

اثر عصاره هیدروآتانولی پوست میوه انار بر آسیب کبدی القاء شده توسط آفلاتوکسین در موش‌های صحرایی نر بالغ

مهناز نظری^۱، علیرضا صادقی پور^۲، مریم عیدی^{۳*}

^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران
^۲ گروه پاتولوژی، مجتمع پزشکی حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران

* Email: maryameidi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۱۲

چکیده

در این مطالعه اثر سم زدایی عصاره هیدروآتانولی پوست میوه انار بر بافت و آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر مسموم شده توسط آفلاتوکسین بررسی شد. حیوانات توسط گاوژ سم آفلاتوکسین در غلظت ۴۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۸ هفته مسموم شدند. عصاره هیدروآتانولی پوست انار در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ هفته هم‌زمان با گاوژ سم آفلاتوکسین تیمار شد. پس از ۸ هفته نمونه‌گیری از خون و کبد حیوانات انجام شد. سطح پارامترهای سرم شامل آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و پروتئین توتال (TP) سرم توسط کیت اندازه‌گیری شد. مقاطع بافتی از نمونه کبدی تهیه و به روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی شد. نتایج نشان داد آفلاتوکسین موجب افزایش سطح ALT، AST، ALP، سرم و ضریب کبدی و کاهش سطح TP سرم در موش‌های صحرایی مسموم در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌شود. تیمار غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروآتانولی پوست انار باعث کاهش معنی‌دار سطح ALT، AST، ALP، سرم، افزایش سطح TP سرم و کاهش غیرمعنی‌دار ضریب کبد و آسیب بافتی کبد در موش‌های صحرایی مسموم در مقایسه با گروه کنترل مسموم شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد عصاره هیدروآتانولی پوست انار بر آسیب کبدی ایجاد شده توسط آفلاتوکسین اثر محافظتی داشته و استفاده از این میوه را در طب سنتی برای درمان اختلالات کبدی را تایید می‌کند.

کلیدواژه‌ها: آفلاتوکسین، انار، مسمومیت کبدی، موش صحرایی نر

مقدمه

فلاووس از جمله کپک‌هایی است که از نظر مسمومیت غذایی اهمیت ویژه‌ای داشته و قادر به تولید مایکوتوکسینی به نام آفلاتوکسین می‌باشد [۱۱، ۱۰].

قارچ آسپرژیلوس فلاووس جزء آسکومیسیت‌ها و یک قارچ ساپروفیت و هوازی است. آسپرژیلوس

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که توسط گونه‌های آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس تولید می‌شوند. در صورتی که این سموم از طریق مواد غذایی وارد بدن گردند، برای انسان و حیوانات مخصوصاً دام‌ها سرطان‌زا هستند [۷]. درجه حرارت بالا و رطوبت از جمله عوامل مستعد کننده‌ای هستند که باعث تولید آفلاتوکسین از قارچ آسپرژیلوس می‌شوند. در طبیعت چهار نوع آفلاتوکسین اصلی شامل B_1 ، B_2 ، G_1 و G_2 و دو نوع محصولات متابولیکی آن تحت عنوان M_1 و M_2 وجود دارند که می‌توانند خوراک دام و انسان همانند ذرت، گندم، سویا، بادام زمینی، آجیل‌ها و خشکبار را آلوده سازند. آفلاتوکسین رشد کودکان را مختل می‌کند، آلودگی ناشی از آفلاتوکسین می‌تواند در دوران جنینی نیز رخ داده و یا حتی بعد از تولد از طریق شیر مادری که آلوده به آفلاتوکسین شده باعث اختلال در رشد شود [۱۷]. همچنین، آفلاتوکسین اثر سرطان‌زایی در انسان و حیوانات دارد و باعث سرکوب سیستم ایمنی، نکروز کبدی، تجمع چربی در کبد، ضایعات کبدی و حتی تومور کبدی می‌گردد [۲۰]. آفلاتوکسین B_1 تحت اثر آنزیم سیتوکروم P_{450} (این آنزیم در کبد ساخته می‌شود) فعال شده و به ماکرومولکول‌هایی مانند DNA متصل شده و باعث جهش ژنتیکی می‌گردد. ژن P_{53} در معرض آفلاتوکسین جهش یافته و این جهش متقاطع در کدون ۲۴۹ ژن P_{53} باعث جابجایی باز گوانین و تیمین و تغییر تکثیر سلولی و اختلال سنتز DNA در کروموزوم سلول‌های کبدی، ایجاد ضایعات کبدی، ایجاد تومور کبدی، کبد چرب و نکروز کبدی می‌نماید [۱۴]. آفلاتوکسین در انسان با ابتلا به هپاتیت مزمن B مرتبط است و با ایجاد آفلاتوکسیکوزیس در ابتلا به مسمومیت‌های کبدی و

در نهایت سرطان کبد می‌شود [۱۹]. امروزه در علم پزشکی، گرایشی به سوی بهره‌برداری از منابع طبیعی به ویژه گیاهان دارویی پدید آمده است و سازمان بهداشت جهانی نیز در مورد استفاده از این گیاهان در کشورها توصیه‌هایی نموده است. شواهد نشان می‌دهند بسیاری از مواد طبیعی موجود در رژیم غذایی بوسیله اجزای فعال خود مانع از رشد و پیشرفت سرطان کبد به شیوه‌های مختلف از جمله مهار رشد تومور و متاستاز گردیده و موجب محافظت در برابر مواد سرطان‌زا و افزایش اثربخشی داروهای شیمی‌درمانی می‌شوند [۲، ۲۱]. انار (*Punica granatum L.*) از خانواده Lythraceae درختی کوچک بوده و بین ۵ تا ۸ متر ارتفاع دارد. انار از زمان‌های قدیم به عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی در نظر گرفته شده است، بطوری که بخش‌های مختلف آن مانند گل، پوست تنه، پوست میوه، برگ‌ها و ریشه انار مورد استفاده قرار می‌گرفته است. میوه انار دارای خواص ضدباکتریایی و ضدالتهابی و مهم‌تر از همه فعالیت آنتی‌اکسیدانی گسترده‌ای است [۹، ۱۸]. ترکیبات بیوشیمیایی انحصاری میوه انار که سرشار از آنتی‌اکسیدان و فلاونوئیدها است، دارای خواص درمانی زیادی بوده و به تازگی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. تحقیقات اخیر نشان داده است که عصاره انار، یک منبع فراوان از ترکیبات شیمیایی گیاهی ضدالتهاب و ضدسرطان می‌باشد [۵]. ترکیبی از انواع مختلفی از پلی‌فنول‌ها باعث شده که انار آنتی‌اکسیدان‌های انحصاری و متفاوتی در مقایسه با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین A و C داشته باشد و از آنجایی که دارای یک طیف اثر بسیار گسترده‌تر است که می‌تواند علیه چندین نوع رادیکال آزاد اثرگذار

سانتی‌گراد نگهداری شدند و از خوراک دام پارس و آب آشامیدنی تغذیه کردند.

گروه‌های تجربی

گروه‌های مورد بررسی شامل موارد زیر هستند:
گروه کنترل سالم که هیچ تیماری دریافت نکردند (n=8).

گروه کنترل مسموم که سم آفلاتوکسین را با غلظت ۴۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم را روزانه به مدت ۸ هفته بصورت درون صفاقی دریافت کردند (n=8).
گروه‌های تجربی که سم آفلاتوکسین را با غلظت ۴۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم را روزانه بصورت درون صفاقی و عصاره هیدروآتانولی برگ انار در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را بصورت گاوآز روزانه دریافت کردند (n=8).

نمونه برداری

بعد از ۸ هفته تیمار، حیوانات توزین و با اتر بیهوش شدند و نمونه خون از قلب گرفته شد. کبد جدا و توزین و ضریب کبدی از نسبت وزن کبد هر حیوان بر وزن بدن حیوان بدست آمد. پس از جداسازی سرم، سطح پارامترهای سرم شامل آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و پروتئین تام (TP) سرم با استفاده از کیت پارس آزمون تعیین شد.

بافت‌شناسی

نمونه‌های کبدی جدا و در فیکساتیو فرمالدئید قرار گرفت و پس از تهیه مقاطع کبدی به روش هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی شد. آسیب‌های بافتی در هر نمونه بافتی بررسی شد و بر اساس

باشد. مصرف انار بر سرطان‌های کبد، پروستات، پوست، کولون و روده بزرگ، ریه، پستان و خون اثر مہاری دارد [۳، ۱۶]. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که پلی‌فنولیک‌های انار مهارکننده‌های قوی در رشد سلول‌های سرطانی از جمله سرطان سینه هستند و باعث القای آپوپتوز، توقف چرخه سلولی و همچنین کاهش التهاب در شرایط آزمایشگاهی و داخل بدن می‌شوند [۴].

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر سم زدایی پوست میوه انار بر آسیب کبدی ناشی از آفلاتوکسین در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره گیاهی

میوه انار از ساوه در پاییز خریداری شد و پوست آن در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد تمیز و خشک گردید و پوست خشک شده آن توسط آسیاب مکانیکی پودر شده و در کیسه‌های نایلونی در فریزر تا زمان آزمایش نگهداری شد. برای عصاره‌گیری، ۴۰۰ گرم پودر خشک شده با ۲۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد. سپس مخلوط صاف شد و حلال توسط دستگاه روتاری جدا شد. عصاره هیدروآتانولی بدست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

حیوانات

در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۵۰ گرم تهیه و به آزمایشگاه حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شدند. حیوانات در ۶ گروه ۸ تایی درون قفس‌های تمیز در شرایط دمایی ۲۲-۲۴ درجه

سطح آنزیم‌های AST ($p < 0.05$)، ALT ($p < 0.05$) و ALP ($p < 0.05$) و افزایش معنی‌دار سطح TP ($p < 0.01$) سرم و کاهش غیرمعنی‌دار ضریب کبدی در موش‌های صحرایی مسموم در مقایسه با گروه کنترل مسموم می‌گردد (جدول ۱).

مطالعات بافت‌شناسی نشان داد گواژ روزانه یکبار آفلاتوکسین در غلظت ۴۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم موجب افزایش غیرمعنی‌دار آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی کبد در موش‌های صحرایی مسموم در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌گردد و ایجاد ضایعاتی مانند التهاب کبدی ملایم، نکروز سلولی، آپوپتوز بافت کبدی و نکروزه شدن هیپاتوسیت‌ها می‌نماید. تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدروآتانولی پوست میوه انار در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته موجب کاهش غیرمعنی‌دار آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی کبدی در موش‌های صحرایی مسموم در مقایسه با گروه کنترل مسموم می‌گردد (تصویر ۱).

معیارهای Ishak به حضور هر آسیب یک امتیاز داده شد [۸]. سپس مجموع آسیب‌های بافتی در هر نمونه بدست آمد.

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه و تست تعقیبی Tukey انجام شد. داده‌ها بصورت $Mean \pm SEM$ ارائه شدند. مرز استنتاج آماری $p < 0.05$ بود.

یافته‌ها

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار با آفلاتوکسین موجب افزایش معنی‌دار سطح AST ($p < 0.05$)، ALT ($p < 0.05$) و ALP ($p < 0.01$) و کاهش معنی‌دار TP ($p < 0.01$) سرم و افزایش غیرمعنی‌دار ضریب کبدی در موش‌های صحرایی مسموم در مقایسه با موش‌های کنترل سالم می‌شود (جدول ۱).

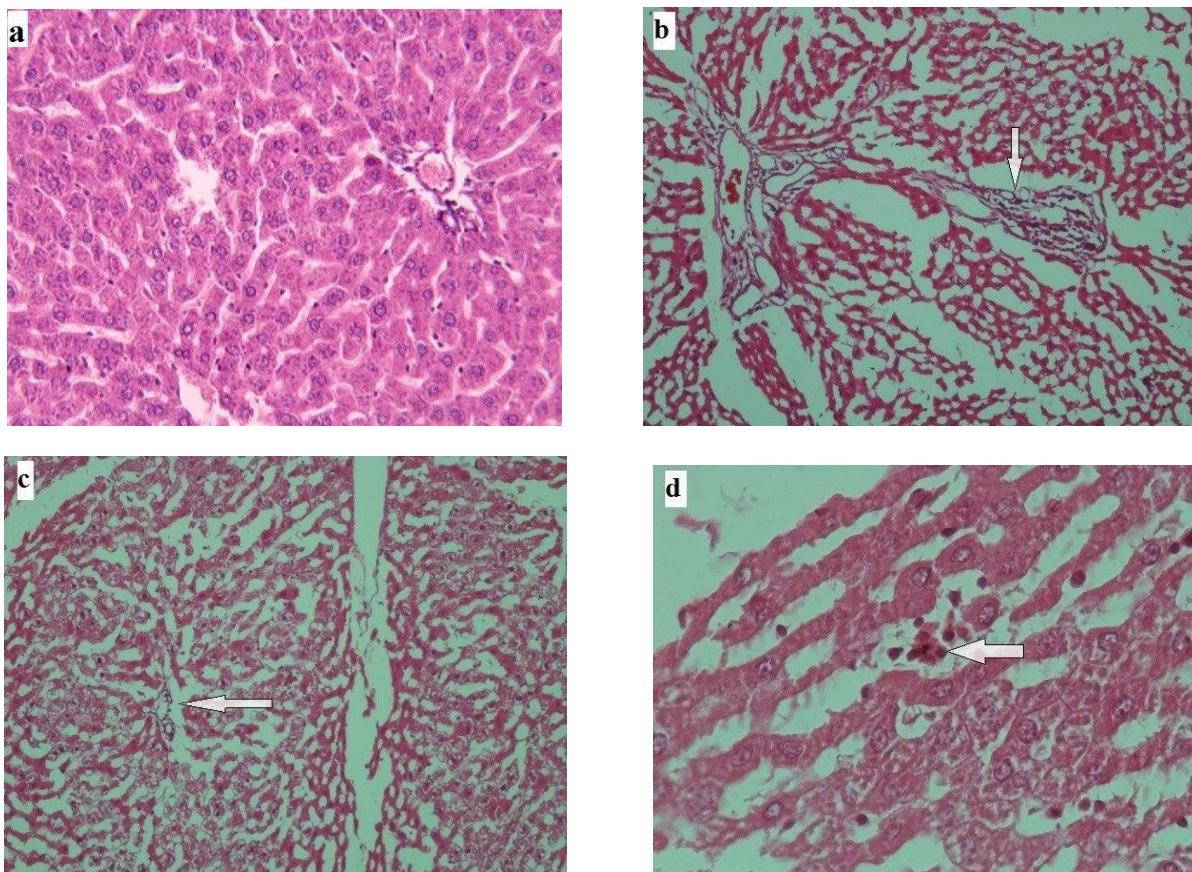
همچنین، تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدروآتانولی پوست میوه انار موجب کاهش معنی‌دار

جدول ۱ - اثر تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدروآتانولی پوست میوه انار بر آنزیم‌های کبدی، پروتئین توتال و آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی کبدی در موش‌های صحرایی مسموم شده توسط آفلاتوکسین.

| پارامتر | گروه‌ها | | | | | |
|-----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | سالم | کنترل مسموم | 50 | 100 | 200 | 300 |
| عصاره (میلی گرم بر کیلوگرم) | | | | | | |
| ALP (U/l) | 212.6±23 | 505.5±84 ** | 457±38 * | 273±34 + | 255±40 + | 259±30 + |
| ALT (U/l) | 39±3 | 60±1 * | 52±1 * | 56±2 * | 60±2 * | 41±8 + |
| AST (U/l) | 102±13 | 155±5 * | 115±11 | 109±16 + | 108±10 + | 104±5 + |
| Total Protein (g/dL) | 6.9±0.12 | 5.5±0.34 ** | 6.55±0.03 + | 6.75±0.2 ++ | 7±0.3 ++ | 6.6±0.3 + |
| ضریب کبدی | 0.02±0.002 | 0.027±0.001 | 0.024±0.002 | 0.024±0.001 | 0.026±0.001 | 0.023±0.001 |
| آسیب هیستوپاتولوژیکی | 0.6±0.3 | 1±0.3 | 1.1±0.3 | 0.43±0.3 | 0.83±0.48 | 0.5±0.3 |

$p < 0.05$ **، * اختلاف از گروه سالم.

$p < 0.01$ ++، $p < 0.05$ + اختلاف از گروه کنترل مسموم.



تصویر ۱- تصاویر میکروسکوپ نوری از بافت کبدی گروه سالم (a)، التهاب کبدی ملایم (b)، آپوپتوز و نکروز سلولی (c)، هپاتوسیت‌های نکروتیک که توسط سلول‌های ملتهب احاطه شده‌اند (d) (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰×).

معنی‌دار سطح TP سرم و کاهش غیرمعنی‌دار ضربید کبدی و آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی کبد در موش‌های صحرائی مسموم در مقایسه با گروه کنترل مسموم گردید.

در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی بر روی منابع طبیعی به منظور یافتن منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و نقش مصرف این ترکیبات در محافظت بدن در برابر صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو انجام گرفته است. میزان بالای مواد فنولیکی در پوست و دانه انار نشان‌دهنده خاصیت ضدقارچی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی این عصاره می‌باشد. خواص انار ناشی از وجود فلاونوئیدهای آن است که یک آنتی‌اکسیدان قوی و ضدالتهاب محسوب می‌شود. تمام

بحث

در مطالعه حاضر، اثر سم‌زدایی عصاره هیدروآتانلی پوست میوه انار بر بافت و آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرائی نر مسموم شده توسط آفلاتوکسین بررسی شد. نتایج تحقیق نشان داد تیمار با آفلاتوکسین موجب افزایش معنی‌دار سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم، کاهش معنی‌دار پروتئین توتال (TP) و افزایش غیرمعنی‌دار ضربید کبدی و آسیب هیستوپاتولوژیکی کبد در موش‌های صحرائی مسموم در مقایسه با موش‌های کنترل سالم شد. تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدروآتانلی پوست میوه انار موجب کاهش معنی‌دار سطح ALT، AST، ALP، افزایش

Heber و همکاران (۲۰۰۶) میوه انار را منبع غنی از ترکیبات فنولیک معرفی کرده و این مواد را مسئول خاصیت ضد میکروبی انار دانستند. در واقع، مواد فنولیک به همراه پروتئین‌هایی با وزن مولکولی زیاد، کمپلکس‌های پیچیده‌ای تشکیل می‌دهند و پس از جذب با آنزیم‌های سلولی (اکسیدوردوکتاز) موجود در سیتوپلاسم و دیواره سلولی واکنش می‌دهند [۹].

Sarkhosh و همکاران (۱۳۸۶) دلیل فعالیت آنتی-اکسیدانی انار را به حضور مواد فنولیک به خصوص الازیک و پونیکالاژین نسبت دادند [۱۵].

بر اساس مطالعات انجام گرفته توسط Banerjee (۲۰۱۲) نشان داده شد که پلی فنول‌های انار مهارکننده‌های قوی رشد سلول‌های سرطانی از جمله سرطان سینه هستند و باعث توقف چرخه سلولی و همچنین کاهش التهاب در شرایط آزمایشگاهی و داخل بدن می‌شوند [۴].

با مطالعه حضور فنل‌ها و ظرفیت آنها در تنظیم رادیکال‌های آزاد مشخص شد عصاره آبی پوست انار کمترین و عصاره الکلی آن بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد [۱۳].

بنابراین، تیمار عصاره هیدروآتانولی پوست انار باعث کاهش آسیب کبدی ناشی از سم آفلاتوکسین در موش‌های صحرایی مسموم می‌شود که احتمالاً بواسطه تاثیر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاه است.

تشکر و قدردانی

نتایج مطالعه حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا است.

میوه‌های با رنگ قرمز حاوی آنتی‌اکسیدان هستند و انار در راس آنها قرار دارد. مکانیسم اثر آنتی‌اکسیدانی انار احتمالاً مربوط به ترکیبات فنولیک، تانن‌های قابل هیدرولیز از قبیل پونیکالاژین، پونیکالین، اسید گالیک و اسید الازیک می‌باشد. ترکیبات فنولیک انار دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارد که مانع رشد سلول‌های سرطانی می‌شود [۵،۱۶].

Cano-Lamadrid و همکاران (۲۰۱۶) میزان پونیکالاژین را در آب انار ۲۰۱ میلی گرم بر لیتر تعیین کردند [۶].

Naseer و همکاران (۲۰۱۴) اثر مهاري زباله‌های پوست انار را بر رشد قارچ *Aspergillus flavus* و تولید آفلاتوکسین‌ها در برنج‌های انبار شده نشان دادند [۱۲].

تحقیقات Ashoush و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پوست انار باعث کاهش سطح آنزیم‌های ALT و AST در آسیب کبدی ناشی از قرارگیری در معرض CCL₄ در موش صحرایی می‌گردد [۳].

Aloqbi و همکاران (۲۰۱۶) میزان ترکیبات فنولیک آب انار، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن و همچنین توانایی بالای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد توسط آب انار را در مقایسه با سایر آبمیوه‌ها نشان دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد آب انار نسبت به سایر آبمیوه‌های مورد مطالعه از ترکیبات فنلی بیشتری برخوردار است. همچنین، آب انار توانایی زیادی در مهار رادیکال‌های آزاد را دارد و می‌توان اثرات سودمندی در تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن و کاهش استرس اکسیداتیو داشته باشد [۱].

References

- [1] Aloqbi A, Omar U, Youss M, Grace M, Lila MA, Howell N. 2016. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Punicalagin. *Natural Science*; 8: 235-246.
- [2] Alpsoy L. 2010. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. *African Journal of Biotechnology*; 9(17): 2474-2481.
- [3] Ashoush IS, Ei-batawy OI. 2013. Antioxidant activity and hepato-protective effect of pomegranate peel and whey powders in rats. *Annals of Agricultural Sciences*; 58(1): 27-32.
- [4] Banerjee N. 2012. 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 Res Treat*; 136 (1): 21-34.
- [5] Bhatia D, Toppil RJ, Mandal A, Samtani KA, Darvesh AS, Bshayee A. 2013. Pomegranate bioactive constituents suppress cell proliferation and induce apoptosis in an experimental model of hepatocellular carcinoma: Role of Wnt/B-catenin signaling pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*; 371-813.
- [6] Cano-Lamadrid M, Marhuenda-Egea FC, Hernández F, Rosas-Burgos EC, Burgos-Hernández A, Carbonell-Barrachina AA. 2016. Biological activity of conventional and organic pomegranate juices: Antioxidant and antimutagenic potential. *Plant Foods Hum Nutr*; 71(4):375-380.
- [7] Darwish W, Ikenaka Y, Nakayama M, Ishizuka M. 2014. An overview on mycotoxin contamination of foods in Africa. *Toxicology*; 76 (6): 789-797.
- [8] Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Grootes J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSweeni RNM, Phillips MJ, Portmann BJ, Paulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H. 1995. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*; 22:696-699.
- [9] Heber D, Schulman RN, Seeram NP. 2006. Pomegranates: ancient roots to modern medicine. *Medical and Aromatic Plants. Industrial Profiles* 43. Crc Press, Taylor & Francis Group, pp. 244.
- [10] Liu Y, Chang CCH, Marsh GM, WU F. 2012. Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*; 48(14): 2125-2136.
- [11] Mehdizadeh M, Rabei M, Moeini Namin M, Asghari S. 2008. Role of *Aspergillus* species in aflatoxicosis, *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Science and Health Service*; 16(4): 100-107.
- [12] Naseer R, Sultana B, Khan MZ, Naseer D, Nigam P. 2014. Utilization of waste fruit-peels to inhibit aflatoxins synthesis by *Aspergillus flavus*: a biotreatment of rice for safer storage. *Bioresour Technol*; 172: 423-8.
- [13] Ozkan M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry*; 78(4): 499-504.
- [14] Palliyaguru DL, Wu F. 2013. The global geographical overlap of aflatoxin and hepatitis C: controlling risk factors for liver cancer worldwide. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. NIH Public Access*; 30 (3): 534-540.
- [15] Sarkhosh A, Zamani Z, Fatahi R, Ghorbani H, Hadian J. 2007. A review on medical characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L). *Journal of Medical Plants* 2007; 2(22): 13-24.
- [16] Syed DN, Chamcheu JC, Adhami VM, Mokhtar H. 2013. Pomegranate extracts and cancer prevention: Molecular and cellular activities. *Anticancer Agents Med Chem*; 13(8): 1149-1161.
- [17] Turner PC. 2013. The molecular epidemiology of chronic aflatoxin driven impaired child growth. *Scientifica*; pp. 21.
- [18] Viladomiu M, Hontecillas R, Lu P, Bassaganya-Riera J. 2013. Preventive and prophylactic mechanisms of action of pomegranate bioactive constituents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; pp. 18.
- [19] Wild CP, Gong YY. 2010. Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*; 31(1): 71-82.
- [20] Yu J. 2012. Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins*; 4: 1024-1057.
- [21] Zhou Y, Li Y, Zheng J, Li S, Li HB. 2016. Dietary natural products for prevention and treatment of liver cancer, *Nutrient*; 108(3):156.

