Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Silymarin Effect on Mitophagy Pathway in the Human Colon Cancer HT-29 Cells

Layasadat Khorsandi[1,2*], Maryam Membini[2], Ghasem Saki[2], Neda Bavarsad[3]

[1] Cellular and Molecular Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[2] Dept of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[3] Nanotechnology Research Center, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 02 January 2022
Revised: 17 March 2022
Accepted: 10 April 2022
Published Online: 23 November 2022

**** Correspondence to:***
Layasadat Khorsandi
Cellular and Molecular Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Email:
Khorsandi_cmrc@yahoo.com

A B S T R A C T

Introduction: The anti-cancer effects of silymarin have been reported in several studies. However, the mechanism of its action in colon cancer cells is not well understood. This study aimed to investigate the effect of silymarin on the mitophagy pathway and the formation of reactive oxygen species (ROS) in human colon cancer cells (HT-29).

Material & Methods: HT-29 cancer cells and NIH-3T3 non-cancer cells were exposed to 0 (control), 25, 50, and 100 µg/ml of silymarin for 48 h. Cell viability, ROS level, mitochondrial membrane potential (MMP), and expression of important mitophagy-related genes including Pink1 (*PTEN*-induced putative kinase protein 1) and Parkin were examined to evaluate the effects of silymarin.
(Ethic code: IR. AJUMS. CMRC-9503)

Findings: Silymarin significantly reduced the viability percentage of the HT-29 cells depending on the concentration ($P<0.05$). It also significantly decreased MMP in a concentration-dependent manner while significantly increased ROS formation in the HT-29 cells ($P<0.05$). In addition, silymarin significantly increased the expression of Pink1 and Parkin genes in a concentration-dependent manner ($P<0.05$). Concentration of 100 µg/ml of silymarin had the greatest effect on reducing viability and MMP, as well as increasing ROS levels and expression of mitophagy-related genes ($P<0.001$). Silymarin did not cause significant changes in the viability percentage, ROS level, and MMP of the NIH-3T3 non-cancerous cells at different concentrations.

Discussion & Conclusion: According to the results, silymarin increases the level of ROS by decreasing MMP, thereby inducing mitophagy through the Pink1/Parkin signaling pathway in the HT-29 cells.

Keywords: Colon cancer, Mitochondria, Mitophagy, Silymarin

➢ **How to cite this paper**

Khorsandi L, Membini M, Saki Gh, Bavarsad N. Silymarin Effect on Mitophagy Pathway in the Human Colon Cancer HT-29 Cells. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;30(5): 14-23.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
JIUMS
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

اثر سیلیمارین بر مسیر میتوفاژی در سلول‌های سرطانی کولون انسانی HT-29

لعیاسادات خرسندی[۱،۲*]، مریم ممبینی[۲]، قاسم ساکی[۲]، ندا باورصاد[۳]

[۱] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
[۲] گروه علوم تشریحی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
[۳] مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱
تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۰۲

نویسنده مسئول:
لعیا سادات خرسندی
مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.

Email:
Khorsandi_cmrc@yahoo.com

چکیده

مقدمه: آثار ضدسرطانی سیلیمارین در مطالعات متعددی گزارش‌شده است. با وجود این، سازوکار اثر آن در سلول‌های سرطانی کولون به‌درستی شناخته‌نشده است. در این مطالعه اثر سیلیمارین بر مسیر میتوفاژی و ایجاد گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS) در سلول‌های سرطانی کولون انسانی (HT-29) بررسی‌شده است.

مواد و روش ها: سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های غیرسرطانی NIH-3T3 به مدت ۴۸ ساعت در معرض غلظت‌های ۰ (کنترل)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سیلیمارین قرار گرفتند. درصد زنده‌مانی سلول‌ها، سطح ROS، پتانسیل غشای میتوکندری (MMP) و بیان ژن‌های مهم مسیر میتوفاژی شامل Pink1 (*PTEN*-induced putative kinase protein 1) و Parkin برای ارزیابی آثار سیلیمارین بررسی گردید.

یافته‌ها: سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت، درصد زنده‌مانی سلول‌های HT-29 را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P<0.05$)؛ همچنین سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت، سبب کاهش معنی‌داری MMP شد، درحالی‌که تشکیل ROS را در سلول‌های HT-29 به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P<0.05$). علاوه بر این، سیلیمارین بیان ژن‌های Pink1 و Parkin را به‌طور معنی‌داری و به‌صورت وابسته به غلظت افزایش داد ($P<0.05$). غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سیلیمارین بیشترین تأثیر را در کاهش درصد زنده‌مانی و MMP و همچنین افزایش سطح ROS و بیان ژن‌های مرتبط با میتوفاژی داشت ($P<0.001$). سیلیمارین در غلظت‌های مختلف تغییر معنی‌داری در درصد زنده‌مانی، سطح ROS و MMP در سلول‌های غیرسرطانی NIH-3T3 ایجاد نکرد.

بحث و نتیجه‌گیری: داده‌های این مطالعه نشان می‌دهند که سیلیمارین احتمالاً با کاهش MMP، سبب افزایش سطح ROS و درنتیجه، القای میتوفاژی از طریق مسیر سیگنالینگ Parkin / Pink1 در سلول‌های HT-29 می‌شود.

واژه‌های کلیدی: میتوفاژی، سرطان کولون، میتوکندری، سیلیمارین

استناد: خرسندی، لعیا سادات؛ .ممبینی، مریم؛ ساکی، قاسم؛ باورصاد، ندا. اثر سیلیمارین بر مسیر میتوفاژی در سلول‌های سرطانی کولون انسانی HT-29. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دی ۱۴۰۱؛۳۰(۵): ۲۵-۱۴.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

CC BY NC

مقدمه

سرطان کولون دومین سرطان رایج جهان است و میزان مرگ‌ومیر ناشی از آن سالانه بیش از ۲ درصد است (۲، ۱). روش‌های درمانی مختلفی برای درمان سرطان‌ها به‌کار می رود که معمولاً با آثار جانبی نامطلوب همراه است و غالباً پاسخ به درمان در این بیماران بسیار ضعیف است؛ بنابراین، تولید داروهایی با عوارض جانبی کمتر و کارایی بیشتر لازم و ضروری است. مشخص‌شده است که مواد بیواکتیو موجود در گیاهان آثار فارماکولوژیکی متعددی ازجمله اثر ضدسرطانی دارند (۳). سیلیمارین از خانوادهٔ فلاونوئیدها است که نقش آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی دارد و عامل محافظت کبدی است. سیلیمارین در میوهٔ خشک گیاه خار شیر (بوتهٔ خار مریم) یا کنگر فرنگی وحشی یافت می شود (۴). فعالیت ضدسرطانی سیلیمارین و مشتقات آن در سلول‌های سرطانی کولورکتال، پستان، ریه و پروستات انسان نشان داده‌شده است (۸-۵). فعالیت ضدسرطانی سیلیمارین در هر دو شرایط برون‌تنی و درون‌تنی در سرطان کولون گزارش‌شده است (۱۰، ۹).

مؤثر بودن یک ترکیب ضدسرطانی به توانایی آن در فعال کردن فرایندهای منتهی به مرگ سلولی بستگی دارد (۲، ۱۱). در مطالعهٔ پیشین نشان دادیم که سیلیمارین مسیرهای مرگ سلولی نکروز و آپوپتوز و همچنین اتوفاژی را در سلول‌های سرطانی کولون درگیر می کند (۱۲). مطالعهٔ حاضر بر نقش سیلیمارین در مسیر میتوفاژی در سلول‌های سرطانی کولون (HT-29) متمرکز شده است.

میتوفاژی یک تخریب انتخابی و هدف‌دار میتوکندری‌ها است که در اصل نوعی اتوفاژی به‌شمار می‌آید و هنگامی اتفاق می‌افتد که در اثر استرس یا تخریبی، میتوکندری دچار نقص شود. میتوفاژی به‌وسیلهٔ دو پروتئین Pink1 (*PTEN*-induced putative kinase protein 1) و Parkin تنظیم می‌گردد. Parkin یک ژن مرتبط با بیماری ارثی مغلوب پارکینسون است که به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیومارکرهای میتوفاژی شناخته می شود. آسیب میتوکندری سبب افزایش تدریجی Parkin می‌گردد و باعث قطعه‌قطعه شدن میتوکندری و تشکیل اتوفاگوزوم‌ها و درنهایت، تجزیهٔ میتوکندری توسط لیزوزوم می شود.Pink1 یکی دیگر از بیومارکرهای مهم میتوفاژی است که با پارکینسون ارثی و ناهنجاری‌های نورولوژیکی ارتباط دارد. مطالعات نشان می‌دهند که Pink1 پروتئین Parkin را برای میتوکندری با عملکرد بد به‌کار می‌گیرد و پارکین حذف میتوکندری به‌وسیلهٔ میتوفاژی را ترغیب می‌کند (۱۶-۱۳).

ROS(گونه های فعال اکسیژن) به‌وسیلهٔ میتوکندری‌های آسیب‌دیده تولید می‌گردد که ممکن است میتوفاژی را القا کند که متعاقباً باعث حذف این اندامک می شود. مشخص‌شده است که منشأ ایجاد ROSاز دست دادن پتانسیل غشای میتوکندری (MMP) است که به‌عنوان عامل محرک میتوفاژی عمل می کند (۱۷). در این مطالعه اثر سیلیمارین بر میزان تشکیل ROS، MMP و بیان دو ژن مهم مرتبط با میتوفاژی در رده سلولی آنوکارسینومای کولون انسانی (HT-29) بررسی‌شده است.

مواد و روش ها

کشت سلول و گروه‌های پژوهش: در این مطالعه از رده سلولی HT-29 که یک رده سرطانی کولون انسانی است و سلول‌های غیرسرطانی NIH-3T3 استفاده‌شده است. این سلول‌ها از انستیتو پاستور (تهران، ایران) خریداری شدند. این مطالعه با کد اخلاق IR.AJUMS.CMRC-9503 مصوب دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز انجام شده است. سلول‌ها در محیط RPMI حاوی سرم جنین گاوی (FBS) ۱۰

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

جدول شمارهٔ ۱. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در این مطالعه

نام پرایمر	توالی ژن
GAPDH	رفت′5-GCAAGAGCACAAGAGGAAGA-3′ برگشت′5-ACTGTGAGGAGGGGAGATTC-3′
Parkin	رفت′5-CTGGAAGTCCAGCAGGTAGAT-3′ برگشت′5-TCATCCCAGCAAGATGGACC-3
Pink1	رفت′5-CAAGGTCGGGSAGGAAGAG-3′ برگشت′5-TAATACGACTCACTATAGGG-3

درصد، L-گلوتامین (۲ میلی‌مولار)، ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور با شرایط ۵ درصد دی‌اکسید کربن، ۹۵ درصد رطوبت و دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد کشت گردیدند (۱۸). سلول‌های HT-29 با غلظت‌های مختلف سیلیمارین به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، برای به‌دست آوردن مؤثرترین غلظت و زمان تیمار، به‌صورت پایلوت از طریق تست MTT آزمایش شدند (جدول شمارهٔ ۱). پس از مشخص شدن غلظت‌های مؤثر و مدت‌زمان مطلوب، گروه‌های زیر تشکیل گردیدند:

گروه کنترل: تنها RPMI (محیط کشت) به مدت ۴۸ ساعت دریافت کرد؛ گروه‌های آزمایش: سیلیمارین را با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (SM25، SM50 و SM100) به مدت ۴۸ ساعت دریافت نمودند.

آزمایش MTT: به‌طور خلاصه، سلول‌ها درون پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند و روی سطح هرکدام از خانه‌ها ۱ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FBS افزوده گردید و در گروه‌های مختلف پس از تیمار، ۵۰ ماکرولیتر محلول MTT روی سلول‌ها ریخته شد و پس از ۴ ساعت، ۱۰۰ ماکرولیتر دی‌سولفید سدیم اضافه گردید و درنهایت، جذب محلول مدنظر با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد.

بررسی میزان بیان ژن با استفاده از تکنیک Real Time-PCR: ابتدا RNA توسط Rneasy mini kit از شرکت کیاژن استخراج و در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد ذخیره گردید؛ سپس cDNA با استفاده از کیت Reverst Aid First Standard cDNA ساخته شد. واکنش PCR با استفاده از master mix و SYBR Green صورت گرفت. توالی پرایمرها در جدول شمارهٔ ۲ آمده است. در این پژوهش، ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شد و آنالیز داده‌ها با استفاده از فرمول ΔΔct انجام گردید.

اندازه‌گیری میزان تشکیل ROS: برای اندازه‌گیری مقدار ROS از معرف ۲-۷ دی‌کلرو فلورسین دی‌استات استفاده شد. به‌طور خلاصه، پس از سانتریفوژ سوسپانسیون سلولی، به رسوب حاصل محلول تازه تهیه‌شدهٔ دی‌کلرو فلورسین دی‌استات اضافه گردید و پس از مخلوط کردن ملایم به مدت ۱۵ دقیقه، در حمام آب با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد؛ سپس میزان تشکیل ROS با دستگاه اسپکتروفلوریمتر بر اساس واحد شدت فلورسنس اندازه‌گیری گردید. طول‌موج‌های Excitation و Emission به‌ترتیب ۵۰۰ نانومتر و ۵۲۰ نانومتر بودند.

جداسازی میتوکندری: سلول‌ها پس از تیمار، با ۵ میلی‌لیتر محلول ایزولاسیون به مدت ۲۰ دقیقه روی یخ تیمار شدند. محلول ایزولاسیون شامل ۲۵۰ میلی‌مولار سوکروز حاوی ۲۰ میلی‌مولار HEPES-KOH (pH: 7.5)، کلرید پتاسیم (۱۰ میلی‌مولار)، کلرید منیزیم (۱/۵

جدول شمارهٔ ۲. نتایج بررسی درصد زنده‌مانی، سطح ROS و MMP در سلول‌های غیرسرطانی NIH-3T3

گروه‌ها	درصد زنده‌مانی	میزان ROS	MMP
کنترل	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰
SM25	۱۰۰/۱±۰/۰۰	۹۹/۸±۰/۲۱	۹۹/۷±۰/۳۲
SM50	۹۸/۸±۱/۳۷	۹۹/۴±۰/۶۷	۱۰۰/۲±۰/۵۱
SM100	۹۹/۵±۲/۴۶	۱۰۰/۲±۰/۸۵	۹۹/۳±۰/۹۳

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده‌شده‌اند. همه آزمایش‌ها به‌صورت ۵ بار تکرار انجام‌شده‌اند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

میلی‌مولار)، EDTA (۱ میلی‌مولار) و EGTA (۱ میلی‌مولار) است؛ سپس سلول‌ها هموژنیزه گردیدند و پس از آن، با دور ۷۵۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول رویی مجدداً در دور ۱۲۰۰۰ برای ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و درنهایت، رسوب سلولی حاصل در PBS به‌صورت سوسپانسیون استفاده شد.

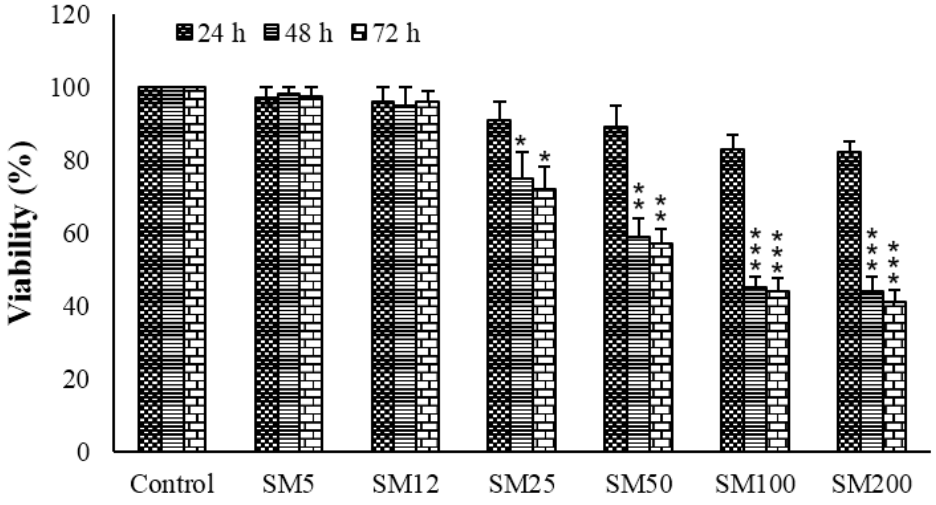
اندازه‌گیری پتانسیل غشای میتوکندری: برای این کار، سوسپانسیون میتوکندری سانتریفوژ گردید و سوپرناتانت دور ریخته شد؛ سپس محلول رودامین-۱۲۳ به رسوب اضافه گردید. سوسپانسیون به‌دست‌آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. شدت فلورسانس در طول‌موج‌های Excitation و Emission به‌ترتیب ۴۹۰ nm و ۵۳۵ nm توسط اسپکتروفلوریمتر اندازه‌گیری گردید. تفاوت میان شدت فلورسانس نمونه و کنترل بیانگر میزان آسیب میتوکندری است.

آنالیز آماری: در این مطالعه، برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS vol.21 استفاده شد. مقایسهٔ میانگین داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون LSD صورت گرفت. در صورت عدم نرمالیتی، از آزمون Kruskal-Wallis استفاده گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

تأثیر سیلیمارین بر درصد زنده مانی سلول‌ها: نتایج آزمون MTT نشان داد که سیلیمارین در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری و به‌صورت وابسته به غلظت، در مدت ۴۸ ساعت، درصد زنده مانی سلول‌های HT-29 را کاهش می دهد. تفاوت معنی‌داری میان غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم وجود نداشت (شکل شمارهٔ ۱)؛ به همین علت، در این مطالعه برای بررسی آثار سیلیمارین از غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. سیلیمارین در غلظت‌های استفاده‌شده تغییر معنی‌داری بر درصد زنده مانی سلول‌های غیرسرطانی NIH-3T3 ایجاد نکرد (جدول شمارهٔ ۲).

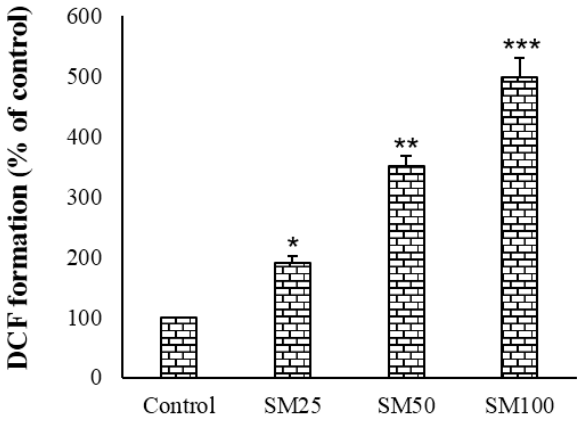
اندازه‌گیری سطح ROS: سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت و به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تشکیل ROS در سلول‌های سرطانی HT-29 شده بود. همان‌طور که در شکل شمارهٔ ۲ نمایش داده‌شده است، با افزایش غلظت



شکل شمارهٔ ۱. بررسی درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی HT-29 در گروه‌های مختلف. مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند. همهٔ آزمایش‌ها به‌صورت ۵ بار تکرار انجام گرفته‌اند.

*P<0.05؛ **P<0.01؛ ***P<0.001

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]



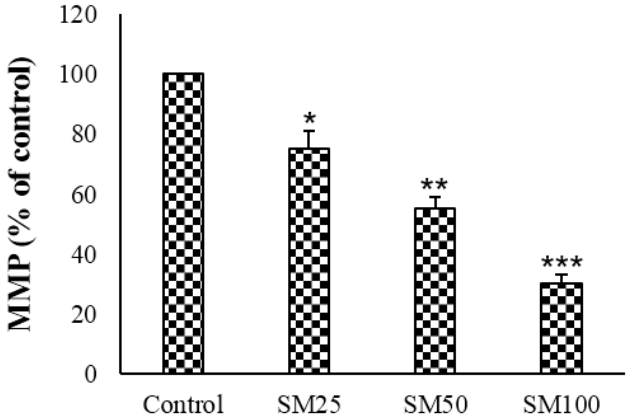
شکل شمارهٔ ۲. بررسی میزان تشکیل ROS در سلول‌های سرطانی HT-29 در گروه‌های مختلف. مقادیر به‌صورت میانگین ±انحراف معیار نشان داده‌شده‌اند. همهٔ آزمایش‌ها به‌صورت ۵ بار تکرار انجام گرفته‌اند.

*P<0.05؛ **P<0.01؛ ***P<0.001

سیلیمارین، میزان ROS نیز افزایش‌یافته بود. سیلیمارین در غلظت‌های مختلف تغییر معنی‌داری در میزان تشکیل ROS در سلول‌های سالم NIH-3T3 ایجاد نکرد (جدول شمارهٔ ۲).

تأثیر سیلیمارین بر MMP: سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت و به‌طور معنی‌داری سبب کاهش MMP در سلول‌های سرطانی HT-29 نسبت به گروه کنترل‌شده بود. با افزایش غلظت سیلیمارین، میزان MMP کاهش نشان داد. نتایج اندازه‌گیری MMP در شکل شمارهٔ ۳ نمایش داده‌شده است. سیلیمارین در غلظت‌های مختلف تغییر معنی‌داری در MMP در سلول‌های سالم NIH-3T3 نشان نداد (جدول شمارهٔ ۲).

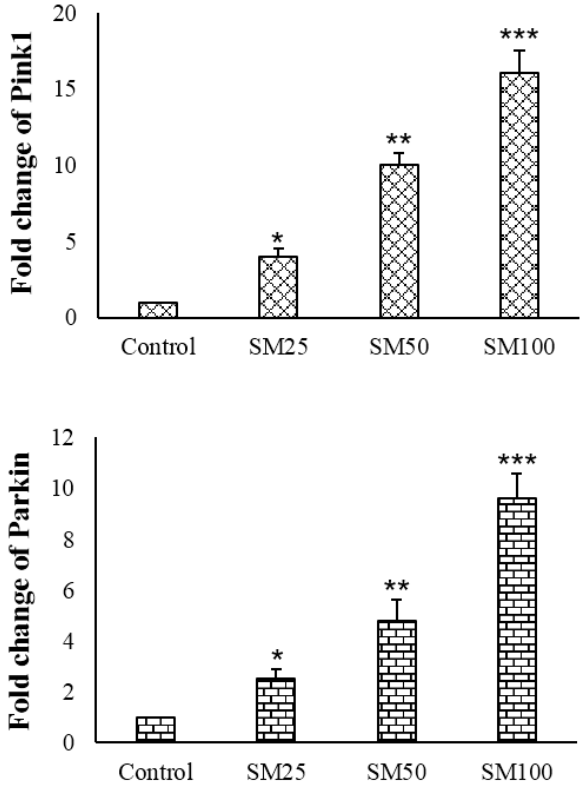
تأثیر سیلیمارین بر بیان ژن‌های مرتبط با میتوفاژی: سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت و به‌طور معنی‌داری بیان ژن Pink1 را در سلول‌های سرطانی HT-29 افزایش داد. با افزایش غلظت سیلیمارین، بیان ژن Pink1 نیز افزایش یافت. این افزایش بیان ژن در گروه‌های SM25، SM50 و SM100 به‌ترتیب ۴/۳، ۱۰/۲ و ۱۶/۷ برابر بیشتر از گروه کنترل بود (شکل شمارهٔ ۴).



شکل شمارهٔ ۳. بررسی MMP در سلول‌های سرطانی HT-29 در گروه‌های مختلف. مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده‌شده‌اند. همهٔ آزمایش‌ها به‌صورت ۵ بار تکرار انجام گرفته‌اند.

*P<0.05؛ **P<0.01؛ ***P<0.001

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]



شکل شمارهٔ ٤. بررسی بیان ژن‌های میتوفاژی در سلول‌های سرطانی HT-29 در گروه‌های مختلف. مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده‌شده‌اند. همهٔ آزمایش‌ها به‌صورت ۵ بار تکرار انجام گرفته‌اند.

***P<0.001 ؛**P<0.01 ؛*P<0.05

سیلیمارین همچنین به‌صورت وابسته به غلظت و به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیان ژن Parkin در سلول‌های سرطانی HT-29 شده بود. افزایش بیان ژن Parkin در گروه‌های SM25، SM50 و SM100 به‌ترتیب ۲/۵، ۴/۸ و ۹/۶ برابر بیشتر از گروه کنترل بود (شکل شمارهٔ ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر نشان داد که سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت، درصد زنده مانی سلول‌های سرطانی کولون را کاهش می دهد. این یافته با مطالعات پیشین همسو است که آثار ضدسرطانی سیلیمارین را در سرطان کولون و سایر سرطان‌ها نشان داده‌اند (۱۹، ۱۳). هانگ و همکارانش نشان دادند که سیلیبینین (silibinin؛ از مشتقات سیلیمارین) رشد تعدادی از رده‌های سلولی سرطان کولون مانند Fet، Geo و HCT-116 را مهار می کند (۱۹).

کاهش زنده مانی سلول‌های سرطانی کولون می تواند ناشی از آثار آپوپتوزی سیلیمارین باشد. لیو و همکارانش (۲۰۱۱) آثار مهاری سیلیمارین در سلول‌های Anip973 سرطان ریه را مطالعه کردند و دریافتند که سیلیمارین آثار مهاری بر تکثیر سلول‌های Anpi973 دارد و سبب آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شود (۲۰). کیم و همکاران گزارش کردند که سیلیمارین با القای آپوپتوز، سبب کاهش رشد سلول‌های سرطانی معدهٔ انسان (AGS) می‌گردد (۲۱). در مطالعهٔ دیگری مشخص شد که سیلیمارین باعث القای آپوپتوز در سلول‌های RVL ۲۲ و LNcaP سرطان پروستات می‌شود (۹). آثار آپوپتوزی سیلیبینین در سلول‌های سرطانی پروستات (RT-4)، پستان (MCF-7) و هپاتومای انسانی (HuH7) نیز گزارش‌شده است (۲۳، ۲۲، ۹).

علاوه بر آپوپتوز، سایر مسیرهای سیگنالینگ مرگ سلولی ممکن است توسط سیلیمارین فعال گردند. در

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

مطالعهٔ پیشین نشان دادیم که سیلیمارین از طریق درگیر کردن مسیرهای آپوپتوزی، نکروزی و اتوفاژی، مانع رشد سلول‌های HT-29 می‌شود (۱۲). در این مطالعه برای مشخص کردن درگیری سایر مسیرهای مرگ سلولی، بر مسیر میتوفاژی تمرکز شده است. همان‌طور که در نتایج نشان داده شد، سیلیمارین به‌صورت وابسته به غلظت، باعث افزایش بیان ژن‌های کلیدی میتوفاژی Parkin و Pink1 می‌گردد. اختلال در بیان پروتئین Pink1 تومورزایی رودهٔ بزرگ را در دو مدل موشی سرطان کولون مرتبط با کولیت افزایش داد که نشان می‌دهد Pink1 به‌عنوان سرکوبگر تومور در سرطان کولون عمل می‌کند (۲۴). مشخص‌شده است که حذف Parkin در رابطه با پیشرفت تومورهای پستان، کولون و کبد است (۲۷-۲۵).

برخلاف نتایج این مطالعه، بعضی از تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که Pink1 ممکن است با تومورزایی و پیشرفت سرطان ریه همراه باشد (۲۸).

موراتا و همکاران گزارش کردند که بیان بیش‌ازحد Pink1 باعث افزایش مقاومت در برابر داروهای شیمی‌درمانی در سلول‌های نوروبلاستوما و سلول‌های سرطانی پروستات می شود (۲۹). در موش‌هایی که ژن Parkin آن‌ها خاموش شده است، رشد سلول‌های کارسینومای کبدی افزایش می یابد (۳۰)؛ اما در سلول های گلیوبلاستوما خاموش شدن ژن Parkin سبب توقف رشد این سلول‌ها می گردد (۳۱)؛ بنابراین، به‌نظر می رسد که تأثیر فرایند میتوفاژی در مهار یا پیشرفت سرطان، به نوع سرطان بستگی داشته باشد (۳۲).

در مطالعهٔ حاضر، افزایش بیان ژن‌های Parkin و Pink1 با افزایش تشکیل ROS و کاهش MMP در سلول‌های سرطان کولون همراه بود. همسو با این یافته، در یک مطالعه مشخص شد که سیلیمارین با کاهش MMP در سلول‌های سرطانی کبد، باعث افزایش مرگ این سلول‌ها می‌شود (۳۳)

هنگامی‌که Pink1 به دنبال کاهش MMP روی غشای خارجی میتوکندری جمع می‌گردد، تحت فعال‌سازی مجدد قرار می‌گیرد و Parkin را به‌کار می‌گیرد که به‌نوبهٔ خود، با چندین پروتئین واقع در غشای خارجی میتوکندری تعامل می‌کند و فرایند میتوفاژی را شروع می‌نماید (۱۶-۱۳).

در مطالعهٔ ژانگ و همکارانش مشخص شد که سیلیمارین در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم باعث افزایش سطح ROS در سلول‌های کارسینومای کبدی انسانی HepG2 می‌شود (۳۴). در مطالعهٔ دیگری نشان داده شد که سیلیبینین باعث مرگ سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-231 و MCF7 و سلول‌های سرطانی کولون HT-29 از طریق افزایش سطح ROS در این سلول‌ها می گردد (۳۵)

نتایج این مطالعه نشان می دهد که سیلیمارین با کاهش MMP، سبب افزایش سطح ROS و درنتیجه، القای میتوفاژی در سلول‌های HT-29 می شود. افزایش بیان ژن‌های Pink1 و Parkin درستی این ادعا را اثبات می کند. مطالعات بیشتری در آینده باید صورت بگیرد تا تعامل میان مسیرهای مختلف مرگ سلولی ناشی از سیلیمارین در سرطان کولون مشخص گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد خانم مریم ممبینی در دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز است. این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز با کد CMRC-9503 انجام‌شده است. بدین وسیله از همه کسانی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند تشکر و قدردانی می گردد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچگونه تعارض منافعی با همدیگر ندارند.

کد اخلاق: IR. AJUMS. CMRC-9503

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

References

1. Ochoa-Hernandez A, Giron K, Meier J, Charchalac AP. Current options in the management of colorectal cancer in developing countries: Central America Experience. Curr Colorectal Cancer Rep 2020;16:49-54. doi: 10.1007/s11888-020-00452-5
2. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. Prz Gastroenterol 2019; 14:89-103. doi: 10.5114/pg.2018.81072
3. Fattahi S, Ardekani AM, Zabihi E, Abedian Z, Mostafazadeh A, Pourbagher R, et al. Antioxidant and apoptotic effects of an aqueous extract of Urtica dioica on the MCF-7 human breast cancer cell line. Asian Pac J Cancer Prev 2013; 14:5317-23. doi: 10.7314/apjcp.2013.14.9.5317.
4. Agarwal R, Agarwal C, Ichikawa H, Singh RP, Aggarwal BB. Anticancer potential of silymarin: from bench to bed side. Anticancer Res 2006; 26:4457-98.
5. Eo HJ, Park GH, Jeong JB. Inhibition of Wnt signaling by silymarin in human colorectal cancer cells. Biomol Ther 2016;24:380-386. doi: 10.4062/biomolther.2015.154.
6. Hajighasemlou S, Farajollahi M, Alebouyeh M, Rastegar H, Manazi MT, Mirmoghtadaei M, et al. Study of the effect of silymarin on viability of breast cancer cell lines. Adv Breast Cancer Res 2014; 3:100-105. doi: 10.4236/abcr.2014.33015.
7. Wu T, Liu W, Guo W, Zhu X. Silymarin suppressed lung cancer growth in mice via inhibiting myeloid-derived suppressor cells. Biomed Pharmacother 2016; 81:460-467.doi: 10.1016/j.biopha.2016.04.039.
8. Deep G, Singh RP, Agarwal C, Kroll DJ, Agarwal R. Silymarin and silibinin cause G1 and G2-M cell cycle arrest via distinct circuitries in human prostate cancer PC3 cells: A comparison of flavanone silibinin with flavanolignan mixture silymarin. Oncogene 2006; 25:1053-69. doi: 10.1038/sj.onc.1209146.
9. Ramasamy K, Agarwal R. Multitargeted therapy of cancer by silymarin. Cancer Lett 2008; 269:352-62. doi: 10.1016/j.canlet.2008.03.053.
10. Singh RP, Agarwal R. Prostate cancer: Chemoprevention by silibinin, Bench to bedside. Mol Carcinogenesis 2006; 45: 436-42. doi: 10.1002/mc.20223.
11. Basciani S, Vona R., Matarrese P, Ascione B, Mariani S, Cauda R, et al. Imatinib interferes with survival of multi drug resistant Kaposi's sarcoma cells. FEBS Lett 2007; 581:5897-903. doi: 10.1016/j.febslet.2007.11.069.
12. Khorsandi L, Saki G, Bavarsad N, Mombeini M. Silymarin induces a multi-targeted cell death process in the human colon cancer cell line HT-29. Biomed Pharmacother 2017; 94: 890-97. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.015.
13. Narendra D. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. J Cell Biol 2008; 183: 795-803. doi: 10.1083/jcb.200809125.
14. Narendra DP. PINK1is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. PLos Biol 2010; 8: e1000298. doi: 10.1371/journal.pbio.1000298.
15. Vives-Bauza C. PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107: 378-83. doi: 10.1073/pnas.0911187107.
16. Zhu J, Wang KZ , Chu CT. After the banquet: mitochondrial biogenesis, mitophagy, and cell survival. Autophagy 2013; 9: 1663-76. doi: 10.4161/auto.24135.
17. Kubli DA , Gustafsson AB. Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control. Circ Res 2012; 111: 1208-21. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.265819.
18. Banitalebidehkordi M, Ziajahromi N, Sazgar H. Study the effect of Eugenol on CASP8 and CASP9 gnes expression in colon cancer cell lines HT-29. J Ilam Uni Med Sci 2019; 27: 85-96. doi: 10.29252/sjimu.27.5.85
19. Hogan FS, Krishnegowda NK, Mikhailova M, Kahlenberg MS. Flavonoid silibinin inhibits and promotes cell-cycle arrest of human colon cancer. J Surg Res 2007; 143: 58-65. doi: 10.1016/j.jss.2007.03.080.
20. Li W, Mu DG, Song L, Zhang J, Liang J, Wang C, et al. Molecular mechanism of silymarin-induced apoptosisin a highly metastatic lung cancer cell line anip973. Cancer Biother Radiopharm 2011; 26: 317-24. doi: 10.1089/ cbr.2010.0892.
21. Kim SH, Choo GS, Yoo ES, Woo JS, Han SH, Lee JH, et al. Silymarin induces inhibition of growth and apoptosis through modulation of the MAPK signaling pathway in AGS human gastric cancer cells. Oncol Rep 2019; 42: 1904-14. doi: 10.3892/or.2019.7295.
22. Tyagi A, Singh RP, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin activates. p53-caspase 2 pathway and causes caspase mediated cleavage of Cip1/p21 in apoptosis induction in bladder treatment cell papilloma RT4 cells: Evidence for regulatory loop between p53 and caspase 2. Carcinogenesis 2006; 27: 2269-80. doi: 10.1093/carcin/bgl098.
23. Noh EM, Yi MS, Youn HJ, Lee BK, Lee YR, Han JH et al. Silibinin enhances Ultraviolet-B Induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. J Breast Cancer 2011; 14: 8-13. doi: 10.4048/jbc.2011.14.1.8.
24. Yin K, Lee J, Liu Z, Kim H, Martin DR, Wu D, et al. Mitophagy protein PINK1 suppresses colon tumor growth by metabolic reprogramming via p53 activation and reducing acetyl-CoA production. Cell Death Differ 2021; 28: 2421-35. doi: 10.1038/s41418-021-00760-9.
25. Okatsu K, Oka T, Iguchi M. PINK1 autophosphorylation upon membrane potential dissipation is essential for Parkin recruitment to damaged mitochondria. Nature Communication 2012; 3:1-3. doi: 10.1038/ncomms2016.
26. Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, Rojo M, Schapira AHV, Taanman JW. Mitofusin 1 and mitofusin 2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. Human Molecular Genetics 2010; 19: 4861-70. doi: 10.1093/hmg/ddq419.
27. Pryde KR, Smith HL, Chau KY, Schapira AHV.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]

PINK1 disables the anti-fission machinery to segregate damaged mitochondria for mitophagy. J Cell Biol 2016: 213: 163-71. doi: 10.1083/jcb. 201509003.
28. Lu X, Liu QX, Zhang J, Zhou D, Yang GX, Li MY, et al. PINK1 overexpression promotes cell migration and proliferation via regulation of autophagy and predicts a poor prognosis in lung cancer cases. Cancer Manag Res 2020; 12: 7703-14. doi: 10.2147/CMAR.S262466
29. Murata H, Sakaguchi M, Jin Y. A new cytosolic pathway from a Parkinson disease-associated kinase, BRPK/PINK1: activation of AKT via mTORC2. J Biol Chem 2011; 286:7182. doi: 10.1074/jbc.M110.179390.
30. Fujiwara M, Marusawa H, Wang HQ. Parkin as a tumor suppressor gene for hepatocellular carcinoma. Oncogene 2008; 27: 6002-11. doi: 10.1038/onc.2008.199
31. Unoki M, Nakamura Y. Growth-suppressive effects of BPOZ and EGR2, two genes involved in the PTEN signaling pathway. Oncogene 2001; 20: 4457-65. doi: 10.1038/sj.onc.1204608.
32. Vernucci E, Tomino C, Molinari F, Limongi D, Aventaggiato M, Sansone L, et al. Mitophagy and oxidative stress in cancer and aging: focus on sirtuins and nanomaterials. Oxid Med Cell Longev 2019; 2019:6357-87. doi: 10.1155/2019/ 6387357
33. Ramakrishnan G, Lo Muzio L, Elinos-Báez CM, S, Augustine TA, Kamaraj S, et al.Silymarin inhibited proliferation and induced apoptosis in hepatic cancer cells. Cell Prolif 2009; 42: 229-240. doi: 10.1111/j.1365-2184.2008. 00581. x.
34. Zhang S, Yang Y, Liang Z, Duan W, Yang J, Yan J, et al. Silybin-mediated inhibition of notch signaling exerts antitumor activity in human hepatocellular carcinoma cells. PLoS One 2013; 8: e83699. doi: 10.1371/journal.pone.0083699.
35. Kim TH, Woo JS, Kim YK, Kim KH. Silibinin induces cell death through reactive oxygen species-dependent downregulation of notch-1/ERK/Akt signaling in human breast cancer cells. J Pharmacol Exp Ther 2014; 349: 268-78. doi: 10.1124/jpet.113.207563.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-24]