

# GranaGard

Ácido Púnicico Nanomolecular



## LA OXIDACIÓN

un proceso químico natural

## LAS VITAMINAS

antioxidantes

## EL ESTRÉS OXIDATIVO

como productor de enfermedades

tolia

**PARA QUE NO  
ME OLVIDES**

**GranaGard**  
Ácido Púnicico Nanomolecular



## Introducción

La participación de los fenómenos de estrés oxidativo como uno de los principales agentes etiológicos de enfermedades que presentan una gran incidencia y alta prevalencia, ha orientado las investigaciones a la búsqueda de potentes agentes antioxidantes, efectivos y seguros. Por otra parte, y considerando que ningún sistema, órgano, tejido o célula está exento de sufrir un daño oxidativo que generalmente será el inicio de un proceso patológico, el interés de los investigadores también se ha orientado a que esa tan deseada molécula antioxidante pueda además tener una gran biodisponibilidad y que su distribución en el organismo no se vea limitada por barreras y membranas ni por las características físico-químicas de estas, de allí que el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas es fundamental.

Durante la última década es mucho lo que se ha investigado sobre un potente fitoquímico antioxidante

que se extrae del aceite de semilla de la Granada (PSO), se trata del ácido púnicico, el cual se considera según los resultados de algunas investigaciones uno de los antioxidantes naturales más potentes. Algunos estudios lo reportan como unas siete veces más potente que el té verde y por lo menos seis veces más potente que el extracto de semilla de uva. Recientemente y gracias a los avances en la nanotecnología, se ha podido desarrollar una nanoemulsión del PSO con lo cual así en una presentación tenemos lo mejor de dos mundos: el mejor antioxidante natural en la forma galénica de nanoemulsión, lo más avanzado en galénica.

La presente monografía presenta una revisión del Estado del Arte en el tópico del estrés oxidativo, su relación con las enfermedades y la información sobre el prometedor Nano-PSO, GranaGard®, como parte de los tratamientos.

## Indice

Introducción	2
La Oxidación, un proceso químico natural	4
La Oxidación en los seres vivos	4
ROS y Radicales libres	5
Sistema de defensa antioxidante	5
Enzimas antioxidantes	6
Las vitaminas antioxidantes	6
Los Fitoquímicos antioxidantes	7
La Oxidación fuera de control: el Estrés Oxidativo	7
El Estrés oxidativo como productor de enfermedades	8
La Enfermedad de Alzheimer	8
La Aterosclerosis	10
Hipertensión arterial	10
Diabetes mellitus	11
Cáncer	11
Hígado Graso	12
Cirrosis y hepatopatía alcohólica	13
El envejecimiento	14
Otras patologías relacionadas con el estrés oxidativo	14
El aceite de semilla de granada (PSO)	16
Actividades pro y antioxidantes	17
Metabolismo del Ácido Púnicico	18
Toxicidad	18
GranaGard®: el potente antioxidante nanoemulsificado	19
Bibliografía	21



# VIVE CADA INSTANTE...

**GranaGard**  
Ácido Púnicico Nanomolecular



#1761033

## La Oxidación, un proceso químico natural

Originalmente, el término oxidación se asignó a la combinación del oxígeno con otros elementos. Existían muchos ejemplos conocidos de esto. El hierro que se "rmohece" y el carbón que arde. En la oxidación del hierro, el oxígeno se combina lentamente con el metal formando óxido ferroso ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ); en la combustión, el oxígeno se combina rápidamente con el carbón para formar  $\text{CO}_2$ . La observación de estas reacciones originó los términos oxidación "lenta" y "rápida".

Sin embargo, los químicos observaron que otros elementos no metálicos se combinaban con las sustancias de la misma manera que lo hacía el oxígeno. Reacciones como la del antimonio y el sodio que arden en atmósfera de cloro y el hierro en presencia de fluor presentaban similitud como las observadas con el oxígeno, por esto los químicos dieron una definición de oxidación más general. Los reactivos como el  $\text{O}_2$  eliminaban electrones de cada elemento. Por tanto, la oxidación se definió como el proceso mediante el cual hay pérdida aparente de electrones de un átomo o ión.

### La Oxidación en los seres vivos.

En bioquímica la ciencia que estudia las reacciones químicas en seres vivos y productos orgánicos, se considera oxidación a todo proceso en el que ocurre pérdida de electrones, captación de oxígeno o una cesión de hidrógeno (deshidrogenación) y reducción a aquel otro en el cual se captan electrones o se pierden oxígenos. Todo proceso de oxidación va siempre acompañado de otro de reducción. Son reacción de óxido-reducción o reacciones redox entre pares conjugados.

En la naturaleza casi todo es oxidado por el oxígeno: las grasas se vuelven rancias, la goma pierde elasticidad, el papel amarillea, las manzanas se oxidan... Además estas reacciones de óxido-reducción son muy importantes en bioquímica, puesto que los seres vivos obtienen la mayor parte de su energía libre a partir de ellas: en la fotosíntesis la energía solar impulsa la reducción del  $\text{CO}_2$  y la oxidación del  $\text{H}_2\text{O}$  formando carbohidratos y  $\text{O}_2$  y en el metabolismo aeróbico, realizado por los eucariotas y muchos procariontes, tiene lugar un proceso inverso a la fotosíntesis, que permite almacenar la energía libre producida en la oxidación de los carbohidratos y de otros compuestos orgánicos, en forma de ATP. En nuestro organismo el metabolismo y la respiración son procesos que no se detienen, a través de ellos se genera la energía, y la demanda de esta para mantenernos vivos es constante.

## La Oxidación, un proceso químico natural

Nuestros procesos metabólicos fisiológicos como por ejemplo, procesar los carbohidratos que ingerimos generan la producción de ROS y radicales libres.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son un conjunto de moléculas reactivas producidas en algunos procesos metabólicos en los que participa el oxígeno. Las ROS (ROS, del inglés Reactive Oxygen Species) son moléculas muy reactivas entre las que se encuentran los iones de oxígeno, los radicales libres y los peróxidos. Su gran reactividad se debe a que poseen electrones desapareados que les hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de óxido-reducción. Las distintas especies reactivas de oxígeno pueden participar en distintos tipos de reacciones en las que pueden sufrir procesos de oxidación o reducción. De menor a mayor grado de reducción son especies reactivas de oxígeno:

El anión superóxido  $\text{O}_2^-$  que es un potente agente oxidante muy reactivo con el agua.

### El peróxido de hidrógeno $\text{H}_2\text{O}_2$

El radical hidroxilo  $\text{OH}^\bullet$  que es el más reactivo. Aceptando un electrón más, el radical hidroxilo da lugar a una molécula de agua.

Las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS), es un término colectivo, ampliamente empleado, que comprende todas aquellas especies reactivas que, siendo o no radicales libres, centran su reactividad en un átomo de oxígeno. No obstante, a menudo, bajo la denominación ROS se incluyen otras especies químicas cuya reactividad se centra o deriva en átomos distintos al de oxígeno, como el caso de las especies cuya reactividad deriva o se centra en átomos como nitrógeno o cloro deberían referirse como RNS (Reactive Nitrogen Species) y RCS (Reactive Chlorine species), respectivamente.

## Sistema de defensa antioxidante.

Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen Radicales Libres (1).

Esta situación sería incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen los Radicales Libres. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un Radical Libre.

El antioxidante al entrar en contacto con él, le cede un electrón oxidándose y transformándose en un Radical Libre débil no tóxico (2,3-5). No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos, catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los Radicales Libres. De lo dicho anteriormente se deduce que los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no. Los antioxidantes se clasifican en endógenos, se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células y los exógenos que son aquellos que ingresan a través de la dieta.

### Enzimas antioxidantes

Las enzimas son tipos de antioxidantes que se originan de las proteínas y minerales que comemos, como parte de nuestra dieta diaria. Estas enzimas se sintetizan en el cuerpo humano, e incluyen la superóxido dismutasa (SOD) que eliminan el anión superóxido, la Glutatión Peroxidasa, la Glutatión Reductasa, y las Catalasas que previene la reducción del peróxido de hidrógeno para formar el radical hidroxilo (6 - 8).

Para que las enzimas antioxidantes puedan proporcionar una actividad antioxidante óptima, se requieren de cofactores tales como hierro, cobalto, selenio, magnesio y zinc (7-8). La calidad de la fuente de proteínas está relacionada directamente con la calidad de las enzimas antioxidantes.

## Las vitaminas antioxidantes

El cuerpo humano no produce vitaminas antioxidantes de forma natural, por lo que es esencial incluir en nuestra ingesta diaria de alimentos a estas vitaminas, ya sea a través de los propios alimentos o de suplementos vitamínicos. Las vitaminas antioxidantes más comunes incluyen las vitaminas C, E, el ácido fólico, y el beta-caroteno.

La vitamina E es importante para mantener los vasos sanguíneos sanos, mejorar las condiciones de la piel. Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales hidroxilo, captura anión superóxido. Neutraliza peróxidos.

La vitamina C ayuda a proteger la piel de los rayos UV, promueve una mejor absorción de hierro, proporciona una mayor resistencia a las infecciones, y ayuda a regular el colesterol en sangre. Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales hidroxilo, regenera la forma oxidada de la vitamina E.

Mientras tanto, el ácido fólico es importante para las mujeres de edad reproductiva, en particular para la prevención del desarrollo de defectos del tubo neural en el feto. El beta-caroteno es un potente carotenoide (un tipo de fitoquímicos) que se considera como un buen protector contra el oxígeno molecular y otros radicales libres. Esta vitamina se encuentra más comúnmente en verduras de color naranja como las zanahorias, calabazas y batatas, y en las verduras de color verde oscuro como la espinaca y la col rizada.

La Coenzima Q10 (CoQ10), es una sustancia similar a las vitaminas producida por el organismo, y se ha demostrado que es un componente necesario en el funcionamiento básico de las células. La producción de esta sustancia disminuye de forma natural con la edad, y su reducción se ha asociado con el desarrollo de varias enfermedades y condiciones relacionadas con el envejecimiento.



### Los Fitoquímicos antioxidantes

Los fitoquímicos son los antioxidantes que las plantas utilizan de forma natural para protegerse contra los radicales libres. Los estudios demuestran que los seres humanos que se nutren con vegetales ricos en estos fitoquímicos también se benefician de sus propiedades antioxidantes. Los fitoquímicos se dividen en las siguientes categorías:

- Los carotenoides
- Los flavonoides
- Sulfuros de azufre
- Los polifenoles

La mayoría de los alimentos enteros naturales, tales como granos enteros, frutas y verduras, contienen fitoquímicos, mientras que los alimentos procesados o refinados contienen poco o nada de fitoquímicos.

## La Oxidación fuera de control: el Estrés Oxidativo



En condiciones fisiológicas nuestro sistema antioxidante podría ser suficiente si sólo existiera la necesidad de neutralizar los radicales libres generados por nuestros procesos metabólicos, pero también el sistema antioxidante deberá hacerlo con aquellos radicales libres generados por factores exógenos como la contaminación, los rayos UV, y malos hábitos como el cigarrillo, el alcohol o las sustancias químicas que podemos ingerir a través de la dieta. Los radicales libres se multiplican muy rápidamente, y una vez que una molécula antioxidante neutraliza un radical libre, el antioxidante pierde su capacidad neutralizante. Cuando la cantidad de los radicales libres no puede ser neutralizada por los antioxidantes endógenos y la cantidad de antioxidantes exógenos provenientes de nuestra dieta son insuficientes, se produce lo que se conoce como Estrés oxidativo.

### El Estrés oxidativo como productor de enfermedades

En 1964 la Doctora Rebeca Gerschman sugirió por primera vez que las ROS eran agentes tóxicos y generadores de patologías, estableciendo tres postulados básicos:

1. Los Radicales Libres constituyen un mecanismo molecular común de daño cuando los organismos son sometidos a altas presiones de oxígeno y a radicales ionizantes.
2. El desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes producen los efectos tóxicos.
3. La producción de Radicales Libres es un fenómeno continuo con implicaciones en la producción de

estados patológicos (9).

Dos años después de los postulados de la Dra. Gerschman, en 1956 el Dr. Denham Harman propuso la teoría de los radicales libres como causantes del envejecimiento (10). El trabajo de estos dos pioneros asomó la "punta del Iceberg" de lo que hoy casi 70 años después constituye "el catálogo" de todas las condiciones y enfermedades que son producidas y/o agravadas por el estrés oxidativo. La oxidación es un proceso sistémico, es decir ocurre en todo nuestro organismo, afectándolo de una manera crónica, por esta razón es que podemos encontrar manifestaciones patológicas originadas por exceso de oxidación en todos los órganos y sistemas de nuestro cuerpo.

Existen una serie de enfermedades relacionadas con el ataque de Radicales Libres, que estarían involucrados por lo menos en algunas de las fases de su desarrollo (6). Las continuas investigaciones han presentado evidencia de esto para muchas de las patologías o condiciones más comunes. Veamos algunas de las principales.



**La enfermedad de Alzheimer:** es la mayor causa de discapacidad entre los individuos mayores de 65 años alrededor del mundo. La enfermedad está caracterizada por los depósitos anormales del péptido  $\beta$  amiloide ( $\beta$  A) y la acumulación intracelular de ovillos neurofibrilares constituidos por la proteína Tau hiperfosforilada. Ambos se constituyen en criterio diagnóstico de la enfermedad y son mediadores del proceso neurodegenerativo. Estos procesos son iniciados e incrementados por el Stress oxidativo.

Los cerebros de los pacientes que sufren Enfermedad

de Alzheimer presentan un grado significativo de daño oxidativo asociado a la acumulación anormal marcado de  $\beta$  A y la deposición de los ovillos neurofibrilares (11). La evidencia creciente sugiere un papel importante que desempeñan los Biometales incluyendo el hierro, el zinc y el cobre en la producción de  $\beta$  A y la neurodegeneración (12). En concordancia con estos hallazgos, hay sitios de unión de alta afinidad para el cobre y el zinc en el dominio N-terminal de del péptido  $\beta$  Amiloide y su precursor, el APP (13,14) mientras que el cobre es un potente mediador del altamente reactivo radical hidroxilo (OH $\cdot$ ), y por lo tanto contribuye al aumento del estrés oxidativo característico de cerebro con Enfermedad de Alzheimer (15) esto de acuerdo con la alta concentración de cobre que se encuentra en las placas amiloides (16).

Esto parece estar asociado con la longitud de los péptidos  $\beta$  Amiloides, específicamente con el  $\beta$  A de 42 aminoácidos que es más tóxico por ser menos soluble que  $\beta$  A de 40 aminoácidos y además es el candidato más probable para la generación de peróxido de hidrógeno y otras ROS (17). Adicionalmente, se ha asociado las altas concentraciones de zinc en regiones cognitivas y de memoria del cerebro, incluyendo la corteza cerebral, la amígdala, y el hipocampo, los cuales se ven afectados principalmente en la Enfermedad de Alzheimer (18,19). Esta unión de zinc tiene un estado conformacional altamente ordenado para el péptido  $\beta$  A de 40 aminoácidos, lo que conduce a la producción de los agregados fibrilares  $\beta$  Amiloides tóxicos, en consecuencia, la respuesta inmunológica/inflamatoria contra las placas  $\beta$  A no solubles implica la alteración en la homeostasis de zinc seguida por la liberación no controlada de zinc cerebral, lo cual es típico en el estrés oxidativo. Por lo tanto, la acumulación incontrolada de zinc o  $\beta$  A conduce a un estrés oxidativo y citotoxicidad inducida por el zinc y mediada por los  $\beta$  A (20).

Por lo tanto, dado que los fosfolípidos de la membrana del cerebro están compuestos de ácidos grasos polinsaturados, este órgano es particularmente vulnerable a los ataques de radicales libres.

Sus dobles enlaces permiten la eliminación de los iones de hidrógeno (21) y el aumento de la peroxidación lipídica, que es la característica más prominente en el cambio degenerativo y más pronunciado en el cerebro con Enfermedad de Alzheimer (22). Adicionalmente, la oxidación de proteínas por los radicales libres puede ser un factor importante en la EA, ya que la oxidación de proteínas en el cerebro podría afectar enzimas críticas para funciones neuronales y gliales.

Este es el caso de dos enzimas especialmente sensibles a la modificación oxidativa, las tales como de glutamina sintetasa y la creatina quinasa, ambas notablemente reducidas en cerebros con Enfermedad de Alzheimer (23).



**Hipertensión arterial (HTA):** En la actualidad, el estrés oxidativo aparece como una de las varias alteraciones metabólicas descritas en la hipertensión arterial esencial. Se ha demostrado que está implicado tanto en la disfunción endotelial como en la hipertrofia de las células musculares lisas vasculares, con fuertes evidencias de que un trastorno en la vasodilatación dependiente del endotelio pueda ser el fenómeno primario. Las células endoteliales producen y liberan sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras. Entre las vasodilatadoras figuran el óxido nítrico (NO), el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF) y la prostaciclina. Entre las vasoconstrictoras están las endotelinas y el tromboxano A2. La producción reducida de NO o su baja biodisponibilidad conduce a una vasoconstricción y por consiguiente al incremento de la resistencia vascular periférica lo que conduce a la Hipertensión. La baja biodisponibilidad del NO ha sido relacionada con el aumento en la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno). Otros estudios sugieren que el incremento de ROS puede estimular la hipertrofia e hiperplasia de las células musculares lisas vasculares. En la HTA se ha encontrado aumento de la peroxidación de lípidos, tanto en plasma como en las membranas celulares, así como un aumento en la cantidad total de lípidos y una disminución de la capacidad antioxidante (25,31). La HTA predispone a acelerar la aterosclerosis, al menos en parte a causa de la sinergia entre elevación de presión sanguínea y otros estímulos aterogénicos que inducen estrés oxidativo en los vasos arteriales (32).



**La Aterosclerosis:** la formación de la placa arteriosclerótica comienza con la captación del Colesterol LDL por los macrófagos que se transforman así en células espumosas. Estas células son captadas por el endotelio mediante moléculas de adhesión y se acumulan en el espacio subendotelial, donde inducen la migración de células musculares, su proliferación e hipertrofia (24,25). En determinadas condiciones oxidativas las lipoproteínas que acompañan al colesterol se fragmentan y se forman residuos de aminoácidos (26). Estas LDL oxidadas o productos liberados de ellas, van a tener mayor poder aterogénico ya que son captadas más rápidamente por los macrófagos, son citotóxicas para el endotelio y estimulan la producción de factores vasoactivos, de adhesión, trombóticos y de proliferación de células musculares lisas de la vasculatura, iniciando o extendiendo la lesión aterosclerótica (25,27,28). Se ha demostrado una estrecha relación entre ROS y lipoproteínas de baja densidad (LDL) y se sabe que su aumento tiene un conocido valor predictivo directo en la aparición de aterosclerosis (29,30). Muchos factores de riesgo de la aterosclerosis ampliamente identificados, como pueden ser: el tabaquismo, la hipertensión, y la hipercolesterolemia, pueden actuar iniciando un desequilibrio entre prooxidación y antioxidación (30).



**Diabetes Mellitus:** los altos niveles de glucosa característicos de la diabetes conducen a la glicosilación no enzimática de proteínas. Esta a su vez altera la estructura y la función de las proteínas (33).

La oxidación de azúcares genera especies de ROS. Las concentraciones altas de glucosa, en presencia de metales de transición, incrementa la producción de ROS (34). Pero el aumento de estrés oxidativo descrito en los diabéticos, no está únicamente relacionado con la aceleración en la producción de ROS, sino también por la disminución de antioxidantes (35). La vía del poliol es un posible mecanismo por el que la hiperglucemia puede alterar la función y la estructura de las células afectadas por las complicaciones diabéticas. La activación de la vía del poliol disminuiría el NADPH y los niveles de glutatión, por esto, en los pacientes diabéticos existe un desequilibrio entre los mecanismos antioxidantes y oxidantes, aumentando de esta manera el estrés oxidativo (36).



**Cáncer:** el desarrollo del Cáncer es un proceso complejo en el cual encontramos entre muchos fenómenos la presencia de necrosis celular del tejido sano, el crecimiento incontrolado de las células cancerosas, la neovascularización del área afectada para garantizar el aporte de oxígeno y nutrientes a la neo formación. Se ha sugerido la asociación de los Radicales Libres en el desarrollo del Cáncer (37). Así por ejemplo, el humo del tabaco ha estado siempre presente como el factor más importante en el desarrollo del cáncer de pulmón, entre sus productos tóxicos, además de la nicotina y del alquitrán, se encuentran Radicales Libres en abundancia, que atacan los tejidos pulmonares y destruyen las sustancias protectoras presentes en ellos, así tenemos los óxidos radicalarios de nitrógeno que forman con las proteínas compuestos carcinógenos como las nitrosaminas (38). Por otra parte, los Radicales Libres estimulan el crecimiento de las células musculares lisas, por lo que el estrés oxidativo tendría un papel del en la angiogénesis o neovascularización tumoral (39). También se ha observado la activación de algunos genes tempranos que podrían participar en el control de la transcripción de factores de crecimiento

necesarios para el desarrollo tumoral. Tampoco hay que olvidar que la transformación oncogénica viene condicionada por la presencia de genes mutados u oncogenes que controlan funciones celulares clave, y esto también puede influenciarse por el estado redox celular (40). Se han detectado niveles disminuidos de enzimas antioxidantes en diversos tipos de células tumorales (41) así como alteraciones en el estado de los tioles celulares (42). Los agentes antioxidantes tendrían un efecto anticarcinógeno (43) y será importante estudiar su inclusión en la estrategia terapéutica para el Cáncer.



**Hígado Graso:** la patogénesis de EHGNA (Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica) no está claramente definida. La teoría más aceptada considera la resistencia periférica a la insulina el mecanismo causal de la esteatosis hepática simple, y probablemente de la esteatohepatitis (44-46). Es probable que EHGNA represente el componente hepático de un síndrome metabólico que en su expresión fenotípica completa está caracterizado por la presencia de resistencia periférica a la insulina, obesidad, diabetes mellitus tipo 2, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hipertensión arterial.

Hay una teoría que habla del 'doble daño' (en inglés second hit o 'daño oxidativo adicional') necesario para la manifestación del componente necro-inflamatorio de la esteatohepatitis a partir de la esteatosis hepática simple (47). Los daños oxidativos más frecuentes son el depósito de hierro en el hígado, la leptina (enzima producida en el tejido adiposo que aumenta la resistencia a la insulina), la deficiencia de antioxidantes, la translocación de componentes bacterianos del tracto gastrointestinal al hígado y las alteraciones mitocondriales de los hepatocitos. Los mecanismos que conducen al desarrollo de esteatosis hepática y posteriormente a la aparición de los fenómenos inflamatorios, solo se conocen de forma parcial aunque apoyan la hipótesis de múltiples estímulos paralelos (48).

**Cirrosis y hepatopatía alcohólica:** Anteriormente se creía que la presión portal en las enfermedades hepáticas estaba determinada únicamente por la alteración de la arquitectura hepática y por el flujo sanguíneo esplácnico. Pero los estudios demostraron que la hipertensión portal podía revertirse en hepatitis alcohólica y en el fallo hepático agudo, esto sugiere que era necesaria la intervención de mediadores vasoactivos para poder explicar el mecanismo de esta hipertensión portal aguda y también el por qué los pacientes con cirrosis desarrollaban hemorragia aguda por varices en periodos de descompensación hepática. Uno de estos mediadores puede ser el 8-iso-PGF<sub>2a</sub>, un producto de la peroxidación lipídica por los ROS, que ha demostrado elevar la presión portal en ratas cirróticas (49). Extrapolándolo a pacientes con cirrosis, la peroxidación lipídica secundaria al daño hepático por alcohol, sepsis u otras enfermedades hepáticas pueden producir un aumento agudo de la presión portal (a través del 8-iso-PGF<sub>2a</sub> y/u otros mediadores) tal y como se observa en el daño hepático agudo. Esta elevación de la presión portal se pudo bloquear con SQ29548 un antagonista del receptor de tromboxanos (50). El daño hepático inducido por alcohol está relacionado, al menos en parte, a un estrés oxidativo causado por la producción de ROS y/o a un descenso de los antioxidantes (51).



**Otras patologías relacionadas con el estrés oxidativo:** La lista de enfermedades en las que de una u otra manera está involucrado un desbalance entre la oxidación y la antioxidación es mayor cada día. Como complemento de las detalladas en párrafos anteriores a continuación se presentan tan sólo algunas ya documentadas.

Enfermedades desmielinizantes (58), distrofia muscular, artritis e inflamación (27,57,59), enfisema pulmonar (60), amiloidosis, colagenosis, conectivopatías (LES, esclerodermia, enfermedad de Wegener), colitis ulcerosa, demencia senil, dermatitis de contacto, displasia broncopulmonar, estrés respiratorio del adulto, mutaciones, lipofuscinosis, enfermedad de Parkinson, EPOC, fibroplasia retrolental, Kawshiorok, isquemia cerebral e histica, glomerulonefritis, miocardiopatías, insuficiencia cardíaca (61), porfirias, úlcera péptica. Síndromes de ataxia-teleangiectasia, de Down, de Bloom, de Dubin-Johnson-Sprinz, VIH (62,63) La catarata senil (34,64), insuficiencia renal aguda (IRA), crónica (IRC) (65,66) etc.



**El envejecimiento:** no es una patología, pero es difícil diferenciar entre lo que son procesos propios del envejecimiento o procesos patológicos que se desarrollan preferentemente durante el envejecimiento. El envejecimiento y la muerte pueden ser el resultado de la activación de genes específicos en un momento determinado del ciclo celular (apoptosis). La teoría de los ROS del envejecimiento supone que este resulta de la acumulación de lesiones orgánicas debidas a ROS (26, 27, 52-55). También se ha detectado una menor actividad proteolítica que en las células jóvenes (26), una disminución de las concentraciones de antioxidantes e inactivación de las enzimas detoxificadoras de ROS (56) y una acumulación de proteínas oxidadas no degradadas (57).



## Aceite de Semilla de Granada (PSO) y el Ácido Punícico

El poder antioxidante y terapéutico

## El aceite de semilla de granada (PSO)

El aceite de semilla de granada (PSO por sus siglas en inglés Pomegranate Seed Oil) consiste en una serie compleja de ácidos grasos, de los cuales aproximadamente el 80% son moléculas de 18-carbonos con 3 dobles enlaces alternados, ellos también son conocidos como ácidos trienoicos. La Investigación ha demostrado que los ácidos grasos trienoicos, tales como los que se encuentran en la semilla de la Granada, poseen una actividad fisiológica más potente que los ácidos grasos dienoicos (Con dos dobles enlaces alternados, también conocidos como ácido linoleico conjugado; CLA). El ácido graso trienoico específico que se encuentra en el Aceite de la semilla de Granada se conoce como ácido punícico (PA), es un ácido graso poliinsaturado (18:3 n-3), también llamado ácido trichosaric, cis 9, trans 11, cis 13 ácido con nombre IUPAC 9Z, 11E, 13Z-octadeca-9,11,13-trienoico (67). Algunos autores se han referido a él como un "super CLA", cuyo efecto es más potente que el CLA ordinario (68).

Estudios en modelos animales han reportado potenciales efectos terapéuticos del Ácido Punícico en cáncer, obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares. En un estudio para el cual se utilizaron ratas OLETF (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty), que es una cepa específica para el estudio de diabetes tipo II y obesidad, se observó que estas ratas se mantuvieron relativamente magras cuando a su dieta se añadió Ácido Punícico y que las células grasas podrían sufrir de muerte programada cuando eran expuestas al Ácido Punícico (69; 70). El Ácido Punícico también demostró la capacidad de reducir la glicemia en las ratas con diabetes tipo II inducida por estreptozotocina (STZ) (71) pero no en la inducida por Alozano (72). En otro estudio (73) ha sido reportada la protección brindada por el Aceite de semilla de granada a un grupo de ratones que recibieron una dieta alta en grasa más 1% de Aceite, versus el grupo control que sólo recibió la dieta. Al final de las doce semanas se verificó no tan solo que el grupo que recibió el Aceite se hallaba en una condición más magra, sino que además habían mejorado su sensibilidad a la insulina.

Los receptores gamma activados por los proliferadores peroxisomales (PPAR-gamma) son unos de los receptores nucleares presentes principalmente en el tejido adiposo, que regula las reservas de los ácidos grasos, el metabolismo de la glucosa, por esto es el blanco de muchos agentes antidiabéticos. (74) describe PPAR

objetivos moleculares para enfermedades relacionadas con la obesidad y trastornos relacionados. Considerando los efectos secundarios de los agonistas PPAR $\gamma$  se ha sugerido la búsqueda de moléculas naturales y el Ácido Punícico es un agonista PPAR $\gamma$ . En un estudio sobre el estrés oxidativo y la inflamación, comparando el Ácido Punícico y el Ácido Oleoesteárico, ambos isómeros mostraron una potente actividad contra el estrés oxidativo inducido por STZ: la peroxidación de lípidos se redujo significativamente, los niveles de Superóxido Dismutasa (SOD), Catalasa y Glutacion Peroxidasa (GPX), Glutacion Reducido (GSH) y Óxido Nítrico (NO) fueron restaurados en páncreas, sangre y lisado de eritrocitos (75).

También se ha demostrado que los contenidos en el Aceite de Semilla de Granada inhiben la expresión de citoquinas proinflamatorias (tales como IL-6, IL-8, IL-23, IL-12, y TNF- $\alpha$ ) a través de PPAR y la modulación de

### Actividades pro y antioxidantes

Mukherjee y colaboradores (77) reportaron la actividad antioxidante e hipolipemiante del Ácido Punícico. Alimentando ratas con Ácido Punícico con concentraciones 0.6%, 1.2% y 2.4% durante 14 semanas, se encontró que los niveles de Colesterol total y el Colesterol LDL eran significativamente inferiores en el grupo alimentado con 2.4% de Ácido Punícico. La actividad pro-oxidante y antioxidante bajo los niveles de Ácido Punícico de 0.6 y 1.2% fue demostrada a través de la susceptibilidad de oxidación de lipoproteínas y la peroxidación de lípidos en plasma. El índice aterogénico ((CT/HDL-C)-1) y la relación LDL-C/HDL-C se redujeron significativamente en los niveles de Ácido Punícico de 0.6% y 2.4%. Este comportamiento dual probablemente se deba a un fenómeno de isomerización: el total de la configuración molecular cis y trans se incrementa de 0.6 a 2.4% a través del 1.2%. Los autores proponen que la inhibición en la formación de Hidroperóxido por el Ácido Punícico podría ser debida a la reducción en la generación de radicales libres o a la peroxidación. Adicionalmente a un proceso de Biohidrogenación (Adición de radicales libres a uno de los dobles enlaces conjugados) formando dienoicos conjugados, lo cual explicaría su acción antioxidante.

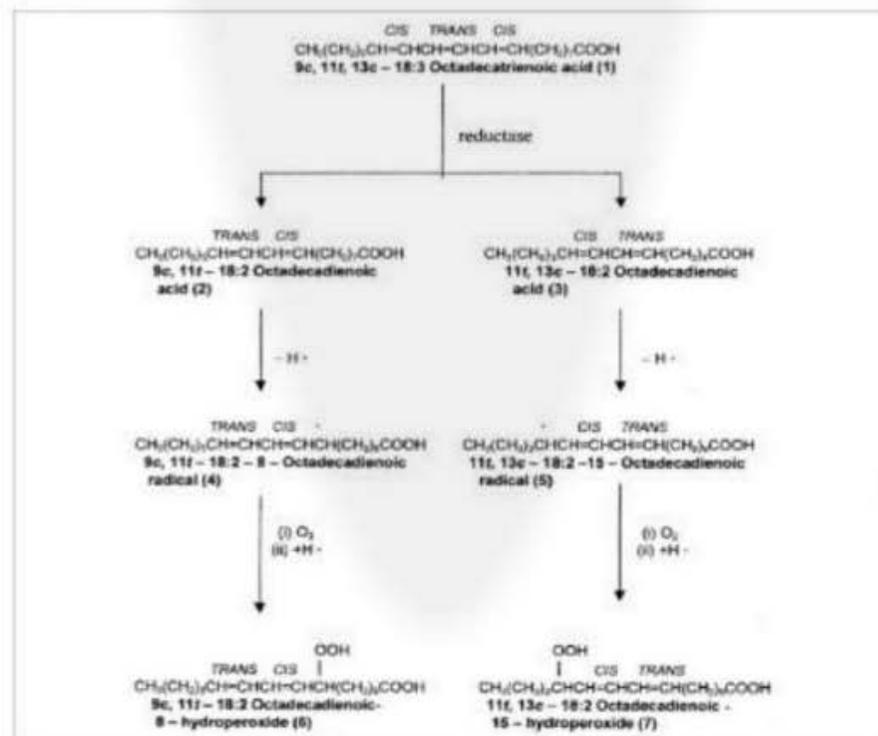


Figure 3 Possible mechanisms of antioxidant activity of PA (Mukherjee and others 2002).

### Metabolismo del Ácido Punícico

Tsuzuki y otros (78) utilizando modelos animales, describieron que el Ácido Punícico se convirtió en ácido ruménico (9Z11E-CLA), lo que indica que parte de la bioactividad del Ácido Punícico podría ser debido a c9t11 CLA. En un estudio realizado en ratas con 28 días de la intervención con Ácido Punícico por vía oral mostraron que los niveles de CLA aumentaron de 0.05% a 0.06% de los ácidos grasos totales en el grupo control, mientras que este aumento fue de 0.23% en el grupo que recibió Ácido Punícico, pero también el AP se detectó en la circulación, lo que sugiere sólo su metabolismo incompleto en CLA c9t11.

### Toxicidad

Meerts y colaboradores (79) estudiaron los aspectos de seguridad y toxicología del Aceite de semilla de granada a través de pruebas in vivo e in vitro. No se observaron efectos mutagénico ni clastogénicos en ausencia y presencia de activación metabólica de hasta 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (Ames test) o 333  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (chromosome aberration test). No se evidenciaron hallazgos significativos en los estudios de toxicidad aguda oral con 2 g de Aceite de semilla de Granada por Kg de peso, de esta manera la LD50 podría considerarse tan alta como 5 g por Kg de peso de acuerdo a la norma OECD 423 (Organización de Cooperación y Desarrollo Económico OCDE) y no requiere de ninguna advertencia de tipo toxicológico en las etiquetas. El Nivel sin efecto adverso observable (NOAEL) del Ácido Punícico ha sido reportado a 50.000 ppm, lo cual es equivalente a 4.3 g de Aceite de Semilla de Granada por Kg de peso.



## GranaGard® El potente antioxidante nanoemulsificado

GranaGard es una nanoemulsión del aceite de la semilla de la Granada (Punica granatum). El aceite de semilla de la granada, PSO por sus siglas en inglés (pomegranate seed oil) tiene como componente activo el Ácido Púnicico (PA), un ácido graso polinsaturado que también se considera como uno de los antioxidantes naturales más potentes (80). La nanoemulsificación del PSO denominada como Nano-PSO (81) ha permitido aumentar la biodisponibilidad y eficacia del PSO. La nanoemulsificación permite suministrar el PSO como micelas de fosfolípidos o nanogotas, (82-84) lo que permite la distribución del aceite a otros órganos distintos al hígado, incrementando los niveles sanguíneos de Ácido Púnicico y por ende una mayor disponibilidad de este para alcanzar la Barrera Hematoencefálica. De hecho, se ha demostrado que ácidos grasos insaturados similares, tales como ácido linoleico, atraviesan fácilmente la Barrera Hematoencefálica (85-87). El Ácido Púnicico está presente sólo en el PSO (60%-80%) y en el *Trichosanthes kirilowii* (40%) (88). Su eficacia en la protección de tejidos lipídicos en modelos de enfermedad inflamatoria ha sido reportada (89). La falta de toxicidad y la biodisponibilidad parcial del PSO ya se estableció en humanos (88). Adicionalmente, otro antioxidante, el  $\beta$ -sitosterol, el cual se ha demostrado que se acumula en la membrana plasmática de las células del cerebro (90), está presente en el PSO en concentraciones significativamente más altas que las encontradas en los aceites de otras plantas (91). Esto nos puede indicar que el PSO puede constituir un compuesto natural con mayor actividad antioxidante que sus componentes de manera individual.

Existen experiencias que han comparado y demostrado la superioridad y eficacia del Nano-PSO. Utilizando como modelo la Encefalomiélitis autoinmune experimental inducida en ratones, se evidenció que en aquellos tratados con PSO natural presentaron una cierta reducción de la carga de enfermedad, pero este efecto beneficioso aumentó significativamente cuando los ratones fueron tratados con Nano-PSO en concentraciones mucho menores que las del aceite natural. Exámenes patológicos revelaron que la administración de Nano-PSO redujo drásticamente la desmielinización y la oxidación de los lípidos en el cerebro, que son características de esta enfermedad neurológica grave (92). Para otro estudio dirigido a comprobar si la disminución de la oxidación alteraba las manifestaciones de las enfermedades neurodegenerativas, se utilizaron ratones de la cepa TgMhu2ME199K como modelos de enfermedades priónicas genéticas, los cuales fueron tratados con Nano-PSO. El Nano-PSO retrasó significativamente el inicio de la enfermedad cuando se administró a ratones TgMhu2ME199K asintomáticos y retrasó el agravamiento de la enfermedad en aquellos ratones que ya la tenían. El análisis de las muestras de cerebro reveló que el tratamiento con Nano-PSO no disminuyó la acumulación de PrP<sup>Sc</sup>, sino más bien redujo la oxidación de lípidos y la pérdida neuronal, lo que indica un fuerte efecto neuroprotector. Los autores propusieron que el Nano-PSO y formulaciones semejantes pueden ser tanto beneficiosas como suficientemente seguras para ser administrada durante largos años a sujetos en riesgo o para los que ya están afectados por enfermedades neurodegenerativas. (93)

## BIBLIOGRAFIA

1. Sohal RE The free radical hypothesis of aging: an appraisal of the current status. *Aging Clin Exp Res* 1993; 5: 3-17.
2. Torres ER. Fuentes, intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. Antioxidantes y calidad de vida. 1994; 1: 16-18.
3. Rodríguez C, Rodríguez J, Obregón O, Rodríguez M, Ordaz C, Acosta J. Radicales libres: parte II. Consideraciones químicas, bioquímicas y fisiopatológicas. *Rev Cardiol* 1994; 14 (II): 73-84.
4. Rodríguez C, Rodríguez J, Obregón O, Rodríguez M, Acosta J, Ordaz C, et al. Radicales libres: parte II. Cáncer, diabetes y envejecimiento. *Rev Cardiol* 1995; 15 (II): 13-9.
5. Montano E. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. *Arch Med Perú* 1996; 57 (4): 279-81.
6. Jimenez I, Spelley C, Naran C. Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades: el mecanismo de defensa antioxidante. *Rev Chil Nutr* 2000; 27 (2): 210-9.
7. Parker L, Vitamina E: el más potente antioxidante. *Science and Medicine* 1994; 1: 54-63.11.
8. Fridovich J. Superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 347-59.
9. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P and Ferns WO. Oxygen poisoning and  $\alpha$ -radiation: a mechanism in common. *Science* 1959; 625-626, 1954.
10. Haman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology* 11 (3): 295-300, 1956.
11. Chretien Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 623S-629S.
12. Kosdowski H, Janicka-Klos A, Brasun J, Gaggelli E, Valerini D, Valentin C. Copper, iron, and zinc ions homeostasis and their role in neurodegenerative disorders (metal uptake, transport, distribution and regulation). *Coord Chem Rev* 2009; 253: 2665-2685.
13. Barnham KO, McKinstry WJ, Multhaup G, Galatis D, Morton GJ, Curtain CC, Williamson NA, White AR, Hinds MG, Norton RS, et al. Structure of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein copper binding domain: A regulator of neuronal copper homeostasis. *J Biol Chem* 2013; 278: 12401-12407.
14. Miura T, Suzuki K, Kohata N, Takeuchi H. Metal binding modes of Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide in insoluble aggregates and soluble complexes. *Biochemistry* 2000; 39: 7024-7031.
15. Valko H, Morris H, Cronin MT, Wilkom. Metals toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005; 12: 1161-1208.
16. Stroszyn D, Launer LJ, Adlard PA, Cherny RA, Tsatsanis A, Volkaitis I, Blennow K, Petrovitch H, White LR, Bush AI. Zinc and copper modulate Alzheimer A $\beta$  levels in human cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging* 2009; 30: 1069-1077.
17. Butterfield DA. Amyloid  $\beta$ -peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain: A review. *Free Radic Res* 2002; 36: 1307-1313.
18. Huang X, Moir RD, Tanso RE, Bush AI, Rogers JT. Redox-active metals, oxidative stress, and Alzheimer's disease pathology. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1012: 153-163.
19. Cuijingsuo MB, Fagan BY. Zinc takes the center stage: Its potential role in Alzheimer's disease. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 41: 44-56.
20. Pal A, Baidya RK, Vaishya RK, Atri SV, Thapa BR, Prasad R. Biochemical, histological, and memory impairment effects of chronic copper toxicity: A model for non-Wilsonian brain copper toxicosis in Wistar rat. *Biol Trace Elem Res* 2013; 155: 257-265.
21. Tsukaguchi S, Cozzini M, Tonello L, Puri BK. Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders. *BMC Psychiatry* 2008; 8(Suppl 1): S5.
22. Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 134-147.
23. Butterfield DA, Hensley K, Cole P, Subramaniam R, Akiyama M, Akterova M, Bammer PM, Haby BE, Carney SM. Oxidatively induced structural alteration of glutamine synthetase assessed by analysis of spin label incorporation kinetics: Relevance to Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1997; 68: 2451-2457.
24. Goldstein JG, Ho YK, Basu SK, Brown MS. A binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated

- low-density lipoproteins producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 333-337.
25. Galceán JM, Martínez A. Fenómenos oxidativos en la fisiopatología vascular. *Hipertension* 2000; 17: 39-47.
26. Stadtman ER, Oliver CN. Metal-catalyzed oxidation of protein. *Physiological Consequences*. *J Biol Chem* 1991; 266: 2005-2008.
27. Wolf SP, Garner A, Dean RT. Free radicals, lipids and protein degradation. *Trends Biochem Sci* 1986; 11: 27-31.
28. Diaz MN, Frei B, Vita JA, Blumberg P. Antioxidant and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 408-416.
29. Fernando RL, Varghese Z, Moorhead JF. Differential ability of cells to promote oxidation of low density lipoproteins in vitro. *Clin Chim Acta* 1998; 269: 159-173.
30. Benditt EP. Atherosclerosis review. Nueva York: Raven Press 1978; 3: 7.
31. Kuznetsov NS, Abuleta AM, Kulagin JL, Neskonnyy VH, Babin SP. Lipid peroxidation in patients with hypertension and renal hypertension against a background of diabetes mellitus. *Lik Sprava* 1990; 5-6: 117-118.
32. Alexander RW. Theodore Cooper Memorial Lecture. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the modulation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension* 1995; 25: 155-61.
33. Romero-Alvira D. Cardiología, estrés oxidativo, nutrición y biología molecular. Consideraciones generales. En: Romero-Alvira D, Roche E. *Cardiología, estrés oxidativo, nutrición y biología molecular: Bases y aplicaciones sobre el estrés oxidativo, aspectos nutricionales y de la biología molecular en cardiología*. ENE Ediciones 1997; 13-51.
34. Hunt Jr, Dean MT, Wolf SP. Hydroxyl production and autooxidative glycation. Glucose autooxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and aging. *Biochem J* 1988; 256: 205-212.
35. Kashiwagi A, Asahina T, Nishio Y, Bettsuchi M, Tanaka Y, Kikkawa R, Shigeta Y. Glycation, oxidative stress, and scavenger activity: glucose metabolism and radical scavenger dysfunction in endothelial cells. *Diabetes* 1996; 45: 94-6.
36. Bravi MC, Petrangola P, Laurenti O, Basili S, Cassone-Faldetta M, Ferri C, De-Matta G. Polyol pathway activation and glutathione redox status in non-insulin-dependent diabetic patients. *Metabolism* 1997; 46: 1194-8.
37. Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985; 227: 375-381.
38. Balentine M. Antioxidantes, radicales libres y salud: Un enfoque químico-orgánico-físico. *Med Clin (Barc)* 1996; 107: 509-515.
39. Rao GN, Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression. *Circ Res* 1992; 70: 591-599.
40. Roche E, Romero-Alvira D. Papel del estrés oxidativo en la expresión de genes: isquemia miocárdica, cáncer y otras enfermedades. *Med Clin (Barc)* 1995; 104: 468-476.
41. Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histol Histopathol* 1997; 12 (2): 525-533.
42. Livesey JC, Golden RH, Shankland EG, Grunbaum Z, Wyman M, Kohn KA. Magnetic resonance spectroscopic measurement of cellular thiol reduction-oxidation state. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 22: 755-7.
43. Block G. Epidemiological evidence regarding vitamin C and cancer. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 1330-1334.
44. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, et al. Nonalcoholic fatty liver disease, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37(4): 917-923.
45. Day CP, Saksena S. Non-alcoholic steatohepatitis: definitions and pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17 (suppl 3): 337-384.
46. McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34(3): 255-262.
47. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "livers". *Gastroenterology* 1998; 114(4): 842-845.
48. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010; 52(5): 1836-1846.

49. Marley R, Harry D, Anand R, Fernando B, Davies S, Moore K. 8-Isoprostaglandin F2a, a product of lipid peroxidation increases portal pressure in normal and cirrhotic rats. *Gastroenterology* 1997; 112: 208-213.

50. Marley R, Harry D, Anand R, Fernando B, Davies S, Moore K. 8-Isoprostaglandin F2a, a product of lipid peroxidation increases portal pressure in normal and cirrhotic rats. *Gastroenterology* 1997; 112: 208-213.

51. Nordmann R. Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol* 1994; 29: 513-22.

52. McCabe MJ, Nicotera P, Orenius S. Calcium-dependent cell death: Role of the endonuclease, protein kinase C, and chromatin conformation. In: Franceschi O, Cresaldi G, Cristofalo V, Vig J, editors. *Aging and cellular defense mechanisms*. Ann NY Acad Sci 1992; 661: 269-278.

53. Belmonte G, Mostoslavsky R. Oxidative stress and telomeric alterations. In: Franceschi O, Cresaldi G, Cristofalo V, Vig J, editors. *Aging and cellular defense mechanisms*. Ann NY Acad Sci 1992; 661: 97-109.

54. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7965-7972.

55. Harman D. Free radical involvement in aging. *Pathophysiology and therapeutic implications*. *Drugs and Aging* 1995; 1: 60-80.

56. Glass GA, Genshin D. Decreased enzymic protection and increased sensitivity to oxidative damage in erythrocytes as a function of cell and/or age. *Biochem J* 1984; 218: 513-517.

57. Ruvett AJ. Regulation of extracellular protein turnover: Covalent modification as a mechanism of marking proteins for degradation. *Curr Top Cell Regul* 1986; 28: 291-317.

58. Kozak GW, Wiggins RC. Effects of reactive oxygen species on myelin membrane proteins. *J Neurochem* 1985; 45: 1113-1118.

59. Trabandt A, Gay RE, Gay S. Oncogene activation in rheumatoid synovium. *APMIS* 1992; 100: 861-875.

60. Ovarina E, Test ST, Matheson NR, Regazzi S, Weiss SJ. Oxidative regulation of neutrophil elastase-alpha-1-proteinase inhibitor interactions. *J Clin Invest* 1996; 77: 1333-1341.

61. Heart failure. *Lancet* 1998; 352: 31-36.

62. McEneaney JL, Beeley P, Thornton K, Morrison K, Backwell W, Dasgupta A. Rapid automated determination of lipid hydroperoxide concentration and total antioxidant status of serum samples from patients infected with HIV: elevated lipid hydroperoxide concentrations and depleted antioxidant capacity of serum samples. *Am J Clin Pathol* 1998; 109: 268-275.

63. Romero Alzira D, Guerrero L, Gotor MA, Roche E. Etnes oxidativo y patología infecciosa. *An Med Interna (Madrid)* 1995; 12: 139-149.

64. Taylor A. Causal relationships between nutrition and oxidation. *J Am Coll Nutr* 1993; 12: 138-146.

65. Edelstein CL, Ling H, Wangsripaanan A, Schrier RW. Emerging therapies for acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 89-95.

66. Nath KA, Grande J, Coatt A, Haugan J, Nim Y, Rosenber ME. Redox regulation of renal DNA synthesis, transforming growth factor-beta1 and collagen gene expression. *Kidney Int* 1998; 55: 347-351.

67. Fardiaz C, Corbell R, Wiles J. 1982. Studies on the glycoside structure of fat. XV. Composition of pomegranate fat. *Nahrung* 26: 61-2.

68. Melo LR, Carvalho BT, Marcin-Filho J. 2014. Pomegranate seed oil (*Punica granatum L.*): a source of PU conjugated n-3-oleic acid. *J Human Nut Food Sci* 2: 1024-34.

69. Anso K, Wang Y, Inoue N, Hieshi J, Cha J, Nagao K, Yanagita T. 2004a. Dietary effect of pomegranate seed oil rich in cis-11,trans-11:12 conjugated linoleic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF rats. *Lipids Health Dis* 3: 24-30.

70. Nishimura K, Tsunagami H, Morikita A, Yamazaki Y, Miyashita R, Lu S, Jinka M, Nagaya T, Yokota K. 2007. Regulation of apoptosis through aschidonate cascade in transmembrane cells. *Appl Biochem Biotech* 152: 103-259-50.

71. Banihani S, Swedan S, Alquraan Z. 2013. Pomegranate and type 2 diabetes. *Nva Res* 33: 341-8.

72. Jelodar G, Mohsen M, Shafiq S. 2007. Effect of walnut leaf powder and pomegranate on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan induced diabetic rats. *Ar J Trad Conyul Alt Med* 4: 299-333.

73. Voegiijk KOCH, Diepen JAV, Berg DVD, Westbroek I, Keizer H, Garbelli L, Hortelias R, Basaganya-Riera J, Zondag GC, Romijn JA, Havekes LM, Vroom RL. 2011. Pomegranate seed oil, a rich source of PU, prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Food Chem Toxicol* 49: 1426-30.

74. Basaganya-Riera J, Gut AJ, Hortelias R. 2011a. Treatment of obesity-related complications with novel classes of naturally occurring PPAR agonists. *J Obesity* (<http://dx.doi.org/10.1155/2011/897894>).

75. Saha SS, Ghosh M. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory effect of conjugated linoleic acid isomers against streptozotocin-induced diabetes. *Br J Nutr* 108: 976-85.

76. Colombo E, Sargiovanni E, Dell' Agli M. 2011. A review on the anti-inflammatory activity of pomegranate in the gastrointestinal tract. *Evidence-Based Complementary Alt Med*. ID 247345, p 11.

77. Mukherjee C, Bhattacharyya S, Ghosh S, Bhattacharyya DK. 2002. Dietary effects of punicic acid on the composition and peroxidation of rat plasma lipid. *J Oleo Sci* 51: 513-22.

78. Tazaki T, Tokuyama Y, Igarashi M, Nakagawa K, Ohsaki Y, Kurita M, Miyazawa T. 2004. Alpha-eleostearic acid (9Z11E13E-18:3) is quickly converted to conjugated linoleic acid (9Z11E-18:2) in rats. *J Nutr* 134: 2534-9.

79. Meerts IADM, Verspeek-Rip CM, Bultman CAE, Keizer HG, Basaganya-Riera J, Jouni ZE, van Huijgevoort AH, van Oortwijk RM, van de Waart EJ. 2009. Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. *Food Chem Toxicol* 47: 1085-92.

80. Schubert SY, Lansky DJ, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid esterase inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice. *Flavonoids: J Ethnopharmacol* 1999; 66: 11-17.

81. Sawant RR, Torchon VP. Multifunctionality of lipid-core moieties for drug delivery and tumor targeting. *Mol Membr Biol* 2010; 27(7): 232-246.

82. Merian J, Bougard R, Declèves K, Thèse B, Tevor I, Taviran B. Synthetic lipid nanoparticles targeting steroid organs. *J Nutr Med* 2013; 24(11): 1996-2003.

83. Maggali-Goshen K, Magdassi S. Formation of simvastatin nanoparticles from racemodiolin. *Nanomedicine* 2009; 9(1): 274-281.

84. Kim D, Park JH, Kwon DJ, Han CD. Bioavailability of nanoemulsified conjugated linoleic acid for an antiobesity effect. *Int J Nanomedicine* 2013; 8: 451-459.

85. Dhopeshwakar GA, Mead JF. Uptake and transport of fatty acids into the brain and the role of the blood-brain barrier system. *Adv Lipid Res* 1975; 11(1): 109-142.

86. Spector R. Fatty acid transport through the blood-brain barrier. *J Neurochem* 1988; 50(2): 639-643.

87. Avellán L, Terraza L, Galí A. Linoleic acid passage through the blood-brain barrier and a possible effect of age. *Neurochem Res* 1994; 19(2): 129-133.

88. Yuan C, Sinclair AJ, Ku C, Li D. Incorporation and metabolism of punicic acid in healthy young humans. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53(10): 1336-1342.

89. Saha SS, Ghosh M. Antioxidant effect of vegetable oils containing conjugated linoleic acid isomers against induced tissue lipid peroxidation and inflammation in rat model. *Chem Biol Interact* 2011; 190(2-3): 109-120.

90. Shi C, Wu F, Zhu XC, Xu J. Incorporation of beta-sitosterol into the membrane increases resistance to oxidative stress and lipid peroxidation via estrogen receptor-mediated PDK/GSK3beta signaling. *Biochem Biophys Acta* 2013; 1830(1): 2538-2544.

91. Kaufman M, Wiesman Z. Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI-TOF/MS tricyclic fingerprinting. *J Agric Food Chem* 2007; 55(25): 10405-10413.

92. Ori Binyamin, Liraz Larush, Kati Frid, Guy Kellin, Yael Friedman-Levi, Haim Ovadia, Oded Abramov, Shlomo Magdassi, Ruth Gabizon. Treatment of a multiple sclerosis animal model by a novel nanodrop formulation of a natural antioxidant. *Int J Nanomedicine* 2015; 10: 7365-7374.

93. Marazi M, Tredinar-Levi Y, Larush L, Frid K, Binyamin G, Doh D, Feinstein N, Ovadia H, Ben-Hur T, Magdassi S, Gabizon R. Pomegranate seed oil nanomulsions for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases: the case of genetic CTD. *Nanomedicine* 2014; Aug 10(6): 1353-63.

PARA QUE NO ME OLVIDES

fotolia by Adobe

GranaGard  
Ácido Punicico Nanomolecular



# EFFECTO ANTIARRUGAS

**GranaGard**

Ácido Punítico Nanomolecular

