3.0
100 mg/kg	31.67 $\pm$ 9.14	- 9.2
200 mg/kg	23.21 $\pm$ 10.11 *	- 33.5
400 mg/kg	17.28 $\pm$ 3.17 **	- 50.6
800 mg/kg	17.28 $\pm$ 3.22 **	- 50.8
<b>Microsomas de cerebro</b>		
Control	30.09 $\pm$ 6.30	
D004 50 mg/kg	20.27 $\pm$ 5.21*	- 32.6
100 mg/kg	11.84 $\pm$ 2.75**	- 60.7
200 mg/kg	12.24 $\pm$ 3.64 **	- 59.3
400 mg/kg	ND	
800 mg/kg	ND	

Los valores son la media  $\pm$  DE para N = 10 animales. SRTB, sustancias reaccionantes con el tiobarbiturato.\*  $p < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ , Comparación con el grupo control, U de Mann Whitney.]



**Fig. 1.** Efecto de la administración oral de D-004 sobre las concentraciones basales de grupos carbonilos asociados a proteínas en muestras plasma, hígado y cerebro. Los resultados de las barras representan el valor medio  $\pm$  DE de dos determinaciones realizadas en muestras provenientes de 10 animales de cada grupo experimental. \*  $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ . Comparación con el grupo control (Prueba de la U de Mann Whitney).

## DISCUSIÓN

El presente trabajo muestra que la administración oral de D-004 en una gama de dosis comprendida entre 50 y 800 mg/kg de peso inhibió la PL en ratas. De este modo, la administración oral de D-004 disminuyó significativamente los niveles plasmáticos de MDA e incrementó también de manera significativa la CAOP. Asimismo, la administración oral de D-004 disminuyó la susceptibilidad de preparaciones microsomales de hígado y cerebro ante la PL "in vitro" inducida por sistemas enzimáticos en microsomas activos. Los efectos antioxidantes "in vivo" del D-004 resultaron dependientes de la dosis ensayadas. Así, las dosis inferiores ensayadas (50 y 100 mg/kg) no modifican significativamente los parámetros bajo estudio, si bien su administración a dosis superiores (200 - 800 mg/kg), mostró un incremento gradual del efecto farmacológico el cual fue significativo a partir de 200 mg/kg y máximo con 400 mg/kg.

De este modo, los efectos inhibitorios del D-004 sobre la PL observados en este trabajo son consistentes con estudios previos realizados en "in vitro" en los que se demostró que la adición de D-004 al medio de incubación inhibía la PL inducida en microsomas hepáticos y cerebrales por diferentes agentes oxidantes, y con los efectos inhibitorios ejercidos por la administración oral del D-004 sobre el estrés oxidativo inducido por la ovariectomización en



ratas. Así, todos estos resultados en su conjunto indican que el D-004 inhibe la PL tanto tras su adición "in vitro" y tras su administración oral a dosis repetidas.

El tratamiento con D-004 también inhibió la PL inducida "in vitro" en microsomas activos de cerebro por iones  $\text{Fe}^{2+}$ . Sin embargo, mientras que en plasma y en hígado los efectos máximos se obtuvieron con 400 mg/kg, en cerebro la dosis de 100 mg/kg ya se comportó la máxima inhibitoria, con la cual se alcanza un porcentaje de inhibición superior al obtenido en los microsomas hepáticos. Tal hallazgo resulta congruente con resultados precedentes en ratas ovariectomizadas,<sup>17</sup> y sugiere una mayor susceptibilidad del cerebro a la acción inhibitoria del D-004 sobre la PL. Sin embargo, factores tales como la distribución tisular, el metabolismo y la eliminación tras la administración oral del D-004, pueden también influir en estos resultados, aspectos sobre los cuales es necesario profundizar en futuros trabajos.

La administración oral de D-004 también inhibió la modificación de proteínas inducida por las especies radicalarias, ya que su administración oral disminuyó significativamente las concentraciones de grupos carbonilos asociados a proteínas, que es un marcador ampliamente reconocido indicativo del daño oxidativo a proteínas. En tal sentido, diversos trabajos han demostrado que las especies radicalarias, entre ellas el radical  $\text{OH}^*$ , atacan a algunos aminoácidos convirtiéndolos en radicales carbonilos y conllevando a cambios estructurales y funcionales en las proteínas oxidadas.<sup>21</sup> De esta forma, la protección ejercida por el D-004 ante la formación de los grupos carbonilos asociados a proteínas resulta congruente con los efectos antioxidantes del D-004. Por otro lado, al comparar la protección ejercida por el D-004 sobre el daño a las proteínas en los tejidos estudiados, se aprecia que la protección en cerebro fue mayor que en tejido hepático, lo cual podría estar relacionado a que en este órgano, la inhibición de la PL es superior a la del hígado.

Finalmente, un hecho de significativa importancia es el rango de dosis en que se produce la inhibición de la PL tras la administración de D-004, el coincide con el reportado para los efectos sobre la hiperplasia prostática benigna (HPB) en esta especie.<sup>1,2</sup> Tal resultado adquiere una importancia singular considerando el papel que tienen la especies reactivas de oxígeno en el daño a diferentes estructuras tisulares y la contribución adicional que podría representar este efecto en la eficacia mostrada por el D-004 en los modelos de HPB. Este hecho nos conmina a estudiar si en este mismo rango de dosificación el D-004 inhibe la PL en el tejido prostático.

En resumen, la administración oral de D-004 a ratas durante dos semanas en una gama de dosis comprendida entre 50 y 800 mg/kg de peso inhibe la PL. El D-004 disminuye significativamente y de manera dosis dependiente los niveles plasmáticos de MDA, incrementa también de manera significativa la CAOP y disminuye significativamente la susceptibilidad de preparaciones microsomales de hígado y cerebro ante la PL "in vitro" inducida por sistemas enzimáticos en microsomas activos. En prácticamente todos los parámetros estudiados el efecto máximo se produce a la dosis de 400 mg/kg de peso con excepción del cerebro, donde ya a 50 mg/kg se observa una inhibición significativa de la PL, que alcanza el efecto máximo a la dosis de 100 mg/kg. El D-004 también protege a las proteínas del daño oxidativo, ya que su administración disminuye significativamente los grupos carbonilos asociados a proteínas en plasma, hígado y cerebro. Estos efectos que se manifiestan a dosis en que el D-004 inhibe significativamente la PL. Los efectos inhibitorios del D-004 sobre la PL observados en este trabajo son consistentes con los efectos inhibitorios D-004 sobre la PL tras su adición "in vitro" y tras su administración oral en ratas ovariectomizadas. La inhibición de la PL se observan en un rango de dosis análogo al que el D-004 previene la HPB en esta especie, lo cual puede representar un beneficio adicional del producto que coadyuve a la eficacia mostrada en este modelo. De este modo, futuros

trabajos deben investigar si la administración oral del D-004 también inhibe la PL del tejido prostático en este mismo rango de dosis.

## REFERENCIAS

1. Arruzazabala ML, Carbajal D, Mas R, Molina V, Rodríguez E, González V. Preventive effects of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm (*Rostoynea regia*) fruits, on prostate hyperplasia induced with testosterone on intact and castrated rodents. **Drugs Exp. Clin. Res.**, **XXX**, 227-234, 2004
2. Carvajal D, Arruzazabala M.L, Mas R, Molina V, Rodríguez E, González V. Effects of D-004, a lipid extract from the Cuban Royal palm fruit, on inhibiting prostatic hypertrophy induced with testosterona or dihidrotestosterona in a rat model: A randomized, controlled study. **Curr. Ther. Res.**, **65**, 1-5, 2004.
3. Castaño G, Menéndez R, Mas R, Ledon N, Fernández J, Pérez Y, González R M, Lezcay M. Effects of D-003, a new hypocholesterolemic and antiplatelet compound, on lipid profile and lipid peroxidation in healthy volunteers. **Clin. Drug Invest.**, **23**, 193-203, 2003.
4. Chan P, Juei.Tang C, Chiang-Wen T, Chiang-Shan N, Chiang-Ye H. The "in vitro" antioxidant activity of triolein and other lipid-related natural substances as measured by enhanced chemiluminiscence. **Life Sci.**, **59**, 2067-2073, 1996.
5. Diplock AT, Balasubramanian KA, Manohar M, Nathan VI, Ashton D. Purification and chemical characterization of the inhibitor of the lipid peroxidation from intestinal mucosa. **Biochem. Biophys. Acta**, **2**, 42-50, 1988.
6. Henry G E, Momin RA, Nair MG, Dewitt DL. Antioxidant and cyclooxygenase activity of fatty acids found in food. **J. Agric. Food**, **50**, 2231-2234, 2002.
7. Menéndez R, Más R, Amor AM, Ledón N, Pérez Y, González RM, Rodeiro I, Zayas M, Jiménez S. Inhibition of rat lipoprotein lipid peroxidation by the oral administration of D003, a mixture of very long-chain saturated fatty acids. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, **80**, 13-21, 2002.
8. Naidu KA. Eugenol: An inhibitor of lipoxygenase dependent lipid peroxidation. **Prostaglandins Leukotriene and Essential Fatty Acids**, **53**, 79-90, 1995..
9. Pérez Y, Menéndez R, Más R, González RM, Ledón N, Jiménez S. Efectos de la administración oral de D-003 sobre la peroxidación lipídica "in vivo" e "in vitro" en hígados de ratas. **Rev. Cubana de Farmacia**, **36 (Suplemento)**, 80-84, 2002.
10. Zhang Y, Mills GL, Fair MG. Cyclooxygenase inhibitory activity and antioxidant compounds from the mucelia of the edible mushroom *Grifota frondosa*. **J. Agric. Food. Chem.**, **18**, 7581-7585, 2002.
11. Ekkehard J, Senge T, Allhoff EP, König W. Analysis of the inflammatory network in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. **The Prostate**, **58**, 121-129, 2003.
12. Maines MD, Abrahamsom PA. Expression of heme oxygenase-1 (HSP32) in human prostate: normal, hyperplastic and tumor tissue distribution. **Urology**, **47**, 727-733, 1996.
13. Merendino RA, Salvo F, Saija A, Di Pasquale G, Tronaino A, Minciullo PL, Fraccica G, Gangemi S. Malondialdehyde in benign prostate hypertrophy: A usefull marker? **Mediators Inflamm.**, **12**, 127-128, 2003..
14. Suzuki S., Platz E A, Kawavchi I, Willet WC. Giovannucci, E. Intakes of energy and macronutrients and the risk of benign prostatic hyperplasia. **Am. J. Clin. Nutr.**, **75**, 689-697, 2002.

15. Tam N. N, Gao Y, Leung Y K, Ho SM. Androgenic regulation of oxidative stress in the rat prostate: involvement of NADPH oxidases and antioxidant defense machinery during prostatic involution and regrowth. **Pathol.**, **163**, 2513-22, 2003.
16. Menéndez R, Mas R, Pérez Y, González RM. Efectos "in vitro" del D-004, un extracto lipídico obtenido del fruto de la palma real *Roystonea regia*, sobre la peroxidación lipídica microsomal (DALMER, datos de archivo, 2005).
17. Pérez, Y, Menéndez R, Gámez R, González RM, Mas R. Efectos de la administración oral de D-004 (400 mg/kg) sobre la peroxidación lipídica en ratas ovariectomizadas. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **36 (Numero Especial)**, 2005.
18. Fraga V, Menéndez R, Amor A, González R, Jiménez S, Mas R. Effect of policosanol on "in vitro" and "in vivo" rat liver microsomal lipid peroxidation. **Arch. Med. Res.**, **28**, 355-360, 1997.
19. Maxwell MA, Haas SM, Beiber LL and Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane lipoprotein samples. **Anal. Biochem.**, **87**, 206-209, 1987.
20. Ohkawa O, Ohishi I and Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by the thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem.**, **95**, 351-358. 1979.
21. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. In *Methods in Enzymology*, Academic press, 357, 1994.