مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۰، شماره ۱، بهار ۸۹، صفحات ۱ تا ۵

Original Article

مطالعه آپوپتوزیس متعاقب تاثیر عصاره گل همیشه‌بهار در کارسینوم تجربی کولون موش صحرایی

یوسف دوستار[۱]، داریوش مهاجری[۲]، فاطمه فتحی‌آذر[۳]، علی ناموران[۴]

[۱] استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز
[۲] دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز
[۳] استادیار، دکترای فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
[۴] دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

چکیده

سابقه و هدف: *تحقیقات آزمایشگاهی اخیر در مورد سرطان‌های کولورکتال نشان می‌دهد که عصاره گل همیشه‌بهار دارای خاصیت ضدسرطانی بر کشت سلول‌های مشتق شده از کارسینوم کولورکتال می‌باشد. میزان خاصیت مهاری این عصاره در حدود ۷۰ الی ۱۰۰ درصد بوده است. هدف از این مطالعه ارزیابی آپوپتوزیس سلول‌های دیسپلاستیک کولون متعاقب درمان با عصاره گل همیشه‌بهار می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۵۶ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و وزن ۲۰۰-۳۰۰ گرم انتخاب و به دو گروه مساوی تیمار و شاهد تقسیم گردیدند. برای القاء سرطان کولورکتال از ماده کارسینوژن ۱و۲-دی متیل هیدرازین به مقدار ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به روش تزریق زیرجلدی (۲ تزریق در هر هفته، به مدت ۲ هفته) استفاده گردید. گروه تیمار علاوه بر دریافت ماده کارسینوژن، عصاره گل همیشه بهار را به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم به مدت ۱۰ هفته به روش خوراکی روزانه دریافت نمودند. پس از گذشت ۱۰ هفته، از بافت کولون دیستال هر دو گروه جهت تهیه مقاطع ۳-۴ میکرونی و انجام رنگ‌آمیزی تانل نمونه‌برداری به عمل آمد.*

یافته‌ها: *مطالعات ایمنوهیستوشیمی نشان داد که پدیداری سلول‌های آپوپتوتیک در گروه تیمار نسبت گروه شاهد بیشتر بوده و اختلاف میانگین هر دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/01$).*

نتیجه‌گیری: *مطالعه حاضر نشان داد که عصاره گل همیشه‌بهار توانایی القاء آپوپتوزیس سلول‌های دیسپلاستیک را در کارسینوم کولورکتال تجربی موش صحرائی را دارا می‌باشد.*

واژگان کلیدی: *آپوپتوز، سرطان کولورکتال، گل همیشه‌بهار.*

مقدمه

سرطان روده بزرگ، دومین دلیل مرگ و میر ناشی از سرطان در دنیا است. طبق آمار ارائه شده، این سرطان در هر سال مسئول مرگ ۱۹۰۰۰ نفر در انگلستان، ۸۵۰۰۰ نفر در اروپا و ۶۱۰۰۰ نفر در ایالات متحده است (۱، ۲). در مورد ایران، آمار قابل استنادی برای میزان وقوع این سرطان وجود ندارد، ولی منابع غیر رسمی اعلام کرده‌اند که بیشترین درصد سرطان مربوط به دستگاه گوارش و به خصوص روده بزرگ است و درصد بالایی از بدخیمی‌ها و مرگ و میر را در ایران شامل می‌شود. میزان بالای چربی (۳) و پروتئین جیره غذایی باعث افزایش وقوع سرطان روده بزرگ می‌شود(۴)؛ این در حالی است که به نظر می‌رسد تغذیه با چربی پایین، فیبر بالا، کلسیم بالا و مصرف مقدار زیاد سبزیجات در غذای روزانه باعث کم شدن میزان بروز سرطان روده بزرگ می‌شود. مطالعات آزمایشگاهی حاکی از ارتباط بین عوامل تغذیه‌ای و سرطان روده بزرگ است (۳، ۵، ۶). با این وجود، مکانیسم

آدرس نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، دانشکده دامپزشکی، بخش پاتولوژی، دکتر یوسف دوستار (email: vetdoustar@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۲/۲۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۳

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-05-03]

حمایتی اجزای اشاره شده هنوز به درستی مشخص نشده است. به نظر می‌رسد تجمع زیاد سلول‌های جهش یافته در روده بزرگ و رکتوم باعث ایجاد تومور و بدخیمی می‌شود (۴). سرطان روده بزرگ یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در مردان و زنان به خصوص در آینده و افزایش شهرهای صنعتی خواهد بود (۳، ۶). از عوامل مهارکننده سرطان روده بزرگ می‌توان به گیاهان دارویی و میوه‌جات اشاره کرد که به صورت روزانه مورد مصرف قرار می‌گیرند، ولی باید قبل از مصرف آنها اثرات محافظتی و ضدسرطانی آنها شناسایی شود. مطالعات در مورد نقش گیاهان مختلف در پیشگیری از سرطان روده از مدتی قبل آغاز شده است (۷). مطالعات قبلی حاکی از اثرات مفید گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) در التهابات، تسریع التیام زخم‌ها، اثرات مفید در بثورات پوستی در مصارف خارجی و اثرات مفید در کوله‌سیستیت، کولانژیت،گاستریت، سیستیت و ضد هایپرلیپیدمی در مصارف داخلی است (۵). گاهی در منابع قدیمی به اثرات سیتوتوکسیک و آنتی‌توموری آن اشاره شده (۸)، ولی در مطالعاتی که اخیرا انجام شده است اثرات ژنوتوکسیک و ضدژنوتوکسیکی در رده سلول‌های کبدی(۹) و اثرات آپوپتوتیک آن بصورت *In vitro* بر روی سلول‌های سرطان رده سلول‌های لوسمی، ملانوما، فیبروسارکوما، پستان، پروستات، سرویکس، پانکراس و کولورکتال مورد بررسی قرار گرفته است. به طوری که عصاره گیاه فوق با مهار تقسیم سلولی در فاز G0/G1 و فعال کردن آنزیم کاسپاز-۳ باعث راه‌اندازی آبشار کاسپازی و آپوپتوزیس سلول‌های سرطانی در شرایط *In-vitro* می‌گردد (۱۰). با توجه به اثرات ضدتوموری و القاگر عصاره گیاه همیشه بهار و عدم مطالعه اثرات این گیاه به صورت *In vivo*، بر آن شدیم تا اثرات آن در آپوپتوزیس سلول‌های دیسپلاستیک در مدل تجربی کارسینوم کولون را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی مداخله‌ای، تعداد ۵۶ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و وزن ۲۰۰-۳۰۰ گرم انتخاب و به صورت تصادفی به دو گروه مساوی تیمار و شاهد تقسیم گردیدند. رت‌های نر در شرایط ۵ حیوان در هر قفس و نیز با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۱۰±۵۵ درصد نگهداری شدند.

برای القاء سرطان کولورکتال در هر دو گروه تیمار و شاهد از ماده کارسینوژن ۱و۲-دی متیل هیدرازین (ساخت کمپانی سیگما) به مقدار ۴۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم به روش تزریق زیر جلدی (۴ تزریق در هر هفته) استفاده گردید. گروه تیمار علاوه بر دریافت ماده کارسینوژن، عصاره گل همیشه‌بهار را به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم به مدت ۱۰ هفته به روش خوراکی روزانه دریافت نمودند. پس از گذشت ۱۰ هفته، از بافت کولون دیستال هر دو گروه جهت تهیه مقاطع ۳-۴ میکرونی و انجام رنگ‌آمیزی تانل نمونه‌برداری به عمل آمد (۱۱). تغییرات آپوپتوزیس در بافت کولون به عنوان متغیر وابسته مورد بررسی قرار گرفت.

جهت ایجاد تجربی سرطان روده بزرگ در جوندگان از ماده 1,2-dimethylhydrazine (DMH) استفاده می‌شود که قابلیت کارسینوژنیک در روده بزرگ و کوچک داشته و با القای کریپت‌های نابجا در روده و متعاقب آن ایجاد تومور، روش استاندارد مطالعه تجربی سرطان در روده بزرگ و کوچک است (۱۲، ۱۳)، با این حال ارگان هدف آن روده بزرگ است (۱۳، ۱۴). از طرف دیگر، انسان‌ها با DMH و دیگر مشتقات هیدرازین از طریق محیط (۱) و غذا در ارتباط هستند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که DMH از طریق استرس اکسیداتیو و القاء موتاسیون اثرات خود را بر جای می‌گذارد (۴، ۱۵). جهت ارزیابی سرطان ایجاد شده توسط DMH، کریپت‌های نابه‌جای ایجاد شده (Aberrant Crypt Foci ACF) مورد بررسی قرار می‌گیرد.کریپت‌های نابه‌جای ایجاد شده در روده از عوامل مستعد کننده روده برای ایجاد پولیپ و مراحل پیشرفته سرطان هستند و از طریق بررسی آنها می‌توان در شناسایی زودهنگام سرطان کمک گرفت. برای القاء کارسینوم کولون ماده شیمیایی ۱و۲ دی متیل هیدرازین با دز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم محلول در EDTA به روش زیرجلدی تزریق می‌گردد. مدت زمان تزریق هر هفته دو تزریق با فاصله مساوی، به مدت دو هفته است (۱۶، ۱۷).

به منظور تهیه عصاره گل همیشه بهار، ابتدا گل‌ها خشک و پودر شده و سپس به روش ماسراسیون (خیساندن) در سرما توسط حلال ان-هگزان چربی‌زدایی شدند. جهت حصول عصاره با محتوای مواد موثره حداکثر، ازحلال متانل ۷۰درصد استفاده گردید. استخراج نمونه در سرما به روش ماسراسیون انجام و عمل استخراج تا خروج کامل مواد از پودر نمونه چندین بار تکرار گردید. عصاره‌های بدست آمده تحت خلا و در دمای پائین کاملا خشک و جهت مطالعه اثر آن در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره هیدروالکلی فوق به صورت پودر به همراه سرم سالین با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم گاواژ گردید.

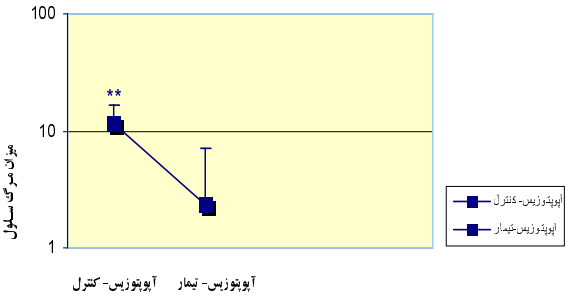
برای تشخیص آپوپتوز، از کیت تانل (insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche ،ساخت کشور آلمان) استفاده شد. تکنیک تانل به شرح زیر انجام شد:

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-05-03]

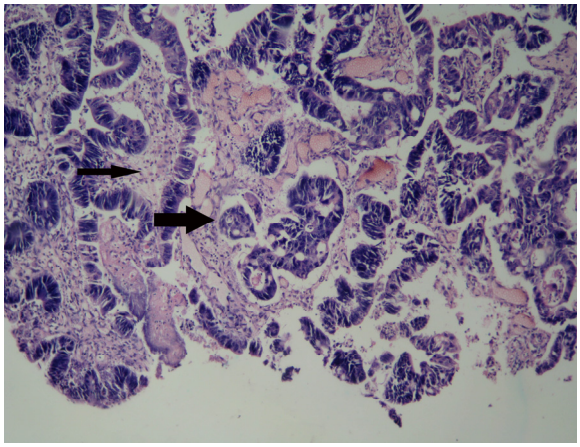
۱- ابتدا مقاطع تهیه شده، پس از پارافین‌زدائی و آب دهی با پروتئیناز K مجاور و پس از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو گردیدند.
۲- مقاطع بافتی با محلول واکنش‌گر تانل به میزان ۵۰ میکرولیتر به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجاور گردیدند، سپس با محلول فسفات بافر شستشو داده شدند.
۳-در این مرحله، مقاطع بافتی پس از انکوباسیون با محلول کانورتر (۵۰ میکرو لیتر) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو و سپس با محلول دی‌آمینو بنزیدین تتراکلراید نیز مجاور گشته و به مدت۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ سانتی‌گراد مجددا انکوبه گردیدند.
۴- سپس برش‌ها با فسفات بافرشستشو و باتولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی شدند (۱۸، ۱۹).
بر اساس جدول کوهن و ضریب اثر ۰/۵ و توان آزمون ۹۰ درصد، حداقل حجم نمونه ۲۸ مورد به دست آمد. سلول‌های آپوپتوتیک در ۱۰ میدان میکروسکوپی بطور تصادفی شمارش گردیدند. برای تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین سلول‌های آپوپتوز دو گروه تیمار و شاهد از آزمون t مستقل استفاده شد.

یافته‌ها

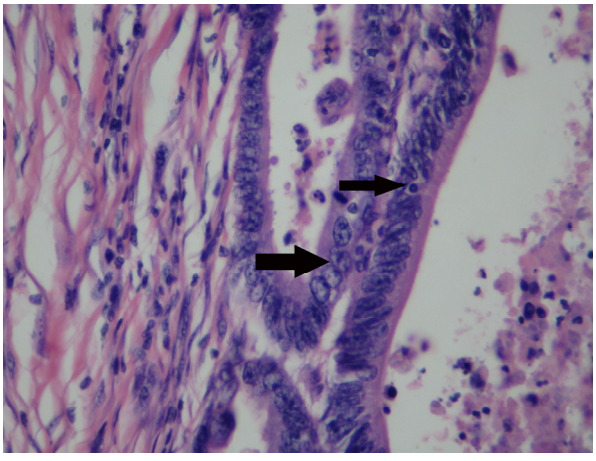
در مقاطع بافتی که به روش رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ائوزین تهیه شده بودند، سلول‌های دیسپلاستیک، نئوپلاستیک، کریپت‌های غیرعادی یا Aberrant Crypt Foci به همراه سلول‌های آماسی تک‌هسته‌ای مشاهده گردیدند که نشانگر تاثیر کارسینوژنیکی ماده شیمیائی ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین می‌باشد (شکل ۱ و ۲). مطالعات میکروسکوپی از مقاطع بافتی بخش دیستال کولون که به روش رنگ‌آمیزی تانل تهیه گردیده بودند، نشانگر تعداد کثیری از سلول‌های آپوپتوتیک در اپی‌تلیوم کریپت‌های دیسپلاستیک کولون (Aberrant Crypt Foci) گروه تیمار بود که در مقایسه با گروه شاهد تعداد سلول‌های آپوپتوتیک بیشتری داشتند (شکل ۳ و ۴) و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه تیمار و شاهد مشاهده شد. میانگین (± انحراف معیار) میزان آپوپتوزیس در گروه تیمار ۲/۱±۱۱/۷ و در گروه شاهد ۱/۴±۲/۴ بود ($p<0/01$). در نمودار ۱ تغییرات آپوپتوزیس در بافت کولون گروه تیمار و شاهد نشان داده شده است.



نمودار ۱- میانگین تغییرات آپوپتوزیس در بافت کولون گروه تیمار و شاهد (n=28). داده‌ها بصورت میانگین ± خطای معیارنمایش داده شده است. ** $p<0/01$ در مقایسه با گروه شاهد.

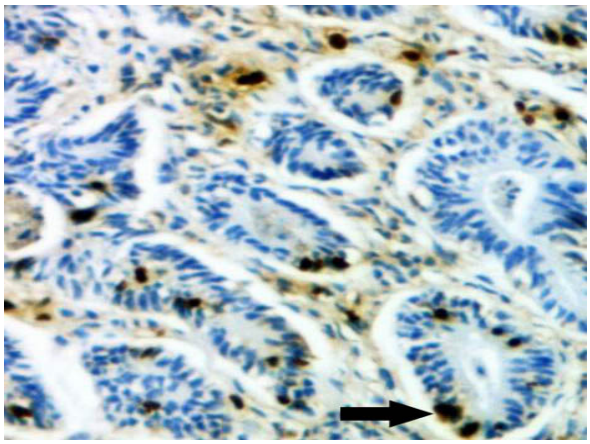


شکل ۱- نمای ریزبینی از بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه شاهد که تحت تاثیر ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین قرار گرفته است. به تغییرات دیسپلاستیک بافت اپی‌تلیالی توجه نمائید. تعدادکثیری از کریپت‌های دیسپلاستیک یا Aberrant Crypt Foci (فلش ضخیم) به همراه ارتشاح سلول‌های آماسی در لامینا پروپریا و شکل‌گیری حوضچه‌های خونی نیز قابل مشاهده می‌باشد. (بزرگنمائی۲۰ برابر؛ رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین)

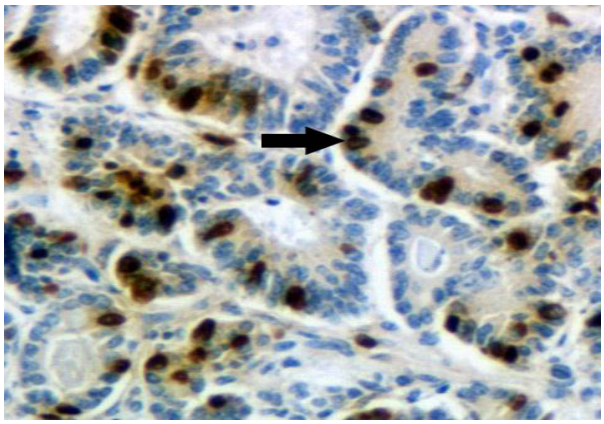


شکل ۲- نمای ریزبینی از بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه تیمار که در آن تعدای از سلول‌های دیسپلاستیک (فلش ۱) و سلول آپوپتوتیک (فلش ۲) قابل مشاهده می‌باشد. (بزرگنمایی۲۰ برابر و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین)

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-05-03]



شکل ۳- نمای ریزبینی از کریپت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه شاهد که درآن سلول‌های تانل مثبت به رنگ قهوه‌ای (فلش) قابل رویت می‌باشد. (بزرگنمائی ۴۰ برابر و رنگ آمیزی تانل)



شکل ۴- نمای ریزبینی از کریپت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه تیمار که در آن سلول‌های متعدد تانل مثبت متعدد به رنگ قهوه‌ای (فلش) قابل رویت می‌باشد. (بزرگنمایی ۴۰ برابر و رنگ آمیزی تانل)

بحث

نتایج حاصل از مطالعات جیمنز و همکاران وی در سال ۲۰۰۶ نشان می‌دهد که عصاره گل همیشه بهار توانسته است در محیط‌های کشت، سلول‌های سرطانی متعد نظیر لوسمی، ملانوما، فیبروسارکوم، کارسینوم‌های پستان، پروستات، سرویکس، ریه، پانکراس و کولورکتال را در حد ۷۰ الی ۱۰۰ درصد از بین ببرد. آنها این موضوع را چنین توجیه نمودند که عصاره گل همیشه بهار به واسطه اثر مهاری بر تقسیم سلولی در فاز G0/G1 و فعال نمودن مسیر آبشار کاسپازی باعث القاء آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی محیط کشت می‌شود. همچنین اشاره داشتند که مهم‌ترین مسیر آنزیمی موثر، آنزیم کاسپاز-۳ می‌باشد (۸، ۱۰). آکوئی و همکاران و دینا در سال ۲۰۰۷ بیان نمودند که ژن APC یا Adenomatous Polyposis Coli به عنوان یک ژن سرکوب کننده رشد تومور و مشوق آپوپتوزیس شناخته شده است. محصول ژن APC پروتئینی است به وزن ۳۱۲ کیلو دالتون که دارای دومن‌های متعددی است که از آن طریق با سایر پروتئین‌ها باند می‌شود که شامل پرونئین بتا-کاتنین، آکسین، CTBC، Asefs، IQGAP1 و میکروتوبول می‌باشد. نقش دیگری که برای APC بیان شده اتصال و مهاجرت سلولی، سازمان‌دهی آکتین و شبکه میکروتوبولی سلول‌ها است و از این نظر می‌توان تغییرات آناپلاستیک مشاهده شده در مطالعه حاضر را تفسیر نمود، زیرا که با نقص ایجاد شده در شکل‌گیری دوک‌های تقسیم سلولی و اتصال بین سلولی (موتاسیون ژن APC) شرایط برای برهم خوردن پلاریته سلولی و تشکیل سلول‌های پلی‌پوئیدی مساعد می‌گردد که نتایج، گویای آن است (۱۸، ۲۰). تاثیرات آنتی‌موتاسیونی عصاره گل همیشه بهار در پدیداری پروتئین‌های مشوق آپوپتوزیس نظیر پروتئین APsC نیز نمی‌تواند در توجیه نتایج معنی‌دار مطالعه حاضر مطرح باشد. البته نباید نقش پروتئین بتاکاتنین را نیز در این مورد فراموش نمود که عصاره گل همیشه بهار به شکل غیرمستقیم بر روی آن اثر گذاشته و الگوی مرگ سلول‌های دیسپلاستیک را در کارسینوم کولورکتال تحت تاثیر قرار می‌دهد. الیس و همکاران در سال ۱۹۹۰، جیمنز در سال ۲۰۰۶ و باراجیز در سال ۲۰۰۶ به این نتیجه رسیدند که عصاره گل همیشه بهار دارای خاصیت ضد سرطانی است که دلیل آن وجود ماده شیمیائی بنام ساپونین در آن می‌باشد. ساپونین موجود در عصاره گل‌همیشه بهار آنتی موتاسیون و مشوق آپوپتوزیس می‌باشد (۹، ۱۰، ۱۸). هم‌چنین موتوهیوکو و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان داشتند که دو ترکیب شیمیایی موجود در عصاره گل همیشه‌بهار بنام تری‌ترپن‌گلیکوزیداز-۹ و ۱۰ دارای خاصیت سیتوتوکسیسیتی می‌باشند که توانسته‌اند در رده‌های سلولی سرطان‌های کولون، ملانوم و لوسمی در حد ۵۰ درصد پتانسیل القاء مرگ سلولی را نشان دهند. ناگفته نماند که محصول تری‌ترپن‌گلیکوزیداز- ۱۰ حاصل از عصاره گل همیشه‌بهار در مهار فرآیندهای التهابی نیز موثر بوده است (۲۱). نتایج مطالعات سایر دانشمندان و مقایسه آن با نتایج مطالعه حاضر نشانگر آن است که عصاره گل همیشه بهار تا حدودی می‌تواند در القاء آپوپتوزیس سلول‌های دیسپلاستیک کولون در شرایط in vivo موثر واقع گردد، هر چند باید با دسترسی به ترکیبات موثرتر عصاره گیاهی فوق و مطالعات بیشتر به نتایج دقیق‌تر و راه‌گشاتری دست یافت و با استفاده از عوامل موجود در طبیعت تا حدودی در درمان بیماری‌های نئوپلاستیک موفق بود.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-05-03]

REFERENCES

1. Willett WC, Stamfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat, fat and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. N Engl J Med 1990; 323: 1664– 72.
2. Wynder EL. The epidemiology of large bowel cancer. Cancer Res 1975; 35: 3388– 94.
3. Reddy BS. Nutritional factors and colon cancer. Crit Rev Food Sci Nutr 1995; 35: 175–90.
4. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990; 61: 759–67.
5. Mason JB. Nutritional chemoprevention of colon cancer. Semin Gastrointest Dis 2002; 13: 143–53.
6. Negri E, D'Avanzo B, Tavani A. The role of vegetables and fruit in cancer risk. In: Hill MJ, Giacosa A, Caygill CP, Eds. Epidemiology of diet and cancer. London: Ellis Horwood; 1994. P.327–34.
7. Shike M, Winamer SJ, Greenwald PH, Bolch A, Hill M, Swaroop SV. Primary prevention of colorectal cancer. Bull World Health Org 1998; 68: 377–85.
8. Pe´rez-Carreo´ NG, Cruz-Jime´nezb JA, Licea-Vegab E. Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver cell cultures treated with diethylnitrosamine. Toxicol In Vitro 2001; 16: 253–58.
9. Barajas-Farias LM, Pérez-Carreón JI, Arce-Popoca E. A dual and opposite effect of Calendula officinalis flower extract: chemoprotector and promoter in a rat hepatocarcinogenesis model. Planta Med 2006; 72: 217-21.
10. Jimenez-Medina E, Garcia-Lora A, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido F. A new extract of the plant calendula officinalis produces a dual in vitro effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. BMC Cancer 2006; 6: 119.
11. Thurnherr N, Deschner EE, Stonehill EH, LipkinM. Induction of adenocarcinomas in the colon in mice by weekly injection of 1,2-dimethylhydrazine. Cancer Res 1973; 33: 940–45.
12. Kamaleeswari M, Deeptha K, Sengottuvelan M, Nalini N. Effect of dietary caraway (Carum carvi L.) on aberrant crypt foci development, fecal steroids, and intestinal alkaline phosphatase activities in 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. Toxicol Appl Pharmacol 2005; 214: 290–96.
13. Dias MC, Spinardi-Barbisan AL, Rodrigues MA, de Camargo JL, Terán E, Barbisan LF. Lack of chemopreventive effects of ginger on colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhyrazine in rats. Food Chem Toxocol 2006; 44, 6,877-884.
14. Manju V, Nalini N. Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clin Chim Acta 2005; 358: 60–67.
15. Chithra V, Leelamma S. *Coriandrum sativum* — effect on lipid metabolism in 1,2-dimethyl hydrazine induced colon cancer. J Ethnopharmacol 2000; 71: 457–63.
16. Bird RP. Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. Cancer Lett 1995; 93: 55–71.
17. Rodrigues MAM, Silva LAG, Salvadori DMF, Camargo JLV, Montenegro MR. Aberrant crypt foci and colon cancer: comparison between a short- and medium term bioassay for colon medium-term bioassay for colon carcinogenesis using dimemthylhydrazine in Wistar rats. Brazilian J Med Biol Res 2002; 35: 351–55.
18. Dikavsakaya D, Schiffmam D, Lan P. Loss of APC incidence polypoidy as results of a combination of defects in mitosis and apoptosis. J Cell Biol 2007; 176: 183–95.
19. Boucaud-Maitre Y, Algernon O, Raynaud J. Cytotoxic and antitumoral activity of *Calendula officinalis* extracts. Pharmazie 1988; 43: 220–21.
20. Aoki K, Taketo M, Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene. J Cell Sci 2007; 120: 3327-35.
21. Ukiya M, Akihisa T, Yasukawa K, Tokuda H, Suzuki T, Kimura Y. Anti-Inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of Marigold (*Calendula officinalis*) flowers. J Nat Prod 2006; 69: 1692–96.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-05-03]