

Estudio del D-004 sobre la defensa antioxidante endógena en ratas con hiperplasia prostática inducida por inyección de testosterona

Study of D-004 on the endogenous antioxidant defence in rats presenting with prostate hyperplasia induced by testosterone injection

Yohani Pérez Guerra^I; Ambar Oyarzábal Yera^I; Vivian Molina Cuevas^{II}; Sonia Jiménez Despaigne^{III}; Dayisell Curveco Sánchez^{IV}; Rosa Mas Ferreiro^V

^ILicenciada en Ciencias Farmacéuticas. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). La Habana, Cuba.

^{II}Doctora en Ciencias. Licenciada en Bioquímica. Centro de Productos Naturales, CNIC. La Habana, Cuba.

^{III}Técnica en Química Orgánica. Centro de Productos Naturales, CNIC. La Habana, Cuba.

^{IV}Técnica en Farmacia Industrial. Centro de Productos Naturales, CNIC. La Habana, Cuba.

^VDoctora en Ciencias. Licenciada en Bioquímica. Centro de Productos Naturales, CNIC. La Habana, Cuba.

RESUMEN

La hiperplasia prostática benigna, enfermedad común en hombres mayores de 50 años de edad, se caracteriza por el crecimiento incontrolado de la glándula prostática y la presencia de síntomas del tracto bajo urinario. El estrés oxidativo ha sido recientemente asociado con la causa de esta enfermedad. El D-004, extracto lipídico del fruto de la *Roystonea regia*, ha mostrado reducir la hiperplasia prostática inducida por testosterona en roedores y producir efectos antioxidantes *in vitro* e *in vivo*, pero sus efectos sobre las enzimas del sistema antioxidante

endógeno no han sido estudiados. Este trabajo investigó los efectos del tratamiento oral con D-004, durante 14 días, sobre las enzimas superóxido dismutasa y catalasa en ratas con hiperplasia prostática inducida por testosterona. Los animales se distribuyeron en 4 grupos: un control negativo y tres inyectados con testosterona: uno tratado con el vehículo (control positivo) y dos con D-004 (400 y 800 mg/kg, respectivamente). Se determinó la capacidad antioxidante total del plasma y las actividades de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa en eritocitos lisados y plasma, respectivamente. El tratamiento oral con D-004 (400 y 800 mg/kg) previno de modo marcado y significativo el agrandamiento de la próstata inducido con testosterona en ratas, y aumentó significativamente la capacidad antioxidante del plasma y la actividad de la catalasa, sin modificar la actividad de la superóxido dismutasa. Estos resultados sugieren que la actividad antioxidante del D-004 está relacionada, al menos parcialmente, con la estimulación de algunas enzimas del sistema antioxidante endógeno.

Palabras clave: D-004, hiperplasia prostática, antioxidantes endógenos, estrés oxidativo, ratas.

ABSTRACT

Benign prostatic hyperplasia, a common disease in men aged over 50 is characterized by uncontrolled growth of prostatic gland and the presence of low urinary tract symptoms. The oxidative stress has been recently associated with the disease cause. The D-004, a lipid extract from *Roystonea regia*, reduces the prostatic hyperplasia induced by testosterone in rodents and to produce *in vitro* and *in vivo* antioxidant effects but its effects on endogenous antioxidant system enzymes haven't been studied. Present paper researched the effects of D-004 oral treatment over 14 days on dismutase and catalase superoxide enzymes in rats with prostatic hyperplasia induced by testosterone. Animals were randomized distributed into 4 groups: a negative control and three-testosterone injected: one treated with the vehicle (positive control) and two with D-004 (400 and 800 mg/kg, respectively). The plasma total antioxidant ability was determined as well as the activity of catalase and dismutase superoxide enzymes in lysed erythrocyte and plasma, respectively. D-004 (400 and 800 mg/kg) oral treatment markedly and significantly prevented the prostate enlargement induced with testosterone in rats and increased very much the plasma antioxidant activity and of catalase, without modify the superoxide dismutase. These results suggest that D-004 antioxidant activity is partially related to stimulation of some enzymes of the endogenous antioxidant system.

Key words: D-004, prostatic hyperplasia, endogenous antioxidants, oxidative stress, rats.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo es el resultado del desequilibrio entre los factores pro-oxidantes y antioxidantes debido a un aumento de los primeros y/o una reducción de los

segundos. Dentro de los agentes pro-oxidantes se encuentran los radicales libres de oxígeno, los cuales provocan reacciones en cadena que producen daño oxidativo a diferentes moléculas como lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos, entre otras. Estas reacciones pueden ser contrarrestadas por la acción del sistema antioxidante endógeno.¹⁻³

La hiperplasia prostática benigna (HPB), enfermedad común en hombres mayores de 50 años de edad; se caracteriza por el crecimiento no maligno e incontrolado de la glándula prostática que se acompaña de síntomas del tracto bajo urinario.⁴ El agente causal de esta enfermedad es multifactorial y se asocia a cambios hormonales en el hombre que envejece, como al aumento de la actividad de la enzima 5 α reductasa prostática,⁵ y al aumento de la expresión de los adrenoreceptores (ADR) α 1 en vejiga y próstata.⁶ Sin embargo, recientemente ha sido sugerido que el estrés oxidativo también se encuentra asociado a la causa de la HPB.^{7,8}

El D-004, extracto lipídico obtenido del fruto de la palma real cubana (*Roystonea regia*), consiste en una mezcla de ácidos grasos, entre los cuales el ácido láurico, mirístico y palmítico son los más abundantes. El D-004 ha mostrado prevenir la hiperplasia prostática inducida por testosterona (T)⁹ pero no por dihidrotestosterona (DHT) en roedores,¹⁰ e inhibir competitivamente la actividad de la 5 α reductasa prostática *in vitro*,¹¹ así como antagonizar *in vitro* e *in vivo* las respuestas mediadas por los ADR- α 1.¹²

Por otra parte, el D-004 (0,9-1000 mg/ml) inhibió la peroxidación lipídica *in vitro* inducida por diferentes agentes en fracciones microsomales de hígado y cerebro de ratas,¹³ y su administración por vía oral (400 mg/kg) a ratas a las que se les había realizado ovariectomía redujo las concentraciones de malondialdehído (MDA) en plasma e incrementó la capacidad antioxidante total del plasma (CATP).¹⁴ Los efectos antioxidantes del D-004 también han sido demostrados específicamente en homogenato de próstatas, al reducir las concentraciones *in vitro* e *in vivo* de marcadores de la peroxidación lipídica en tejido prostático de ratas normales¹⁵ y de ratas con hiperplasia prostática inducida por T.¹⁶ Un estudio reciente demostró que el tratamiento por vía oral con D-004 (360 mg/día) produjo efectos antioxidantes sobre diversos marcadores oxidativos en el plasma de hombres sanos.¹⁷

Ha sido demostrado que en pacientes con HPB se produce un aumento de la peroxidación lipídica y una disminución en la actividad de dos enzimas antioxidantes endógenas: la superóxido dismutasa (SOD)¹⁸ y la catalasa (CAT)¹⁹ medidas en eritrocitos y en plasma, respectivamente. Dichas enzimas forman parte de una secuencia de reacciones que permiten la eliminación del radical superóxido convirtiéndolo en H₂O₂ y H₂O mediante la acción de la SOD y la destoxificación del H₂O₂ por la CAT, de esta forma se evita la la formación del radical \cdot OH, mucho más reactivo.²⁰

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar los efectos del D-004 sobre la SOD en eritrocitos, la CAT plasmática y la CATP en ratas con hiperplasia prostática inducida por T, para explorar si el tratamiento estimula componentes de la respuesta antioxidante endógena.

MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas Wistar machos (150-200 g de peso corporal) provenientes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana, Cuba), las cuales se adaptaron durante 7 días a las condiciones de laboratorio temperatura (25 ± 2 °C), humedad relativa (60 ± 10 %) y ciclos de luz-oscuridad de 12 h, con libre acceso al agua y la comida. El manejo de los animales se realizó de acuerdo con los principios éticos y las regulaciones establecidas por las Buenas Prácticas de Laboratorio vigentes en la República de Cuba y los procedimientos del Centro de Productos Naturales (CPN).

Administración y dosificación

El lote de D-004 (que contenía ácido laúrico 30,2 %, ácido oleico 29,7 % y ácido mirístico 10,4 % como los componentes más abundantes) fue suministrado por el Departamento de Química del Centro de Productos Naturales (Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba).

El D-004 fue administrado en forma de emulsión en Tween 65/H₂O (2 %), y el propionato de T (Industria Médico Farmacéutica, IMEFA, Ciudad de La Habana, Cuba) se diluyó en aceite de soya.

Tras culminar la cuarentena las ratas se distribuyeron aleatoriamente (10 ratas/grupo) en 4 grupos: un control negativo, inyectado por vía s.c. con aceite de soya y tratado oralmente con el vehículo Tween 65 (2 %), y 3 grupos inyectados con T: uno control positivo tratado con el vehículo y dos con D-004 (400 y 800 mg/kg/día, respectivamente) mediante entubación gástrica (5 mL/kg), durante 4 semanas. Las dosis ensayadas fueron seleccionadas por ser las dosis efectivas en experimentos anteriores.^{10,15}

La inducción de la hiperplasia prostática en ratas se realizó mediante la inyección por vía s.c. diaria de propionato de testosterona (3 mg/kg) durante 14 días.⁹

Determinación del peso corporal y prostático

El peso corporal (PC) fue controlado el día previo al inicio del tratamiento (basal) y semanalmente, en balanza rápida Sartorius.

Al término del estudio y 24 h tras la última administración las ratas se anestesiaron en atmósfera de éter y se desangraron por la aorta abdominal, su abdomen fue abierto mediante una incisión en la línea media ventral, y su próstata fue separada de la vejiga y pesada en balanza Sartorius.

Muestras

Las muestras de sangre se colectaron en tubos a los cuales se añadió previamente una solución de EDTA al 10 % (concentración final: 1 mg/mL de sangre). El plasma se obtuvo por centrifugación a 3 000 rev/min⁻¹ durante 10 min, y se almacenó a -20 °C hasta su utilización.

La determinación de la CATP se realizó con el juego de reactivos de la firma Randox (NX2332), en el cual la captación de los radicales se mide a través de la disminución del color que se produce al generarse el catión ABTS⁺ en el medio de reacción, producto de la reacción de la peroxidasa (metamioglobina) y el H₂O₂. La intensidad de color generado se midió a 600 nm y los valores de CATP se reportaron en μ M. Las determinaciones se realizaron por duplicado para cada muestra.

La actividad de la SOD se determinó mediante el juego de reactivo Randox SD125 que se basa en la reacción de xantina y xantina oxidasa con formación de color. Para ello se tomaron 0,5 mL de sangre total con anticoagulante (EDTA) y se centrifugó 10 min a 3 000 rev/min⁻¹. El plasma se decantó y los eritrocitos se lavaron 4 veces con 3 mL de solución de NaCl (0,9 %) y se centrifugaron después de cada lavado. La lisis de los eritrocitos se produjo mediante la adición de 2 mL de agua destilada fría y colocándose durante 15 min a 4 °C. Seguidamente, esta preparación de eritrocitos lisados se diluyó 50 veces con 0,01 mol/L de solución amortiguadora fosfato (pH= 7) para alcanzar porcentajes de inhibición entre 30 y 60 %. El factor de dilución final fue de 200.

La actividad de la CAT se determinó por el método modificado de Aebis (1974)²¹ en el que se monitorea la desaparición del peróxido de hidrógeno a 240 nm durante 5 min en espectrofotómetro. A 10 µL de muestra se añadió 2,89 mL de 50 mmol/L de solución amortiguadora fosfato de potasio (pH= 7,4). La reacción se inició al adicionar 0,1 mL de peróxido de hidrógeno, para un volumen final de 3 mL a 25 °C. La actividad se calculó por el coeficiente de extinción molar ($43,6 \times 10^{-3}$).

Análisis estadístico

Las comparaciones entre grupos se realizaron con el ensayo de Kruskal Wallis (comparaciones entre todos los grupos) y la prueba de la U de Mann Whitney (comparaciones *versus* grupo control). *A priori* se estableció un nivel de significación $\alpha = 0,05$. Los datos fueron procesados con el paquete de programas Statistic para Windows. (Release 4.2, Stat Soft, Inc USA). Los valores se expresaron como media el error estándar de la media (EEM).

RESULTADOS

La [tabla 1](#) muestra el efecto del tratamiento con D-004 sobre el agrandamiento de la próstata en ratas inyectadas con T. La inyección por vía s.c. de T aumentó significativamente ($p < 0,001$) el peso de las próstatas (PP) y la relación PP/PC con respecto al grupo control negativo, efectos que fueron significativamente ($p < 0,01$) reducidos por el tratamiento con D-004 (400 y 800 mg/kg/día) con relación al grupo control positivo. La dosis de 400 mg/kg/día se comportó como la dosis máxima efectiva puesto que la dosis de 800 mg/kg/día no produjo un efecto adicional. Ningún tratamiento afectó el PC.

La [tabla 2](#) resume los efectos del D-004 sobre la CATP y sobre las actividades de la SOD y la CAT, variables que disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) en el grupo control positivo en relación con el control negativo. Los decrementos en la CATP y en la actividad de la CAT, pero no el de la SOD, fueron prevenidos por el tratamiento por vía oral con D-004. Así, el tratamiento con D-004 (400 y 800 mg/kg/día) aumentó de modo marcado y significativo ($p < 0,05$) la CATP (81,8 y 77,2 %, respectivamente) y la actividad de la CAT (100 y 92,3 % respectivamente) con respecto a los valores del control positivo.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio demuestran que el tratamiento por vía oral con D-004 (400 y 800 mg/kg) durante 4 semanas, no solo previno el agrandamiento de

las próstatas en ratas con hiperplasia prostática inducida con T, sino de modo marcado y significativo ($p < 0,05$) la reducción de la CATP del plasma y de la actividad de la CAT plasmática, sin modificar la actividad de la SOD en eritrocitos lisados.

Estudios experimentales previos han demostrado los efectos antioxidantes del D-004 sobre tejido prostático de ratas normales o con hiperplasia prostática inducida por T,⁹ lo que sugiere que tal efecto pudiera contribuir a sus efectos beneficiosos sobre la HPB teniendo en cuenta que el estrés oxidativo también se encuentra asociado a la causa de la HPB.^{7,8} Hasta el presente, sin embargo, no se había establecido si el efecto antioxidante del D-004 involucra un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes, aspecto que representó el objetivo de este estudio.

En el presente estudio, como era esperado, la inyección por vía s.c. de T aumentó significativamente ($p < 0,001$) el PP y la relación PP/PC con respecto al control negativo, lo que indica así la validez del modelo experimental. Ya que ha sido demostrado que en pacientes con HPB existe un aumento de los marcadores plasmáticos de la peroxidación lipídica y una reducción de las actividades enzimáticas de la SOD eritrocitaria y la CAT plasmática,^{18,19} resultan consistentes las reducciones de las actividades de la CAT y la SOD observadas en las ratas con hiperplasia prostática inducida por T con respecto a los controles negativos.

El tratamiento por vía oral con D-004 (400 y 800 mg/kg) durante 14 días redujo significativamente el aumento del PP (69,8 y 67 % respectivamente) así como la relación PP/PC (65,9 y 64,9 % respectivamente) con respecto al grupo control positivo. Ya que el tratamiento con D-004 no afectó el PC de los animales, la disminución de la relación PP/PC se debe a la reducción del PP causada por el D-004.

Además, el tratamiento con D-004 (400 y 800 mg/kg) previno marcada y significativamente ($p < 0,05$) los decrementos de la CATP y de la actividad de la CAT, pero no de la actividad de la SOD, inducidos por la inyección de T. El aumento de la CATP plasmática aquí mostrado resulta consistente con los resultados de estudios previos realizados *in vivo* en ratas¹⁵ y en hombres sanos,¹⁷ mientras que el aumento de la actividad de la CAT con respecto al control positivo y la ausencia de efecto sobre la SOD son referidos por primera vez.

Teniendo en cuenta que la HPB involucra procesos inflamatorios en los cuales el reclutamiento de los leucocitos polimorfonucleares y/o la formación de leucotrienos y prostaglandinas propician la formación de especies reactivas de oxígeno como O_2^- , H_2O_2 y $\cdot OH$,²¹ las que se detoxifican entre otras por las enzimas SOD y CAT, el aumento de la actividad de la CAT inducido por el D-004 podría implicar un aumento de la detoxificación de las especies reactivas de oxígeno que contribuyera a compensar el aumento del estrés oxidativo inducido por la T, ya que esta enzima es capaz de convertir el H_2O_2 en H_2O y O_2 , y los peróxidos e hidroperóxidos tóxicos en sus correspondientes alcoholes menos tóxicos y en H_2O , por lo cual desempeña una función relevante en la defensa antioxidante del organismo frente a los efectos deletéreos de las especies reactivas de oxígeno.^{20,21} La CAT, enzima que metaboliza los peróxidos e hidroperóxidos lipídicos tóxicos que se generan a partir del daño que los radicales $\cdot OH$ producen sobre los lípidos de las membranas celulares, es altamente eficiente, ya que no puede ser saturada por el H_2O_2 a ninguna concentración, pero sí se satura, sin embargo, con la sobreproducción de peróxidos e hidroperóxidos lipídicos.¹⁷

Estudios previos han demostrado la capacidad *in vitro* del D-004 para secuestrar al radical hidroxilo ($\cdot OH$),¹⁴ efecto referido también para ácidos grasos saturados e

insaturados de similar largo de cadena.^{22,23} Por tanto, el efecto del D-004 sobre la actividad de la CAT podría generarse de modo indirecto, al reducir las cantidades de productos tóxicos (peróxidos e hidroperóxidos lipídicos) debido a su acción secuestradora de radicales ·OH, lo que permitiría que la enzima no se saturase y se mantenga activa en condiciones de aumento del estrés oxidativo, como ocurre en el modelo de hiperplasia prostática por T.

El hecho de que la actividad de la SOD no fuera modificada por el D-004 concuerda con resultados previos en que la adición *in vitro* de D-004 a microsomas de ratas no fue capaz de secuestrar el anión superóxido,¹⁴ lo cual sugirió una posible saturación de la enzima. No obstante, teniendo en cuenta que la actividad de la SOD eritrocitaria refleja la de la SOD citoplasmática hística, no la de la SOD mitocondrial, estos resultados no permiten descartar que el tratamiento oral modifique esta última. Es de interés, por tanto, que estudios ulteriores investiguen los efectos del tratamiento oral con D-004 sobre la actividad de las enzimas del sistema antioxidante endógeno en diferentes tejidos, incluido el prostático, abordando su posible efecto sobre la SOD mitocondrial.

En conclusión, la administración oral de D-004 (400 y 800 mg/kg) durante 2 semanas a ratas con hiperplasia prostática inducida con T, previno de modo marcado y significativo ($p < 0,05$) la reducción de la capacidad antioxidante total del plasma y de la actividad de la CAT plasmática, sin modificar la actividad de la SOD en eritrocitos lisados. Estos resultados sugieren que la actividad antioxidante del D-004 involucra, al menos parcialmente, la estimulación de algunos de los componentes del sistema antioxidante endógeno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Humphries KM, Szweda PA, Szweda LI. Aging: A shift from redox regulation to oxidative damage. *Free Radic Res.* 2006;40:1239-43.
2. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radic Biol Med.* 2007;43:477-503.
3. Vaya J, Aviram M. Nutritional Antioxidants: Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Current Med Chem.* 2001;1:99-117.
4. Emberton M, Andriole GL, de la Rosette J, Djavan B, Hoefner K, Vela Navarrete R, et al. Benign prostatic hyperplasia: a progressive disease of aging men. *Urology.* 2003;61:267-73.
5. Bartsch G, Rittmaster RS, Klocker H. Dihydrotestosterone and the role 5 alpha-reductase inhibitors in benign prostatic hyperplasia. *Urologe A.* 2002;41:412-24.
6. Yamada S, Ashizawa N, Ushijima H et al. Alpha-1 adrenoceptors in human prostate: characterization and alteration in benign prostatic hypertrophy. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987;242:326-32.
7. Goswami K, Nandeesh H, Koner BC, Nandakumar DN. A comparative study of serum protein-bound sialic acid in benign and malignant prostatic growth: possible role of oxidative stress in sialic acid homeostasis. *Prostate Cancer Prostatic.* 2007;10:356-9.

8. Belostottskaia LI, Nikitchenko Iu V, Gomon N. Effect of biologically active substances of animal and plant origin on prooxidant-antioxidant balance in rats with experimental prostatic hyperplasia. *Eksp Klin Farmakol.* 2006;4:66-8.
9. Noa M, Arruzazabala ML, Carbajal D, Más R, Molina V. Effect of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm fruit, on histological changes of prostate hyperplasia induced with testosterone in rats. *Int J Tissue React.* 2005;32:193-8.
10. Carbajal D, Arruzazabala ML, Mas R, Molina V, Rodríguez E, González V. Effect of D-004, a lipid extract from Cuban Royal Palm fruit, on inhibiting prostatic hypertrophy induced with testosterone or dihydrotestosterone in a rat model: A randomized controlled study. *Curr Ther Res.* 2004;65:505- 14.
11. Pérez Y, Menéndez R, Mas R, González RM. *In vitro* effect of D-004, a lipid extract from the Cuban Royal palm (*Roystonea regia*) fruits, on the activity of prostate steroid 5-alpha reductasa. *Curr Ther Res.* 2006;67:396-405.
12. Arruzazabala ML, Mas R, Carbajal D, Molina V. Effects of D-004, a lipid extract from the Cuban royal palm fruit, on *in vitro* and *in vivo* effects mediated by alpha-adrenoceptors in rats. *Drugs R & D.* 2005;6:281-9.
13. Menéndez R, Más R, Pérez Y, González RM. *In vitro* effect of D-004, a lipid extract of the ground fruits of the Cuban royal palm (*Roystonea regia*), on rat microsomal lipid peroxidation. *Phytotherapy Res.* 2007;21:89-95.
14. Pérez Y, Menéndez R, Gamez R Mas R, González RM y Mas R Efectos de la administración oral de D-004 (400 mg/kg) sobre la peroxidación lipídica en ratas ovariectomizadas. *Rev CENIC Cien Biol.* 2005;36(No. Especial).
15. Menéndez R, Mas R Pérez Y, Gamez R, González RM Jiménez S. Estudio de los efectos de la administracion oral de D-004, (50-800 mg/kg de peso) sobre la peroxidacion lipídica en ratas. *Rev CENIC Cien Biol.* 2005;36(No. Especial).
16. Pérez Y, Molina V, Mas R, Menéndez R, González RM, Oyarzábal A, and Jiménez S. Ex vivo antioxidant effects of D-004, a lipid extract from *Roystonea regia* fruits, on rat prostate tissue. *Asian J Androl.* 2008;10:659-66.
17. López E, Molina V, Illnait J, Oyarzábal A, Fernández LC, Más R, et al. Antioxidant effects of D-004, a lipid extract from the *Roystonea regia* fruit, on the plasma of healthy men. *Asian J Androl.* 2009 Jan 26;1-8.
18. Aydin A, Arsova-Sarafinovska Z, Eken A, Erdem O, Erten K, Dimovskim A. Oxidative stress and antioxidant status in non-metastatic prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Clinical Biochemistry.* 2006;36:176-9.
19. Dogru- Abbasoglu S, Aykac-Toker G, KogaK T, Quejad U. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxides in the plasma of patients with benign prostatic hyperplasia or prostate cancer are not predictive. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1999;125:402-4.
20. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41:1819-28.
21. Aebi H. Catalase in method of enzymatic analysis. New York: Academic Press; 1974; 2:673-84.

22. Zhang Y, Mills GL, Nair MG. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant compounds from the mycelia of the edible mushroom *Grifola frondosa*. *J Agric Food Chem.* 2002; 50:7581-5.

23. Paul Chan Juei-Tang Cheng, Chiung-Wen Tsao, Chiang-Shan Niu and Chuang-Ye Hong., The in vitro antioxidant activity of trilinolein and other lipid-related natural substances as measured by enhanced chemiluminescence. *Life Sci.* 1996;59:2067-73.

Recibido: 8 de diciembre de 2009.

Aprobado: 14 de enero de 2010.

Lic. *Yohani Pérez Guerra*. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Calle 198 e/ 19 y 21 Atabey, Playa, La Habana, Cuba. Correo electrónico: yohani.perez@cnic.edu.cu

Tabla 1. Efecto del D-004 sobre el PP y la relación PP/PC en ratas con hiperplasia prostática

Tratamiento	PC (g)	PP (mg)	Inhibición (%)	PP/PC ($\times 10^{-3}$)	Inhibición (%)
Control (-)	335,5 \pm 12,83	377,6 \pm 24,53	-	1,14 \pm 0,10	-
Control (+)	307,5 \pm 13,41	643,9 \pm 47,41***	-	2,11 \pm 0,15***	-
D004 (400 mg/kg)	309,2 \pm 6,86	461,1 \pm 21,5 ⁺⁺	69,8	1,47 \pm 0,08 ⁺⁺	65,9
D004 (800 mg/kg)	315,8 \pm 7,70	469,0 \pm 15,4 ⁺⁺	67	1,48 \pm 0,03 ⁺⁺	64,9

(Media \pm EEM).

***p < 0,001. Comparación grupos tratados vs. grupo control (-).

++p < 0,01. Comparación vs. grupo control (+).

Prueba de la U de Mann Whitney.

Tabla 2. Efecto de la administración por vía oral del D-004 sobre la CATP y sobre las actividades enzimáticas de la SOD y CAT medidas en eritrocitos y plasma respectivamente de ratas con hiperplasia prostática

Tratamiento	CATP (mmol/L)	Inhibición (%)	SOD (U/g de Hb)	Inhibición (%)	CAT(UI/min mgp) $\times 10^{-1}$	Inhibición (%)
Control (-)	0,58 \pm 0,06	-	71,54 \pm 3,50	-	1,21 \pm 0,09	-
Control (+)	0,36 \pm 0,05*	-	60,76 \pm 2,29*	-	0,82 \pm 0,07*	-
D004 (400 mg/kg)	0,54 \pm 0,02 [†]	81,8	60,47 \pm 1,35	0	1,23 \pm 0,14 [†]	100
D004 (800 mg/kg)	0,53 \pm 0,03 [†]	77,2	61,17 \pm 0,87	3,8	1,18 \pm 0,96 [†]	92,3

(Media \pm EEM).

*p < 0,05. Comparación grupos tratados vs. grupo control (-).

[†]p < 0,05. Comparación vs. grupo control (+).

Prueba de la U de Mann Whitney.