

## UTILIDAD DEL ZUMO DE GRANADA EN ONCOLOGIA, UROLOGIA Y ANDROLOGIA.

**Gilberto E. Chéchile Toniolo**

**Instituto de Enfermedades Prostáticas. Instituto Universitario Dexeus.**

**Instituto Médico Tecnológico. Clínica Nostra Senyora del Remei.**

**E mail: g.chechile@urovirtual.net**

### **Resumen**

Aunque las propiedades terapéuticas de la granada se conocen desde hace miles de años, hace solamente 10 años que se han comenzado a realizar estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* analizando la su utilidad en el tratamiento de células cancerosas. El alto contenido en polifenoles que se obtienen de todos los componentes de la fruta e incluso de todas las partes del árbol de granada se relaciona con sus propiedades antitumorales. En diferentes estudios realizados con células de varios cánceres con el de próstata, mama, colon o piel se han demostrado efectos antiproliferativos, pro-apoptóticos, anti-angiogénesis, anti-invasión e inhibición del factor nuclear  $\kappa$ B. En la actualidad se están realizando varios estudios clínicos multicéntricos sobre todo en pacientes con cáncer de próstata para determinar los efectos de la granada en el tratamiento de pacientes con este tumor.

### **Abstract**

Despite the therapeutics properties of pomegranate are known since thousand of years experimental studies analyzing its effects in the treatment of malignant cells have started only 10 years ago. Antitumoral properties of the fruit and even from all the parts of the tree are related with a high content of polyphenols. Different studies with cells from prostate, breast, colon and skin cancer have shown anti-proliferatives, pro-apoptotic, anti-angiogenesis, anti-invasion and inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B effects. Nowadays are in course several multicenter clinical studies specially in patients with prostate cancer to demonstrate the effects of pomegranate in this tumor.

### **Introducción**

La granada es el fruto del árbol *Punica 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 Torá 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 encías<sup>1</sup>.

### **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, etc<sup>2</sup>. El consumo de dietas ricas en fitoquímicos ha sido asociada con una disminución en el riesgo a desarrollar enfermedades inflamatorias, cardiovasculares, neurodegenerativas o ciertos tipos de tumores. Aunque la mayor fuente de los fitoquímicos de la granada se encuentran 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- *flavonoides* como las antocianinas y antocianidinas (cianidina, delphinidina, pelargonidina); b- *flavonoles* como luteolin, quercetin y kaempferol; c- *taninos hidrolizables* como los elagitaninos, punicalaginos y galotaninos. Los taninos hidrolizables son los responsables del 92% de la actividad antioxidante del zumo de granada y los punicalaginos son los responsables de la mitad de esa capacidad antioxidante<sup>3</sup>. La granada presenta también catequinas como las que se encuentran en el té verde y esteroides como estradiol, estriol, estrona, testosterona 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.

### **Efectos antitumorales de la granada**

#### **1- Efectos antiproliferativos y pro-apoptosis**

**a- Cáncer de próstata.** 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<sup>4</sup> mostraron que varios extractos obtenidos de la granada inhibían *in Vitro* la proliferación de varias líneas celulares de cáncer de próstata tanto hormono sensible (LNCaP) como hormono resistentes (PC-3 y DU 145). Por el contrario, no se afectan las células prostáticas normales. Malik et al<sup>5</sup> evaluaron el efecto antiproliferativo y proapoptosis del extracto de granada en células muy agresivas de cáncer de próstata hormono-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 pro-apoptosis 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 PSA<sup>5</sup>. Seeram et al<sup>6</sup> 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 eláxico) se localizaban en la próstata y que inhibían el crecimiento tanto de las células hormono-sensibles como de las hormono-resistentes. Recientemente, Koyama et al han demostrado en células de cáncer de próstata que el zumo de granada induce apoptosis a través de inhibición del IGF<sup>7</sup>. 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.

**b- Cáncer de mama.** Resultados similares han sido demostrados en estudios *in Vitro* y en modelos animales con células de cáncer de mama. Metha et al<sup>8</sup> observaron que el aceite obtenido de las semillas de la granada poseía propiedades antitumorales en células de cáncer de mama. Jeune et al<sup>9</sup> estudiaron células de cáncer de mama MCF-7 y encontraron que el extracto obtenido con toda la granada presentaba un efecto citotóxico producido por inducción de la apoptosis y que el efecto era dosis dependiente. El efecto era superior con el extracto que si se utilizaban por separado los distintos constituyentes de la granada. Kim et al<sup>10</sup> demostraron *in vitro* que tanto el aceite obtenido de las semillas de la granada como el jugo natural y el fermentado inhibían la síntesis de estrógenos y la actividad de la aromatasas entre 60 y 80%. El efecto fue máximo en las células estrógeno dependientes MFC-7, algo menor en las células estrógeno independientes MDA-AM-231 y muy baja en las células de epitelio mamario normal MCF-10. Además, en un modelo murino de cáncer de mama, el jugo fermentado de la granada inhibió un 47% la formación de tumores inducidos por el carcinógeno DMBA<sup>10</sup>. Estas observaciones apoyan la aplicación terapéutica de la granada en el cáncer de mama humano.

**c- Cáncer de colon.** El aceite de semillas de granada, compuesto por más de 70% de ácido linolénico conjugado, mostró supresión de la carcinogénesis colónica<sup>11</sup>. Todos los componentes de la granada han mostrado que inducen apoptosis en las células de cáncer de colon (HT-29)<sup>12</sup>.

**d- Cáncer de pulmón.** El tratamiento con extracto de granada produce disminución de la viabilidad de células de cáncer de pulmón (A549) mientras que solo afecta de forma mínima a las células de epitelio bronquial normal (NHBE)<sup>13</sup>. En otro estudio, Khan et al<sup>14</sup> mostraron que el extracto de granada reducía de modo significativo el número de tumores que se desarrollaban en ratones expuestos a dos carcinógenos diferentes benzo(a)pireno [B(a)P] y N-nitroso-tris-cloroetilurea (NTCU). A los 84 días de la exposición al carcinógeno B(a)P, los animales que recibían extracto de granada mostraron una reducción de 54% en el número de tumores, mientras que a los 140 días, la reducción fue del 62%. A los 240 días de exposición al carcinógeno NTCU los animales que recibieron extracto de granada mostraron una reducción en el número de tumores de 66%<sup>13</sup>.

**d- cáncer de piel.** Hora et al<sup>15</sup> observaron que el aceite de semillas de granada reducía la incidencia y el número de tumores de piel en un modelo de carcinogénesis en ratones.

## **2- Efectos sobre el factor nuclear $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)**

El NF- $\kappa$ B 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- $\kappa$ B 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 metástasis<sup>12</sup>. La actividad del NF- $\kappa$ B es regulada por una proteína inhibidora que se une a él y lo retiene en el citoplasma. Cuando se activa la vía del NF- $\kappa$ B se degrada por fosforilación la proteína inhibidora liberando el NF- $\kappa$ B que pasa al núcleo donde actúa como factor de transcripción<sup>16</sup>. Shishodia et al han mostrado que tanto el zumo de granada como los taninos de la granada y el punicalagino suprimen la activación del NF- $\kappa$ B en células de cáncer de colon<sup>12</sup>. Khan et al han mostrado en diferentes estudios que el extracto de granada inhibe la activación del NF- $\kappa$ B en células de cáncer de pulmón y mama y en un modelo *in vivo* con ratones atímicos implantados con células de cáncer de pulmón<sup>13,14,17</sup>.

El cáncer de próstata es uno de los tumores en los que se ha demostrado la activación del NF- $\kappa$ B donde representa un factor de riesgo independiente de recidiva tumoral tras la prostatectomía radical<sup>18,19</sup>. Rettig et al han demostrado que tanto el zumo como el extracto de granada inhiben el NF- $\kappa$ B 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 hormona independencia del cáncer de próstata<sup>20</sup>. 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 micras<sup>21</sup>. 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-1β) que a su vez activan la expresión de diferentes genes relacionados con la angiogénesis que conducen a mayor progresión y agresividad<sup>22</sup>. 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-1α y VEGF<sup>23</sup>. Toi et al analizaron el potencial antiangiogénico del aceite obtenido de las semillas o el zumo fermentado de granada en células de cáncer de mama estrógeno sensible (MFC-7) o estrógeno resistente (MDA-MB-231) observando una disminución significativa del mismo<sup>24</sup>. 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 hormono-sensible (LNCaP) y células endoteliales de vena umbilical humana<sup>25</sup>. El extracto de granada inhibió la proliferación de las células endoteliales tanto en condiciones normóxicas 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-1α 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 ( $199 \pm 37 \text{ mm}^3$  comparado con  $1179 \pm 106 \text{ mm}^3$ ) 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-1α y la densidad de vasos sanguíneos estaban significativamente disminuidas en los animales que recibieron el extracto de granada<sup>25</sup>. Khan et al observaron que la densidad de microvasos se reducía 78% en ratones con cáncer de pulmón primario que recibían extracto de granada, al igual que la expresión de VEGF que también se encontraba reducida<sup>14</sup>.

### **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-κB en condrocitos humanos<sup>26</sup>. En otro estudio, varios componentes de la granada (ácido elágico, ácido cafeico, luteolina y ácido púnicico) 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 artificial<sup>27</sup>. 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 próstata<sup>4</sup>. Khan et al en un modelo *in vitro* de cáncer de mama observaron disminución de la invasión celular de forma dosis dependiente (hasta 46%) cuando se utilizaba extracto de granada<sup>17</sup>.

## **Aplicaciones clínicas del zumo de granada**

Desde hace mas 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 clínicos<sup>1</sup>.

### **1- Cáncer de próstata**

Pantuck et<sup>28</sup> al 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  $\leq 7$  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 el 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 meses<sup>29</sup>. 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<sup>30</sup> examinaron la actividad antioxidante de varias bebidas antioxidantes como el zumo de granada, arándanos, naranja, te 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 cavernoso<sup>30</sup>. Foster et al<sup>31</sup> 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 muestra<sup>31</sup>.

Turk et al<sup>32</sup> 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 concentraciones 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, c- la densidad de las células espermatogénicas, d- diámetro de las túbulo 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)<sup>32</sup>.

Zhang et al<sup>33</sup> analizaron la utilidad del zumo de granada para proteger contra el estrés oxidativo en conejos a los cuales se les había inducido disfunción eréctil de etiología vascular. Los animales fueron tratados durante 8 semanas con extracto de antioxidantes obtenidos de la granada o agua como placebo. Al finalizar el tratamiento se midió el flujo sanguíneo al pene y la actividad eréctil. Se determinaron los productos oxidativos y los genes que responden al daño oxidativo. En los animales tratados con extracto de granada mejoró significativamente el flujo sanguíneo al cuerpo cavernoso, la actividad eréctil, la relajación del músculo cavernoso y la fibrosis comparado con los animales tratados con agua aunque no llegó a la normalización de los valores que les corresponden a los controles sin disfunción eréctil inducida. Futuros estudios clínicos deben intentar reproducir estos resultados en varones con disfunción eréctil.

### **Ensayos clínicos en curso utilizando zumo de granada**

En el momento actual se están realizando en el mundo 25 ensayos clínicos utilizando zumo de granada que se encuentran en diferente etapas (completados, incluyendo pacientes o activos pero sin haber comenzado el reclutamiento, etc<sup>34</sup>.

En 8 estudios se relacionan con el cáncer de próstata, en 5 de ellos se reclutan pacientes que presentan elevación del PSA tras el fracaso del tratamiento inicial con prostatectomía radical o radioterapia. En otro se tratan con zumo de granada pacientes antes de ser sometidos a cirugía radical, en otro se tratan pacientes con cáncer de próstata localizado que no han recibido ningún tratamiento y en el estudio restante se valora la suplementación de la dieta con fitoquímicos y ácidos grasos poliinsaturados en pacientes con cáncer de próstata. En 5 estudios se analiza la acción del zumo de granada en pacientes diabéticos. Tres estudios se relacionan con la infección por renovirus, influenza y gripe porcina y resfriado común respectivamente. Los 9 estudios restantes analizan respectivamente: hiperplasia benigna de próstata, grosor de las capas íntimas y media de la carótida, cardiomiopatía crónica complicada con insuficiencia renal, injuria cerebral en fetos con restricción del crecimiento intrauterino, riesgo de enfermedad cardiovascular, linfoma,

estrés oxidativo en pacientes en hemodiálisis, función física y mental de adultos de edad media y la capacidad oxidativa de la dieta.

### 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. 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. Otros campos abiertos a la investigación médica sobre los efectos de la granada son la disfunción eréctil y la infertilidad masculina.

### 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 Phytochemicals. En "Pomegranate : 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, Espin JC. Repeated oral administration of high doses of pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 3493-501.
4. 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.
5. 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.
6. Seeram N, Aronson W, Zhang Y, et al. Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 7732-7.
7. Koyama S, Cobb LJ, Metha HH, et al. Pomegranate extract induces apoptosis in human prostate cancer cells by modulation of the IGF-IGFBP axis. *Growth Horm IGF Res* 2010; 20: 55-62.
8. Metha R, Lansky EP. Breast cancer chemopreventive properties of pomegranate (*punica granatum*) fruits extracts in a mouse mammary organ culture. *Eur J Cancer Prev* 2004; 13: 345-8.
9. Jeune MA, Kumi-Diaka J, Brown J. Anticancer activities of pomegranate extracts and genistein in human breast cancer cells. *J Med Food* 2005; 8: 469-75.
10. Kim ND, Metha R, Yu W, et al. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 71: 203-17.
11. Kohno H, Suzuki R, Yasui Y, et al. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Sci* 2004; 95: 481-6.
12. Shishodia S, Adams L, Bhatt ID, Aggarwal BB. Anticancer potential of pomegranate. En "Pomegranate: ancient roots to modern medicine". Seeram NP, Schulman RN, Heber D (eds). Taylor & Francis. New York, 2006; 107-16.
13. Khan N, Hadi N, Afaq F, et al. Pomegranate fruit extract inhibits prosurvival pathways in human A549 lung carcinoma cells and tumor growth in athymic nude mice. *Carcinogenesis* 2007; 28: 163-73.
14. Khan N, Afaq F, Kweon MH. Oral consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. *Cancer Res* 2007; 67: 3475-82.
15. Hora JJ, Maydew ER, Lansky EP, Dwivedi C. Chemopreventive effects of pomegranate seed oil on skin tumor development in CD1 mice. *J Med Food* 2003; 6: 157-61.
16. Baldwin AS Jr. Series introduction: the transcription factor NF- $\kappa$ B and human diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 3-6.
17. Khan GN, Gorin MA, Rosenthal D, et al. Pomegranate fruit extract impairs invasion and motility in human breast cancer. *Integr cancer Ther* 2009; 8: 242-53.
18. Domingo-Domenech J, Mellado B, Ferrer B et al. Activation of nuclear factor- $\kappa$ B in human prostate carcinogenesis and association to biochemical relapse. *Br J Cancer* 2005; 93: 1285-94.
19. Fradet V, Lessard L, Begin LT et al. Nuclear factor- $\kappa$ B nuclear localization is predictive of biochemical recurrence in patients with positive margin prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8460-4.
20. Rettig MB, Heber D, An J, et al. Pomegranate extract inhibits androgen-independent prostate cancer growth through a nuclear factor- $\kappa$ B-dependent mechanism. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2662-71.
21. Harris AL. Hypoxia – A key regulatory factor in tumor growth. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 38-47.

22. Shannon AM, Bouchier-Hayes DJ, Condrón CM, Toomey D. Tumor hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxia-related therapies. *Cancer Treat Rev* 2003; 29: 297-307.
23. Mabjeesh 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.
24. 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.
25. 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.
26. Ahmed S, Wang N, Hafeez BB, et al. *Punica granatum* L. extract inhibits IL-1(beta)-induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF-κB in human chondrocytes *in vitro*. *J Nutr* 2005; 135: 2096-102.
27. Lansky EP, Harrison G, Froom P, Jiang WG. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest New Drugs* 2005; 23: 121-2.
28. Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N, et al. Phase II 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.
29. 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.
30. Azadzi KM, Schulman RN, Aviram M, Siroky MB. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. *J Urol* 2005; 174: 386-93.
31. 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.
32. Turk G, Sönmez M, Aydın 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.
33. Zhang Q, Radisavljevic ZM; Siroky MB, Azadzi KM. Dietary antioxidants improve arteriogenic erectile dysfunction. *Int J Androl* 2010 June 24 (Epub ahead of print).
34. [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) . Consultado el 16-09-2010.