بررسی تأثیر سیتوتوکسیک کورکومین بر تکثیر سلول سرطانی روده بزرگ انسان (HT_29)

محمد نبیونی*[۲،۱]، هما محسنی کوچصفهانی[۳]، سکینه آذری[۴]، بهرام دلفان[۵]

۱- مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۴- کارشناس ارشد تکوین سلولی، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۵- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته/ دوره نوزدهم/ شماره ۲ / تابستان ۹۶/ مسلسل ۷۲

چکیده

دریافت مقاله: ۹۶/۱/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۶/۴/۱۲

مقدمه: سرطان دستگاه گوارش شایع‌ترین نوع در ایران با فراوانی ۳۸ درصد است. خطر ابتلا به این سرطان تحت تأثیر دو عامل محیطی و فاکتورهای ژنتیکی می‌باشد. کورکومین از جمله فیتوکمیکال‌هایی است که در استراتژی chemoprevention در راستای بلوکه کردن، کند کردن و یا برگشت پروسه سرطان‌زایی نقش دارد. مطالعات نشان داده که کورکومین می‌تواند مانع بروز سرطان راست‌روده شده و یا آن را به تأخیر بیندازد. در این پژوهش اثر کورکومین بروی تکثیر سلول‌های سرطانی HT_29 بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی رده سلولی HT_29 در محیط DMEM کشت داده شد. اثر غلظت‌های مختلف کورکومین بر روی رشد سلول‌های سرطانی HT_29 با روش MTT بررسی گردید، نوع مرگ سلولی القاء شده توسط رنگ‌آمیزی DAPI سنجش شد. تمامی تجربیات سه بار تکرار شدند و جهت تحلیل داده‌ها از نرم افزار Instate 3 و آزمون آماری one-way ANOVA استفاده گردید.

یافته‌ها: بقاء سلولی در غلظت ۵۰ µM کورکومین پس از طی ۲۴ ساعت تیمار، ۵۳ درصد محاسبه شد (IC50). بعد از طی ۷۲ ساعت تیمار، واکوئله شدن و کاهش شدید سلول‌های زنده در محیط کشت مشاهده شد. همچنین، میزان سلول‌های آپوپتوز شده توسط رنگ‌آمیزی DAPI تعیین شد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به مسیرهای مولکولی دخالت کننده در تکثیر سلولی و توانایی کورکومین در القای پروتئین‌های پروآپوپتوتیک و مهار پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک و مسیرهای بقا همچون NF-KB و AKT، می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل ضد سرطان معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: کورکومین، سرطان روده، رده سلول سرطانی HT_29، آپوپتوز.

*آدرس مکاتبه: کرج، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی و مولکولی.

پست الکترونیک: nabiuni@khu.ac.ir

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

مقدمه

سرطان یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها می‌باشد که بیش از یک‌چهارم جمعیت جهان با آن درگیرند و پیشگیری از ابتلا به این بیماری و مقابله با آن از اهمیت بسزایی برخوردار است. شیمی‌درمانی، جراحی و پرتو درمانی روش‌های رایج درمان سرطان می‌باشند اما به دلیل اثرات جانبی نامطلوب این روش‌های درمانی، عوامل طبیعی سیتوتوکسیک و القاء کننده‌های آپوپتوزیس توجه محققین بسیاری را به خود جلب کرده‌اند. امروزه به طور گسترده ترکیبات گیاهی به‌عنوان آنتی‌تومورها به صورت in vitro بر روی سلول‌های سرطانی مورد آزمایش و تحقیق قرار گرفته و مواد مؤثر آنها ارزیابی می‌شوند. داروهای شیمیایی علاوه بر سلول‌های سرطانی سلول‌های سالم و عوامل مفید مانند آنزیم‌ها و سوبستراهای مربوط به همانندسازی و سنتز DNA را نیز مورد حمله قرار می‌دهند (۱،۲). Cancer Prevention، استفاده از مواد شیمیایی طبیعی، سنتزی یا بیولوژیکی در جهت مهار، برگشت یا جلوگیری از سرطان است (۳). اغلب روش‌های کاربردی برای کاهش شیوع مرگ و میر ناشی از سرطان، تأخیر در روند سرطان‌زایی از طریق عوامل Chemopreventive است. ترکیباتی که می‌توانند مسیرهای درون سلولی درگیر در عملکرد سلول غیرطبیعی را مورد هدف قرار داده، توانایی دست‌کاری این مسیرها را داشته و به این طریق فرایند سرطان‌زایی را به تأخیر اندازد (۴). سالانه ۵۰۰۰۰ مورد تازه سرطان در ایران تشخیص داده می‌شود که بدخیمی‌های گوارشی تعداد قابل توجهی از این آمار را به خود اختصاص می‌دهند. سرطان روده بزرگ جزو بیماری‌های خطرناک بوده و از نظر شیوع سومین سرطان شایع و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان (پس از سرطان ریه) محسوب می‌شود. در ایران نیز همین آمار برقرار است اما متأسفانه سن شیوع بیماری پایین‌تر از استاندارد جهانی می‌باشد. سرطان روده بزرگ، پس از سرطان مری و معده سومین سرطان شایع گوارشی در مردان و زنان ایرانی می‌باشد. ژنتیک، محیط و رژیم غذایی می‌توانند از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده بدخیمی‌های مختلف همچون سرطان روده بزرگ در نظر گرفته شود. در ایجاد یک توده سرطانی در اپیتلیال روده حداقل باید ۸-۶ جهش در بافت طبیعی ایجاد شود. با ایجاد این جهش‌ها در بافت روده مسیرهای سیگنالینگ سرطان‌زا در سلول‌ها فعال می‌شود که برخی از آنها نقش مهم‌تری در ایجاد سرطان دارند (۷-۵). کورکومین یا دی‌فرولویل متان (Diferuloylmethan) که ۵-۲٪ زردچوبه را تشکیل می‌دهد از ریزوم گیاه Curcumin longa متعلق به خانواده beraceae Zingi جدا شده است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و پروآپوپتوتیکی است (۸،۹). کورکومین یک کلاس متمایز از عوامل Chemopreventive است که دارای مکانیسم عمل چندگانه بوده و قادر است هر سه مرحله سرطان‌زایی را تحت تأثیر قرار دهد. اثر Chemopreventive کورکومین تقریباً در همه مراحل سرطان‌زایی به خاطر ماهیت غیر سمی آن می‌باشد (۴). کورکومین بیان لیگاندهای آنژیوژنیک و رسپتورهای آنها را کاهش می‌دهد همچنین قادر است سلول‌های سرطانی را به شیمی‌درمانی و پرتودرمانی حساس کند. یکی از روش‌های اصلی عمل داروهای شیمی‌درمانی ممکن است از طریق فعال کردن آپوپتوز باشد؛ بنابراین درک چگونگی بکارگیری برنامه مرگ سلولی روش جدیدی را برای غلبه بر مسئله بالینی مقاومت دارویی ارائه می‌دهد (۱۲-۱۰).

مواد و روش‌ها

در این پژوهش رده سلولی HT_29 از انستیتو پاستور ایران تهیه شد و در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ FBS(Gibco, UK) و ۱۰۰U/ml پنی‌سیلین و µg/ml ۱۰۰ استرپتومایسین (Gibco, UK) در فشار ۵٪ CO_2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فلاسک ۳۲۵ cm و سپس

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

به تعداد ۱۰۵×۱ سلول بر میلی‌لیتر در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه کشت داده شد. سلول‌های HT_29 از نوع چسبنده می‌باشند لذا به منظور پاساژ دادن، ابتدا سلول‌ها توسط µl ۵۰۰ تریپسین ۰/۲۵٪ به مدت ۲ دقیقه از کف فلاسک جدا شدند و پس از جدا شدن به منظور خنثی شدن اثر آنزیم تریپسین، به هر فلاسک ۲ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی FBS اضافه شد و محلول حاوی محیط کشت، تریپسین و سلول به فالکون ۱۵ میلی‌لیتر منتقل شد. پس از سانتریفوژ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه، محلول رویی دور ریخته شد و سوسپانسیون سلولی تهیه گردید. بدین صورت که ۱ میلی‌لیتر محیط کشت به رسوب سلولی حاصل از سانتریفوژ اضافه شد و پیپتاژ صورت گرفت. سلول‌ها شمارش شده و به تعداد مناسب به فلاسک cm ۲۵ و یا در پلیت‌های کشت سلولی منتقل گشتند. شمارش سلولی با استفاده از لام هموسایتومتری صورت گرفت. جهت حل کردن پودر کورکومین از اتانول ۹۶٪ به‌عنوان حلال استفاده شد. ۱۸/۴۱۹ میلی‌گرم از پودر کورکومین در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ (Merck, Germany) حل شد. به منظور تیمار سلول‌ها محلول اولیه با غلظت ۵ میلی‌مولار کورکومین تهیه شد و پس از فیلتر کردن در فریزر ۴۰°C - نگه‌داری شد. با توجه به ناپایداری کورکومین محلول اولیه باید در هر بار تیمار در شرایط بدون نور تهیه شود.

جهت تعیین درصد بقا (viability) سلول‌ها از روش MTT استفاده شد (Sigma, UK). اساس روش MTT بر پایه عملکرد آنزیمی در سلول‌های زنده می‌باشد. بدین صورت که سلول‌های زنده دارای آنزیم‌های فعال بوده و قادر به احیاء ماده MTT می‌باشند و در اثر این احیاء، رنگ‌دانه‌های تیره رنگ در داخل سلول‌های زنده تشکیل می‌گردد، اما در داخل سلول‌های مرده اثری از این رنگ‌دانه‌ها دیده نمی‌شود. جهت روش MTT، ابتدا استوک ۵mM کورکومین تهیه شد. ۱/۵×۱۰۵ cell/ml در هر چاهک پلیت ۲۴ خانه کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت و چسبیدن سلول‌ها به کف پلیت، سلول‌ها به سه گروه کنترل، شم و تیمار تقسیم شدند. گروه کنترل فقط در معرض محیط کشت بوده درحالی‌که گروه شم اتانول را به‌عنوان حلال کورکومین دریافت کرد و گروه‌های تیمار با غلظت‌های ۱۰-۸۰µM به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. پس از اتمام بازه‌های زمانی (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت)، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر خانه اضافه شد و ۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به دور از نور انجام گرفت و پس از اتمام انکوباسیون ۱۰۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اسیدی (Merck, Germany) اضافه شد. اسید در ایزوپروپانول باعث می‌شود غشاء سلول لیز شده و ایزوپروپانول وارد سلول شده بلورهای نامحلول فورمازان را به حالت محلول درآورد. جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گرفته شد و طبق معادله زیر، درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید (۱۳).

(OD کنترل/OD تست)×۱۰۰

رنگ‌آمیزی DAPI

4,6-diamidino-2-phenylindole یک رنگ فلورسانت است که برای مشاهده هسته سلول بکار می‌رود و می‌تواند اتصال قوی و محکمی با ناحیه بازهای A-T در دو رشته DNA برقرار کند. پس از تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مورد نظر کورکومین و سپری شدن زمان لازم، سلول‌ها با PBS به آرامی شستشو داده شدند و به منظور فیکس شدن سلول‌ها به آنها مقداری فرمالین ۱ درصد افزوده شد و ۱۵ دقیقه درون یخچال قرار گرفت. سپس ۵ دقیقه پلیت در مجاورت هوای آزمایشگاه قرار گرفت. فرمالین به آرامی از گوشه‌ی پلیت ۲۴ خانه‌ای، خارج شد و به آن ترایتون ۴ درصد افزوده شد. ترایتون موجب نفوذپذیری غشاء سلول به رنگ DAPI می‌گردد. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه و خارج سازی ترایتون، سلول‌ها با PBS شستشو داده شدند و

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

درنهایت رنگ DAPI 1 درصد (Gibco, UK) به آن افزوده شد و بعد از گذشت ۲۰ ثانیه با PBSشستشو داده شد. با توجه به حساس بودن رنگ DAPI به نور، این مرحله باید در تاریکی انجام شود و توسط میکروسکوپ فلورسانت معکوس، مورفولوژی هسته سلول و تغییرات حاصل از تیمار مورد بررسی قرار گرفت.

تمامی تجربیات حداقل سه بار تکرار شدند. جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار Instate 3، از روش One-Way ANOVA استفاده شد و P value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

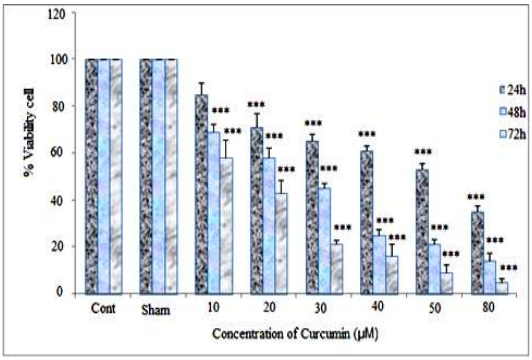
یافته‌ها

اثر کورکومین بر تکثیر سلول‌های HT_29 و نتایج حاصل از MTT نشان داد کورکومین در غلظت‌های بالای ۸۰ ماکرومولار دارای اثر کشندگی بسیار شدیدی است. در دوزهای ۸۰-۱۰ µM به‌صورت وابسته به زمان و غلظت، باعث کاهش بقاء سلولی گردید و بعد از طی ۷۲ ساعت واکوئله شدن شدید سلول‌ها و کاهش شدید درصد سلول‌های زنده در محیط کشت مشاهده شد. غلظت ۵۰µM کورکومین پس از طی ۲۴ ساعت تیمار، بقاء سلولی ۵۳ درصد محاسبه شد (IC50) و بقاء سلولی پس از طی ۷۲ ساعت تیمار با غلظت ۸۰µM کورکومین به ۵ درصد کاهش یافت (جدول و نمودار ۱).

جدول ۱. درصد سلول‌های زنده HT-29 در حضور غلظت‌های مختلف کورکومین در مقایسه با کنترل در مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش MTT

	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
کنترل	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰
۱۰µM	۸۵±۵/۰۳	۶۹±۳/۲۱***	۵۸/۶۶±۷/۶۸***
۲۰µM	۷۱/۶۶±۵/۸۴***	۵۸±۴/۱۶***	۴۳±۵/۲۹***
۳۰µM	۶۵/۳۳±۳/۱۸***	۴۵/۶۶±۲/۳۳***	۲۱/۶۶±۲/۰۲***
۴۰µM	۶۱/۳۳±۲/۰۲***	۲۵±۲/۶۴***	۱۶/۳۳±۵/۲۰***
۵۰µM	۵۳/۶۶±۲/۶۰***	۲۱±۲/۳۰***	۹/۶۶±۳/۱۸***
۶۰µM	۳۵/۶۶±۲/۳۳***	۱۴±۳/۲۱***	۵±۱/۵۵***

تعداد اولیه سلول‌ها $1/5\times10^5$ سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت بود.
** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱، میانگین ± انحراف معیار

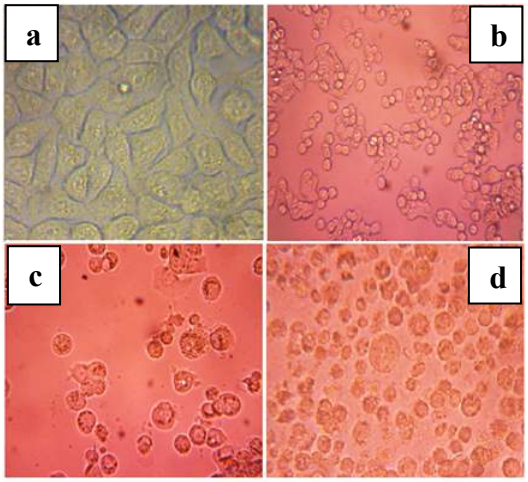


نمودار ۱. اثر غلظت‌های مختلف کورکومین بر تکثیر سلول‌های HT_29 پس از طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT

تعداد اولیه سلول‌ها $1/5\times10^5$ سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت بود.
** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱، میانگین ± انحراف معیار

نتایج بررسی تأثیر کورکومین بر مورفولوژی سلول‌های HT_29 توسط میکروسکوپ معکوس

سلول‌های HT_29 تحت تأثیر تیمار با کورکومین دچار تغییراتی در مورفولوژی شده که این تغییرات در شکل ۱ مشهود می‌باشد. این تغییرات شامل سست شدن اتصال سلول‌ها به کف چاهک‌های پلیت و از دست دادن قدرت چسبندگی می‌بود. هم‌چنین قدرت سلول‌ها در تشکیل کلونی و باقی ماندن در کنار هم کم می‌شد، بنابراین با سست شدن اتصال سلولی به کف پلیت شکل سلول از حالت چندوجهی به گرد تغییر یافت.

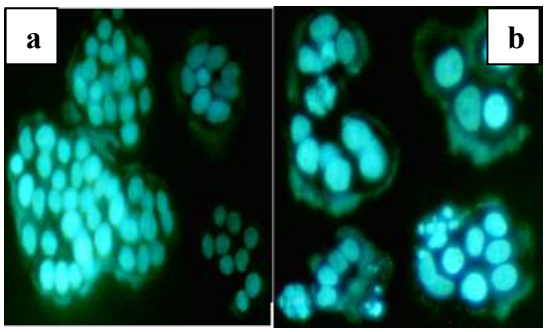


شکل ۱. مورفولوژی سلول‌های HT_29 در اثر القاء آپوپتوز. سلول‌های گروه کنترل که توسط کورکومین تیمار نشده‌اند (a)، در شکل (b و c) که با غلظت ۵۰µM کورکومین در ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شده‌اند می‌توان درجات مختلف القاء آپوپتوز سلولی شامل واکوئله شدن سیتوپلاسم و چروک خوردن سلول را مشاهده نمود. در شکل (d) که با غلظت ۵۰µM کورکومین در ۷۲ ساعت متلاشی شدن اجزاء سلول و لیز شدگی سلولی در اثر غلظت‌های سیتوتوکسیک کورکومین مشاهده می‌شود. بزرگنمایی ۴۰۰×.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

نتایج رنگ‌آمیزی سلول‌های HT_29 با رنگ DAPI

به منظور بررسی تغییرات هسته در سلول‌های حاصل از تیمار کورکومین این سلول‌ها با رنگ DAPI رنگ‌آمیزی شدند. با توجه به اینکه غلظت ۵۰ µM کورکومین دارای قدرت القاء آپوپتوز ۵۰ درصد (IC50) در سلول‌های HT_29 بود. این سلول‌ها با غلظت ۵۰ µM کورکومین تیمار شدند. پس از طی ۲۴ ساعت، رنگ‌آمیزی DAPI بر روی این سلول‌ها انجام شد (شکل ۲).



شکل ۲. نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی DAPI

سلول‌های گروه کنترل که توسط کورکومین تیمار نشده‌اند (a)، سلول‌های تیمار شده با غلظت ۵۰µM کورکومین که القاء آپوپتوز سلولی شامل چروک خوردن هسته سلولی و متلاشی شدن آن مشاهده می‌شود (c). بزرگنمایی ۴۰۰×.

بحث و نتیجه‌گیری

کورکومین یک مولکول هیدروفوبیک است که به راحتی از غشاء پلاسمایی به داخل سیتوزول عبور می‌کند (۱۴). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده که کورکومین می‌تواند مانع بروز سرطان راست‌روده شده و یا آن را به تأخیر بیندازد. این ماده که تاریخچه زیادی در روش‌های درمان سنتی هند دارد بقاء، تکثیر، آنژیوژنز و متاستاز سلول‌های سرطانی روده بزرگ را از طریق مسیرهای سیگنالینگ گوناگون مثل P53، EGFR، COX-2، MAPK و غیره مهار می‌کند (۱۵،۱۶).

کورکومین قادر است آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی از طریق تمام مسیرهای اصلی آپوپتوزی (Extrinsic & ER stress pathway) القا کند (۱۷). کورکومین viability را در سلول‌های کارسینومای HT-29 با القاء آپوپتوز کاهش می‌دهد. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که کورکومین در یک الگوی وابسته به دوز و زمان رشد سلول‌های سرطانی HT_29 را مهار می‌کند (۱۴).

با مروری بر عملکردهای کورکومین تا حدودی می‌توان مسیرهای مولکولی که کورکومین اثر خود را اعمال می‌کند تفسیر نمود. در این بین فعالیت NF-KB اهمیت خاصی دارد. NF-KB یکی از فاکتورهای نسخه‌برداری مشتق شده از خانواده پروتئین‌های REL است که در اکثر سرطان‌ها فعال می‌شود و در تکثیر سرطان نقش دارد (۱۸). این فاکتور ازجمله عواملی است که در تکثیر سلول‌های سرطانی روده ازجمله سلول‌های HT_29 نقش دارد و رونویسی بسیاری از ژن‌های دخالت کننده در سرطان، التهاب، آپوپتوز و تکثیر سلولی را تنظیم می‌نماید. افزایش بیان این فاکتور در بسیاری از سلول‌های روده دیده می‌شود که منجر به مقاوم شدن این سلول‌ها در برابر عوامل متوقف کننده تکثیر و یا القاء کننده آپوپتوز می‌گردد. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که مواد مهارکننده فعالیت این فاکتور رونویسی باعث آپوپتوز و یا مهار تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شوند. کورکومین با جلوگیری از فعال‌سازی این فاکتور، رشد سرطان را مهار و از پیشرفت متاستاز جلوگیری می‌کند (۴). جانسون و همکاران تنظیم NF-KB را با استفاده از کورکومین در سلول‌های سرطانی روده HT_29 تشخیص دادند (۱۵). بررسی‌های مختلف نشان داده که سیکلواکسیژناز-۲ نقش مهمی در تکامل سرطان راست‌روده دارد و دارای اثرهای آنتی آپوپتوتیکی و آنژیوژنز است (۱۹). گوئل و همکاران نشان دادند که کورکومین، سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) را همچون لیپواکسیژناز (LOX) که هر دو آنزیم‌هایی درگیر در التهاب هستند را مهار می‌کند (۲۰). AKT یک پروتئین کیناز است که بقای سلولی را با مهار آپوپتوز از طریق فسفریلاسیون پروتئین پروآپوپتوتیکی Bad انجام می‌دهد. در سلول‌های کارسینومای کلیه انسان (Caki)

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

کورکومین با مهار فعالیت AKT باعث آپوپتوز شده است. ژن سرکوبگر تومور P53، معمول‌ترین ژنی است که در طی سرطان‌ها جهش می‌یابد. دو عملکرد فیزیولوژیکی شامل تنظیم پیشروی چرخه سلولی پس از استرس سلولی و تنظیم فرایند آپوپتوز به P53 نسبت داده شده است. این مولکول قادر است از طریق فعال نمودن رونویسی اعضای پروآپوپتوتیکی خانواده Bcl-2 و مهار اعضای آنتی آپوپتوتیک موجب آغاز فرایند آپوپتوز شود. در سلول‌های سرطانی پستان انسان، کورکومین از طریق P53 که به وسیله Bax القاء شده بود باعث آپوپتوز شد. سیکلین‌ها کلیدهای اصلی چرخه سلولی هستند و سیکلین D1 زیرواحدی از سیکلین‌های وابسته به کیناز CDK 4/6 است که هدف اصلی سیگنال‌های تکثیر در فاز G1 چرخه سلولی است. سیکلین D1 یک پروتوانکوژن است که در بسیاری سرطان‌ها افزایش بیان دارد. کورکومین ترکیبی است که بیان سیکلین D1 را مهار می‌کند و از طریق مکانیسم‌های مختلفی ازجمله NF-KB آن را هدف قرار می‌دهد. کورکومین تکثیر در سلول‌های سرطانی پروستات و پستان در محیط کشت را با کاهش بیان پروتئین سیکلین D1 بلوکه کرد (۱۱). دوویکس و همکاران القاء مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های Caki با دفسفریله شدن AKT، مهار Bcl-2، Bcl-xl و پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز (IAP)، همچنین آزادسازی سیتوکروم Cو فعال شدن کاسپاز ۳ در سلول‌های HL_60 را به اثبات رساندند در سلول‌های مونوسیت لنفوئیدی U937، مهار Bcl-xl، IAP، آزادسازی سیتوکروم C و فعال شدن کاسپاز ۳ اثبات شده است (۳).

با توجه به مسیرهای مولکولی دخیل در تکثیر سلولی و توانایی کورکومین در القای پروتئین‌های پروآپوپتوتیک و مهار پروتئین‌های آنتی آپوپتوتیک و مسیرهای بقا همچون NF-KB و AKT، می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل ضد سرطان مهم معرفی کرد (۱۷).

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی- تکوینی گروه سلولی مولکولی دانشگاه خوارزمی انجام گرفته است لذا از ریاست محترم دانشکده علوم زیستی که امکانات اجرایی این طرح تحقیقاتی را فراهم نمودند و همچنین از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان که هزینه‌های این طرح تحقیقاتی را فراهم نمودند صمیمانه سپاسگزاریم.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

References

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000; 100(1): 57-70.
2. Wisniewiki MZ, Wietrzyk J, Opplski A. Targeted delivery of drugs for treatment of parasitic infections. Arch Immune therap exper. 2000; 48: 51-55.
3. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Letters. 2005; 223: 181-190.
4. Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK. Multiple molecular target in cancer chemoprevention by curcumin. AAPS. 2006; 52: 443-449.
5. Teimoori L, Azadmanesh K, Amanzadeh A, Zeinali S. Selective Suicide Gene Thrapy of Colon Cancer Exploting the Urokinase Plasm inogen activator Receptor. Biodrug. 2009; 24: 131-146.
6. Malekzadeh R, Bishehsari F, Mahdavinia M, Ansari R. Epidemiology and Molecular Genetics of Colorectal Cancer in Iran. Arch Iranian Med. 2009; 161-169.
7. Wang J, Qi L, Zheng Sh, Wu T. Curcumin induces apoptosis through the mitochondria mediated apoptotic pathway in HT_29 cells. J Zhejiang Univ Sci. 2009; 10(2): 93-102.
8. Sandur SK, Ichikawa H, Pandey MK, Kunnumakkara AB, Sung B, Sethi G, et al. Role of pro-oxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effect of curcumin. Free Radical Bio Med. 2007; 43: 568-580.
9. Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia Sh. The molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. Springer Sci Busin Med. 2007; 587: 197-213.
10. Gururaj AE, Belakavadi M, Venkatesh DA, Marme D, Salimath BP. Molecular mechanisms of anti-angiogenic effect of curcumin. Biochem Biophysic Res Commun. 2002; 297: 934-942.
11. Hatcher H, Cho RP, Torti FM, Torti SV. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trial. Cell Mell Life Sci. 2008; 65: 1631-1652.
12. Goel A, Aggarwal B. Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. Nutr Cancer. 2010; 72: 919-930.
13. Oka Y, Naomoto Y, Yasouka Y, Hatano H, Haisa M, Tanaka N, et al. Apoptosis in cultured human colon cancer cells indused by combined treatments with 5 fluorouracil, tumor necrosis factor alpha and interferon alpha. Jpn J Clin Oncol. 1997; 27(4): 231-235.
14. Song G, Mao YB, Cai QF, Yao LM, Ouyang GL, Bao SD. Cuecumin induces human HT_29 colon adenocarcinoma cell apoptosis by activing P53 and regulating apoptosis related protein expression. Brazilian J Med Biol Res. 2005; 38: 1791-1798.
15. Jonson J, Mukhtar H. Curcumin for chemoprevention of colon cancer. Cancer Letters. 2007; 255: 170-181.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

16. Jhnson S, Gulhati P, Arrleta I, Wang X, Uchida T, Gao T, et al. Curcumin inhibits proliferatiom of colorectal carcinoma by modulatig AKT/Mtor signaling. Anticancer Res. 2009; 29: 3185-3190.
17. Reuter S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal B, Diedrrich M. Modulation of anti-apoptotic and survival pathway by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells. Biochem Pharmacol. 2008; 76: 1340-1351.
18. Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. Cancer Letters. 2008; 269(2): 199-225.
19. Lev-Ari S, Strier L, Kazanov D, Madar-Shapiro L, Dvory-Sobol H, Pinchuk I, et al. Celecoxib and curcumin synergistically inhibit the growth of colorectal cancer cells. Clin Cancer Res. 2005; 11(18): 6738-6744.
20. Goel A, Boland CR, Chauhan DP. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by dietary curcumin in HT-29 human colon cancer cells. Cancer letters. 2001; 172(2): 111-118.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]

CytotoxicEffect of Curcumin on Proliferation of HT_29 Cell Line

Nabiuni M*[*1,2],Kouchesfahanii H[3],Azari S[4],Delfan B[5]

1.Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, Iran. nabiuni@khu.ac.ir

2. Associate Professor,Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, KharazmiUniversity, Tehran, Iran.

3.Associate Professor,Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, KharazmiUniversity, Tehran, Iran.

4.MSc of Cell Development , Department ofCell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, KharazmiUniversity, Tehran, Iran.

5. Associate Professor,Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, Iran.

Received:*10 April 2017* **Accepted:** *2 May 2017*

Abstract

Background:Digestive system is the most common type of cancer in Iran with 38 percent of the cases.The risk of this cancer is influenced by both environmental and genetic factors. Curcumin is kind of phytochemicals which is important in chemoprevention strategy, in order to slow, block, or reverse the process of carcinogenesis.Researchhave shown that the possible role of curcumin to prevent or delay the diagnosis of colorectal cancer. In this research the effect of curcumin on proliferation of HT_29 cancerous cells were assayed.

Materials and Methods:In this experimental research HT_29 cell line were cultured in DMEM medium containing 10% FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco, Invitrogen) and 100 U/ml penicillin and 100mg/ml streptomycin. Different concentrations of curcumin on the growth of HT_29 cells were determined by MTT assay and the type of death induced was assessed by DAPI staining method.All experiments were done three times and data were analyzed byone –way ANOVA test and Instate 3 software.

Results:The cell growth-inhibiting rate was about 53% at 50µM curcumin concentration after 24h of treatment(IC50). Vacuolation and significant decrease of cells were observed after 72h of treatment. Moreover, induction of apoptosis was observed with the DAPI staining method.

Conclusion:According to molecular mechanisms of cell proliferation and curcumin ability in the induction of pro_apoptotic proteins and the inhibition of anti_apoptotic proteins as well as inhibition of as survival pathways,like NF_KB and AKT, this predisposition makes curcumin a good anticancer drug.

Keywords:Curcumin,Colon cancer,HT_29 cancer cell line, Proliferation.

****Citation:***Nabiuni M, Kouchesfahanii H, Azari S, Delfan B. Cytotoxic Effect of Curcumin on Proliferation of HT_29 Cell Line. Yafte. 2017; 19(2): 9-17.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-10-31]