**مقاله پژوهشی**
**مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان**
**دوره ۲۵، مرداد ۱۴۰۵، ۴۶۲-۴۴۵**

# بهینه‌سازی درمانی آپی‌ژنین در سرطان کولورکتال مرتبط با کولیت؛ کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در یک دوز مؤثر غیرسمی در مدل موشی AOM/DSS: یک مطالعه تجربی

**داریوش غلامی[۱]، لقمان علائی[۲]**

**دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱۲/۰۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۵/۰۴/۳۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۰۵/۰۳**

**چکیده**

**زمینه و هدف:** استرس اکسیداتیو در سرطان کولون نقش دارد. آپی‌ژنین، فلاونوئیدی با اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی است که در درمان سرطان مؤثر است. این مطالعه با هدف تعیین اثر درمانی آپی‌ژنین بر سرطان کولون به‌روش مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه حاضر از نوع تجربی است و در این مطالعه تعداد ۶۰ سر موش نر نژاد C57BL/6 به شش گروه کنترل سالم، کنترل بیمار و چهار گروه درمانی که سرطان‌زایی کولون در آن‌ها با تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم آزوکسی‌متان (Azoxymethane; AOM) و دو دوره ۲/۵ درصد سدیم دکستران‌سولفات (Sodium Dextran Sulfate; DSS) القاء شد. سپس دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم آپی‌ژنین به‌صورت خوراکی و با تناوب سه‌بار در هفته به‌مدت شش هفته تجویز شد. نشانگرهای استرس اکسیداتیو شامل گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS)، مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde; MDA)، سوپراکسید دیس موتاز (Superoxide Dismutase; SOD)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Total Antioxidant Capacity; TAC)، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione Peroxidase; GPx) و کاتالاز بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه‌وتحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نسبت به دوزهای ۵، ۱۰، و ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم آپی‌ژنین کاهش معنی‌دار ROS و MDA و افزایش فعالیت SOD، GPx، کاتالاز و TAC مشاهده شد ($P<0/05$).

**نتیجه‌گیری:** آپی‌ژنین در مدل حیوانی سرطان کولورکتال، استرس اکسیداتیو را کاهش و دفاع آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرد و دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کمترین سمیت کبدی را نشان داد. تعمیم این نتایج به انسان نیازمند مطالعات بالینی تکمیلی است. گنجاندن منابع غذایی حاوی آپی‌ژنین در رژیم غذایی می‌تواند به‌عنوان راهکار پیشگیرانه کمکی مطرح شود.

**واژه‌های کلیدی:** آپی‌ژنین، سرطان کولون، استرس اکسیداتیو

**ارجاع:** غلامی د، علائی ل. بهینه‌سازی درمانی آپی‌ژنین در سرطان کولورکتال مرتبط با کولیت: کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در یک دوز مؤثر غیرسمی در مدل موشی AOM/DSS. سال ۱۴۰۵، دوره ۲۵، شماره ۵، صفحات: ۴۶۲-۴۴۵.

۱- (نویسنده مسئول) دکترای بیوشیمی، استادیار، گروه بیوانفورماتیک و زیست‌فناوری کاربردی، دانشکده زیست‌فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

تلفن: ۰۱۱-۴۴۴۴۲۱۳۵، پست الکترونیکی: d.gholami@ausmt.ac.ir

۲- دکترای بیوفیزیک، استادیار، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

## مقدمه

سرطان کولورکتال (Colorectal Cancer; CRC) همچنان به عنوان یکی از شایع‌ترین و مرگ‌بارترین سرطان‌ها در سراسر جهان به شمار می‌رود، چالش‌های پیش‌روی درمان‌های رایج از جمله مقاومت دارویی و عوارض جانبی قابل توجه، محققان را به سوی شناسایی ترکیبات طبیعی مؤثر و ایمن‌تر سوق داده است (۱). اگرچه در سال‌های اخیر، شیوه‌های شناسایی و درمان این سرطان به‌طور چشمگیری بهبود یافته، اما عوارض جانبی درمان‌های شیمیایی و هم‌چنین پدیده مقاومت در برابر داروها، همچنان موانع مهمی در مسیر کنترل مؤثر این بیماری محسوب می‌شوند. (۲). در این میان، ارتباط تنگاتنگ بین التهاب مزمن، استرس اکسیداتیو و روند سرطان‌زایی (Carcinogenesis) در کولون به خوبی شناخته شده است. التهاب ناشی از بیماری‌هایی مانند کولیت زخمی (Ulcerative Colitis) می‌تواند با فعال‌سازی مسیرهای سلولی پیش‌التهابی و التهابی مانند مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا-بی (Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B cells; NF-κB) و مسیر ترارسانی سیگنال و فعال‌کننده رونویسی ۳ (Signal Transducer and Activator of Transcription 3; STAT3)، زمینه را برای ایجاد و پیشرفت سرطان کولون مرتبط با کولیت (Colitis-Associated Cancer; CAC) فراهم کند (۳).

استرس اکسیداتیو نیز که از عدم تعادل بین تولید ROS و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول ناشی می‌شود، با آسیب به ماکرومولکول‌های حیاتی مانند DNA (Deoxyribonucleic Acid)، لیپیدها و پروتئین‌ها، نقش مهمی در شروع و پیشرفت سرطان ایفا می‌کند (۴). آپی‌ژنین (۴′،۷،۵-تری هیدروکسی فلاون) یک فلاونوئید طبیعی است که به وفور در بسیاری از میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان دارویی مانند جعفری، کرفس و بابونه یافت می‌شود و علاقه قابل توجهی به خواص ضد سرطانی این ترکیب وجود دارد (۶، ۵).

مطالعات متعددی برای درک خواص ضد سرطانی آپی‌ژنین انجام شده است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که آپی‌ژنین می‌تواند از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله مهار مسیرهای NF-κB و STAT3، القاء آپوپتوز، توقف چرخه سلولی و مهار متاستاز، اثرات ضدسرطانی خود را در مدل‌های سلولی و جانوری سرطان کولون اعمال کند (۷، ۶).

هم‌چنین، خواص آنتی‌اکسیدانی قوی آپی‌ژنین می‌تواند به خنثی‌سازی ROS و تقویت سیستم آنزیمی دفاعی سلول کمک کند. اگرچه مطالعات پیشین خواص ضدسرطانی آپی‌ژنین را در مدل‌های سلولی و حیوانی نشان داده‌اند (۸)، اما کاستی‌های قابل توجهی در دانش فعلی وجود دارد: نخست، بیشتر مطالعات موجود بر یک یا دو مکانیسم محدود متمرکز بوده‌اند و ارزیابی همزمان اثر آپی‌ژنین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو، بار توموری و سمیت کبدی در یک مدل حیوانی کامل از CAC انجام نشده است. دوم، اگرچه مطالعات پیشین، محدوده دوزی مؤثر آپی‌ژنین را در مدل‌های مختلف سرطان کولون از ۵ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن گزارش کرده‌اند (۱۱-۹)، اما این دوزها به صورت پراکنده و در پروتکل‌های متفاوت (روزانه، یک روز در میان، یا مخلوط در رژیم غذایی) استفاده شده‌اند و هیچ مطالعه‌ای چهار دوز افزایشی منظم (۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را در یک پروتکل واحد و با تناوب مشخص (سه بار در هفته) برای تعیین دقیق نقطه تعادل اثربخشی و ایمنی ارزیابی نکرده است. بر این اساس، در مطالعه حاضر این چهار دوز بر اساس مطالعات پیشین (۱۱-۹) و با هدف پوشش دامنه زیر-اثربخش تا آستانه سمیت

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED

بالقوه انتخاب شدند. این مسئله از آن جهت حائز اهمیت است که یک ترکیب ضدسرطان بالقوه باید علاوه بر اثربخشی، از ایمنی کافی نیز برخوردار باشد (۱۲).

مدل ترکیبی AOM (Azoxymethane) و DSS ( Dextran Sulfate Sodium) در موش، یک مدل استاندارد و قابل اعتماد برای مطالعه سرطان کولون مرتبط با التهاب است که مراحل التهاب، دیسپلازی و کارسینوم را به خوبی شبیه‌سازی می‌کند (۱۲). با توجه به کاستی‌های ذکر شده در دانش فعلی، مطالعه حاضر برای اولین بار با رویکردی جامع، هم‌زمان و وابسته به دوز به بررسی اثرات حفاظتی آپی‌ژنین در مدل AOM/DSS در موش‌های نر C57BL/6 می‌پردازد. اهداف مشخص این پژوهش عبارت از تعیین اثر آپی‌ژنین بر تعداد و اندازه تومورهای کولون، ارزیابی تأثیر وابسته به دوز آن بر شاخص‌های کلیدی استرس اکسیداتیو (مانند مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde; MDA)، سوپراکسید دیس موتاز (Superoxide Dismutase; SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione Peroxidase; GPx) و کاتالاز) در بافت کولون و هم‌چنین بررسی پروفایل ایمنی کبدی آپی‌ژنین از طریق اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase; ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase; AST) در دوزهای مختلف هستند.

## مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، تعداد ۶۰ سر موش نر بالغ از نژاد C57BL/6 با محدوده وزنی ۲۵-۲۲ گرم و بازه سنی ۸-۶ هفته به‌کار گرفته شدند. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی پاستور بابل در تابستان ۱۴۰۴ تهیه و به حیوان‌خانه دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل منتقل شدند و در شرایط استاندارد شامل دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۵±۵۵ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. جیره غذایی و آب به صورت مداوم در اختیار حیوانات قرار گرفت. کلیه پروتکل‌های مرتبط با حیوانات مطابق با راهنمای NIH (۲۰۱۱) برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام (۱۳) و توسط کمیته اخلاق دانشگاه با کد IR.ASMT.REC.1403.018 تأیید شد.

مدل سرطان کولورکتال وابسته به التهاب با استفاده از پروتکل ترکیبی AOM/DSS و بر اساس روش توصیف شده توسط De Robertis و همکاران (۱۲) القاء شد. در روز آغازین مطالعه (روز صفر)، به هر موش به صورت داخل صفاقی، AOM (ماده شیمیایی آزوکسی متان، Sigma-Aldrich، ایالات متحده) با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد. پس از یک هفته، پروتکل القاء التهاب-سرطان با استفاده از DSS، با وزن مولکولی ۴۰ کیلودالتون، MP Biomedicals) در دو چرخه متوالی آغاز شد. هر چرخه شامل دسترسی آزاد حیوانات به آب آشامیدنی حاوی ۲/۵ درصد DSS به مدت هفت روز بود. دو چرخه با یک دوره فاصله ۱۴ روزه از یکدیگر جدا شدند که طی آن، موش‌ها منحصراً از آب بدون DSS دریافت کردند. این فاصله زمانی ۱۴ روزه بر اساس پروتکل استاندارد De Robertis و همکاران (۱۲) انتخاب شد تا به بافت کولون فرصت ترمیم نسبی داده شود و از مرگ‌ومیر بیش از حد ناشی از التهاب حاد جلوگیری گردد، ضمن این‌که معماری تومور در حال شکل‌گیری حفظ شود.

در مطالعه حاضر، رژیم درمانی آپی‌ژنین بر اساس یک پروتکل درمانی تأخیری (Delayed-Start Protocol) اجراء گردید. بر این اساس، تجویز خوراکی آپی‌ژنین پس از یک دوره وقفه یک‌هفته‌ای از پایان آخرین سیکل آب آشامیدنی حاوی DSS آغاز شد (۱۴).

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED

تجویز خوراکی آپی‌ژنین به مدت شش هفته و با تناوب سه بار در هفته انجام گرفت. محلول دارویی با حل کردن آپی‌ژنین در دی‌متیل سولفواکسید (Dimethyl Sulfoxide; DMSO) و سپس رقیق‌سازی آن در سوسپانسیون کربوکسی‌متیل سلولز (Carboxymethyl Cellulose; CMC) ۰/۵ درصد به عنوان حامل نهایی تهیه شد. حجم تجویز ثابتی معادل ۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن برای تمامی حیوانات رعایت شد. دوز دقیق آپی‌ژنین برای هر موش بر اساس وزن بدن در روز تجویز محاسبه و محلول دارویی متناسب با آن کالیبره شد (۱۴).

در این مطالعه موش‌های نر نژاد C57BL/6 به‌صورت تصادفی به شش گروه مساوی (در هر گروه n=۱۰) تخصیص داده شدند: گروه کنترل سالم: این گروه به عنوان پایه مقایسه، تنها محلول حامل حاوی ۰/۵ درصد CMC و ۰/۱ درصد DMSO را به روش گاواژ دریافت کردند و تحت هیچ‌گونه مداخله القاء بیماری یا درمانی قرار نگرفتند. گروه کنترل بیمار: موش‌های این گروه تحت پروتکل القاء سرطان کولون با تزریق داخل صفاقی AOM و چالش با DSS قرار گرفتند. پس از تثبیت مدل، به منظور کنترل اثر حامل، محلول حامل (۰/۵ درصد CMC و ۰/۱ درصد DMSO) به صورت روزانه به آن‌ها تجویز شد. گروه‌های درمانی با آپی‌ژنین: چهار گروه درمانی، پس از القاء موفقیت‌آمیز کنترل بیمار با AOM/DSS، تحت رژیم درمانی با فلاونوئید آپی‌ژنین (با درجه خلوص ≥۹۸٪، شرکت سیگما-آلدریچ، آمریکا) قرار گرفتند. تجویز خوراکی آپی‌ژنین به صورت روزانه و با یک دوره تأخیر پس از القاء بیماری آغاز شد. دوزهای مورد مطالعه به‌صورت افزایشی شامل ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بودند که هر کدام به یک گروه مجزا اختصاص داده شدند. این محدوده دوز بر اساس مطالعات پیشین که دوزهای خوراکی مؤثر آپی‌ژنین را در مدل‌های مشابه سرطان کولون (از ۰/۱ درصد در رژیم غذایی تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گزارش کرده‌اند، انتخاب شد (۱۱، ۹).

سنجش ROS در بافت کولون با استفاده از پروب فلورسنت DCF-DA (2′,7′-Dichlorodihydrofluorescein diacetate) و بر اساس پروتکل کیت تجاری Abcam (شماره کاتالوگ: ab113851) انجام شد. در این روش، از پروب فلورسنت DCF-DA که قادر به اندازه‌گیری فعالیت گونه‌هایی مانند هیدروکسیل و پراکسیل است، استفاده می‌شود. این ماده که به صورت دی‌استات است، پس از نفوذ به درون سلول‌ها، توسط استرازهای سلولی به ترکیبی غیر فلورسنت هیدرولیز می‌شود. این ترکیب در صورت وجود ROS در محیط به محصول اکسید شده به شدت فلورسنت خود؛ یعنی DCF تبدیل می‌شود. شدت فلورسانس DCF که با اسپکتروفلورومتر مدل F-7000 (ساخت شرکت Hitachi، ژاپن) در طول موج‌های برانگیخته ۴۸۵ نانومتر و گسیل ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود، نمایان‌گر میزان ROS درون‌سلولی است. نتایج به صورت واحد فلورسانس نسبی بر میلی‌گرم پروتئین (RFU/mg protein) گزارش شد (۱۵).

سطح پراکسیداسیون لیپید در بافت روده بزرگ موش‌های مبتلا به سرطان کولورکتال با اندازه‌گیری مواد واکنش‌دهنده با اسید تیوباربیتوریک (Thiobarbituric Acid Reactive Substances; TBARS) با استفاده از کیت شرکت Cayman Chemical و با شماره کاتالوگ ۱۰۰۰۹۰۵۵ ارزیابی شد. در این روش، بافت هموژن در شرایط اسیدی حاوی اسید تیوباربیتوریک حرارت داده شد. در نتیجه این واکنش، یک کمپلکس رنگی بین MDA که محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید است و اسید تیوباربیتوریک تشکیل شد. جذب این کمپلکس در طول موج ۵۳۰ تا ۵۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED

نهایی MDA بر اساس منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب نانومول در هر میلی‌گرم پروتئین (nmol/mg protein) گزارش شد (۱۶).

میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Total Antioxidant Capacity; TAC) نمونه‌های هموژن بافت روده بزرگ با استفاده از کیت سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (شماره کاتالوگ: ab65329، Abcam، ایالات متحده آمریکا) طبق دستورالعمل سازنده اندازه‌گیری شد. این کیت بر اساس کاهش یون‌های مس ($Cu^{+2}$ به $Cu^{+1}$) توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه کار می‌کند. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر محلول کاری (یک قسمت معرف $Cu^{+2}$ با ۴۹ قسمت رقیق‌کننده سنجش) و ۱۰۰ میکرولیتر هموژنات بافت کولون با ۱ میکرولیتر ماسک پروتئین در یک لوله سانتریفیوژ مخلوط شده و به مدت ۱/۵ ساعت در دمای اتاق داخل انکوباتور (مدل IN 02-M، ساخت شرکت پارس آزما، ایران) انکوبه شدند. جذب کمپلکس رنگی تشکیل شده در مقابل معرف خالی در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه پلیت ریدر (مدل ELX 800، ساخت شرکت BioTek، ایالات متحده آمریکا) اندازه‌گیری شد. غلظت نهایی با استفاده از منحنی استاندارد ترولوکس (Trolox) محاسبه و نتایج به صورت نانومول معادل ترولوکس در لیتر (nmol/L Trolox equivalent) گزارش گردید (۱۷).

فعالیت سوپراکسید دیس موتاز با استفاده از کیت رنگ‌سنجی (مدل: EIASODC، Thermo Fisher Scientific، ایالات متحده آمریکا) اندازه‌گیری شد. این کیت برای اندازه‌گیری کمی فعالیت تمام ایزوفرم‌های SOD (شامل Cu/Zn-SOD، Mn-SOD و Fe-SOD) در نمونه‌های بیولوژیکی طراحی شده است. در این روش، آنزیم گزانتین اکسیداز یون‌های سوپراکسید تولید می‌کند که با یک سوبسترای بی‌رنگ در محلول کیت واکنش داده و یک محصول زرد رنگ تشکیل می‌دهند. این محصول نور را در طول موج ۴۵۰ نانومتر جذب می‌کند. وجود آنزیم SOD در نمونه با تجزیه یون‌های سوپراکسید از تشکیل این محصول رنگی جلوگیری می‌کند. بنابراین، توانایی واکنش رنگی، معیار مستقیمی از فعالیت آنزیم SOD در نمونه است. یک منحنی استاندارد با استفاده از استاندارد SOD گاوی موجود در کیت تهیه شد و فعالیت آنزیم در نمونه‌ها بر اساس این منحنی محاسبه شد. کیت مقدار ۰/۰۴۴ واحد در میلی‌لیتر را گزارش کرد و محدوده منحنی استاندارد ۱/۴ تا ۹۲ واحد در میلی‌لیتر بود. در نهایت، برای نرمال‌سازی داده‌ها و امکان مقایسه دقیق بین گروه‌های مختلف، فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین (U/mg protein) گزارش شد (۱۸).

فعالیت آنزیم GPx پراکسیداز در هموژنات بافت کولون با استفاده از کیت سنجش فعالیت GPx برند Nagpix (شرکت نوند سلامت، ایران) و بر اساس پروتکل سازنده اندازه‌گیری شد. این کیت از روش رایج و استاندارد «سنجش کوپل شده» استفاده می‌کند که فعالیت آنزیم GPx را به طور غیرمستقیم از طریق نظارت بر مصرف کوفاکتور NADPH اندازه‌گیری می‌نماید. حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کولون با ۲۰۰ میکرولیتر بافر سرد مخصوص کیت هموژنه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۹۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت شفاف برای آزمایش جمع‌آوری گردید. ابتداء ۵۰ میکرولیتر از نمونه یا استاندارد به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد. سپس ۴۰ میکرولیتر از Reagent 1 به هر چاهک افزوده و مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. واکنش با افزودن ۱۰ میکرولیتر از Reagent 2 (حاوی پراکسید) آغاز گردید. جذب نوری در طول

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED

موج ۳۴۰ نانومتر بلافاصله پس از آغاز واکنش (زمان صفر) و سپس پس از ۵ تا ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق (زمان نهایی) خوانش شد. تغییرات جذب نوری خالص برای هر نمونه (ΔA340) پس از کسر تغییرات مربوط به بلانک محاسبه شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده بر اساس غلظت‌های معلوم NADPH، مقدار NADPH مصرف شده در هر نمونه تعیین گردید. در نهایت، فعالیت آنزیم GPx بر اساس فرمول ارائه شده در کیت و با نرمال‌سازی بر اساس حجم نمونه و زمان انکوباسیون محاسبه و به صورت نانومول NADPH مصرف شده در دقیقه در هر میلی‌لیتر (nmol/min/mL) گزارش شد. برای مقایسه بین گروه‌ها، داده‌ها با استفاده از غلظت پروتئین تام نمونه‌ها (اندازه‌گیری شده به روش برادفورد) نرمال شده و به‌صورت nmol/min/mg protein ارائه شدند (۱۹).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Abei استفاده شد. به حجم معینی از عصاره بافتی اتانول مطلق اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در یخ آنکوبه شد. سپس تریتون X۱۰۰ ده درصد با غلظت نهایی ۱ درصد اضافه شد. این محلول برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به‌کار برده شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۰۵ میلی‌لیتر پراکسیدهیدروژن ۳۰ میلی مولار به نمونه بافتی در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار و pH=۷ شروع شد. سپس جذب طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت کاتالاز مقدار یک میکورمول از پراکسیدهیدروژن است که در یک دقیقه تجزیه می‌شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (۲۰).

برای ارزیابی سمیت آپی‌ژنین در پایان دوره درمان، پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه (از ساعت ۲۰ تا ۸ صبح) با دسترسی آزاد به آب، حیوانات با استفاده از بیهوشی استنشاقی ایزوفلوران بیهوش شدند. القاء بیهوشی با دوز ۴ درصد انجام گرفت و برای نگه‌داری بیهوشی در حین خون‌گیری از بطن چپ قلب، از دوز ۱/۵ درصد استفاده شد. این محدوده دوز بر اساس پروتکل استاندارد Szczesny و همکاران (۲۱) انتخاب گردید که پایداری همودینامیک و ایمنی بیهوشی را در موش‌های نژاد C57BL/6 تأیید کرده است. کارآیی این محدوده دوز در مطالعات جدیدتر از جمله پژوهش David و همکاران (۲۰۲۲) نیز مورد تأکید قرار گرفته است (۲۲). سپس نمونه‌های خون از بطن چپ قلب آنان جمع‌آوری شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند تا فرآیند لخته شدن کامل شود. سپس به منظور جداسازی سرم از لخته خون، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شدند و سرم جدا شده از هر نمونه جمع‌آوری شد تا برای ارزیابی کارکرد آنزیم‌های کبدی ALT و AST استفاده شود (۲۳).

سطح سرمی آنزیم ALT با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس پیوند (کد کالا: ALTGPT10-538) و بر اساس روش UV-IFCC اندازه‌گیری گردید. در این روش، فعالیت آنزیمی بر اساس میزان اکسیداسیون NADH در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سنجیده می‌شود. واکنش آنزیمی به صورت زیر انجام می‌پذیرد:

$$\text{L-Alanine} + \alpha\text{-Ketoglutarate} \rightarrow \text{Pyruvate} + \text{L-Glutamate}$$

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{L-Lactate} + \text{NAD}$$

میزان کاهش در جذب نوری متناسب با فعالیت آنزیم ALT بوده و نتایج بر حسب واحد بین‌المللی بر لیتر (U/L) گزارش گردید (۲۴).

سطح سرمی آنزیم AST با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس آزمون (کد کالا: GOT-AST) و بر اساس روش UV-IFCC اندازه‌گیری گردید. در این روش، فعالیت آنزیمی بر اساس میزان

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED

اکسیداسیون NADH در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سنجیده می‌شود. واکنش آنزیمی به صورت زیر انجام می‌پذیرد:

L-Aspartate + α-Ketoglutarate → Oxaloacetate + L-Glutamate

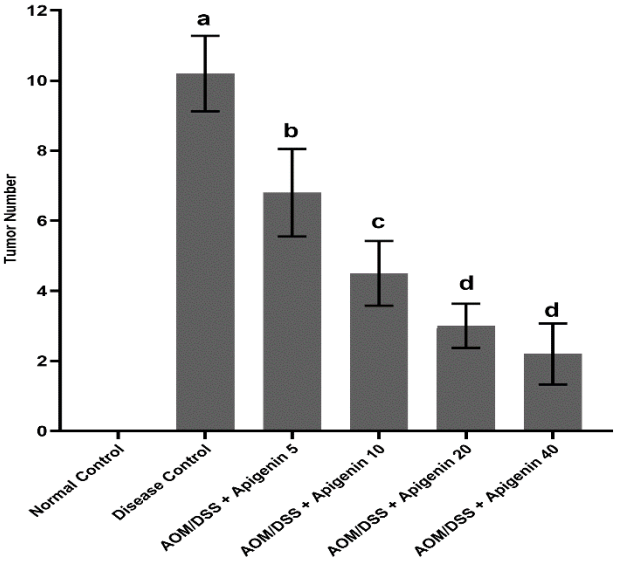
Oxaloacetate + NADH + $H^+$ → L-Malate + NAD

میزان کاهش در جذب نوری متناسب با فعالیت آنزیم AST بوده و نتایج برحسب واحد بین‌المللی بر لیتر (U/L) گزارش شد (۲۵).

تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شده‌اند. پیش از انجام آزمون‌های پارامتریک، پیش‌فرض‌های نرمال بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس گروه‌ها بررسی شدند. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk تأیید شد (در تمام گروه‌ها، P>۰/۰۵). همگنی واریانس گروه‌ها نیز با استفاده از آزمون Levene تأیید شد (در تمام متغیرها، P>۰/۰۵). برای مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌های مختلف (شش گروه: کنترل سالم، کنترل بیماری، و چهار گروه درمانی با آپی‌ژنین)، از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در مواردی که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده گردید، برای مقایسه‌های بین گروهی از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

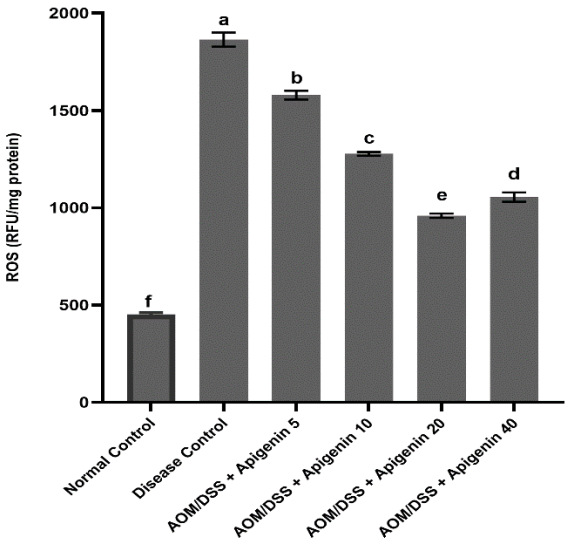
القاء سرطان کولورکتال با AOM/DSS منجر به تشکیل تومورهای متعدد در گروه کنترل بیمار شد (نمودار ۱). میانگین تعداد تومورها در گروه بیمار (۴/۲۱ ± ۶/۸۳) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه نرمال بود (P<۰/۰۵).درمان با آپی‌ژنین کاهش معنی‌دار و وابسته به دوز در تعداد تومورها ایجاد کرد. بیشترین اثر مهاری در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌داری بین این دو دوز وجود نداشت (P>۰/۰۵).




***نمودار ۱- میانگین تعداد تومور در گروه‌های مختلف آزمایشی. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه وتحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

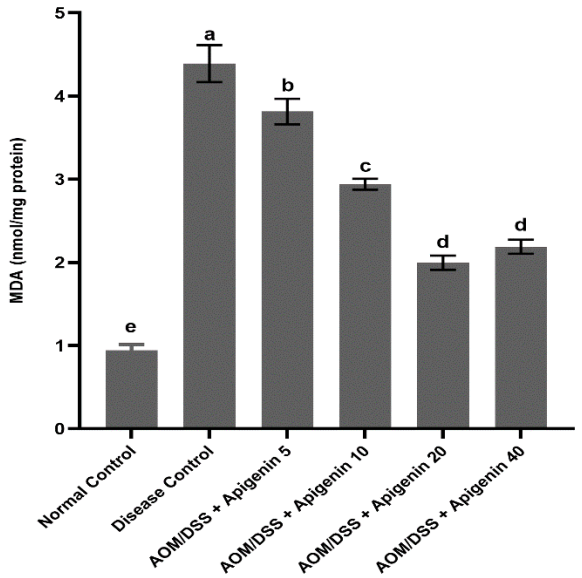
القاء سرطان با AOM/DSS سطح ROS را در گروه بیمار (۳۲۵/۲۲ ± ۱۸۵۰/۸۴ واحد فلورسانس نسبی بر میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با گروه نرمال (۱۸/۸۴±۳۹۸/۶۱) به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵، نمودار ۲). درمان با آپی‌ژنین کاهش وابسته به دوز در ROS ایجاد کرد. دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین کاهش را نشان داد و مقادیر را به سطح نرمال نزدیک کرد. دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برتری معنی‌داری نسبت به دوز ۲۰ نداشت (P>۰/۰۵).


CCBY-NC.4.0 DEED
[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]




***نمودار ۲- اثر آپی‌ژنین بر گونه‌های فعال اکسیژن. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

سطح MDA در گروه بیمار نسبت به گروه نرمال ۶/۴۰ برابر افزایش یافت (P<۰/۰۵، نمودار ۳). درمان با آپی‌ژنین کاهش وابسته به دوز ایجاد کرد. دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش نسبی، اما بالاتر از نرمال نشان دادند (P<۰/۰۵). دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سطح MDA را به طور معنی‌داری نسبت به گروه بیمار کاهش دادند (P<۰/۰۵)، اگرچه سطح MDA در این دوزها همچنان به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه نرمال بود (P<۰/۰۵). بین دو دوز ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



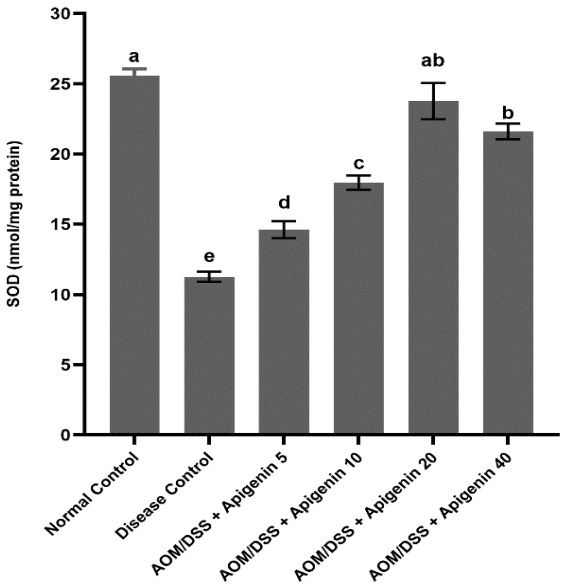

***نمودار ۳- اثر القاء سرطان کولون و درمان با آپی‌ژنین بر سطح MDA در بافت کولون گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

فعالیت SOD در گروه بیمار نسبت به گروه نرمال ۵۶ درصد کاهش یافت (P<۰/۰۵، نمودار ۴). درمان با آپی‌ژنین افزایش وابسته به دوز ایجاد کرد. دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فعالیت SOD را به ترتیب به ۷۵/۲۳ و ۶۱/۲۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین رساندند. بین این دو دوز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فعالیت SOD را به سطحی معادل گروه نرمال بازگرداند (P>۰/۰۵).

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

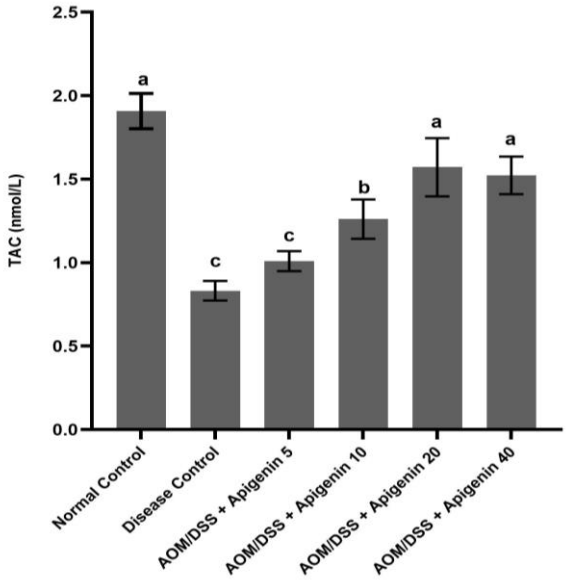
[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED




***نمودار ۴- اثر القاء سرطان کولون و درمان با آپی‌ژنین بر فعالیت آنزیم SOD در بافت کولون در گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه‌وتحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

سطح TAC در گروه بیمار (۰/۸۳ ± ۰/۰۹ نانومول بر لیتر) به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه نرمال (۰/۱۰ ± ۱/۹۲) بود (P<۰/۰۵، نمودار ۵). درمان با آپی‌ژنین بهبود وابسته به دوز ایجاد کرد. دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر معنی‌دار ایجاد نکرد (P>۰/۰۵). دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌دار نسبت به گروه بیمار نشان داد، اما همچنان پایین‌تر از نرمال بود (P<۰/۰۵). دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سطح TAC را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه بیمار افزایش دادند (P<۰/۰۵). اگرچه سطح TAC در این دوزها (به ترتیب ۱/۵۷±۰/۱۷ و ۱/۶۳±۰/۱۵) از نظر عددی پایین‌تر از گروه نرمال بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). بین دو دوز ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



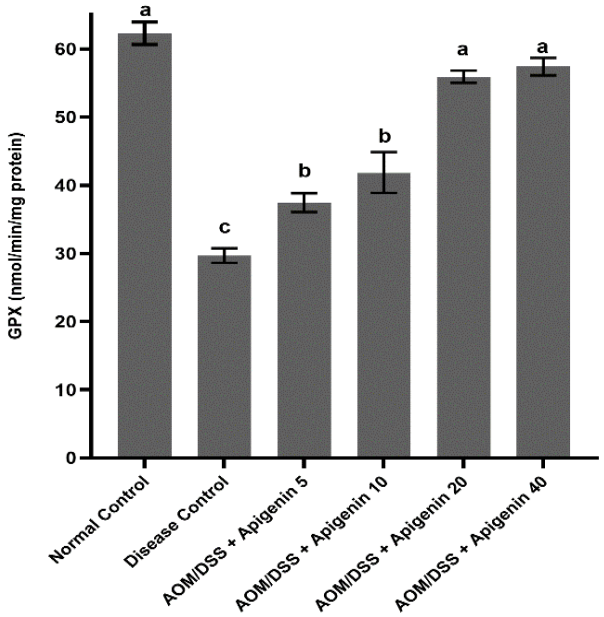

***نمودار ۵- تأثیر آپی‌ژنین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بافت کولون موش‌های مدل سرطان کولون القاء شده با AOM/DSS داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

فعالیت آنزیم GPx در بافت کولون موش‌های نر C57BL/6 تحت تأثیر القاء سرطان با AOM/DSS و درمان با آپی‌ژنین قرار گرفت (نمودار ۶). فعالیت GPx در گروه کنترل بیمار (۲۹/۷۴ ±۱/۰۵ nmol/min/mg protein) در مقایسه با گروه کنترل سالم (۶۲/۳۳±۱/۶۵ nmol/min/mg protein)، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۵۲/۳ درصد کاهش، P<۰/۰۰۱). درمان با آپی‌ژنین بهبود وابسته به دوز ایجاد کرد. در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، فعالیت GPx به ترتیب به ۱/۳۶ ± ۳۷/۴۵ و ۳/۰۱ ± ۴۱/۸۵ افزایش یافت، اما به سطح گروه سالم نرسید. در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، فعالیت آنزیم به ترتیب به ۰/۹۱ ± ۵۵/۹۱ و ۱/۲۸ ± ۵۷/۴۱ بازگشت که از نظر آماری


CCBY-NC.4.0 DEED

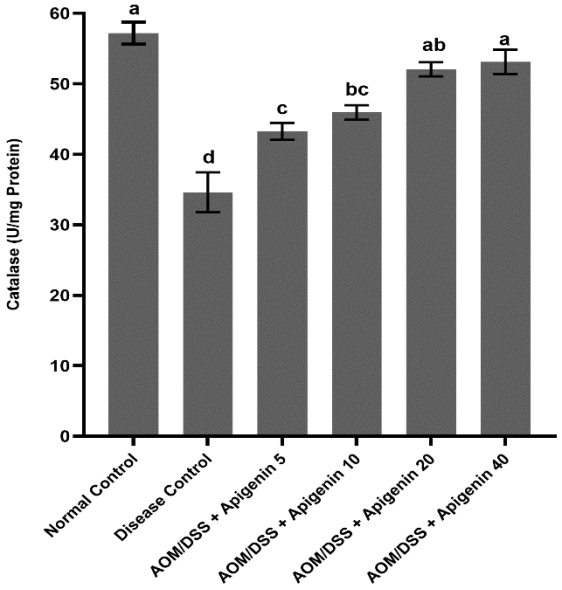
[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم نداشت (P>۰/۰۵)، اما با گروه کنترل بیمار تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۰۱).




***نمودار ۶- اثر القاء سرطان کولون و درمان با آپی‌ژنین بر فعالیت آنزیم GPx در بافت کولون موش .داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه‌وتحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت کولون تحت تأثیر القاء سرطان و درمان با آپی‌ژنین قرار گرفته است (نمودار ۷). فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه کنترل بیمار (۲/۸۱ ± ۳۴/۶۱ U/mg protein) در مقایسه با گروه کنترل سالم (۱/۵۶ ± ۵۷/۲۴ U/mg protein) کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱/۲۰ ± ۴۳/۲۷ U/mg protein) نسبت به گروه بیماری بهبود معنی‌داری نشان می‌دهد (P<۰/۰۵)، اما همچنان پایین‌تر از سطح کنترل سالم است. تفاوت آماری معنی‌داری بین دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده نشد، اما هر دو به‌طور معنی‌داری از گروه بیماری بالاتر بودند. فعالیت کاتالاز در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (به ترتیب، ۱/۰۱ ± ۵۲/۰۷ و ۱/۷۲ U/mg protein ± ۵۳/۱۱ U/mg protein) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و با گروه کنترل سالم نداشت (P>۰/۰۵)، در حالی‌که به طور معنی‌داری از تمام گروه‌های دیگر (مدل بیماری، دوز ۵ و دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بالاتر بود (P<۰/۰۵).




***نمودار ۷- تأثیر آپی‌ژنین بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت کولون موش‌های مدل سرطان کولون القاء شده با AOM/DSS داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه‌وتحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است. تعداد تکرارها برابر با ۱۰ است.***

نتایج حاصل از ارزیابی آنزیم‌های کبدی نشان داد که سطح ALTو AST در گروه کنترل بیماری نسبت به گروه کنترل نرمال افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). تیمار با آپی‌ژنین در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییری معنی‌دار در سطح این آنزیم‌ها نسبت به گروه کنترل بیماری ایجاد نکرد (P>۰/۰۵) که بیانگر عدم بروز سمیت کبدی در این دوزها است. با این حال، این دوزها نتوانستند افزایش معنی‌دار ALT و AST ناشی از خود


CCBY-NC.4.0 DEED

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

بیماری (در مقایسه با گروه نرمال) را کاهش دهند (P>۰/۰۵). در مقابل، دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار ALT و AST در مقایسه با تمامی گروه‌ها شد (P<۰/۰۵) که نشان‌دهنده بروز سمیت کبدی در این دوز است (جدول ۱).

***جدول ۱- سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی ALT و AST در گروه‌های مورد مطالعه به‌منظور ارزیابی سمیت کبدی***

| پارامتر | کنترل نرمال | کنترل بیماری | آپی‌ژنین (۵ mg/kg) | آپی‌ژنین (۱۰ mg/kg) | آپی‌ژنین (۲۰ mg/kg) | آپی‌ژنین (۴۰ mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ALT (U/L) | ۳۱/۲۴±۱/۶۴$^{c}$ | ۴۵/۳۷±۱/۰۲$^{b}$ | ۴۳/۷۵±۱/۱۸$^{b}$ | ۴۴/۴۴±۱/۹۴$^{b}$ | ۴۵/۳۹±۱/۴۴$^{b}$ | ۸۴/۵۰±۱/۵۱$^{a}$ |
| AST (U/L) | ۴۴/۸۳±۲/۰۵$^{c}$ | ۵۳/۲۶±۱/۴۲$^{b}$ | ۵۱/۰۶±۱/۶۹$^{b}$ | ۵۱/۳۸±۱/۱۲$^{b}$ | ۵۲/۶۸±۱/۶۱$^{b}$ | ۹۳/۸۳±۲/۱۷$^{a}$ |

***داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه‌وتحلیل شدند. حروف انگلیسی غیرهمسان نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین گروه‌ها است.***

## بحث

نتایج این مطالعه به صورت قانع‌کننده‌ای از فرضیه اصلی تحقیق حمایت می‌کنند و نشان می‌دهند که فلاونوئید طبیعی آپی‌ژنین، یک عامل محافظتی چندوجهی و قدرت‌مند در مدل پیش‌بالینی سرطان کولون مرتبط با التهاب است. یافته‌ها نه تنها اثرات ضدتوموری و آنتی‌اکسیدانی قوی و وابسته به دوز آپی‌ژنین را تأیید می‌کنند، بلکه با شفافیت یک پنجره درمانی ایمن و یک نقطه بحرانی برای سمیت را مشخص می‌سازند. بحث حاضر، این یافته‌ها را در چارچوب مکانیسم‌های شناخته شده مولکولی، مطالعات پیشین و پیامدهای بالینی بالقوه آن‌ها تحلیل می‌کند.

یکی از اصلی‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر، کاهش قابل توجه و وابسته به دوز تعداد تومورهای کولورکتال پس از تیمار با آپی‌ژنین بود. با این حال، بین دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد تومورها مشاهده نشد. این الگو وجود یک دوز سقف (Ceiling effect) را برای اثر ضدتوموری آپی‌ژنین در مدل AOM/DSS نشان می‌دهد؛ به این معنا که پس از دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش بیشتر دوز نه تنها سود درمانی مضاعفی به همراه ندارد، بلکه همان‌طور که یافته‌های آنزیم‌های کبدی نشان می‌دهند، ممکن است با افزایش خطر سمیت کبدی همراه باشد. این پدیده از نظر بالینی حائز اهمیت است، زیرا تعیین کننده دوز بهینه بوده و نشان می‌دهد تجویز دوزهای بالاتر از آستانه معین، منطق درمانی ندارد. وجود دوز سقف برای فلاونوئیدها در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است؛ برای مثال، مطالعات نشان داده‌اند که اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی کورستین و لوتئولین در دوزهای خاصی به فلات می‌رسد و افزایش بیشتر دوز اثربخشی بیشتری ایجاد نمی‌کند (۲۷، ۲۶). این یافته تأکید می‌کند که برای کاربرد بالینی آپی‌ژنین، دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به عنوان دوز بهینه انتخاب می‌گردد که هم حداکثر اثربخشی ضدتوموری را ارائه می‌دهد و هم پروفایل ایمنی قابل قبولی دارد.

یکی از مکانیسم‌های شناخته شده پاتوژنز سرطان کولورکتال، افزایش ROS و ایجاد استرس اکسیداتیو مزمن است که می‌تواند به آسیب DNA، پراکسیداسیون لیپید و فعال‌سازی مسیرهای سرطان‌زایی منجر شود. در این مطالعه، سطح ROS پس از القاء سرطان با AOM/DSS به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما تیمار با آپی‌ژنین این افزایش را کاهش داد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که آپی‌ژنین می‌تواند تولید ROS را در مدل‌های مختلف سرطان مهار کند و از آسیب اکسیداتیو جلوگیری نماید (۲۸، ۱).


CCBY-NC.4.0 DEED
[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که نقش آپی‌ژنین در تعدیل ROS پیچیده است و ممکن است در برخی شرایط آماری ROS را افزایش دهد تا آپوپتوز در سلول‌های سرطانی فعال شود، اما در زمینه کنترل استرس اکسیداتیو پایدار در مدل‌های حیوانی ضد ROS عمل می‌کند (۳۰، ۲۹).

اگرچه مطالعات پیشین، مهار مسیرهای NF-κB و STAT3 را به عنوان مکانیسم‌های اصلی اثر ضدسرطانی آپی‌ژنین معرفی کرده‌اند (۳۱, ۳۲)، اما تأکید می‌شود که در مطالعه حاضر سنجش مستقیمی از بیان این پروتئین‌ها انجام نشده است. بنابراین، نسبت دادن قطعی اثرات مشاهده شده به مهار این مسیرها فراتر از شواهد این مطالعه است. با این وجود، یافته‌های ما مبنی بر کاهش قابل‌توجه ROS و MDA و هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، GPx و کاتالاز) نشان می‌دهد که تعدیل هموستاز اکسیدانی-التهابی، حداقل یکی از مکانیسم‌های اصلی اثر آپی‌ژنین در مدل حاضر است. بررسی مستقیم مسیرهای NF-κB و STAT3 در مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد.

افزایش میزان MDA، یک نشانگر پراکسیداسیون لیپید، در گروه کنترل بیمار بیانگر آسیب غیرقابل‌انکار غشاءهای سلولی در اثر استرس اکسیداتیو است. تیمار با آپی‌ژنین منجر به کاهش معنی‌دار MDA شد، به‌طوری‌که دوزهای بالا سطح MDA را تقریباً به سطح گروه نرمال بازگرداندند. این اثر مهاری بر پراکسیداسیون لیپید با توجه به نقش فلاونوئیدها در کاهش استرس اکسیداتیو مطابقت دارد. آپی‌ژنین به‌عنوان یک ترکیب طبیعی آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است که می‌تواند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و مهار زنجیره‌های اکسیداتیو سلولی، پراکسیداسیون لیپید را کنترل کند (۳۳، ۳۰).

در گروه کنترل بیمار فعالیت SOD به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که نشان‌دهنده ضعف در دفاع آنتی‌اکسیدانی در بافت کولون است. تیمار با آپی‌ژنین باعث افزایش وابسته به دوز در فعالیت این آنزیم شد و در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به سطحی نزدیک به کنترل سالم بازگشت. افزایش فعالیت SOD توسط آپی‌ژنین در مطالعات قبلی نیز گزارش شده است که نشان دهنده بهبود توانایی سلول‌ها در سم‌زدایی رادیکال‌های سوپراکسید و کاهش استرس اکسیداتیو است (۳۰).

کاتالاز نیز مانند SOD یکی از آنزیم‌های کلیدی دفاع آنتی‌اکسیدانی است و فعالیت آن در گروه کنترل بیمار کاهش یافت. تیمار با آپی‌ژنین منجر به بهبود وابسته به دوز در فعالیت کاتالاز شد، به‌طوری که در دوزهای بالاتر فعالیت این آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. این یافته نشان می‌دهد که آپی‌ژنین می‌تواند با تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، توان دفاعی بافت کولون را در برابر استرس اکسیداتیو افزایش دهد (۳۴).

فعالیت GPx نیز در گروه کنترل بیمار کاهش قابل‌توجهی داشت، اما تیمار با آپی‌ژنین موجب بازگشت فعالیت این آنزیم به سطحی نزدیک به کنترل سالم در دوزهای بالاتر شد. این یافته نشان می‌دهد که آپی‌ژنین قادر است سیستم آنتی‌اکسیدانی درون‌سلولی را به‌صورت چندجانبه احیاء کند و با کاهش آسیب اکسیداتیو به حفظ تعادل سلولی کمک کند. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که افزایش GPx و دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط آپی‌ژنین نقش مهمی در حفظ هموستاز اکسیداتیو دارد و می‌تواند از تخریب بافت جلوگیری کند (۳۴، ۳۳).

کاهش معنی‌دار TAC در گروه کنترل بیمار نشان دهنده تخلیه ذخایر آنتی‌اکسیدانی و افزایش بار اکسیداتیو در بافت کولون بود. با این حال، درمان با آپی‌ژنین منجر به افزایش وابسته به دوز TAC


CCBY-NC.4.0 DEED
[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

شد، به‌طوری‌که در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم TAC به سطوحی نزدیک به گروه کنترل سالم بازگشت. این نتایج نشان می‌دهد که آپی‌ژنین می‌تواند اثرات مخرب اکسیداتیو را در سطح کل سیستم آنتی‌اکسیدانی جبران کند که با مطالعه‌های مشابه در مورد فلاونوئیدها هم‌راستا است (۳۵).

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST نشان داد که در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار با آپی‌ژنین افزایش معنی‌داری در این آنزیم‌ها ایجاد نشد که نشان دهنده عدم سمیت کبدی قابل توجه در محدوده درمانی مؤثر است. قابل توجه است که همین دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نتوانستند افزایش معنی‌دار ALT و AST ناشی از خود بیماری (در مقایسه با گروه نرمال) را کاهش دهند. این مشاهده نشان می‌دهد که اگرچه آپی‌ژنین در این محدوده دوزی فاقد سمیت کبدی است، اما اثری بر تعدیل آسیب کبدی ناشی از سرطان کولورکتال وابسته به التهاب ندارد. به عبارت دیگر، اثرات مفید آنتی‌اکسیدانی و ضدتوموری آپی‌ژنین در بافت کولون، الزاماً به سایر بافت‌ها مانند کبد تعمیم نمی‌یابد و مکانیسم‌های درگیر در افزایش آنزیم‌های کبدی در این مدل ممکن است مستقل از مسیرهایی باشند که آپی‌ژنین تحت تأثیر قرار می‌دهد. با این حال، در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌دار ALT و AST مشاهده شد که نشان‌دهنده آسیب کبدی بالقوه در دوزهای بالا است. این یافته اهمیت تعیین پنجره درمانی مناسب برای استفاده از آپی‌ژنین را تأیید می‌کند؛ زیرا در دوزهای درمانی مؤثر، سمیت کبدی قابل توجهی دیده نمی‌شود، اما دوزهای بسیار بالا ممکن است با عوارض جانبی همراه باشند. مطالعات متعدد نیز پیشنهاد کرده‌اند که دوز درمانی فلاونوئیدها باید با دقت تنظیم شود، زیرا اثرات آنتی‌اکسیدانی در دوز پایین‌تر می‌تواند مفید باشد، اما در دوزهای بسیار بالا ممکن است نتایج متفاوتی مشاهده شود (۲۷، ۲۶). برای مثال، یک مطالعه نشان داد که تزریق داخل صفاقی تک‌دوز بالا (۱۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) خود می‌تواند باعث افزایش این آنزیم‌ها و سمیت کبدی شود (۲۶).

با وجود یافته‌های امیدوارکننده این مطالعه، لازم به ذکر است که پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی مواجه بوده که تفسیر نتایج باید در پرتو آن‌ها صورت گیرد. نخست، مطالعه حاضر بر مدل خاص CAC متمرکز بود و بررسی اثرات آپی‌ژنین بر مدل‌های دیگر سرطان کولون مانند مدل‌های ژنتیکی مانند APCmin/+ یا مدل‌های پیوند تومور می‌تواند تعمیم‌پذیری یافته‌ها را افزایش دهد. دوم، ارزیابی مستقیم بیان پروتئین‌ها یا ژن‌های کلیدی مسیرهای سیگنالینگ ذکر شده مانند NF-κB p65، p-STAT3 و β-catenin در بافت کولون، می‌تواند مکانیسم‌های عمل را در سطح عمیق‌تری تأیید کند. سوم، دوره درمان ۶ هفته‌ای ممکن است برای شناسایی تمام عوارض بالقوه بلندمدت سمیت آپی‌ژنین کافی نباشد و لازم است سمیت بلندمدت این ترکیب نیز مورد ارزیابی قرار بگیرد. چهارم آن‌که پروتکل درمانی تأخیری علی‌رغم مزیت بالینی بالقوه، امکان ارزیابی اثر آپی‌ژنین را در مراحل حاد التهاب و تومورزایی اولیه فراهم نمی‌کند و نتایج این مطالعه صرفاً مربوط به فاز تثبیت شده مدل سرطان کولون می‌باشد. پنجم، ارزیابی اثر ضدتوموری آپی‌ژنین صرفاً بر اساس شمارش تعداد تومورهای ماکروسکوپیک انجام شده و هیچ بررسی بافت‌شناسی از تومورها از جمله تعیین درجه دیسپلازی، میزان تهاجم به لایه‌های زیرمخاطی، درجه تمایز سلولی یا نمره‌دهی التهاب مزمن صورت نگرفته است. عدم وجود داده‌های هیستوپاتولوژیک، تفسیر مکانیسم دقیق اثر ضدتوموری آپی‌ژنین را با محدودیت مواجه می‌سازد.

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]


CCBY-NC.4.0 DEED

با در نظر گرفتن محدودیت‌های فوق و یافته‌های حاضر، چندین مسیر پژوهشی ارزشمند برای مطالعات آتی قابل پیشنهاد است. در گام نخست، پیشنهاد می‌شود اثر سینرژیستیک آپی‌ژنین با داروهای شیمی‌درمانی استاندارد مانند ۵-فلورواوراسیل، اکسالی‌پلاتین یا مهارکننده‌های هدف‌مند جدید بررسی شود؛ زیرا ترکیب فلاونوئیدها با عوامل شیمی‌درمانی ممکن است ضمن افزایش اثربخشی، عوارض جانبی را کاهش دهد. دوم، استفاده از تکنیک‌های اُمیکس مانند ترنسکریپتومیکس و پروتئومیکس برای شناسایی شبکه‌های ژنی و پروتئینی که توسط آپی‌ژنین در سلول‌های سرطان کولون تنظیم می‌شوند، برای مطالعات پیش‌رو در نظر گرفته شوند تا مکانیسم‌های مولکولی دقیق‌تری فراتر از مسیرهای آنتی‌اکسیدانی کشف گردد. سوم، از آن‌جا که میکروبیوم روده در التهاب و سرطان کولون نقش کلیدی دارد، بررسی تأثیر آپی‌ژنین بر ترکیب و عملکرد میکروبیوم (از طریق توالی‌یابی 16S rRNA و متاژنومیکس) می‌تواند بعد جدیدی به فعالیت آن بیفزاید و احتمالاً میانجی‌گری اثرات ضدسرطانی توسط میکروبیوتا را آشکار سازد. در نهایت، طراحی کارآزمایی‌های بالینی فاز اول با دوزهای افزایشی آپی‌ژنین در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو یا سرطان کولورکتال، گام نهایی برای ترجمه این یافته‌های پیش‌بالینی به عرصه بالینی خواهد بود. چهارم، انجام مطالعات تکمیلی با بررسی‌های هیستوپاتولوژیک جامع (شامل ارزیابی درجه دیسپلازی، تهاجم تومور، نمره‌دهی التهاب و بررسی آپوپتوز با روش TUNEL یا ایمونوهیستوشیمی کاسپاز-۳) برای تعیین دقیق‌تر اثرات ضدتوموری آپی‌ژنین ضروری به‌نظر می‌رسد.

## نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر در مدل حیوانی سرطان التهابی کولون نشان داد که آپی‌ژنین با بازسازی تعادل اکسیدانی-التهابی (کاهش ROS و MDA و تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GPx و کاتالاز) باعث کاهش تعداد تومورها می‌شود. دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به عنوان دوز بهینه تعیین شد، در حالی‌که دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با افزایش آنزیم‌های کبدی همراه بود. با تأکید بر این که یافته‌های حاضر محدود به مدل حیوانی است و تعمیم به انسان نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد، به‌نظر می‌رسد آپی‌ژنین گزینه‌ای امیدوارکننده برای تحقیقات پیش‌بالینی و بالینی آتی، به ویژه در قالب فرمولاسیون‌های بهبودیافته و پروتکل‌های درمان ترکیبی است.


## تشکر و قدردانی

نویسندگان استفاده از مدل‌های زبانی مبتنی بر هوش مصنوعی (DeepSeek و ChatGPT) را برای کمک به بهبود ساختار دستوری و خوانایی متن در طول فرایند ویرایش تصدیق می‌کنند.

**تعارض منافع:** بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

**حامی مالی:** این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران و با گرنت تخصیص یافته به این مطالعه انجام شده است.

**ملاحظات اخلاقی (کد** اخلاق): مطالعه حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل با شناسه اخلاق IR.ASMT.REC.1403.018 تصویب شد.

**مشارکت نویسندگان**

- **طراحی ایده:** داریوش غلامی
- **روش کار:** داریوش غلامی، لقمان علائی
- **جمع‌آوری داده‌ها:** داریوش غلامی
- **تجزیه و تحلیل داده‌ها:** داریوش غلامی
- **نظارت:** داریوش غلامی
- **مدیریت پروژه:** داریوش غلامی
- **نگارش – پیش‌نویس:** داریوش غلامی، لقمان علائی
- **نگارش- بررسی و ویرایش:** داریوش غلامی، لقمان علائی




CCBY-NC.4.0 DEED

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

# References


1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209-49.

2. Vodenkova S, Buchler T, Cervena K, Veskrnova V, Vodicka P, Vymetalkova V. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacol Ther* 2020; 206: 107447.

3. Greten FR, Grivennikov SI. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity* 2019; 51(1): 27-41.

4. Di Carlo E, Sorrentino C. Oxidative Stress and Age-Related Tumors. *Antioxidants (Basel)* 2024; 13(9): 1109.

5. Ali F, Rahul, Naz F, Jyoti S, Siddique YH. Health functionality of apigenin: A review. *Int J Food Prop* 2017; 20(6): 1197-238.

6. Shafabakhsh R, Mirzaei HR, Sahebkar A, Asemi Z, Mirzaei H. A comprehensive view on the apigenin impact on colorectal cancer: focusing on cellular and molecular mechanisms. *Food Sci Nutr* 2023; 11(11): 6789-801.

7. Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional Regulation by Nrf2. *Antioxid Redox Signal* 2018; 29(17): 1727-45.

8. Ginwala R, Bhavsar R, Chigbu DI, Jain P, Khan ZK. Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants (Basel)* 2019; 8(2): 35.

9. Abdelmaksoud NM, Abulsoud AI, Abdelghany TM, Elshaer SS, Samaha A, Maurice NW, et al. Targeting the SIRT3/MnSOD and JNK/HMGB1/Beclin 1 Axes: Role of Apigenin in Multifaceted Metabolic Intervention in Colorectal Cancer. *J Biochem Mol Toxicol* 2025; 39(1): e70095.

10. De S, Paul S, Manna A, Majumder C, Pal K, Casarcia N, et al. Phenolic Phytochemicals for Prevention and Treatment of Colorectal Cancer: A Critical Evaluation of In Vivo Studies. *Cancers (Basel)* 2023; 15(3): 993.

11. DeRango-Adem EF, Blay J. Does Oral Apigenin Have Real Potential for a Therapeutic Effect in the Context of Human Gastrointestinal and Other Cancers? *Front Pharmacol* 2021; 12: 681477.




CCBY-NC.4.0 DEED

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]

12. De Robertis M, Massi E, Poeta ML, Carotti S, Morini S, Cecchetelli L, et al. The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies. *J Carcinog* 2011; 10: 9.

13. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011; 1-246.

14. He J, Xu Q, Wang M, Li C, Qian X, Shi Z, et al. Oral administration of apigenin inhibits metastasis through AKT/P70S6K1/MMP-9 pathway in orthotopic ovarian tumor model. *Int J Mol Sci* 2012; 13(6): 7271-82.

15. Yang ZY, Li LG, Xiong YL, Chen NN, Yu TT, Li HT, et al. Cepharanthine synergizes with photodynamic therapy for boosting ROS-driven DNA damage and suppressing MTH1 as a potential anti-cancer strategy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2024; 45: 103917.

16. Cayman Chemical Company. TBARS Assay Kit (Item No. 10009055). Ann Arbor, MI: Cayman Chemical; [cited 2026 Sep 21]. Available from: https://www.caymanchem.com.

17. Abcam plc. Total Antioxidant Capacity Assay Kit (Colorimetric) ab65329. Cambridge, UK: Abcam; [cited 2026 Sep 21]. Available from: https://www.abcam.com/products/assay-kits/total-antioxidant-capacity-assay-kit-ab65329.html.

18. Thermo Fisher Scientific Inc. Superoxide Dismutase (SOD) Colorimetric Activity Kit (EIASODC). Waltham, MA: Thermo Fisher Scientific; [cited 2026 Sep 21]. Available from: https://www.thermofisher.com.

19. Navand Salamat Company. Nagpix™ Glutathione Peroxidase (GPx) Assay Kit. Urmia, Iran: Navand Salamat; [cited 2026 Sep 21].

20. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-6.

21. Szczesny G, Veihelmann A, Massberg S, Nolte D, Messmer K. Long-term anaesthesia using inhalatory isoflurane in different strains of mice-the haemodynamic effects. *Lab Anim* 2004; 38(1): 64-9.

22. David EM, Pacharinsak C, Jampachaisri K, Hagan L, Marx JO. Use of Ketamine or Xylazine to Provide Balanced Anesthesia with Isoflurane in C57BL/6J Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2022; 61(5): 457-67.

23. Solé-Enrech G, Cano-Corres R, Aparicio-Calvente MI, Spataro N. Elimination of lipaemic interference by high-speed centrifugation. *Biochem Med (Zagreb)* 2023; 33(1): 010703.

24. Pars Peyvand Company. SGPT (ALT) Kit - UV-IFCC Method (Catalog No: ALTGPT10-538). Tehran, Iran: Pars Peyvand; [cited 2026 Sep 21]. Available from:

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]



CCBY-NC.4.0 DEED

https://parspeyvandco.com/product/pars-peyvand-sgpt-kit/.

25. Pars Azmoon Company. AST (GOT) Kit - UV-IFCC Method (Catalog No: GOT-AST). Tehran, Iran: Pars Azmoon; [cited 2026 Sep 21].

26. Li R, Yang Y, Zhang W, Tu D, He L, Hu S, et al. Apigenin alleviates liver fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and autophagy via TGF-β1/Smad3 and p38/PPARα pathways. *J Immunol Res* 2021; 2021: 6651839.

27. Liu Z, Chen J, Zhang J, Liu B, Du Q. Hepatoprotective effect of apigenin against liver injury via the non-canonical NF-κB pathway in vivo and in vitro. *J Inflamm Res* 2020; 13: 739-50.

28. Lasry A, Zinger A, Ben-Neriah Y. Inflammatory networks underlying colorectal cancer. *Nat Immunol* 2016; 17(3): 230-40.

29. Shan Sh, Shi J, Yang P, Jia B, Wu H, Zhang X, et al. Apigenin restrains colon cancer cell proliferation via targeted blocking of pyruvate kinase M2-dependent glycolysis. *J Agric Food Chem* 2017; 65(37): 8136-44.

30. Ahmadzadeh K, Roshdi Dizaji S, Ramezani F, Imani F, Shamseddin J, Sarveazad A, et al. Potential therapeutic effects of apigenin for colorectal adenocarcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Med* 2024; 13(17): e70171.

31. Daneshvar S, Zamanian MY, Ivraghi MS, Golmohammadi M, Modanloo M, Kamiab Z, et al. A comprehensive view on the apigenin impact on colorectal cancer: Focusing on cellular and molecular mechanisms. *Food Sci Nutr* 2023; 11(11): 6789-801.

32. Ai XY, Qin Y, Liu HJ, Cui ZH, Li M, Yang JH, et al. Apigenin inhibits colonic inflammation and tumorigenesis by suppressing STAT3-NF-κB signaling. *Oncotarget* 2017; 8(59): 100216-26.

33. Rahmani AH, Alsahli MA, Almatroudi A, Almogbel MA, Khan AA, Anwar S, et al. The potential role of apigenin in cancer prevention and treatment. *Molecules* 2022; 27(18): 6051.

34. Singh P, Mishra S, Noel S, Sharma S, Rath SK. Acute Exposure of Apigenin Induces Hepatotoxicity in Swiss Mice. *PLoS One* 2012; 7(2): e31964.

35. Rahimi A, Alimohammadi M, Faramarzi F, Alizadeh-Navaei R, Rafiei A. The effects of apigenin administration on the inhibition of inflammatory responses and oxidative stress in the lung injury models: a systematic review and meta-analysis of preclinical evidence. *Inflammopharmacology* 2022; 30(4): 1259-76.

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]



CCBY-NC.4.0 DEED

# Therapeutic Optimization of Apigenin in Colitis-Associated Colorectal Cancer: Attenuation of Oxidative Stress and Inflammation at an Effective Non-Toxic Dose in an AOM/DSS Mouse Model

**Dariush Gholami[1], Loghman Alaei[2]**

**Received: 24/02/26 Sent for Revision: 28/04/26 Received Revised Manuscript: 22/07/26 Accepted: 25/07/26**

**Background and Objectives:** Oxidative stress plays a role in the pathogenesis of colon cancer. Apigenin, a flavonoid with potent antioxidant properties, is effective in cancer treatment. The present study aimed to determine the therapeutic effect of apigenin on colon cancer through antioxidant mechanisms.

**Materials and Methods:** This is an experimental research, in which 60 male C57BL/6 mice were divided into six groups, including a healthy control group, a diseased control group, and four treatment groups in which colon carcinogenesis was induced by intraperitoneal injection of 10 mg/kg azoxymethane (AOM) and two cycles of 2.5% sodium dextran sulfate (DSS). Subsequently, doses of 5, 10, 20, and 40 mg/kg of apigenin were administered orally three times per week for six weeks. Oxidative stress markers including reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (TAC), glutathione peroxidase (GPx), and catalase were evaluated. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test.

**Results:** At a dose of 20 mg/kg of apigenin, a significant decrease in ROS and MDA and a significant increase in the activity of SOD, GPx, catalase, and TAC were observed ($P<0.05$).

**Conclusion:** Apigenin, in an animal model of colorectal cancer, reduced oxidative stress and enhanced antioxidant defense, and the dose of 20 mg/kg exhibited the lowest hepatic toxicity. Generalization of these results to humans requires further clinical studies. Incorporating dietary sources containing apigenin into diet may be proposed as an adjunctive preventive strategy.

**Keywords:** Apigenin, Colorectal cancer, Oxidative stress

**Funding:** This study was funded by Amol University of Modern Technologies.

**Conflict of interest:** None declared.

**Ethical Considerations (Code of Ethics):** The Ethics Committee of Amol University of Special Modern Technologies approved the study (IR.ASMT.REC.1403.018).

**Authors' Contributions**

- **Conceptualization:** Dariush Gholami, Loghman Alaei
- **Methodology:** Dariush Gholami
- **Data collection:** Dariush Gholami
- **Formal analysis:** Dariush Gholami
- **Supervision:** Dariush Gholami
- **Project administration:** Dariush Gholami
- **Writing - original draft:** Dariush Gholami, Loghman Alaei
- **Writing - review & editing:** Dariush Gholami, Loghman Alaei

**Citation:** Gholami D, Alaei L. Therapeutic Optimization of Apigenin in Colitis-Associated Colorectal Cancer: Attenuation of Oxidative Stress and Inflammation at an Effective Non-Toxic Dose in an AOM/DSS Mouse Model. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2026; 25 (5): 445-62. doi: 10.66224/jrums.25.5.445. [Farsi].

*1- Department of Bioinformatics and Applied Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran*

*2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran*

*Coresponding author: Tel: (011) 44442135; Email:d.gholami@ausmt.ac.ir; ORCID: 0000-0001-9441-229X*



CCBY-NC.4.0 DEED

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: doi: 10.66224/jrums.25.5.445 ]