مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۹، شماره۱۱، بهمن ۱۳۹۳(شماره پی در پی۹۴)

تأثیر روغن دانه انار بر تکثیر رده‌های سلولی MCF-7 و MDA-MB468 سرطان پستان انسان

مهسا ثروت‌خواه، رضا محمودی، علی‌محمد کمالی، مریم تجلی، مهرزاد جعفری برمک، محسن نیک سرشت*

مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۹۳/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و از عوامل تهدید کننده سلامت زنان در سراسر جهان می‌باشد. براساس مطالعه‌های انجام شده دانه انار سرشار از ترکیب‌هایی است که می‌تواند اثرات ضد سرطانی داشته باشد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر روغن دانه انار بر تکثیر رده‌های سلولی MCF-7 و MDA-MB468 سرطان پستان انسان بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی رده‌های سلولی سرطانیMDA-MB468 وMCF-7 در محیط کشت۱۶۴۰ RPMI، همراه با سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک کشت داده شدند. روغن دانه انار با استفاده از پترولیوم اتر استخراج شد. سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت (۱۵۰۰-۱۰۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر) ازروغن دانه انار تیمار شدند و درصد زنده ماندن آنها با استفاده از روش MTT تعیین گردید. آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار انجام شدند.

یافته‌ها: پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار با روغن دانه انار، IC_{50}در رده‌های سلولی MCF-7 به ترتیب؛ ۱۱۵۰، ۷۴۲ و ۷۳۱ و در رده سلولی MDA-MB468 به ترتیب ۷۰۰، ۸۴۲ و۵۸۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: عصاره دانه انار اثر سایتوتوکسیسیتی بر روی رده‌های سلولی سرطان پستان انسان داشت و در زمان‌های مختلف با غلظت‌های مختلف از تکثیر سلول‌های سرطانی پستان جلوگیری نمود. بنابراین شاید بتوان آن را به عنوان یک عامل تغذیه‌ای در پیشگیری از سرطان پستان پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: روغن دانه انار، تست MTT، سرطان پستان، رده‌های سلولی MCF-7 و MDA-MB468

***نویسنده مسئول: محسن نیک سرشت**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی
Email: nikmohsen@yahoo.com

مقدمه

سرطان‌ها به علت شیوع زیاد، عوارض وسیع و مرگ و میر بسیار، کانون توجه اکثر برنامه‌ریزی ها و سیاست‌گذاری‌های بهداشتی قرار گرفته‌اند. عوامل سرطان‌زا می‌توانند در آب، غذا، مواد شیمیایی که انسان به طور مداوم در معرض آنها است، وجود داشته باشد. سرطان پستان از شایع‌ترین سرطان‌ها در میان زنان و ۲۳ درصد از تمام سرطان‌های زنان را در بر می‌گیرد. در سال ۲۰۱۲، حدود ۲۲۶۸۷۰ زن مبتلا به سرطان پستان شناسایی شده اند(۱).

با گسترش آلودگی‌های محیطی و عوارض داروهای شیمیایی، تحقیقات بسیاری در مورد استفاده از گیاهان برای درمان سرطان انجام گرفته است. پلی‌فنول موجود در میوه‌ها و سبزیجات فعالیت ضدالتهابی و ضدسرطانی را در شرایط آزمایشگاهی و در داخل بدن دارند. گزارش‌های متعددی حاکی از فعالیت سایتوتوکسیک پلی‌فنول‌ها در پیشگیری و درمان سرطان سینه و سایر سرطان ها است(۳ و۲). میوه انار(*Punica granatum*) به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است. انار بومی‌آسیا و منطقه مدیترانه است و در حال حاضر در افغانستان، هند، چین، ژاپن و ایالات متحده آمریکا کشت می‌شود(۴). میوه انار از سه بخش؛ دانه (حدود ۳ درصد از وزن میوه)، آب انار(حدود۳۰ درصد از وزن میوه) و پوست که شامل لایه داخلی هم می‌باشد، تشکیل شده است(۶ و۵). انار منبع غنی از ترکیب‌های پلی فنولیک مانند؛ آنتوسیانیدین‌ها (دلفینیدین‌ها، سیانیدین)، تانین‌ها (استرهای الاژیک اسید، گلوکز وپانیکالین) که در حدود ۹۲ درصد از فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه را تشکیل می‌دهند، می‌باشد. بخش‌های مختلف میوه انار خواص ضد تکثیری، ضد رگ‌زایی و آنتی‌آروماتازی را بر روی رده‌های سلولی سرطان سینه انسان و خواص پیشگیری کنندگی را در پستان موش نشان داده است(۷). دانه انار حاوی حدود ۲۰ درصد روغن می‌باشد که دارای اثرات مفیدی است که ممکن است به دلیل وجود ترکیب‌های پلی فنولی باشد(۸). هم‌چنین دانه انار حاوی اسیدهای چرب کونژوگه مانند اسید لینولئیک و اسید پونیسیک است که دارای اثرات ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و منبع گیاهی شناخته شده‌ای از استروژن استروئیدی به نام استران و دارای مقادیر قابل توجهی از استرول‌ها از جمله بتاسیتوسترول، استیگماسترول و کمپسترول و نیز توکوفرول‌های آلفا، بتا و گاما می‌باشد(۹). با توجه به مطالعه‌های قبلی و تأثیراتی که بخش‌های مختلف میوه انار در موارد مختلف به خصوص سرطان از خود نشان داده است و با توجه به این که مطالعه‌های انجام شده در رابطه با دانه انار هنوز گسترده نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات روغن دانه انار بر روی دو رده سلول سرطان پستان انسان MCF-7 و MDA-MB468 بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی رده‌های سلولی سرطانی MDA-MB468و MCF-7 در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰، همراه با سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک کشت داده شدند. برای تهیه روغن دانه انار، دانه‌های جدا شده انار از باغات ارسنجان فارس تهیه و غلاف روی آن‌ها

جدا و خشک گردید و سپس به صورت پودر درآمد. ۳۰ گرم از پودر حاصله همراه با ۱۵۰ میلی‌لیتر پترولیوم اتر درون ارلن قرار داده شد و بعد از ۲۴ ساعت شیکر، مخلوط به وسیله فیلتر کاغذی صاف و محلول به دست آمده درون پلیت ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرارداده شد. به طور میانگین از هر ۳۰ گرم پودر دانه انار، ۲ گرم روغن به دست آمد. ۲۰۰۰ میکروگرم روغن حاصله در کمترین مقدار دی متیل سولفوکساید (DMSO) (۱۰۰-۸۰ میکرولیتر) حل شد و با محیط کشت به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد و از این استوک حاصله برای مطالعه‌های بعدی استفاده شده است(۱۰).

رده‌های سلولی MCF-7 و MDA-MB468 از انستیتیوپاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت RPMI-1640، (آمریکا) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی(FBS)، ال- گلوتامین۲ میلی‌مولار و محلول آنتی‌بیوتیک پن استرپ(آمریکا)کشت داده شدند و در انکوباتور با ۵ درصد دی اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. هنگامی که تراکم سلول‌های چسبیده به کف فلاسک به ۷۰ تا ۸۰ درصد رسید، پاساژ سلول‌ها با استفاده از محلول ۲۵ درصد Trypsin-EDTA انجام شد(۱۱).

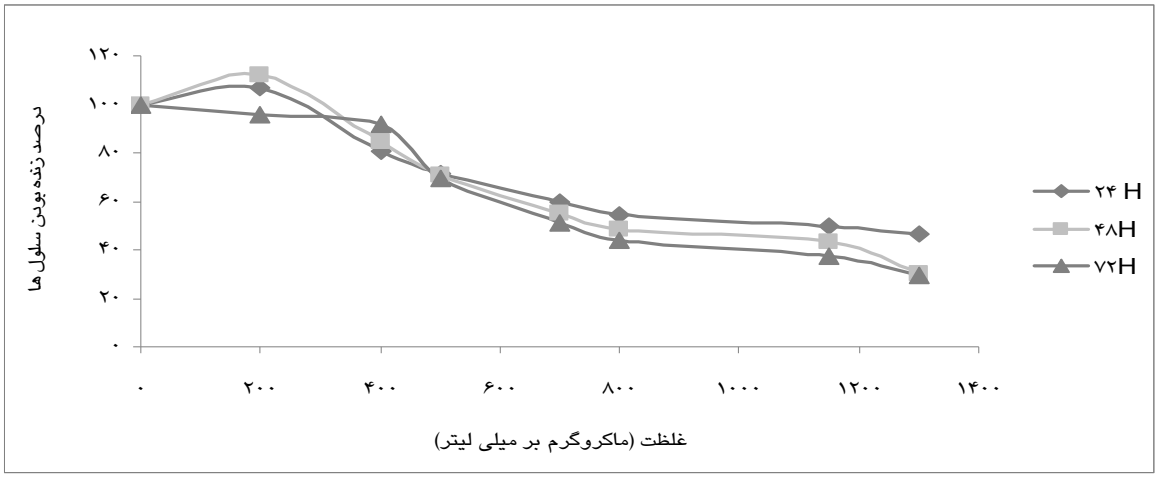
سپس میزان حیات سلول‌ها به وسیله تست MTT تعیین شد. این روش بر فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری سلول‌های زنده استوار است و محلول زرد رنگ MTT را به کریستال‌های نامحلول فورمازان بنفش رنگ تبدیل می‌کند و پس از حل کردن در DMSO با دستگاه الایزا پلیت ریدر جذب محلول در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. در حدود ($۱۰^۴ \times ۱$) سلول به پلیت ۹۶ خانه منتقل شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید، سپس به وسیله غلظت‌های مختلف از روغن دانه انار (۱۵۰۰-۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر) تیمار و در نهایت حجم چاهک‌ها به وسیله محیط کشت به ۱۰۰ میکرولیتر رسید. محیط کشت حاوی ۰/۳ درصد DMSO فاقد عصاره به عنوان کنترل منفی به کار رفت. پلیت‌های حاوی سلول و عصاره به مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت در شرایط یکسان انکوبه شدند. پس از سپری شدن زمان مورد نظر پلیت‌ها از انکوباتور خارج و ۱۰ میکرولیتر محلولMTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه و به مدت ۳ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از ۳ ساعت، محیط کشت هر چاهک خارج و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و سپس جذب نوری محلول هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر(آمریکا) مورد سنجش قرار گرفت. اثر هر غلظت عصاره به صورت سه بار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد بقای سلول‌هایی که تحت تأثیر غلظتی از عصاره قرار گرفته‌اند با تقسیم جذب چاهک‌های تیمار شده به جذب چاهک کنترل منفی ضرب در ۱۰۰ محاسبه گردید. غلظتی از عصاره که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل می‌دهد به عنوان IC_{50} در نظر گرفته شد.

داده‌هـای جمـع‌آوری شـده بـا اسـتفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آمـاری آنـالیز واریـانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج ارزیابی اثرات سیتوتوکسیسـیتی روغـن دانه انار با استفاده از تست MTT پـس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ سـاعت بعـد از تیمـار رده‌هـای سـلول سـرطانی MCF-7 و MDA-MB468 در حضـور غلظـت‌هـای ۱۵۰۰ـ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از روغن دانـه انـار به ترتیب در نمودارهای ۱ و۲ نشـان داده شـده اسـت.

IC_{50} رده سلولیMCF-7 پس از ۲۴ سـاعت تیمـار برابـر با۱۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در ۴۸ سـاعت برابـر با ۷۴۲ میکروگرم بـر میلـی‌لیتـر و پـس از ۷۲ سـاعت ۷۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتـر بـود. IC_{50} پـس از ۲۴، ۴۸ و۷۲ سـاعت تیمـار رده سـلولی MDA-MB468 بـه ترتیب؛۸۴۲ ، ۷۰۰ و ۵۸۸ میکروگرم بـر میلـی‌لیتـر بـه دست آمد.



نمودار۱: اثر سایتوتوکسیسیتی روغن دانه ی انار بر روی تکثیر سلول های MCF-7

نمودار۲: اثر سایتوتوکسیسیتی روغن دانه ی انار بر روی تکثیر سلول های MDA-MB468

بحث

سرطان سینه از جمله سرطان‌های شایع در دنیاست که در ایران رو به افزایش است و پیشگیری و درمان آن از اهمیت بالایی برخوردار است. مصرف مواد غذایی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، در پیشگیری و کاهش ابتلا به سرطان‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کنند(۱۵ـ۱۳). علی‌رغم استفاده از راه‌های درمانی مانند؛ جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی هنوز هم مرگ و میر ناشی از سرطان بسیار بالا می‌باشد. به علاوه، اثرات مخرب شیمی‌درمانی و پرتودرمانی بر سلول‌های نرمال در حال تقسیم از معایب عمده و مهم این فرآیندها در درمان سرطان می‌باشد(۱۶). با توجه به موارد ذکر شده، در سال‌های اخیر توجه به فرآورده‌های طبیعی و مکمل‌های غذایی دارای خاصیت ضد سرطانی بسیار افزایش یافته است.

جینگ و همکاران با مطالعه بر روی دانه انار نشان داد که دانه انار حاوی ترکیب‌هایی از جمله فنولیک‌ها، فلاونوئیدها و پروانتوسیانیدین‌ها می‌باشد. با توجه به ترکیبات بیان شده این میوه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی می‌باشد.

جارمیلو و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که رژیم‌های حاوی فلاونوئیدها می‌توانند به عنوان عوامل پیشگیرانه و درمانی برای بیماری‌هایی از جمله سرطان به کار برده شوند(۱۷). در سال های اخیر، بسیاری از مطالعه‌ها، خواص ضد تکثیری فلاونوئیدی بر ضد انواع سلول‌های سرطانی را به اثبات رساندند، ژانگ و همکاران اثرات کورسیتن که از جمله فلاونوئیدها است را بر روی رده سلول سرطان پستان(MCF-7) مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که این ترکیب باعث مهارتکثیر رده‌های سلولی می‌شود(۱۹)، که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر، هم‌خوانی دارد.

ناگامین و همکاران اثرات سایتوتوکسیسیتی بتانولیک استخراج شده از *Pfaffia paniculata* را بر روی رده سلولی MCF-7 مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که در غلظتی معادل ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۴۸ ساعت، دارای اثرات مهاری است(۱۹)، در حالی که در این تحقیق تأثیر عصاره دانه انار پس از تیمار ۴۸ ساعته بر روی رده سلولی MCF-7، در غلظتی معادل با ۷۴۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای اثرات مهاری بوده است، که می‌توان نتیجه گرفت که بتانولیک استخراج شده مؤثرتر از روغن دانه انار عمل کرده است، اما از آنجایی که میوه انار نسبت به گیاه جینسینگ، ارزان‌تر و در دسترس‌تر است، استفاده از آن می‌تواند پیشنهاد بهتری باشد.

آلبرچت و همکاران تأثیر روغن دانه انار را بر روی چندین رده سلولی سرطان پروستات بررسی کردند و نتایج نشان داد که این ترکیبات باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شوند(۲۰). مطالعه حاضر اثرات سایتوتوکسیسیتی روغن دانه انار برروی رده سلول سرطانی پستان MCF-7 و MDA-MB468 مورد

بررسی قرار داده است و نشان داده است که می‌تواند بر تکثیر سلول‌های وابسته به هورمون(MCF-7) و هم بر تکثیر سلول‌های غیر وابسته به هورمون (MDA-MB468) اثر مهاری داشته باشد.

در مطالعه دیگری نشان داده شد، که روغن دانه انار غنی از لینولنیک اسید کونژوگه به طور قابل توجهی پیشرفت آدنوکارسینوما القاء شده به وسیله آززوکی متان را در رده سلولی F344 موش‌های نر مهار کند و هم‌چنین کاهش قابل توجهی در افزایش کارسینوما در کلون موش‌های تغذیه شده با روغن انار مشاهده شد(۲۱).

نتیجه‌گیری

تاکنون تحقیقات زیادی بر روی گیاهان دارویی، به عنوان عوامل پیشگیرانه و ضد سرطان انجام شده است، که بعضی از این گیاهان دارویی فقط در دسترس تعداد محدودی از کشورها می‌باشند و اگر قرار است گیاهی به عنوان یک پیشنهاد تغذیه‌ای و یا به عنوان عامل درمانی یا پیشگیرانه قابل استفاده باشد باید در دسترس و تا حد امکان ارزان باشد که در این میان میوه انار می‌تواند گزینه انتخابی بسیار مفیدی باشد. با توجه به مطالعه‌های انجام شده و مطالعه حاضر و تأیید حضور ترکیبات ضد سرطان در این میوه، استفاده از آن شاید بتواند عاملی برای پیشگیری و کند کردن روند پیشرفت سرطان‌ها از جمله سرطان پستان باشد. بنابراین با انجام تحقیقات بیشتر به ویژه به صورت درون تنی می‌توان راه کاری پیدا نمود که از روغن دانه انار به عنوان مکمل‌های غذایی و یا حتی به صورت دارو همراه با درمان‌های شیمیایی استفاده نمود که این موضوع نیاز به مطالعه‌های بیشتری دارد.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر استخراج شده از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد بیوشیمی است که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شده است.

REFERENCES

1.Avis NE, Levine B, Naughton MJ, Case LD, Naftalis E, Van Zee KJ. Age-related longitudinal changes in depressive symptoms following breast cancer diagnosis and treatment. Breast Cancer Research And Treatment 2013; 139(1):199-206.
2.Banerjee N, Talcott S, Safe S, Mertens-Talcott SU. Cytotoxicity of pomegranate polyphenolics in breast cancer cells in vitro and vivo: potential role of miRNA-27a and miRNA-155 in cell survival and inflammation. Breast Cancer Research And Treatment 2012; 136(1): 21-34.
3.Adhami VM, Siddiqui IA, Syed DN, Lall RK, Mukhtar H. Oral infusion of pomegranate fruit extract inhibits prostate carcinogenesis in the TRAMP model. Carcinogenesis 2012; 33(3): 644-51.
4.Sarkhosh A, Zamani Z, Fatahi R, Ranjbar H. Evaluation of genetic diversity among Iranian soft-seed pomegranate accessions by fruit characteristics and RAPD markers. Scientia Horticulturae 2009;121(3): 313-9.
5.Syed DN, Afaq F, Mukhtar H. Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. Seminars in Cancer Biology 2007; 17(5): 377-85.
6.Lansky EP, Newman RA. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology 2007; 109(2): 177-206.
7.Sreeja S, Santhosh Kumar TR, Lakshmi BS. Pomegranate extract demonstrate a selective estrogen receptor modulator profile in human tumor cell lines and in vivo models of estrogen deprivation. The Journal of Nutritional Biochemistry 2012; 23(7): 725-32.
8.Pu Jing TY, Haiming Shl, Yi S, Slavin M, Gao B, Linwei Liu, et al. Antioxidant properties and phytochemical composition of China-grown pomegranate seeds. Journal Homepage, 2012.
9.He L, Xu H, Liu X, He W, Yuan F, Hou Z, et al. Identification of phenolic compounds from pomegranate (Punica granatum) seed residues and investigation into their antioxidant capacities by HPLC–ABTS assay. Food Research International 2011; 44(5): 1161-7.
10.Bouroshaki MT, Sadeghnia HR, Banihasan M, Yavari S. Protective effect of pomegranate seed oil on hexachlorobutadiene-induced nephrotoxicity in rat kidneys. Renal Failure 2010; 32(5): 612-7.
11.Momtazi borojeni A, Behbahani M, Sadeghi aliabadi H. Evalution of cytotoxic effect of some extracts of avicennia marina against MDA-MB 231 human breast cancer cell line. Pharmaceutical Sciences 2011; 312-6.
12.Chou DA, Kuo YH, Jan MS, Chang YY, Chen YC, Chiu HL, et al. Caffeate derivatives induce apoptosis in COLO 205 human colorectal carcinoma cells through Fas-and mitochondria-mediated pathways. Food Chemistry 2012; 131(4): 1460-5.
13.Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: promising anticancer agents. Medicinal Research Reviews 2003; 23(4): 519-34.
14.Sylvester PW, Shah S. Antioxidants in dietary oils: their potential role in breast cancer prevention. Malay J Nutr 2002; 8: 1-11.
15.Baumeister P, Reiter M, Harréus U. Curcumin and other polyphenolic compounds in head and neck cancer chemoprevention. Oxidative Medicine and Cellular longevity 2012; 2012.
16.Chabner BA, Friedman MA. Progress against rare and not-so-rare cancers. The New England Journal of Medicine 1992; 326(8): 563-5.
17.Lansky EP,Newman RA.. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology 2007; 109(2),177-206.
18.Jaramillo S,Lopez S, Varela LM, Rodriguez-Arcos R, Jimenez A, Abia R,et al. The flavonol isorhamnetin exhibits cytotoxic effects on human colon cancer cells. Journal of Agricultural and Food chemistry 2010; 58(20):10869-75.
19.Haisheng Zhang MZ, Linhong YU, Yan Zhao, Nianwu He, Xingbin Yang. Antitumor activities of quercetin and quercetin-50,8-disulfonate in human colon and breast cancer cell lines. Food and Chemical Toxicology 2012; 50: 1589–99.
20.Nagamine MK, da Silva TC, Matsuzaki P, Pinello KC, Cogliati B, Pizzo CR, et al. Cytotoxic effects of butanolic extract from Pfaffia paniculata (Brazilian Ginseng) on cultured human breast cancer cell line MCF-7. Experimental and Toxicologic Pathology 2009; 61(1): 75-82.
21.Albrecht M, Jiang W, Kumi-Diaka J, Lansky EP, Gommersall LM, Patel A, et al. Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. Journal of Medicinal Food 2004; 7(3): 274-83.
22.Kohno H, Suzuki R, Yasui Y, Hosokawa M, Miyashita K, Tanaka T. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. Cancer Science 2004; 95(6): 481-6.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Pomegranate Seed Oil on the Proliferation of Human Breast Cancer Cell Lines MCF-7 and MDA-MB468

Servatkhah M, Mahmoudi R, Kamali AM, Tajali M, Jafari Barmak F, Nikseresht M*

Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 3 Aug 2014 Accepted: 5 Dec 2014

Background and aim: Breast cancer is the most common cancer which is threatening the health of women worldwide. Recent studies have found that pomegranate seed oil extract, may have potential anti cancer effect(s). The purpose of this study was to investigate the effects of pomegranate seed oil on the proliferation of human breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB468.

Methods: MCF-7 and MDA-MB468 cell lines were provided and grown in the culture media of RPMI-1640 containing 10% fetal bovine serum with the proper antibiotic. The pomegranate seed oil was extracted using petroleum ether. Cells were treated with different concentrations of pomegranate seed oil (100-1500 µg/ml) and viability was evaluated by using MTT assay. All of the experiments were performed triplicate.

Result: After a period of 24, 48, and 72 hrs, the IC_{50} in MCF-7 cell lines and MDA-MB468 cell lines were 1150,742,731µg/ml and 842,700,588 µg/ml, respectively.

Conclusions: The results revealed that pomegranate seed oil has the cytotoxicity effect on the two mentioned cell lines. Moreover, at different times with different concentrations, it (time and concentration dependent) prevented the proliferation of breast cancer cells. Therefore, perhaps it takes as a nutritional factor in the prevention of breast cancer.

Keywords: MCF-7 cell line, MDA-MB468 cell line, pomegranate seed oil, MTT assay

*Corresponding Author: **Nikseresht M**, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: nikmohsen@yahoo.com

Please cite this article as follows:
Servatkhah M, Mahmoudi R, Kamali AM, Tajali M, Jafari Barmak F, Nikseresht M. The Effect of Pomegranate Seed Oil on the Proliferation of Human Breast Cancer Cell Lines MCF-7 and MDA-MB468. Armaghane-danesh 2015; 19(11): 930-937.