

Utilidad de la granada en los pacientes urológicos

© 2009 Gilberto E. Chéchile. Todos los derechos de propiedad intelectual sobre el presente artículo son propiedad de Gilberto E. Chéchile. Quedan expresamente prohibidas la transformación, distribución y reproducción pública de este artículo, en todo o en parte, en cualquier soporte y por cualquier medio técnico, sin autorización expresa de Gilberto E. Chéchile.



Gilberto E. Chéchile Toniolo
Instituto de Enfermedades Prostáticas.
Instituto Universitario Quirón-Dexeus.
Barcelona. Spain
Año: 2010
www.uovirtual.net • www.institutoep.com

Resumen

La granada es la fruta del árbol Púnica Granatum que crece en países de la cuenca Mediterránea y a la que desde hace cientos de años se le reconocen propiedades terapéuticas de varias enfermedades (cardiovasculares, neurológicas, diabetes, cáncer, etc). Se han publicado numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* que demuestran las propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y antitumorales de la granada. En varios modelos experimentales de tumores urológicos sobre todo de cáncer de próstata se han observado efectos antiproliferativos, proapoptóticos, antiangiogénicos e inhibidores de la invasión tumoral. Desde el punto de vista clínico existen evidencias que sugieren que en pacientes con cáncer de próstata que presentaban recidiva bioquímica tras el tratamiento inicial, la utilización de zumo de granada retrasa el tiempo de duplicación del PSA.

En la actualidad se están realizando varios ensayos clínicos multicéntricos en fase II que intentan mostrar la efectividad de la granada en pacientes con cáncer de próstata.

Abstract

Pomegranate is the fruit of Punica Granatum tree, which grows in Mediterranean countries. Its therapeutic properties have been used to treat different conditions (cardiovascular, neurological, diabetes and cancer) during hundreds of years.

Recently numerous *in vitro* and *in vivo* studies have shown the antioxidant, antiinflammatory and antitumoral properties of pomegranate. Anti-proliferative, proapoptotic, antiangiogenic and inhibition of tumor invasion have been prevented in several experimental models of urological tumors such as in prostate cancer. Pomegranate juice has been shown to delay PSA duplication time in patients with biochemical cancer recurrence after initial treatment. Currently many phase II studies are in course to demonstrate the effectiveness of pomegranate juice in several diseases and in prostate cancer.

Introducción

La granada es el fruto del árbol Púnica granatum originario de los montes Himalayas en el norte de la India hasta Irán. Su cultivo se extendió desde la antigüedad a los países Mediterráneos, India, China, Japón, Rusia, zonas de Estados Unidos y Afganistán. Las propiedades medicinales de la granada se conocen desde hace miles de años ya que se menciona en el Antiguo Testamento de la Biblia, en la Torah Judía y en el Talmud Babilonio. Se utilizaba en las ceremonias y en la mitología de los Egipcios, Griegos y Romanos. En la medicina Ayurvédica se considera la granada como una farmacia en sí misma siendo utilizada como agente antiparasitario, antidiarreico, antidiabético y para la curación de úlceras. En América del Sur se mastica la corteza, la cáscara y los pétalos de la granada para tratar la disentería y las enfermedades de la boca y las encías¹.

Constituyentes fitoquímicos de la granada

Los fitoquímicos son metabolitos secundarios de las plantas que poseen efectos beneficiosos para la salud aunque no sean considerados nutrientes esenciales. En general, los fitoquímicos son producidos por las plantas como mecanismo de protección contra agentes peligrosos externos como la radiación ultravioleta, patógenos, etc². El consumo de dietas ricas en fitoquímicos ha sido asociado con una disminución en el riesgo a desarrollar enfermedades como ciertos tipos de cáncer, inflamatorias, cardiovasculares o neurodegenerativas. Aunque la mayor fuente de fitoquímicos de la granada se encuentra en la fruta también se encuentran fitoquímicos en las diferentes partes del árbol, hojas, semillas, etc. Se han aislado más de 100 compuestos fitoquímicos en la granada. Los más frecuentemente detectados son los polifenoles que incluyen: **a- flavonoídes como las antocianinas y antocianidinas** (cianidina, delphinidina, pelargonidina); **b- flavonoles como luteolin, quercetin y kaempferol**; **c- taninos hídrolízab/es como los elagitaninos, punicalaginas y galotaninos**. Los taninos hidrolizables son los responsables del 92% de la actividad antioxidante del zumo de granada y las punicalaginas son los responsables de la mitad de esa capacidad antioxidante³. La granada presenta también catequinas como las que se encuentran en el té verde y ácido ursólico. El aceite obtenido con las semillas de la granada contiene ácidos grasos siendo el más frecuente el ácido punícico (>60%). Existen grandes variaciones estructurales entre los polifenoles extraídos de la fruta, zumos u otras partes de la granada o del árbol.

Farmacocinética del zumo de granada

En el organismo los elagitaninos son rápidamente hidrolizados convirtiéndose en ácido elágico que a las 5 horas ha sido completamente retirado de la circulación⁴. Una vez absorbido, el ácido elágico es metabolizado por enzimas como la glucuronosil transferasa y sulfotransferasa lo que incrementa la excreción y detoxificación al incrementar su solubilidad en agua. La microflora intestinal transforma el ácido elágico en dos principales metabolitos, **urolitina A y B** que pueden persistir en la orina hasta 3-4 días después de la ingestión del zumo de granada, lo que puede explicar los efectos beneficiosos de su administración crónica^{5,6}. Gonzalez-Sarrias *et al* demostraron la presencia de urolitina A y trazas de urolitina B en la próstata de varones que previamente habían recibido zumo de granada o nueces durante 3 días antes de la cirugía⁷.

Efectos antioxidantes del zumo de granada

Investigaciones sugieren que los radicales libres dependientes del oxígeno son el escalón inicial en los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades crónicas y en los mecanismos del envejecimiento⁸. El aumento del óxido nítrico (NO) y de la sintetasa de óxido nítrico (NOS) asociado a un exceso en la producción de O_2 produce la formación de elevados niveles de peroxinitrito (ONOO-)⁹. Este compuesto produce efectos tóxicos directos como peroxidación de los lípidos, oxidación de las proteínas y daños en el ADN y además la inducción de varios factores de transcripción, incluyendo el factor nuclear kappa B (NF- κ B) y el activador de proteína-1 (AP-1), que conducen a la inflamación crónica inducida por citoquinas. Como resultado de este último mecanismo, el estrés nitro-oxidativo se transforma en un proceso inflamatorio ya que estas citoquinas extienden el mensaje inflamatorio a través de la circulación por lo que se continúa produciendo daño en las células (por ejemplo disfunción de las células endoteliales)¹⁰. La exposición del ADN al ONOO- o al NO más O_2 genera roturas en sus cadenas¹¹. Por otro lado, el ONOO- inactiva varias enzimas que son muy importantes en la reparación del ADN dañado. Por todos estos efectos, ONOO- induce apoptosis si la oxidación es moderada o necrosis celular si el estrés oxidativo es severo¹². La actividad antioxidante del zumo de granada es tres veces superior a la del vino tinto y del té verde¹³. Se ha demostrado que el consumo de 250 ml. de zumo de granada durante 4 semanas por ancianos sanos retira radicales libres del organismo e incrementa significativamente la capacidad antioxidante plasmática frente a los que consumían zumo de manzana¹⁴. Rosenblat y Aviram demostraron que el zumo de granada contiene mayor concentración total de polifenoles (5 mmol/L) y mayor actividad antioxidante que otros zumos de fruta (kiwi, manzana, uva, naranja, piña, pera, melocotón) que contienen entre 1,3 y 4 mmol/L de polifenoles totales¹⁵.

Efectos antitumorales de la granada

1- Efectos antiproliferativos y pro-apoptosis

Varios estudios han mostrado que diferentes partes de la granada (fruta, pieles, cáscara, semillas, etc.) al natural o fermentadas ejercen efectos antiproliferativos. Albrecht *et al*¹⁶ mostraron que varios extractos obtenidos de la granada inhibían *in Vitro* la proliferación de varias líneas celulares de cáncer de próstata tanto hormona sensible (LNCaP) como hormona resistentes (PC-3 y DU 145). Por el contrario, no se afectan las células prostáticas normales. Malik *et al*¹⁷ evaluaron el efecto antiproliferativo y proapoptosis del extracto de granada en células muy agresivas de cáncer de próstata hormona-resistentes (PC-3) y observaron inhibición dosis dependiente del crecimiento celular e inducción de apoptosis. Este efecto se conseguía por descenso en la expresión de la proteína del gen anti-apoptosis Bcl-2 y aumento de la expresión de la proteína del gen proapoptosis Bax. En un experimento *in vivo* en el que implantaban en ratones atímicos, células de cáncer de próstata sensibles a hormonas, observaron que en los animales a los cuales se les administraba extracto de granada como único líquido para beber se retrasaba el crecimiento de los tumores comparados con los animales que solo bebían agua. Además los animales que recibían extracto de granada, mostraban una reducción significativa (hasta 85%) en la producción de PSA¹⁷. Seeram *et al*¹⁸ observaron similares resultados del zumo de granada en cuanto a la inhibición del crecimiento *in vitro* e *in vivo* de células de cáncer de próstata. También observaron que las urolitinas (metabolitos del ácido elálgico) se localizaban en la próstata y que inhibían el crecimiento tanto de las células hormono-sensibles como de las hormonaresistentes. Recientemente, Koyama *et al* han demostrado en células de cáncer de próstata que el zumo de granada induce apoptosis a través de inhibición del IGF¹⁹. Estos resultados sugieren que el consumo de granada puede retardar el crecimiento del cáncer de próstata lo que podría prolongar la vida de los pacientes y mejorar la calidad de la misma.

2- Efectos sobre el factor nuclear KB (NF-κB)

El NF-κB forma parte de una familia de factores de transcripción que es activado como respuesta a varios estímulos: citoquinas, carcinógenos, quimioterápicos, endotoxinas, estrés químico o físico, radiación, hipoxia e inflamación. El NF-κB se encuentra activado en varios tumores y se ha demostrado que regula la expresión de más de 200 genes con diferentes funciones que participan en la regulación del sistema inmune, carcinogénesis, proliferación y adhesión celular, antiapoptosis, angiogénesis, invasión y metástasis²⁰. La actividad del NF-κB es regulada por una proteína inhibidora que se une a él y lo retiene en el citoplasma. Cuando se activa la vía del NF-κB se degrada por fosforilación la proteína inhibidora liberando el NF-κB que pasa al núcleo donde actúa como factor de transcripción²¹.

El cáncer de próstata es uno de los tumores en los que se ha demostrado la activación del NF-κB donde representa un factor de riesgo independiente de recidiva tumoral tras la prostatectomía radical^{22,23}. Rettig *et al* han demostrado que tanto el zumo como el extracto de granada inhiben el NF-κB y la viabilidad celular en células de cáncer de próstata *in vitro*. En un modelo *in vivo*, observaron que la granada retrasa la aparición de hormono independencia del cáncer de próstata²⁴. La inhibición del NF-κB es un mecanismo requerido para obtener el máximo efecto proapoptótico del zumo de granada.

3- Efectos sobre la angiogénesis

La hipoxia es el mecanismo más importante para la progresión de más del 70% de los tumores a través de la activación de la angiogénesis que es esencial para que un tumor crezca más de 200 micras²⁵. Sin embargo, a diferencia de lo que sucede con la vascularización del tejido normal, los microvasos tumorales formados a través de la angiogénesis están muy desorganizados por lo que se produce más hipoxia con la subsecuente activación de factores de transcripción asociados con la hipoxia celular como por ejemplo el factor inducible por hipoxia 1-α y 1-β (HIF-1α y HIF-β) que a su vez activan la expresión de diferentes genes relacionados con la angiogénesis que conducen a mayor progresión y agresividad²⁶. La angiogénesis inducida por el tumor es regulada por factores producidos por los macrófagos, neutrófilos y por las propias células tumorales como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). En el cáncer de próstata por ejemplo, se ha demostrado que los andrógenos, que juegan un factor muy importante en la etiología y progresión del tumor, activan la expresión de

HIF-1 α y VEGF²⁷. Toi *et al* analizaron el potencial antiangiogénesis del aceite de semitas o el zumo fermentado de granada en células de cáncer de mama estrógeno sensible (MFC-7) o estrógeno resistente (MDA-B-231) observando una disminución significativa del mismo²⁸. Sartippour *et al* estudiaron *in vitro* el efecto del extracto obtenido de la piel de la granada estandarizado a 37% de elagitaninos y 3,5% de ácido elágico libre sobre células de cáncer de próstata hormona-sensible (LNCaP) y células endoteliales de vena umbilical humana²⁹. El extracto de granada inhibió la proliferación de las células endoteliales tanto en condiciones normoxicas como hipóxicas e inhibió la proliferación de las células LNCaP en condiciones hipóxicas. También se observó que en condiciones de hipoxia se reducía la concentración de la proteína HIF-1 α y de VEGF en ambos grupos celulares. En un experimento *in vivo* se implantaron células de cáncer de próstata humano (LAPC4) en ratones con inmunodeficiencia severa combinada (SCID) y recibieron por boca 5 días a la semana durante 4 semanas extracto de granada o un líquido que actuó como control. La dosis de extracto de granada que recibían los animales correspondía al consumo humano de 320 ml. de zumo de granada. Se observó que a las 4 semanas el volumen tumoral fue significativamente inferior (199 ± 37 mm³ comparado con 1179 ± 106 mm³) en los animales que recibieron el extracto de granada. Además, la concentración del VEGF fue significativamente superior en los animales que recibieron el líquido control mientras que la tinción de HIF-1 α y la densidad de vasos sanguíneos estaban significativamente disminuidas en los animales que recibieron el extracto de granada²⁹.

4- Efecto sobre la invasión tumoral

Para que los tumores infiltren los tejidos vecinos se requiere que las células tumorales secreten enzimas proteolíticas como las metaloproteinasas, para la digestión de la matriz extracelular. El extracto de granada ha demostrado su efectividad para inhibir la expresión de metaloproteinasas a través de la inhibición de NF- κ B en condorcitos humanos³⁰. En otro estudio, varios componentes de la granada (ácido elágico, ácido cafeico, luteolina y ácido punícico) fueron estudiados *in vitro* como inhibidores potenciales de la invasión de células de cáncer de próstata humano hormono-resistente (PC-3) a través de una membrana artificial³¹. Aunque todas las sustancias por separado inhibieron significativamente la invasión, cuando se utilizaban de forma conjunta, se observaba un efecto supra-aditivo. Resultados similares, observaron Albrecht *et al* con el mismo tipo celular de cáncer de próstata¹⁶.

Efectos antiinflamatorios del zumo de granada

Aproximadamente el 15% de todos los tumores se relacionan con la presencia de inflamación crónica. Estudios epidemiológicos han demostrado que los varones con antecedentes de prostatitis y de enfermedades de transmisión sexual tienen mayor riesgo de presentar cáncer de próstata³². La ciclooxigenasa (COX) es una enzima que participa en la conversión del ácido araquidónico a prostaglandina que es un importante mediador de inflamación. Existen dos isoenzimas de la enzima, **COX-1** es expresada en la mayoría de los tejidos y es responsable del mantenimiento de funciones fisiológicas normales, mientras que **COX-2** se relaciona con inflamación cutánea, proliferación celular y la promoción de tumores³³. Además COX-2 produce resistencia a la apoptosis y promueve la angiogénesis y las metástasis. La inhibición de COX-2 es importante no solo para mejorar la inflamación sino también para la prevención del cáncer. El aceite de semillas de granada ha mostrado que inhibe *in vitro* la COX-2 un 37% y la lipooxigenasa que cataliza la conversión de ácido araquidónico en leucotrienos un 75%³⁴. Adam *et al* estudiaron los efectos de la granada sobre las proteínas inflamatorias en células de cáncer de colon HT-29, observando que la expresión de la proteína de COX-2 se inhibía en 79% con el extracto de granada, 55% con el extracto total de taninos de la granada y 48% con el punicalagino³⁵. Estos resultados sugieren que el zumo de granada podría ser un agente antiinflamatorio potencial gracias a su capacidad inhibitoria de COX-2.

Aplicaciones clínicas del zumo de granada

Desde hace más de mil años que se utilizan todos los componentes de la granada para el tratamiento de varias enfermedades. Sin embargo no fue hasta el comienzo de la década de los noventa que se comenzaron a realizar los primeros estudios experimentales y clínicos¹.

1- Cáncer de próstata

Pantuck *et al*³⁶ realizaron un ensayo clínico en fase II en 46 varones con cáncer de próstata que habían sido tratados con cirugía, radioterapia o crioterapia y en los que posteriormente se había elevado el PSA. Los criterios de inclusión fueron Gleason ≤ 7 y PSA $>0,2$ y < 5 ng/ml. El tratamiento consistió en 240 mL de zumo de granada por día hasta la progresión de la enfermedad. Ningún paciente tenía metástasis ni había recibido tratamiento hormonal. El seguimiento se realizó cada 3 meses con determinación de PSA. El objetivo final del estudio fue la variación en las cifras de PSA como por ejemplo en tiempo de duplicación. Paralelamente se realizó un estudio de proliferación celular *in vitro* en el que se ponía en contacto el suero de los pacientes con un cultivo de células de cáncer de próstata hormono sensibles (LNCaP). Dieciséis de los 46 pacientes (35%) mostraron una reducción en las cifras de PSA. En 4 casos el PSA descendió más del 50%. El tiempo de duplicación del PSA (PSADT) se incrementó significativamente, desde una media de 15 meses al comienzo del estudio hasta los 54 meses ($p < 0,001$). En el estudio *in vitro*, a los 9 meses de comenzado el estudio se observó una reducción en la proliferación de las células de cáncer de próstata del 12% y un incremento de la apoptosis del 17%. En el Congreso anual de 2008 de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) se presentaron los resultados de los pacientes que continuaron el tratamiento con zumo de granada, observándose que el PSADT se incrementaba a 68 meses³⁷. Estos resultados sugieren que el zumo de granada es efectivo para retrasar la evolución del cáncer de próstata en pacientes en los que ha fracasado al tratamiento inicial. Actualmente se está realizando un estudio clínico multicéntrico, fase III para valorar los beneficios del zumo de granada frente a placebo en pacientes con cáncer de próstata. En el momento actual no existen resultados sobre los efectos del zumo de granada en pacientes con otros tumores.

2- Andrología

Los pacientes con disfunción eréctil de causa vascular presentan acumulación de productos oxidativos en los cuerpos cavernosos por lo que el estrés oxidativo puede ser de gran importancia en la etiología de la disfunción eréctil arteriogénica. Los antioxidantes pueden ser útiles en la prevención de la disfunción eréctil y de la fibrosis de los cuerpos cavernosos. Azadzi *et al*³⁸ examinaron la actividad antioxidante de varias bebidas antioxidantes como el zumo de granada, arándanos, naranja, té verde y vino tinto. El zumo de granada mostró la mayor capacidad para retirar radicales libres, reducir la oxidación de la lipoproteína de baja densidad y para inhibir el estrés oxidativo en los macrófagos. Además, en un modelo de disfunción eréctil en conejos, los autores observaron que la utilización de zumo de granada durante un tiempo prolongado incrementaba el flujo sanguíneo en el cuerpo cavernoso, mejoraba la respuesta eréctil y la relajación del músculo liso en los animales con disfunción eréctil y en el grupo control. No se observaron efectos significativos en la expresión de la sintetasa de óxido nítrico. En el grupo de animales con disfunción eréctil el consumo prolongado de zumo de granada prevenía la fibrosis del cuerpo cavernoso⁵². Foster *et al*³⁹ realizaron un estudio piloto con 53 varones que presentaban disfunción eréctil leve o moderada y que consumieron zumo de granada o placebo durante dos períodos de 4 semanas separados por un período de dos semanas sin tratamiento. La valoración se realizó con un cuestionario de actividad sexual (IIEF) y uno de valoración global (GAQ). De los 42 pacientes que mostraron mejoría, 25 habían consumido zumo de granada. Los síntomas analizados con el cuestionario IIEF mejoraron más en el grupo del zumo de granada, aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística ($p=0,058$) probablemente por el reducido tamaño de la muestra³⁹.

Turk *et al*⁴⁰ analizaron los efectos del zumo de granada sobre diferentes parámetros del semen en 28 ratas macho sanas que se dividieron en cuatro grupos de 7 animales. Cada grupo se trató diariamente durante 7 semanas con diferentes concen-

traciones de zumo de granada o agua como grupo control. Al final del estudio se sacrificaron todos los animales, se pesaron los órganos sexuales y se estudió la calidad del semen, la densidad de células espermatogénicas, la actividad de las enzimas antioxidantes y los niveles de testosterona. Los animales que habían recibido zumo de granada mostraron incremento de: **a- la concentración de espermatozoides en el epidídimo, b- la movilidad de los espermatozoides, e- la densidad de las células espermatogénicas, d- diámetro de las túbulos seminíferos, e- grosor de las capas de células germinales.** Además se observó un incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes (glutatión peroxidada y catalasas)⁴⁰.

Ensayos clínicos en curso utilizando zumo de granada

En el momento actual se están realizando en el mundo 9 ensayos clínicos utilizando granada, que se encuentran en diferentes etapas de desarrollo (reclutamiento, activos sin reclutar)⁴¹. Dos de los ensayos se relacionan con cáncer de próstata. Otros de los ensayos se relacionan con efectos de la granada y sus extractos en status antioxidante, inflamación intestinal, salud vascular, cáncer de mama, etc.

Conclusiones

Pese a que las propiedades de la granada se conocen desde hace más de mil años, no ha sido hasta las últimas dos décadas que se han incrementado el número de estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que analizan los efectos de varios constituyentes de la granada sobre todo el zumo natural sobre diferentes patologías. Del mismo modo, en los últimos años se han diseñado varios ensayos clínicos multicéntricos que actualmente se encuentran en curso y que cuando se analicen sus resultados podrán ofrecernos mucha información sobre los efectos terapéuticos del zumo de granada. Por el momento ya se ha demostrado el elevado poder antioxidante de la granada, igual o superior al té verde por lo que podría ser utilizado como adyuvante en el tratamiento antienviejecimiento. En el campo de la oncología, los efectos antiproliferativos, proapoptóticos y antiangiogénesis han sido ampliamente estudiados en modelos animales y están pendientes de confirmar en estudios en humanos. La capacidad para regular los niveles plasmáticos de glucosa, colesterol y triglicéridos y para descender la tensión arterial abren un amplio abanico de posibilidades terapéuticas en pacientes diabéticos y con enfermedades cardiovasculares.

La posible utilización del zumo de granada en otros campos como por ejemplo el de la neurología y de las enfermedades infecciosas requiere la realización de más estudios.

Bibliografía

1. Longtin, R. The pomegranate: nature's power fruit? *J Natl Cancer Inst*, 2003; 95: 346-48.
2. Seeram NP, Zhang Y, Reed JD, *et al*. Pomegranate Phitochemicals. En "Pomegranates : ancient roots to modern medicine". Seeram NP, Schulman RN, Heber D (eds). Taylor & Francis. New York, 2006; 3- 29.
3. Cerda B, Ceron JL, Tomas-Barberan FA, Espín JC. Repeated oral administration of high doses of pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. *J Agríc Food Chem* 2003; 51: 3493-501.
4. Seeram NP, Lee R, Heber D. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L) juice. *Clin Chim Acta*. 2004; 348: 63-8.
5. Seeram NP, Henning SM, Zhang Y, *et al*. Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *J Nutr* 2006; 136: 2481-85.
6. Cerda B, Espín JC, Parra S, *et al*. The potent *in vitro* antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6Hdibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans. *Eur J Nutr* 2004; 43: 205-20.
7. Gonzalez-Sarrias A, Gimenez-Bastida JA, García-Conesa MT *et al*. Occurrence of urolithins, gut microbiota ellagic acid metabolites and proliferation markers expression response in the human prostate gland upon consumption of walnuts and pomegranate juice. *Mol Nutr Food Res* 2009; Nov 2. [Epub ahead of print]
8. De Grey AD. Free radicals in aging: causal complexity and its biomedical implications. *Free Radic. Res*. 2006; 40: 1244-9.
9. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric Oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev*. 2007; 87: 315-424.
10. Dedon PC, Tannenbaum SR. Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Arch. Biochem. Biophys*. 2004; 423: 12-22.11
11. Yermilov V, Yoshie Y, Rubio J, Ohshima H. Effects of carbon dioxide/bicarbonate on induction of DNA single-strand breaks and formation of 8-nitroguanine, 8-oxoguanine and base-propenal mediated by peroxynitrite. *FEBS Lett*. 1996: 399: 67-70.
12. Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol. Lett*. 2003: 140:105-112.
13. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pirce B, *et al*. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agríc Food Chem* 2000; 48: 4581-89.
14. Guo C, Wei J, Yang J *et al*. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutr Res* 2008; 28: 72-77.
15. Rosenblatt M, Aviram M. Antioxidative properties of pomegranate: *In vitro* studies. En "Pomegranates : ancient roots to modern medicine". Seeram NP, Schulman RN, Heber D (eds). Taylor & Francis. New York, 2006; 31-43.
16. Albrecht M, Jiang W, Kumi-Diaka J, *et al*. Pomegranate extracts potentially suppress proliferation xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *J Med Food* 2004; 7: 274-83.
17. Malik A, Afaq F, Sarfaraz S, *et al*. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102: 14813-8.
18. Seeram N, Aronson W, Zhang Y, *et al*. Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. *J Agríc Food Chem* 2007; 55: 7732-7.
19. Koyama S, Cobb LJ, Metha HH, *et al*. Pomegranate extract induces apoptosis in human prostate cancer cells by modulation of the IGF-IGF8P axis. *Growth Horm IGF Res* (in press).
20. Shishodia S, Adams L, Bhatt ID, Aggarwal 88. Anticancer potential of pomegranate. En "Pomegranates : ancient roots to modern medicine". Seeram NP, Schulman RN, Heber D (eds). Taylor & Francis. New York, 2006; 107-16.
21. Baldwin AS Jr. Series introduction: the transcription factor NF-K8 and human diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 3-6.
22. Domingo-Domenech J, Mellado 8, Ferrer B *et al*. Activation of nuclear factor-K8 in human prostate carcinogenesis and association to biochemical relapse. *Br J Cancer* 2005; 93: 1285-94.12
23. Fradet V, Lessard L, Begin L T *et al*. Nuclear factor-KB nuclear localization is predictive of biochemical recurrence in patients with positive margin prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8460-4.
24. Rettig MB, Heber D, An J, *et al*. Pomegranate extract inhibits androgen-independent prostate cancer growth through a nuclear factor-KB-dependent mechanism. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2662-71.
25. Harris AL. Hypoxia- A key regulatory factor in tumor growth. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 38-47.
26. Shannon AM, Bouchier-Hayes DJ, Condrón CM, Toomey D. Tumor hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxia-related therapies. *Cancer Treat Rev* 2003;29: 297-307.
27. Majeesh NJ, Willard MT, Frederickson CE, *et al*. Androgens stimulate hypoxia-inducible factor 1 activation via autocrine loop of tyrosine kinase receptor/phosphatidylinositol 3'-kinase/protein kinase B in prostate cancer cells. *Clin Cancer Res* 2003; 2616-25.
28. Toi M, Bando H, Ramachandran C, *et al*. Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions *in vitro* and *in vivo*. *Angiogenesis* 2003; 6: 121-8.
29. Sartippour MR, Seeram NP, Rao JY, *et al*. Ellagitannin-rich pomegranate extract inhibits angiogenesis in prostate cancer *in vitro* and *in vivo*. *Int J Oncol* 2008; 32: 475-80.
30. Ahmed S, Wang N, Hafeez BB, *et al*. *Punica granatum* L. extract inhibits IL-1(beta)induced expresión of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF-kB in human chondrocytes *in vitro*. *J Nutr* 2005; 135: 2096-102.
31. Lansky EP, Harrison G, Froom P, Jiang WG. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show posible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest New Drugs* 2005; 23: 121-2.
32. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ, *et al*. Prostate carcinogenesis and inflammation: Emerging insight. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1170-81.
33. Prescott SM, Fitzpatrick FA. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochem Biophys Acta* 2000; 1470: M69-78.
34. Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol* 1999; 66: 11-17.13
35. Adam L, Seeram NP, Aggarwal 88. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signalling in colon cancer cells. *J Agríc Food Chem* 2006; 54: 980-5.
36. Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N, *et al*. Phase 11 study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12:4018-4026.
37. Pantuck AJ, Zomorodian N, Seeram N, *et al*. Long term follow up of pomegranate juice for men with prostate cancer and rising PSA shows durable improvement in PSA doubling time. Abstract presented in annual meeting of ASCO, 2008.
38. Azadzi KM, Schulman RN, Aviram M, Siroky M8. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. *J Urol* 2005; 174: 386-93.
39. Forest CP, Padma-Nathan H, Liker HR. Efficacy and safety of pomegranate juice on improvement of erectile dysfunction in male patients with mild to moderate erectile dysfunction: a randomized, placebo- controlled, double-blind, crossover study. *Int J Impot Research* 2007; 564-7.
40. Turk G, Sonmez M, Aydin M *et al*. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr* 2008; 27: 289-96.
41. www.clinicaltrials.gov . Consultado el 10-12-2018.



Productos naturales de la granada

Vitalgrana Pomegranate, S.L.

Polígono Industrial de Poniente · Calle Extremadura, 19
03158 CATRAL (Alicante) ESPAÑA

Tel.: (+34) 965 723 737 • **Fax:** (+34) 966 787 075 • **E mail:** info@vitalgrana.com

