

سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ رَبَّ السَّمَاوَاتِ السَّبْعِ وَرَبُّ الْعَرْشِ الْكَرِيمِ



# سمینار دوره کارشناسی علوم تغذیه

عنوان:

تاثیر انار بر پیشگیری و درمان سرطان

استاد راهنما:

سرکار خانم زهره حسینی

ارائه دهنده:

عارفه سید حسینی مقدم

ورودی ۹۴۲

۲۱ فروردین ۹۷



# فهرست مطالب

|    |                  |
|----|------------------|
| ۴  | فهرست جداول      |
| ۵  | فهرست اشکال      |
| ۶  | فهرست اختصارات   |
| ۷  | مقدمه            |
| ۱۶ | بررسی مقاله ۱    |
| ۳۲ | بررسی مقاله ۲    |
| ۴۵ | بررسی مقاله ۳    |
| ۶۲ | بررسی مقاله ۴    |
| ۶۵ | نتیجه گیری نهایی |
| ۶۷ | منابع            |

# فهرست جداول

| صفحه    | عنوان                                                                                   |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| ۲۶ و ۳۰ | مقاله ۱: جدول ۱ مهار رشد (۷۲ ساعت) عصاره پوست                                           |
| ۳۸      | مقاله ۲: جدول ۱ خلاصه ای از ویژگی های پایه در گروه های تصادفی معین شده                  |
| ۴۱      | مقاله ۲: جدول ۲ خلاصه ای از عوارض جانبی                                                 |
| ۵۴      | مقاله ۳: جدول ۱) اثر تزریق دهان خوراکی بر تومورهای پستان ناشی از DMBA در موش های صحرایی |

# فهرست اشکال

| صفحه | عنوان                                                                                                      |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ۲۷   | مقاله ۱: شکل ۱ عصاره PPE سلول های مختلف سرطانی رادر مقایسه با کنترل منفی متوقف می کند.                     |
| ۳۹   | مقاله ۲: شکل ۱ تغییر میانگین درصد PSA در AS                                                                |
| ۳۹   | مقاله ۲: شکل ۲ تغییر میانگین درصد PSA در WW                                                                |
| ۳۹   | مقاله ۲: شکل ۳ درصد متوسط تغییر PSA در همه مردان                                                           |
| ۵۰   | مقاله ۳: شکل ۱) خلاصه نمودار طراحی تجربی برای بررسی اثر امولسیون انار بر سرطان پستان ناشی از تحریک انسدادی |
| ۵۴   | مقاله ۳: شکل ۲ تأثیر PE رژیم غذایی بر افزایش وزن بدن در طی تومورهای پستان آغاز شده توسط DMBA در موش صحرایی |
| ۵۵   | مقاله ۳: شکل ۳ PE از تکثیر سلولهای تومور جلوگیری میکند                                                     |
| ۵۵   | مقاله ۳: شکل ۴ شاخص PCNA                                                                                   |
| ۵۶   | مقاله ۳: شکل ۵ بررسی ومطالعه ی میزان آپوپتوزی سلولها با روش تشخیصی TdT-FragEL قطعی DNA                     |
| ۵۶   | مقاله ۳: شکل ۶ شاخص آپوپتوز                                                                                |

# فهرست اختصارات

| اختصارات | معادل انگلیسی                   |
|----------|---------------------------------|
| DMSO     | Dimethyl sulfoxide              |
| TPC      | Total phenolic content          |
| PEE      | Pomegranet peel extract         |
| PSA      | Prostate specific antigen       |
| AS       | Active surveillance             |
| WW       | Watchful waiting                |
| FSG      | Food supplement group           |
| PG       | Placebo group                   |
| PE       | Pomegranate emulsion            |
| DMBA     | 7,12-dimethyl bez(a) anthracene |
| PU       | punicalagin                     |
| EA       | Ellagic acid                    |

# مقدمه





## CANCER





## مقدمه (ادامه)



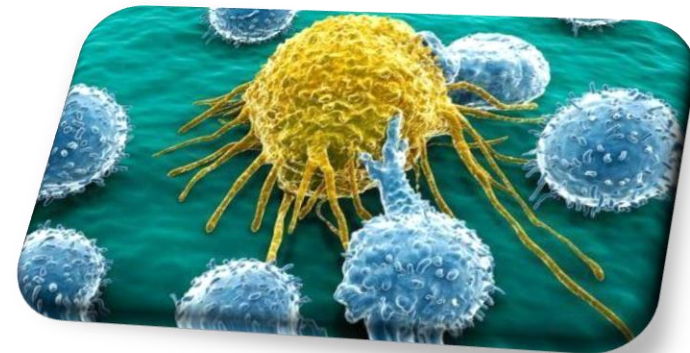
2016

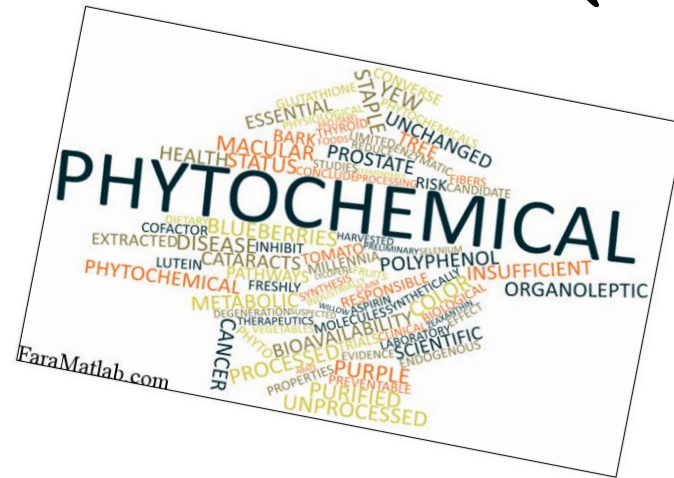


مصر



2025





به استثنای 5-10% از تمام  
کیس های سرطان، 90-  
95% باقی مانده ناشی از  
محیط زیست و شیوه زندگی  
است.

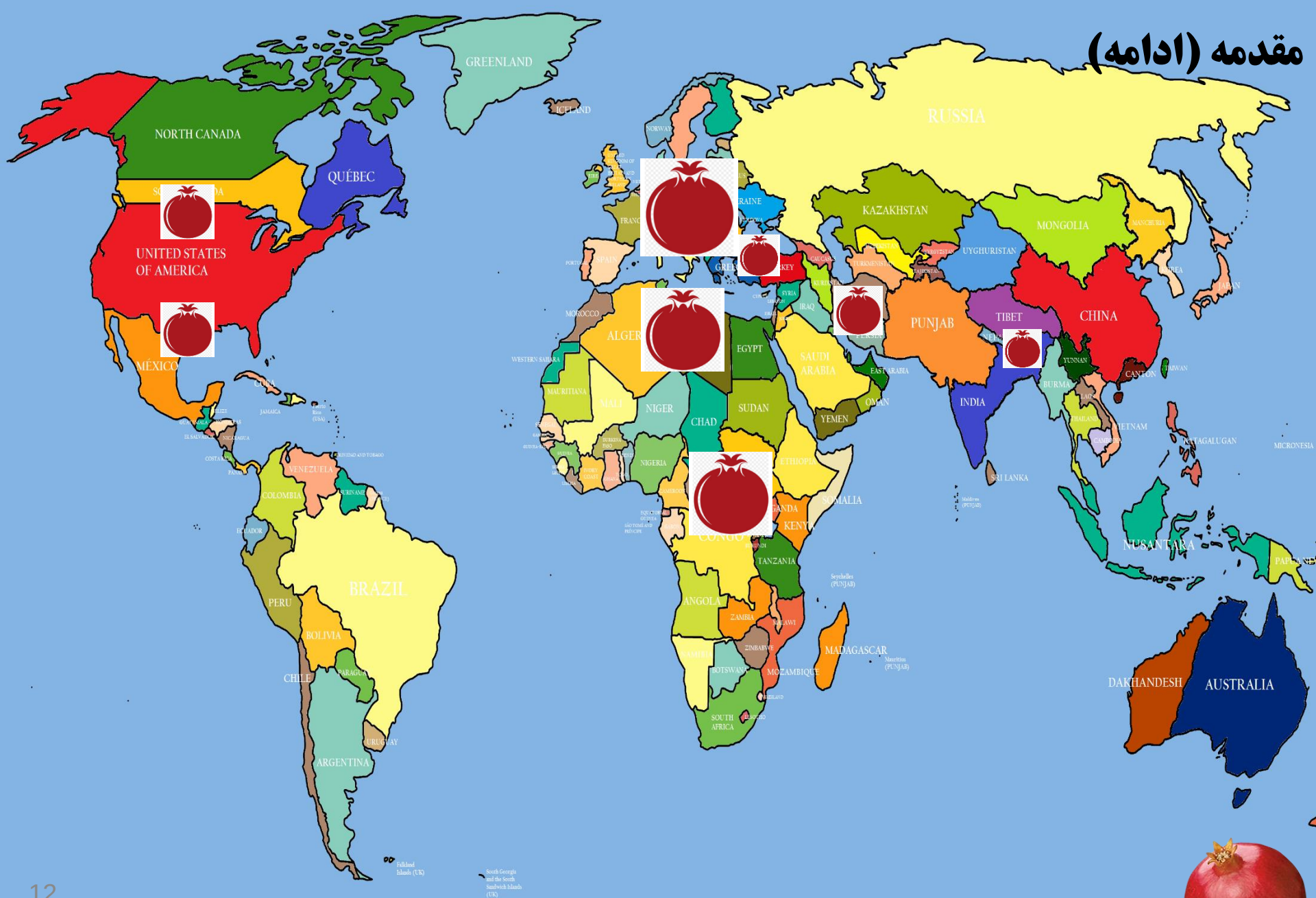




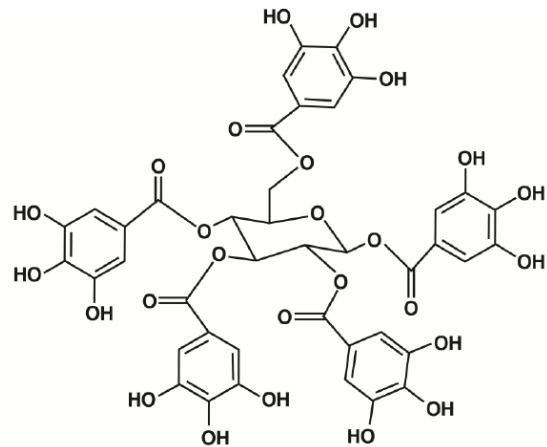


مقدمه (ادامه)



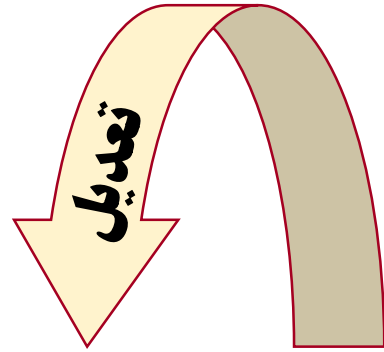




A close-up, top-down view of a dark-colored bowl filled with bright red, juicy pomegranate seeds. The seeds are glistening, suggesting they are fresh or coated in a light syrup. The bowl is set against a dark, reflective background.

## افتو سیانین





توسعه  
عروق خون  
جدید

التهاب

آغاز  
تومورزایی

تغییر  
سلولی

متاستاز

افزایش تکثیر  
غیر طبیعی

فاکتور رونویسی  
پروتئین پروآپوپتوز  
پروتئین ضد آپوپتوز  
مولکول تنظیم کننده چرخه  
سلولی  
پروتئین کیناز  
واسطه التهابی





# مقالات



# مقاله ۱

عنوان:

خواص ضد توموری عصاره پوست پونیکا گراناتوم (انار) بر روی سلول های سرطانی مختلف انسان

**Anti tumoral Properties of Punica Granatum (Pomegranate) Peel Extract on different Human Cancer Cells**

محقق: مژگان عباسی و همکاران

ژورنال: Asian Pac J Cancer

نوع مطالعه: مداخله ای

محل انجام طرح: ایران

سال انجام: ۲۰۱۵



16

# هدف مقاله

مطالعه روی پوست، انار ایرانی

برای بررسی فعالیت آن

روی عملکرد در سلول های سرطانی،

سلول های سرطانی تخمدان (SKOV3)،

سلول های سرطانی سینه (MCF-7)،

سلول های سرطانی پروستات (PC-3) و

سلول های سرطانی غیرکوچک ریه (A549)

از طریق آزمون MTT



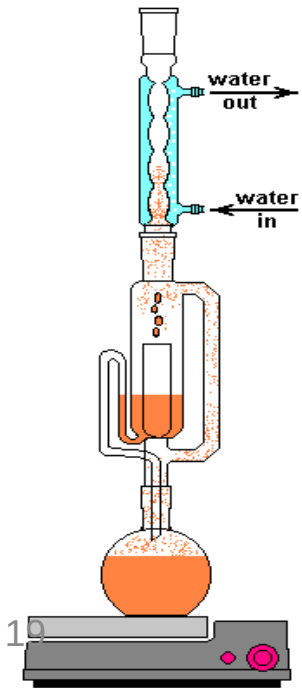
# مواد و روش ها





# آماده سازی عصاره ها: (روش ها)

- تهیه میوه های انار از استان مازندران در سال ۲۰۱۴ در ایران
- قطعات پوست جدا شدند
- استخراج در یک دستگاه سوکسله با متانول
- تغلیظ شدن عصاره با اواپراتور چرخشی



1ml دی متیل  
سولفوکسید (DMSO)

10 mg عصاره



# تعیین محتوای فنلی کل (TPC): روش ها (ادامه)

2/5ml معرف  
Folin- Ciocalteu  
(FCR)

2 دقیقه در  
دمای اتاق

2ml کربنات  
سدیم 7/5%

0/5ml  
عصاره فنولیک

مخلوط در اتاق تاریک

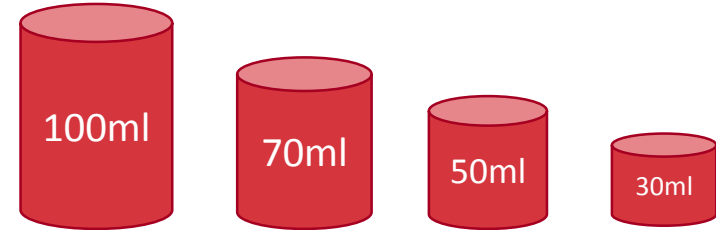
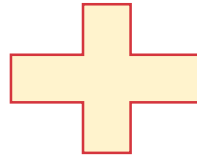
به مدت ۳۰ دقیقه انکوباسیون

جذب با استفاده از یک  
اسپکتروفتومتر  
در ۷۲۰ نانومتر اندازه گیری شد.



# فعالیت رادیکال آزاد DPPH : روش ها (ادامه)

1ml محلول ۲، ۲-دی  
فینیل-۱-پیکریل  
هیدرازیل (DPPH)



حجم های مختلف عصاره

انکوباسیون  
در دمای  
اتاق  
۱۰ دقیقه

فعالیت آنتی اکسیدانی به  
عنوان مقادیر  $IC_{50}$  بیان  
شد که توسط رگرسیون  
غیر خطی با استفاده از  
**GraphPad Prism**  
نسخه ۶،۰ محاسبه شد

جذب این محلول در ۵۱۷  
نانومتر، با استفاده از یک  
اسپکتروفتومتر اندازه گیری  
شد.





# کشت سلول :

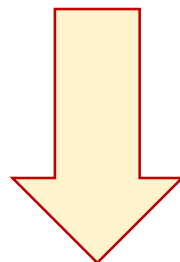
روش ها (ادامه)

سرم جنین گاو  
۱۰٪ غیر فعال  
شده

پنی سیلین  
۱۰U/ml

استرپتومایسین  
10µg/ml

۰/2mM  
سدیم پیرووات



کشت هادر حضور 5% CO<sub>2</sub>  
در ۳۷ درجه سانتی گراد و  
۱۰۰٪ جو رطوبتی نسبی  
انکوباتور شدند.

سلول های  
سرطانی  
تخمدان  
(SKOV3)

سلول های  
سرطانی  
سینه  
(MCF-7)

سلول های  
سرطانی  
پروستات  
(PC-3)

سلول های  
سرطانی  
غیر کوچک  
ریه (A549)



# تست MTT: روش ها (ادامه)

بمدت 24 ساعت  
در دمای  $37^{\circ}\text{C}$   
فشار  $5\%\text{CO}_2$

سلول ها در پلیت های ۹۶ خانه ای با تراکم  $1 \times 10^4$  سلول و حجم 200ml

تحت  
درمان

بعد از  
۷۲  
ساعت

۱۰mL از معرف MTT  
به هر چشمه

پلیت ها در  $37^{\circ}\text{C}$  و  
 $5\%\text{CO}_2$   
برای ۴ ساعت  
انکوباسیون شدند



۱۰۰mL از محلول حلال به  
هر چشمه اضافه شد و با  
انکوباسیون در طی شب در  $37^{\circ}\text{C}$   
درجه برای حل شدن  
کریستال های فورمازان

جذب با استفاده از  
plate reader  
ELISA  
در طول موج ۵۷۰  
نانومتر

بدون درمان

کنترل  
منفی

گروه  
عصاره

کنترل  
مثبت

0/2%  
دی متیل  
سولفوکسید

و

5,20,100,250,500,  
1000  $\mu\text{g/ml}$

سلول ها با غلظت های مختلف عصاره های حلال

Paclitaxel

داروهای ضد سرطانی شیمی درمانی

نتایج

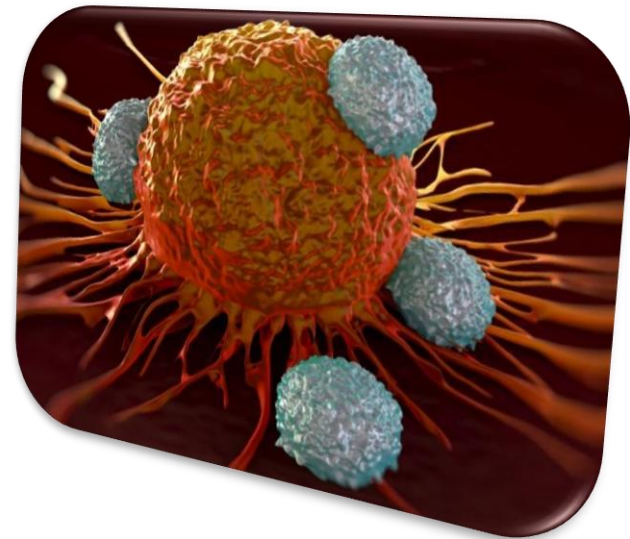




## نتایج (ادامه)

□ عصاره پوست انار به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی که دارد برای از بین بردن رادیکال های آزاد و جلوگیری از رشد سرطان انتخاب شده است.

□ تاثیر PEE روی سلول های سرطانی تخمدان، سلول های سرطانی سینه، سلول های سرطانی پروستات و سلول های سرطانی غیر کوچک ریه به دلیل گرایش بالای این سلول ها به متاستاز انتخاب شدند.



## نتایج (ادامه)

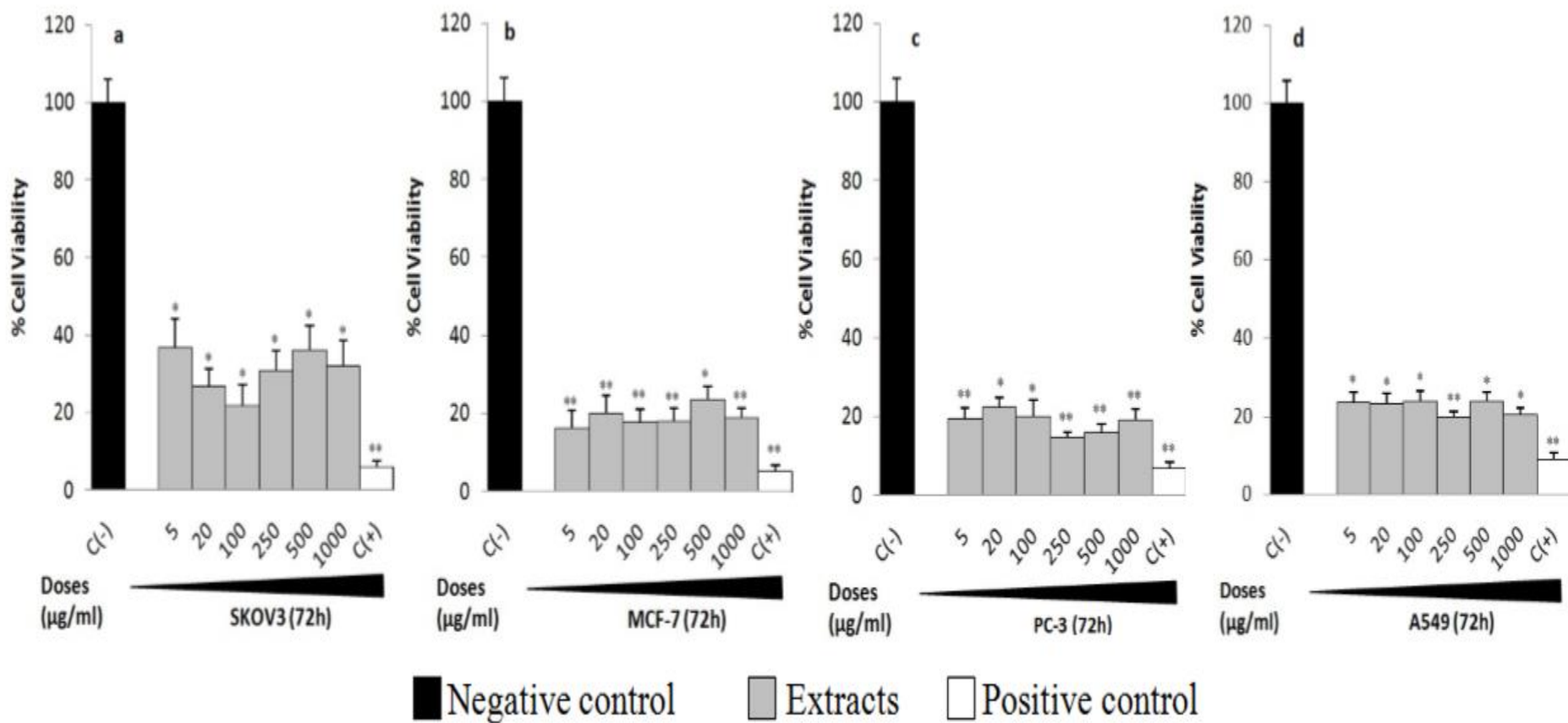
جدول ۱: مهار رشد (۷۲ ساعت) عصاره پوست

| Doses<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | SKOV3           | MCF-7           | PC-3            | A549            |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1000                          | 68.45 $\pm$ 5.2 | 81.3 $\pm$ 7.2  | 77.6 $\pm$ 5.2  | 79.62 $\pm$ 7.1 |
| 500                           | 63.87 $\pm$ 3.0 | 76.54 $\pm$ 3.6 | 84.0 $\pm$ 3.0  | 76.25 $\pm$ 3.3 |
| 250                           | 69.3 $\pm$ 4.4  | 82.0 $\pm$ 2.4  | 84.16 $\pm$ 4.4 | 80.0 $\pm$ 4.9  |
| 100                           | 78.2 $\pm$ 6.1  | 82.4 $\pm$ 8.3  | 78.5 $\pm$ 6.1  | 76.0 $\pm$ 4.5  |
| 20                            | 73.4 $\pm$ 8.2  | 80.25 $\pm$ 5.4 | 73.7 $\pm$ 8.2  | 76.4 $\pm$ 6.7  |
| 5                             | 63.41 $\pm$ 7.1 | 83.7 $\pm$ 4.3  | 77.87 $\pm$ 7.1 | 76.54 $\pm$ 4.4 |
| Mean $\pm$ SEM                | 69.43 $\pm$ 4.5 | 81.03 $\pm$ 4.8 | 79.3 $\pm$ 7.7  | 77.46 $\pm$ 2.1 |



## نتایج (ادامه)

نتایج نشان داد که در تمام دوزها اختلاف معنی داری بین شاهد های درمان شده و بدون درمان به صورت مستقل از دوز مشاهده شده است.



**شکل ۱:** عصاره PPE سلول های مختلف سرطانی را متوقف می کند. \*  $p < 0.01$ ; \*\*  $p < 0.001$ ، در مقایسه با کنترل منفی







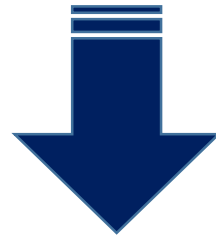
بحث



## بحث (ادامه)

در آزمایش ما، در یک وضعیت مستقل از دوز، PPE باعث حداکثر مهار رشد 84.16% در دوز  $250\mu\text{g/ml}$  در سلول های سرطان پروستات شد.

به علاوه  $\text{IC}_{50} \leftarrow 5\mu\text{g/ml}$



Sine Sepehr و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اثرات بهینه PPE از انار ایرانی روی تکثیر سلول های سرطان پروستات بررسی کردند.

در این مطالعه، PPE باعث حداکثر مهار رشدی ۶۵٪ در دوزهای  $600\mu\text{g/ml}$  در یک وضعیت وابسته به دوز شد.

$\text{IC}_{50} \leftarrow 250.21\mu\text{g/ml}$

این اختلافات می توانند به قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های آماده شده نسبت داده شوند، زیرا که عصاره های اتانولی استفاده شده توسط نویسندگان بالا حجم پلی فنولی پایین تر را در مقایسه با عصاره متانولی استفاده شده در مطالعه ما نشان می دهند.



## بحث(ادامه)

□ تفاوت قابل ملاحظه ای بین اثر سلولی دوزهای مختلف وجود نداشت و حتی در مورد سلول های سرطان سینه دوز  $5\mu\text{g/ml}$  موجب مهار بیشتر در مقایسه با  $500\mu\text{g/ml}$  شد که نشان می دهد که یک دوز بهینه بیولوژیکی مهم تر و مرتبط تر از حداکثر تحمل می باشد.

| Doses<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | SKOV3         | MCF-7         | PC-3          | A549          |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1000                          | $68.45\pm5.2$ | $81.3\pm7.2$  | $77.6\pm5.2$  | $79.62\pm7.1$ |
| 500                           | $63.87\pm3.0$ | $76.54\pm3.6$ | $84.0\pm3.0$  | $76.25\pm3.3$ |
| 250                           | $69.3\pm4.4$  | $82.0\pm2.4$  | $84.16\pm4.4$ | $80.0\pm4.9$  |
| 100                           | $78.2\pm6.1$  | $82.4\pm8.3$  | $78.5\pm6.1$  | $76.0\pm4.5$  |
| 20                            | $73.4\pm8.2$  | $80.25\pm5.4$ | $73.7\pm8.2$  | $76.4\pm6.7$  |
| 5                             | $63.41\pm7.1$ | $83.7\pm43$   | $77.87\pm7.1$ | $76.54\pm4.4$ |
| Mean $\pm$ SEM                | $69.43\pm4.5$ | $81.03\pm4.8$ | $79.3\pm7.7$  | $77.46\pm2.1$ |





# بحث (ادامه)

## • علت تفاوت اثر استروژنیک پلی فنول در سلول های سرطانی

ترکیبات فلاونوئید در عصاره ← فعالیت اروماتاز را مختل ← سنتز استروژن مختل

↓  
عامل رشد در سلول هایی که  
دارای گیرنده های استروژن

اگرچه SKOV3 سرطان تخمدان  
ER+ است، اما گسترش آن به  
استروژن بستگی ندارد، بنابراین این  
سلول ها نسبت به سایر سلول های  
سرطانی حساسیت کمتری نسبت به  
استروژن و آندروژن دارد



## مقاله ۲

### عنوان:

اثر مکمل مواد غذایی غنی از پلی فنول در پیشرفت PSA در افراد مبتلا به سرطان پروستات  
effect of a polyphenol-rich whole food supplement on PSA progression in men with prostate cancer

محقق: R.Thomas et al

ژورنال: مطالعه اورجینال

نوع مطالعه: دوسوکور

محل انجام طرح: انگلستان

سال انجام: ۲۰۱۴



# هدف مقاله



این یک آزمایش تصادفی با کنترل دارونما بوده که با هدف اینکه آیا مکمل رژیم غذایی غنی از پلی فنول میزان پیشرفت PSA را در مقایسه با دارونما در میان مردان مبتلا به سرطان پروستات یا تحت درمان با AS یا WW، تحت تاثیر قرار میدهد یا خیر؟!



# مواد و روش ها





## روش ها

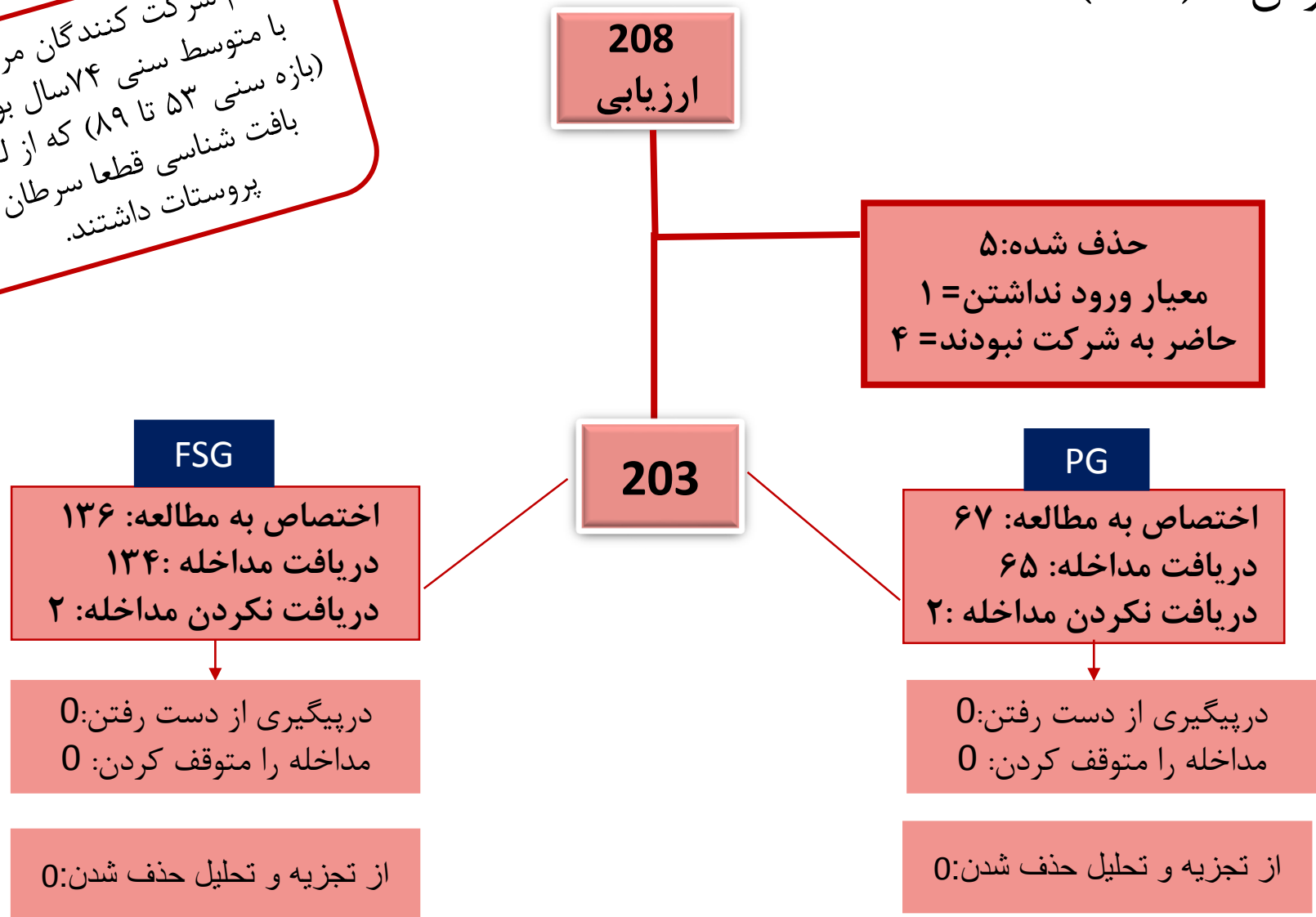
- ۲۰۳ شرکت کننده از سراسر انگلستان واجد شرایط بودن که ، در واحد تومورشناسی بیمارستان Bedford برای بررسی مورد تصویب قرار گرفتند

یک قرص  
۳ بار در روز

- ✓ بروکلی پود شده 100 mg
- ✓ پودر زردچوبه 100mg
- ✓ پودر کل میوه انار 100 mg
- ✓ عصاره 5:1 چای سبز 20mg که برابر با 100mg چای سبز است
- ✓ عامل فشرده سازی (di-calcium phosphate) ، عامل ضد چسبندگی و انعقاد (اصلاح نشاسته مبتنی بر ذرت، مالتودکسترین و منیزیم استیریت) پس از آزمایش حذف شدند



تمام شرکت کنندگان مردانی  
با متوسط سنی ۷۴ سال بودند  
(بازه سنی ۵۳ تا ۸۹) که از لحاظ  
بافت شناسی قطعا سرطان  
پروستات داشتند.



نتایج



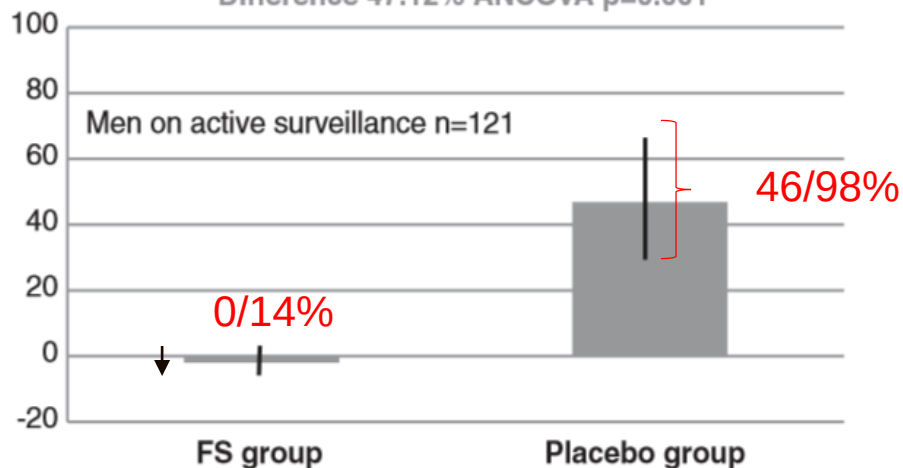
| Baseline characteristic                       | FSG (134)   | PG (65)           |
|-----------------------------------------------|-------------|-------------------|
| Age (mean years)                              | 71.8        | 76.4 <sup>a</sup> |
| PSA (mean $\mu\text{g l}^{-1}$ )              | 6.5<br>6/81 | 6.5<br>10/98      |
| Gleason grade $\leq 7$                        | 127 (95%)   | 57 (88%)          |
| Gleason grade $> 7$                           | 7 (5%)      | 8 (12%)           |
| Gleason grade mean ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )   | 6.5         | 6.2               |
| BMI (mean $\text{kg m}^{-2}$ )                | 28.1        | 28.3              |
| Cholesterol (mean $\text{mmol l}^{-1}$ )      | 4.87        | 4.72              |
| BP (mean systolic/diastolic mm Hg)            | 146/83      | 150/82            |
| Serum glucose (mean $\text{mmol l}^{-1}$ )    | 5.15        | 5.30              |
| C-reactive protein (mean $\text{mg l}^{-1}$ ) | 1.51        | 1.74              |

Activate Windows  
Go to PC settings to activate Windows.



### Median percentage change in PSA (AS)

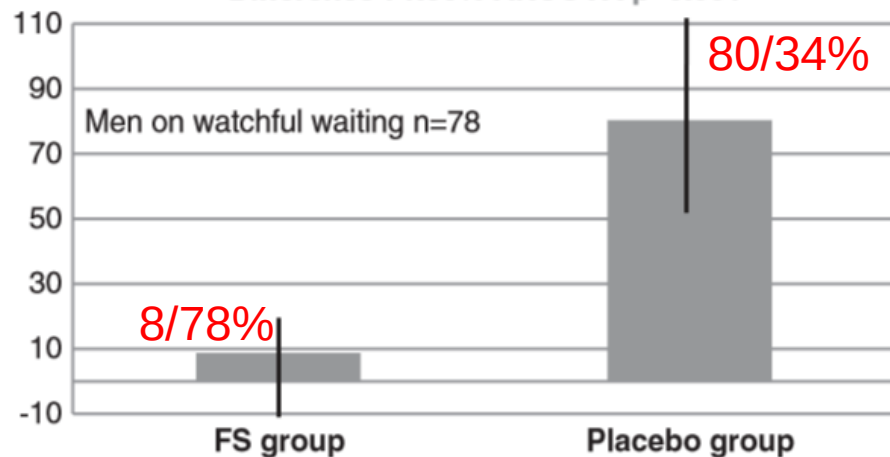
Difference 47.12% ANCOVA p=0.001



Key: FS = Food supplement, ANCOVA = Analysis of covariance,  
— = 95% confidence intervals

### Median percentage change in PSA (WW)

Difference 71.56% ANCOVA p=0.001



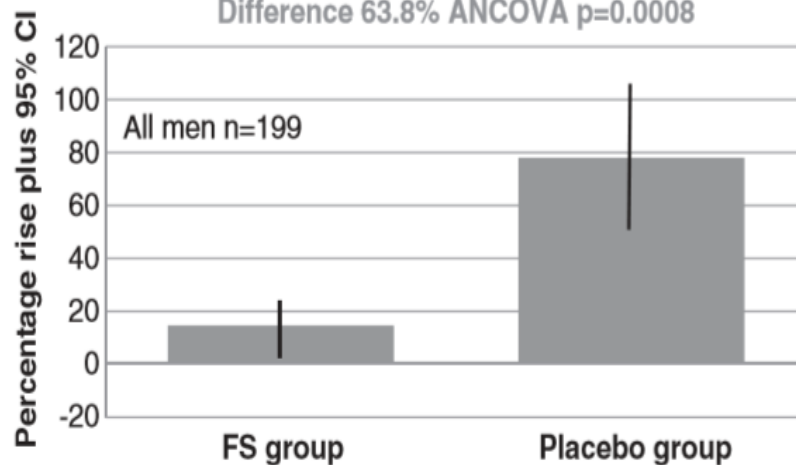
Key: FS = Food supplement, ANCOVA = Analysis of covariance,  
— = 95% confidence intervals

تغییر میانگین درصد PSA در AS  
شکل ۱

تغییر میانگین درصد PSA در WW  
شکل ۲

### Median percentage PSA change - all men

Difference 63.8% ANCOVA p=0.0008

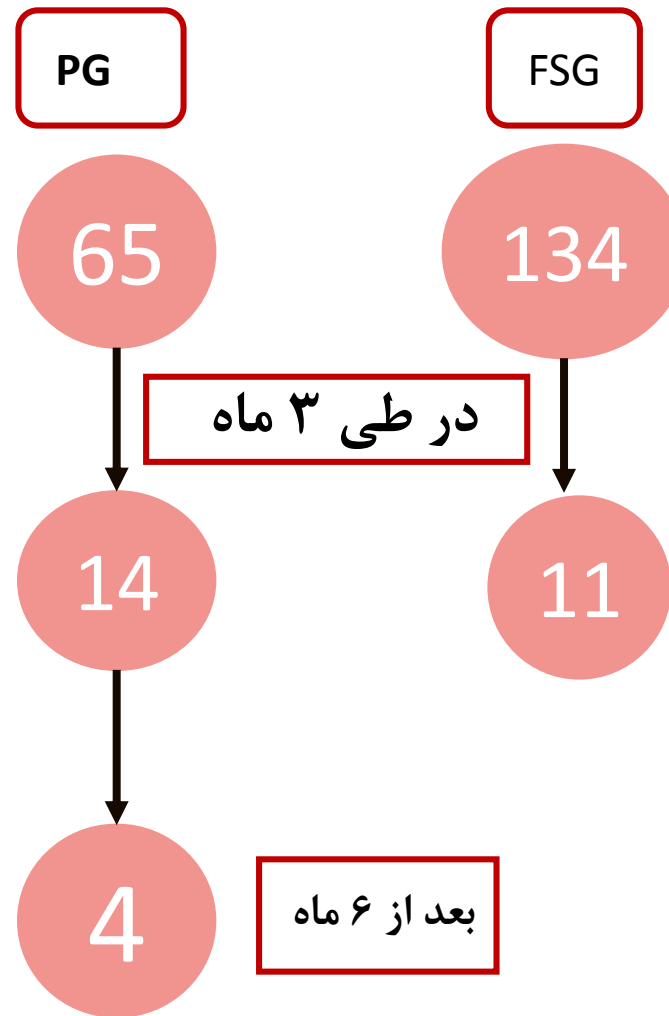


Key: FS = Food supplement, ANCOVA = Analysis of covariance,  
— = 95% confidence intervals

درصد متوسط تغییر PSA در همه مردان  
شکل ۳



# تصمیم به باقی ماندن در AS یا WW نتایج (ادامه)



• دلایل این ترک کردن :  
چند فاکتوره  
و با صلاح دید پزشک و بیمارانی  
که هردو نا آشنا بودند در  
مداخلات درمانی  
PSA آنها افزایش یافت



## نتایج (ادامه)

|                                         | FSG<br>(% of 134) | PG<br>(% of 65) | Difference %<br>(significance) |
|-----------------------------------------|-------------------|-----------------|--------------------------------|
| <b>Adverse gastro-intestinal events</b> |                   |                 |                                |
| Loose bowels                            | 6 (4.5%)          | 0 (0%)          | 4.5 (ns)                       |
| Diarrhoea (grade 1)                     | 2 (1.5%)          | 0 (0%)          | 1.5 (ns)                       |
| Diarrhoea (grade 2)                     | 2 (1.5%)          | 1 (1.5%)        | 0 (ns)                         |
| Diarrhoea (grade ≥3)                    | 0 (0%)            | 0 (0%)          | 0 (ns)                         |
| Constipation                            | 2 (1.5%)          | 0 (0%)          | 1.5 (ns)                       |
| Flatulence                              | 5 (3.6%)          | 0 (0%)          | 3.6 (ns)                       |
| Rectal bleeding                         | 0 (0%)            | 1 (1.5%)        | 1.5 (ns)                       |
| Nausea                                  | 0 (0%)            | 1 (1.5%)        | 1.5 (ns)                       |
| Bloating                                | 4 (3%)            | 2 (3%)          | 0 (ns)                         |
| All GI adverse events                   | 21 (15.5%)        | 5 (7.5%)        | 8 (ns)                         |
| <b>Other adverse events</b>             |                   |                 |                                |
| Gout exacerbation                       | 2 (1.5%)          | 1 (1.5%)        | 0 (ns)                         |
| Worsening urinary flow                  | 2 (1.5%)          | 2 (3%)          | 1.5 (ns)                       |
| Worsening renal function                | 2 (1.5%)          | 0 (0%)          | 1.5 (ns)                       |
| Weight loss                             | 0 (0%)            | 2 (3%)          | 3 (ns)                         |
| Non-specific 'feeling unwell'           | 2 (1.5%)          | 4 (6%)          | 4.5 (ns)                       |
| Miscellaneous unrelated                 | 5 (3.6%)          | 9 (13.4%)       | 9.8 (ns)                       |
| All adverse events                      | 34 (24%)          | 23 (34%)        | 10 (ns)                        |
| <b>Positive events</b>                  |                   |                 |                                |
| Improved erectile function              | 1 (0.75%)         | 0 (0%)          | 0.75 (ns)                      |
| Improve urinary flow                    | 4 (3%)            | 1 (1.5%)        | 1.5 (ns)                       |
| Reduced prostatic discomfort            | 1 (0.75%)         | 0 (0%)          | 0.75 (ns)                      |
| All positive prostatic symptoms         | 6 (4.5%)          | 1 (1.5%)        | 3 (ns)                         |
| Improved bowel function                 | 8 (6%)            | 0 (0%)          | 6 (ns)                         |
| Improved well being                     | 2 (1.5%)          | 2 (3%)          | 0 (ns)                         |
| All positive event                      | 16 (12%)          | 3 (4.5%)        | 7.5 (ns)                       |

هیچکدام از افراد در هر دو گروه علائم سیستم عصبی مانند پریشانی، بی خوابی، لرزش گزارش نداده بودند.

خلاصه ای از عوارض جانبی  
جدول ۲





بحث





# بحث (ادامه)

✓ این مطالعه به طور تصادفی دریافت مکمل تغذیه ای در مقایسه با دارونما که تاثیر قابل توجهی بر میزان پیشرفت PSA در مردان مبتلا به سرطان پروستات را نشان داد.

✓ این پیش بینی نسبتاً کوتاه مدت بوده، ۶ ماه مدت زمان مداخله ای که اگر چه زمان کافی برای شناسایی اختلاف اولیه بوده، ولی یک طرح طولانی تر احتمال این که این اثر کوتاه مدت باشد حذف نمی شود.

✓ صرف نظر از سمیت اجتناب ناپذیر درمان محرومیت آندروژن، این مکمل غذایی بیش از ۱۰ برابر تفاوت قیمت با درمان محرومیت آندروژن دارد.



# بحث (ادامه)

✓ دیگر ویژگی های این مکمل نیز تحمل و ایمنی آن بود. در مقایسه با دارونما اختلاف آماری معنی داری بین علائم بالینی وجود نداشت، اگرچه بیشتر مردان در گروه مکمل نفخ ناخوشایند یا اسهال را تجربه کردند، اما تقریباً بسیاری از اثرات مفید گزارش شده شامل بهبود هضم و علائم ادراری را نیز گزارش دادند.

✓ مکمل انار، به عنوان یک مهار کننده ضعیف از سیتوکروم **P450** به شمار می رود

✓ ترکیبات پلی فنول در مطالعات آزمایشگاهی اثرات بنیادی بر پیشرفت سرطان از جمله نشانگرهای آنژیوژنز، متاستاز، آپوپتوز داشته است



## مقاله ۳

### عنوان:

Pomegranate exerts chemoprevention of experimentally induced mammary tumorigenesis by suppression of cell proliferation and induction of apoptosis

اثرات شیمیایی پیشگیری کننده عصاره انار از شیوع سلول سرطانی در بافت پستانی با مهار تکثیر و تحریک فعالیت آپوپتوز

محقق: Anupam Bishayee et al

ژورنال: NUTRITION AND CANCER

نوع مطالعه: مداخله ای

محل انجام طرح: آمریکا

سال انجام: 2015



# هدف مقاله

- ❖ ارزیابی شیمیایی فرمول انار (امولسیون) حاوی اکثر ترکیبات زیستی فعال موجود در کل میوه
- ❖ تعیین مکانیسم های عمل مهار کارسینومای سینه





# مواد و روش ها



# مواد و روش ها:

عصاره انار (PE) که از بخش های مختلف میوه (همچون آبمیوه، برگها، گل ها، بذر و دانه و پوست میوه) و به عبارت دیگر از کل میوه به منظور به حداکثر رساندن اثر ناشی شده اند را از مجموعه شرکت های ریمونست اسرائیل خریداری کردیم.

## آنالیز شیمیایی این ترکیب

فاز عصاره ای

کافئیک اسید  
کوریلان  
اسید الازیک  
اسید فرولیک  
گالیک اسید

۵-هیدروکسی-متیل  
فورفورال  
پانیکالان (نوع A, B)  
ترنس-p-کوماریک اسید

فاز لیپیدی

اکتادکتریونیک اسید، استرول، استروئیدها،  
۱۷- $\alpha$ -استرادیول، سیگما-توکوفرول



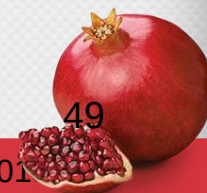
# مواد و روش ها (ادامه)

□ DMBA که یک غده سرطان زا در سینه است از شرکت سیگما آلد ریچ سنت لوییز تهیه شد.

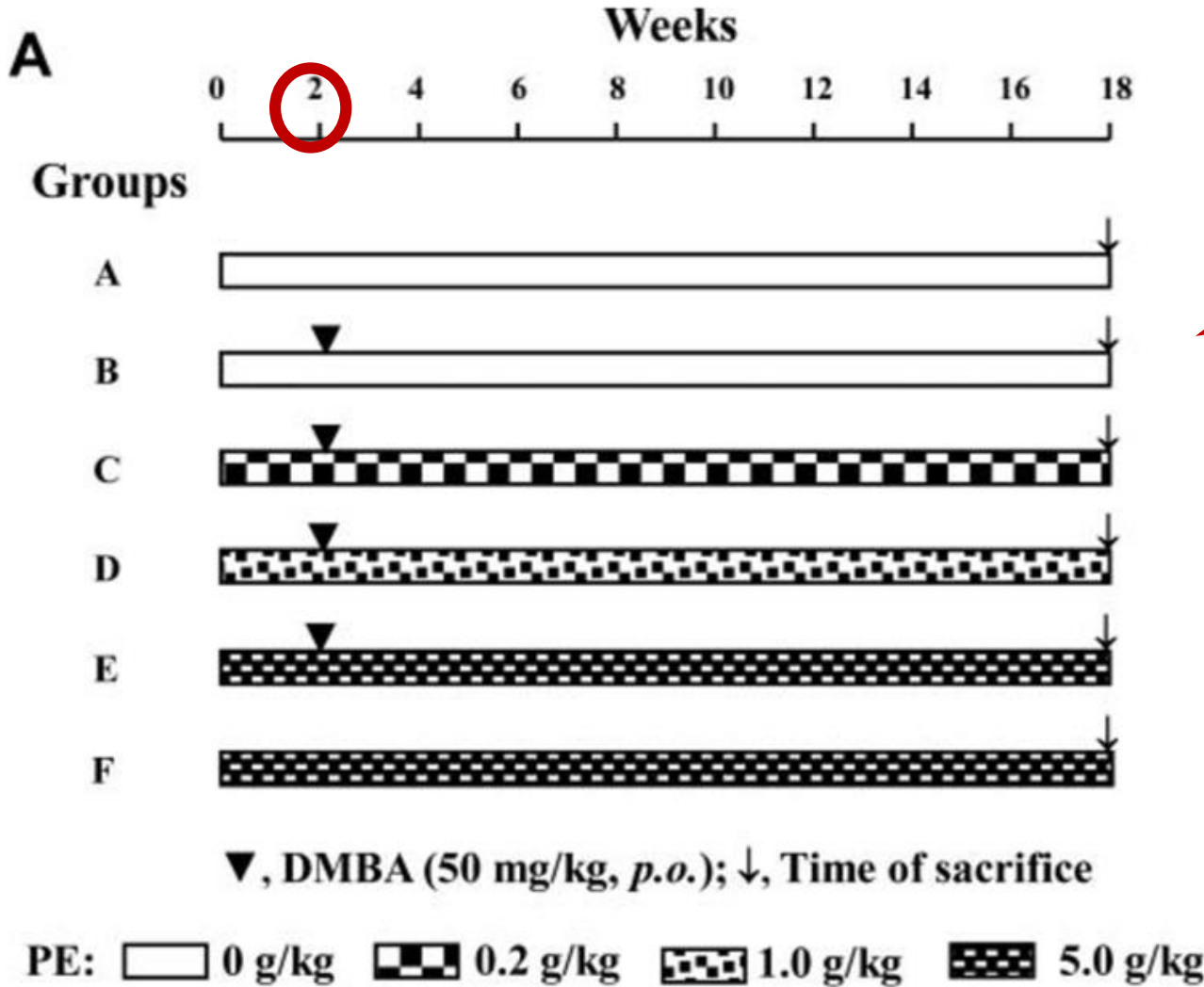
□ پادتن های اولیه ، به طور مثال آنتی ژن های هسته ای تکثیر سلولها **Bcl2** , **Bax**، بتا آکتین از مرکز بیوتکنولوژی سانتاکروز خریداری شدند.

□ موشهای اسپراگ دالی، مونث و که فاقد پاتوژن بودند (با سن تقریبا ۳۶ روز)

□ این حیوانات آزادانه به مواد غذایی باکیفیت، فرمول غذایی ثابت اساسی مربوط به جونده ها و همچنین آب آشامیدنی دسترسی داشتند.



پروتکل رفتار با حیوانات بعد از سازش یافتگی یک هفته



PE نیز به صورت دهانی  
به میزان سه بار در هفته

وزن بدن حیوانات یک هفته  
در میان اندازه گیری میشد.  
معاینه دستی غده های سینه  
دو بار در هفته، دو هفته بعد  
از شروع درمان DMBA  
آغاز شد

50 شکل ۱) خلاصه نمودار طراحی تجربی برای بررسی اثر امولسیون انار بر سرطان  
پستان ناشی از تحریک انسدادی



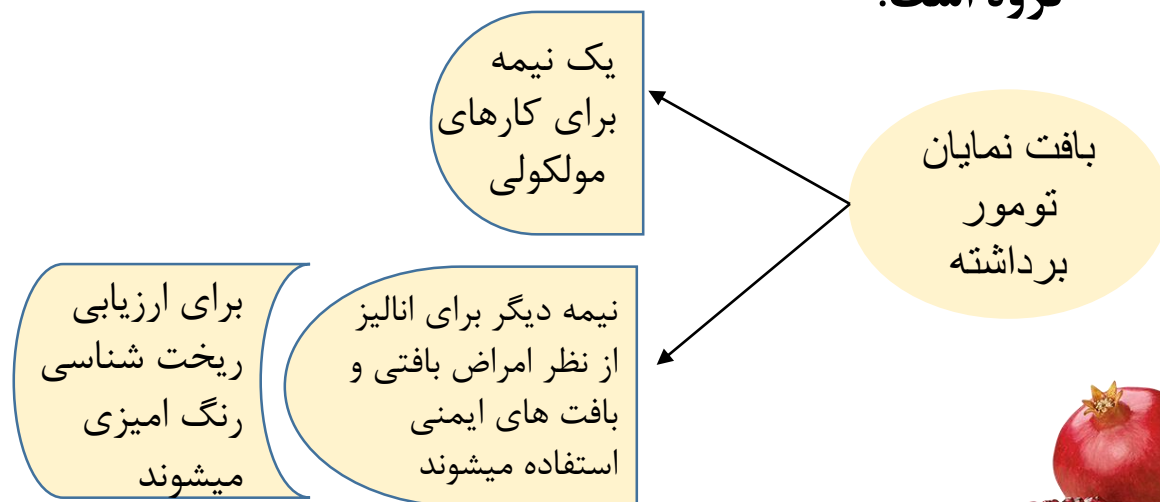


## روش ها (ادامه)

➤ حیوانات همه گروه ها با تزریق ماهیچه ای محلول **کتامین و زایلازین** بی هوش شدند و پوست جانوران برای تماس مستقیم تومورهای پستان کنده شد. تومورها که تقریبا به شکل کره بودند از بافت اصلی پستان جدا شده و شست شو شدند تا هرگونه باقیمانده خون از روی آنها پاک شود سپس خشک کرده، وزنشان اندازه گیری و از آنها عکس گرفته شد.

$$\text{میزان شیوع تومور} = \frac{\text{تعداد موش های دارای تومور}}{\text{تعداد کل موشها}} \times 100$$

➤ بار کلی تومورها برای هر گروهی نمایانگر مجموع وزن های تومورهای همه موشهای متعلق به آن گروه است.



# مواد و روش ها

## ارزیابی شیمی ایمنی بافتی سلول

❑ تکثیر سلولها با روش بازرسی شیمیایی سلولها با PCNA

❑ شناسایی سلولهای اپوپتوزی در بخشهای تومور به وسیله تست تشخیص قطعی DNA TdT-FragEL انجام گردید

❑ آنالیز شیمیایی سلولی ایمنی Bax و Bcl2 انجام شد

❑ ضریب عنوان گذاری PCNA که به آن (LI) گفته میشود، با شمارش تعداد سلولهایی که PCNA مثبت داشتند  $\times 100$

تعداد کل سلولهای تومور به دست آمد

❑ ضریب اپوپتوزی (AI) هم تحت عنوان تعداد سلولهای توموری که به صورت مثبت لکه گذاری و رنگ آمیزی شده اند در هر ۱۰۰ سلول شمرده شده به حساب می رود



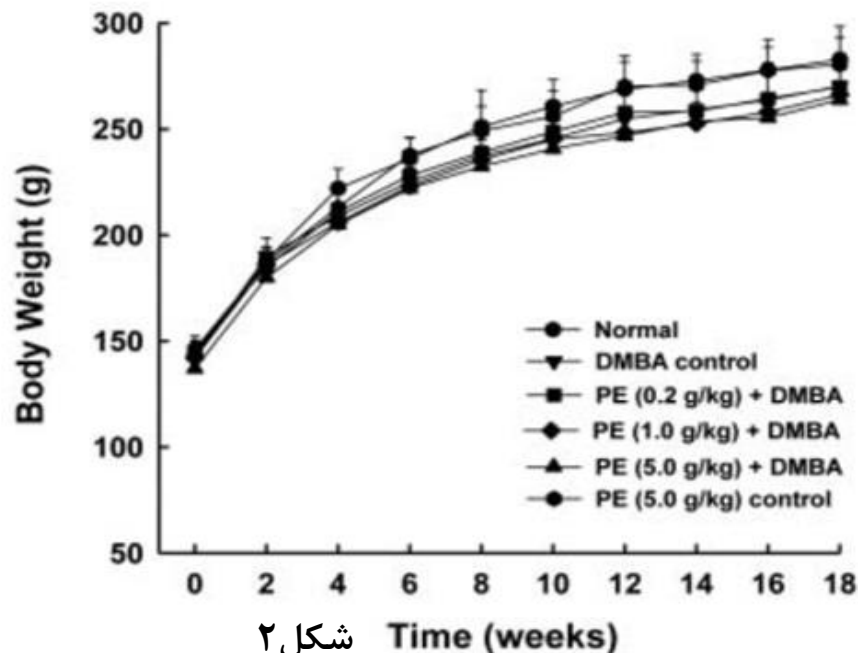
# نتایج

پایه



## نتایج

هیچ تفاوتی در آب و وعده های غذایی، تغییر رفتاری، الگوی رشد، بین گروه های آزمودنی انجام نگرفت. و هیچ تغییر معناداری در وزن طبیعی بدن و وزن بعد آزمایشات در هر مرحله ای که اندازه گیری شد دیده نشد.



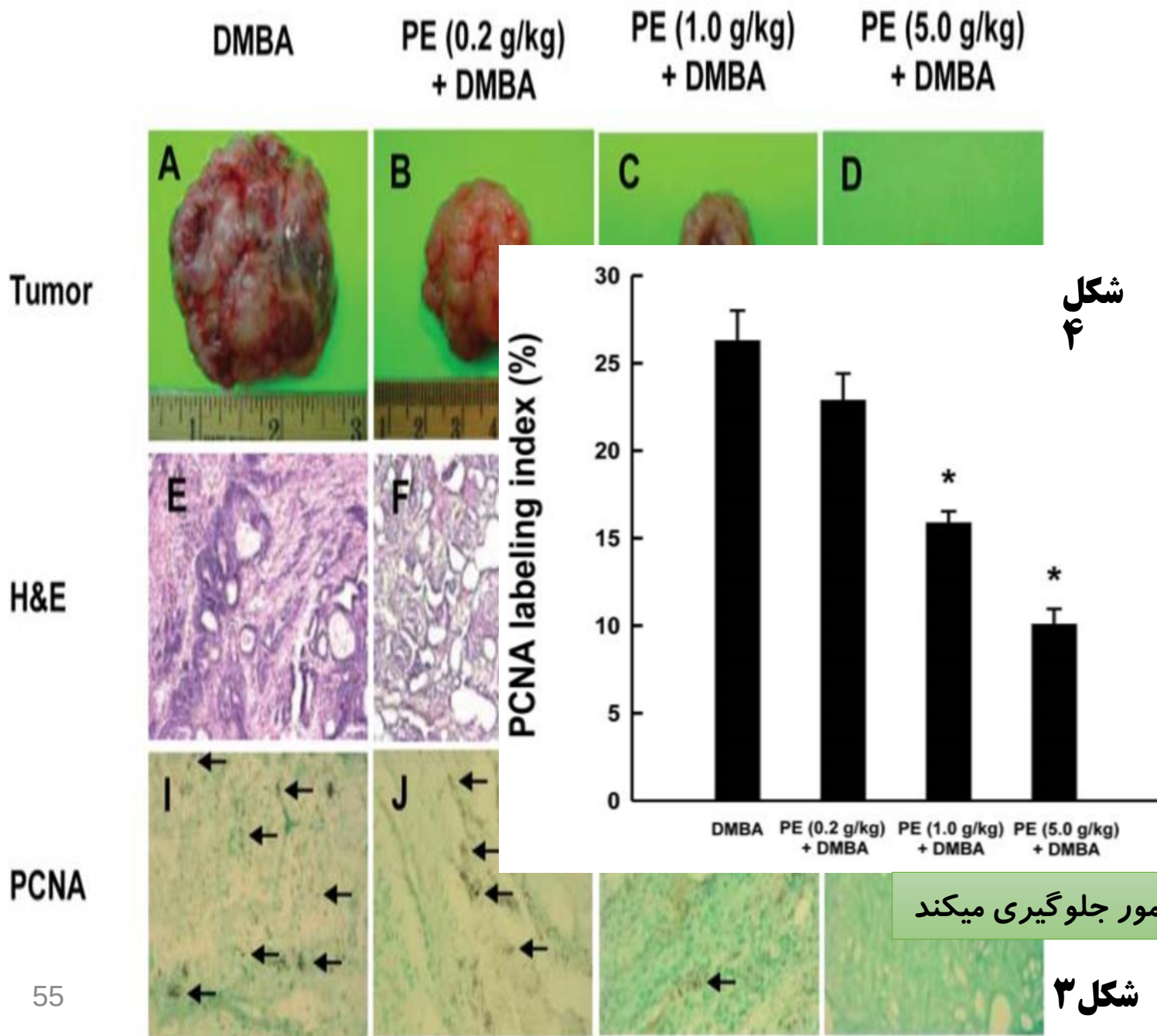
شکل ۲

| Treatment groups              | No. of rats with tumors/total rats | Tumor incidence (%) | Total tumor burden (g) | Inhibition (%) | Average tumor weight (g) | Inhibition (%) |
|-------------------------------|------------------------------------|---------------------|------------------------|----------------|--------------------------|----------------|
| Group B: DMBA                 | 9/11                               | 82                  | 89.0                   | —              | 14.8±4.8                 | —              |
| Group C: PE (0.2 g/kg) + DMBA | 5/8                                | 62                  | 21.7                   | 76             | 2.0±0.3**                | 86             |
| Group D: PE (1 g/kg) + DMBA   | 5/8                                | 62                  | 16.8                   | 81             | 1.4±0.3**                | 90             |
| Group E: PE (5 g/kg) + DMBA   | 2/7                                | 28*                 | 5.9                    | 93             | 1.5±0.9**                | 90             |

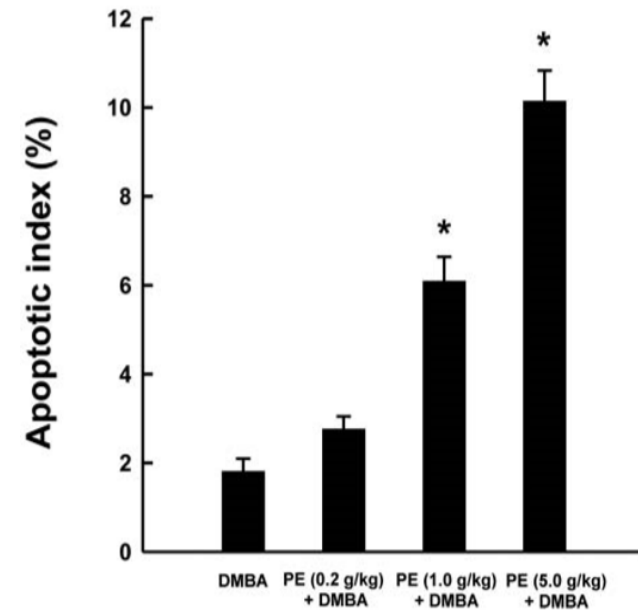
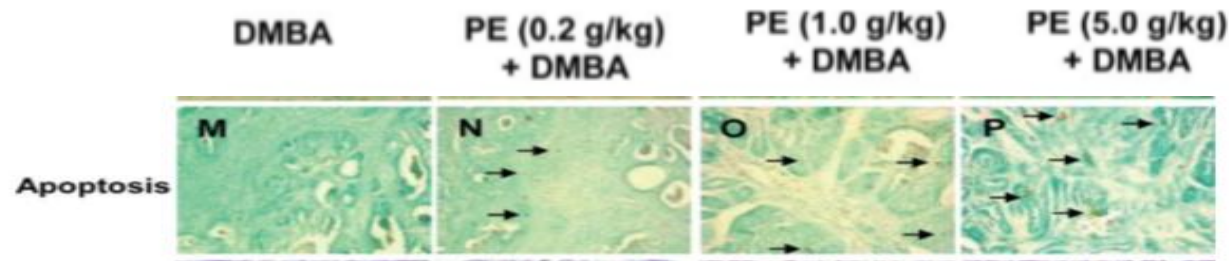
Rats from normal (Group A,  $n = 12$ ) and PE (5 g/kg) control group (Group F,  $n = 5$ ) did not show any visible mammary tumor. PE = pomegranate emulsion; DMBA = 7,12-dimethylbenz(a)anthracene.







# PE باعث مرگ سلولهای تومورهای پستان میشود



بررسی و مطالعه ی میزان آپتوزی سلولها با روش  
تشخیصی TdT-FragEL قطعی DNA  
شکل ۵

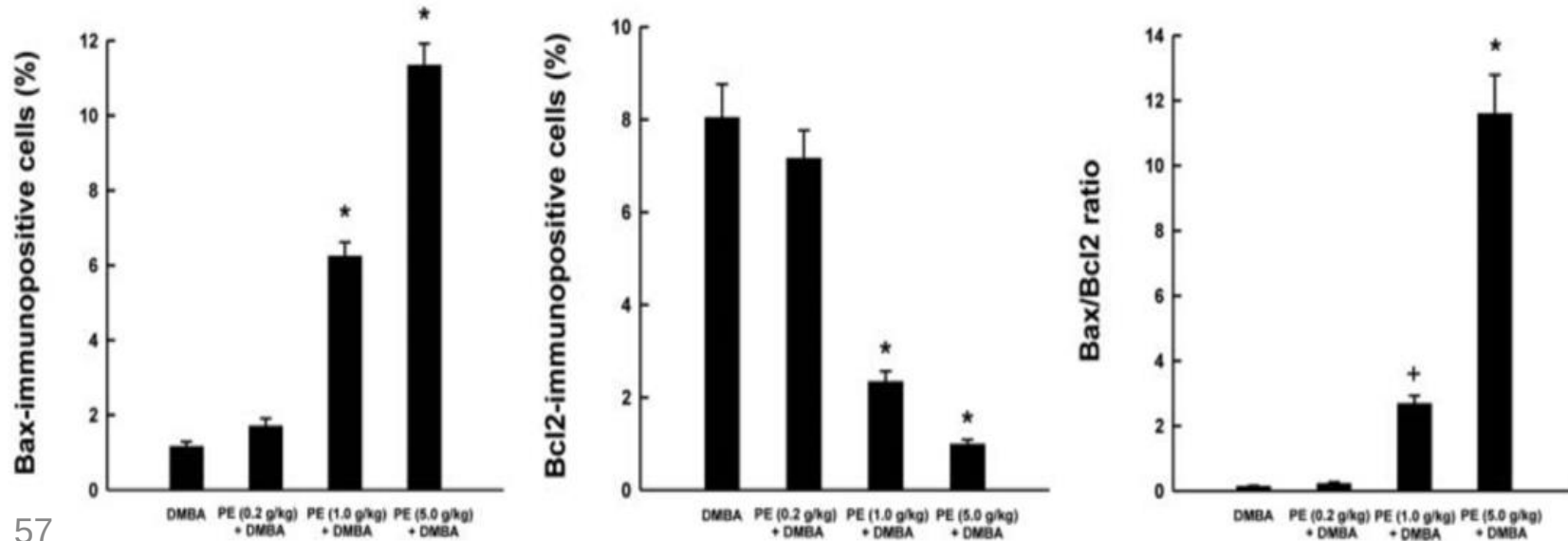
شکل ۶



Bax

Bcl2

شکل ۷





بحث





## بحث (ادامه)

- ✓ عصاره انار اثر برجسته ای بر کاهش میانگین وزن تومور پستان در هر سه دوز مصرف شده داشته است ولی در دوز بالا (5g) معنی دار بوده است.
- ✓ عصاره انار ترکیب سلولی و تراوشات ، علاوه بر ساختار بافت ها را کاهش میدهد.
- ✓ درمان با عصاره انار از هرگونه تظاهرات سمی عاری است.
- ✓ مکانیسم هایی که از طریق PE تومور پستان در موش ها را از بین میبرد:  
میزان تکثیر سلولی برای تشخیص تومور را ارزیابی کنیم. PCNA پروتئین هسته ای است که به عنوان یک عامل همراه در DNA پلیمراز شرکت دارد و همچنین به عنوان یک نشانگر تکثیرکننده ی مهم برای سلولهای سرطان زای پستان استفاده میشود. بیان بالینی PCNA در تومورهای پستان در حیوانات کنترل DMBA نشان دهنده تکثیر سریع سلول های تومور است.

کاهش شیوع  
و رشد تومور

ضد تکثیر

PCNA  
کمتر

کاهش بروز  
PCNA

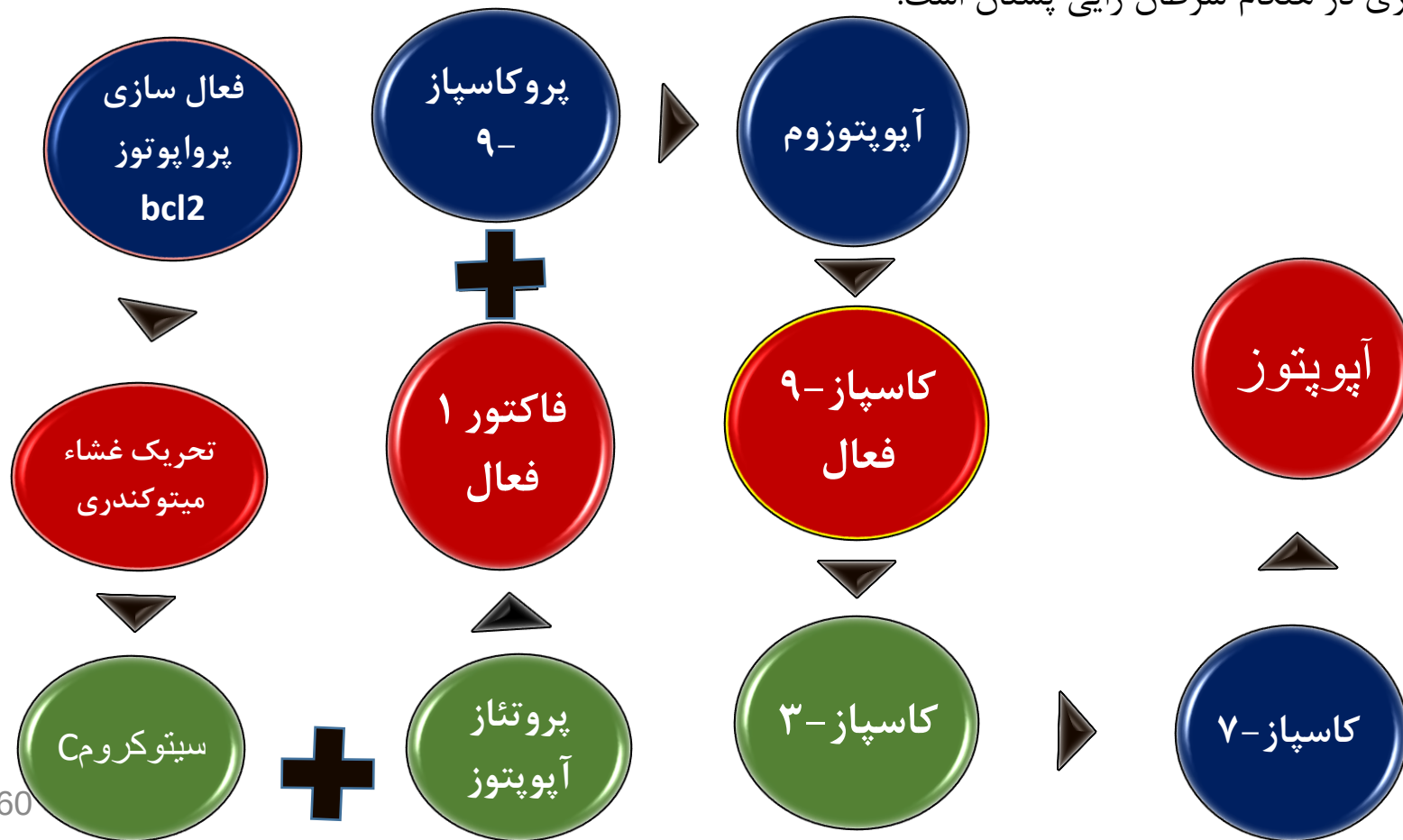
راه دهانی

عصاره انار



## بحث(ادامه)

✓ توانایی **القاء آپوپتوز** به عنوان یک عامل اصلی در ارزیابی پتانسیل پیشگیری در نظر گرفته می شود. ما آپوپتوز در بافت تومورهای پستان را به وسیله روش تجزیه DNA و ایمنی بافتی سلول بررسی کرده ایم. یافته های ما به وضوح نشان از این دارند که هنگام افزایش دوز PE افزایش چشمگیری در تجزیه DNA به وجود می آید و این امر حکایت از برقراری آپوپتوزی در هنگام سرطان زایی پستان است.



## بحث(ادامه)

- ✓ ظهور بیش از حد  $bcl2$  بقای سلولی را از طریق مهار آپوپتوز ، ارتقا میبخشد، درحالیکه بروز بیش از حد  $Bax$  مرگ سلول را تسریع میکند. به وجود آمدن افزایش در نسبت  $bax / bcl2$  به عنوان شاخص معتبر از تمایل سلول به آپوپتوز است. قابل توجه است که اختلال در تنظیم آپوپتوز ناشی از عدم تعادل در نسبت  $Bax / Bcl2$  به پاتوژنز و رشد سرطان زای غده پستانی برمیگردد.
- ✓ در این تحقیق، رژیم درمانی با PE بروز  $bax$  را افزایش داد و فعالیت  $bcl2$  را در تومورهای پستان که بر اثر در معرض DMBA قرار گرفتن به وجود آمده بودند کاهش داد، بدین طریق که در نسبت  $bax/bcl2$  تغییری پروآپتوز ایجاد کرد



# مقاله ۴

## عنوان:

Nanoencapsulation of pomegranate bioactive compounds for breast cancer chemoprevention

نانو کپسول سازی ترکیبات فعال زیستی انار برای پیشگیری از سرطان پستان

محقق: amit B shirode

ژورنال: مطالعه اورجینال

نوع مطالعه: International Journal of Nanomedicine

محل انجام طرح: نیویورک-آمریکا

سال انجام: ۲۰۱۵





# چکیده

- ❑ پلی فنول انار، دارای آنتی اکسیدان قوی و از عوامل پیشگیری شیمیایی است اما دارای قابلیت ذخیره زیستی پایین و نیمه عمر کوتاه است.
- ❑ **punicalagin (PU)**، پلی فنول اصلی در انار در فرم سالم و دست نخورده اش جذب نشده است، اما به سرعت به متابولیت های کم عمر اسیدهای الایژیک اسید (EA) هیدرولیز میشود.
- ❑ انکپسوله کردن پلی فنول های انار به ذرات آزاد قابل تجزیه زیستی ← ممکن است این محدودیت را کم کند.

میکروسکوپ فلورسنت  
confoca نشان داد  
که نانوذرات عصارانار  
به طور موثر جذب  
میشود و در ۲۴ ساعت  
اولیه حداکثر جذب

جذب نانو ذرات  
نشاندار شده در سلول های  
سرطانی پستان در یک  
بازه زمانی ۲۴ ساعته  
ارزیابی شد.

میانگین قطر نانو ذرات کروی  
150-200 nm



دوبرابر کردن امولسیون  
حلال فراهم شد

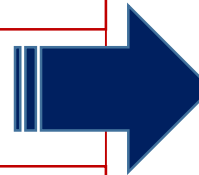


## چکیده (ادامه)

نمونه های نانو PU,PE,EA تاثیر ۲ تا ۱۲ برابر  
بر مهار رشد سلولی  
نسبت به همتایان آزادشان داشتند.

نانوذرات عصاره انار قویترین نمونه های نانو در  
انار بود

پلی فنول های انار، از عوامل نوید دهنده برای  
پیشگیری از سرطان پستان هستند



ادغام پلی فنول های انار  
با فناوری نانو اثرات ضد  
سرطان آن ها را در  
سلول های سرطان  
پستان افزایش می دهد



# نتیجه گیری



✓ مقاله ۱ ← نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی پوست انار دارای قدرت بالایی برای مهار تکثیر سلول های تومورهای مختلف در حالت مستقل از دوز است که نیاز به بهینه سازی دقیق دوز دارد. علاوه بر این، به نظر میرسد اثر عصاره پوست انار روی نوع خاصی از تومور است، و سلول های سرطانی وابسته به هورمون پاسخ بیشتری به اثرات ضد تومور این عصاره داده است.

✓ مقاله ۲ ← این مطالعه اثر کوتاه مدت و تاثیر مطلوب بر افزایش درصد PSA در مردان تحت درمان AS و WW و تحمل خوبی از مصرف ترکیبی از غذا های متمرکز را نشان داد. تاثیر آن نشان می دهد که این مداخله از لحاظ بالینی معنی دار است، اما آزمایش های بیشتر برای اثبات اثرات بالینی طولانی مدت و نکات آزمایشگاهی جامع تر را پیشنهاد کردند.

✓ مقاله ۳ ← این پژوهش بیانگر اثر پیش گیرانه وابسته به دوز عصاره انار در سرطان سینه موش ها به این گونه بوده است: توانایی آن در بازداری از رشد تومورهای پستانی، کاهش بار تومور، و تغییر ویژگیهای بافتی تومور و همچنین بازداری از تکثیر غیرعادی و القای آپوپتوز است. مکانیزم های عصاره در بازداری از تومور بیان کننده این نکته است که روند کاهشی پروتئین Bcl2 و روند افزایشی پروتئین Bax، میتوانند مسئول فعالیتهای القاکننده ی آپوپتوز در محلول عصاره انار باشند.

✓ همه این نتایج به همراه یک نمایه امنیتی میتوانند عصاره ساختارهای گیاهی انار را به عنوان یک داروی پیشگیری کننده و به منظور کاهش ریسک سرطان معرفی و نشان دهند.





# منابع



1. Pooja Sharma, Sarah F. McClees, Farrukh Afaq, Pomegranate for Prevention and Treatment of Cancer, *Molecules* doi:10.3390/molecules22010177, 2018
2. Sina Modaeinama et al, Anti Tumoral Properties of Punica Granatum (Pomegranate) Peel Extract on Different Human Cancer Cells, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 16, 2015
3. Anupam Bishayee et al, Pomegranate exerts chemoprevention of experimentally induced mammary tumorigenesis by suppression of cell proliferation and induction of apoptosis, *NUTRITION AND CANCER*, 2016
4. R Thomas et al, effect of a polyphenol-rich whole food supplement on PSA progression in men with prostate cancer—the UK NCRN Pomi-T study, 2014
5. amit B shirode et al, Nanoencapsulation of pomegranate bioactive compounds for breast cancer chemoprevention, *International Journal of Nanomedicine*





ممنون از توجهتون