Original Article

Anti-angiogenic effect of eugenol on a Wistar rat aortic ring

Kouhestanian K[1], Baharara J[2*], Zafarbalanezhad S[1]

1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.
2- Research Center for Animal Development Applied Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.

Received March 29, 2014; Accepted 17 June, 2015

Abstract:

Background: Angiogenesis is an essential process during development. Eugenol has been used to treat diverse diseases for many years. The purpose of the present study was to examine the anti-angiogenic effect of eugenol on a Wistar rat aortic ring.
Materials and Methods: In this experimental study, rat aorta rings were cultured in a collagen matrix. After observation of vessel sprouting, the samples were allocated into control and experimental groups treated with different concentrations (1, 2, 4 and 8 mM) of eugenol and three samples were considered for each concentration. After 24 and 48 hours from treatment, all samples were photographed and the number and length of blood vessels were measured using Image J software.
Results: The mean number and length of blood vessels in the experimental groups 2, 3 and 4 were (16.36±0.57, 171.31±1.56 mm), (11.66±1.15, 163.03±1.88 mm), and (6.66±0.57, 140.35±0.59 mm) respectively at 24 hours and (15.33±1.15, 171.32±0.47 mm), (9.33±1.15, 134.91±0.91 mm) and (2.66 ±1.15, 100.67±0.59 mm) at 48 hours after treatment with eugenol which showed a significant decrease in a dose- and time-dependent manner compared to the control group (18.66±0.57, 195/79±3/35 mm) (P<0.05).
Conclusions: Eugenol dose and time-dependently inhibits angiogenesis in rat aortic ring model; therefore, it can be considered in studies related to cancer and pathological conditions associated with angiogenesis.

Keywords: Angiogenesis, Eugenol, Rat aortic ring

* **Corresponding Author.**
Email: baharara@yahoo.com
Tel: 0098 511 437 092
Fax: 0098 511 437 092

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2015; Vol. 19, No 3, Pages 197-203

Please cite this article as: Kouhestanian K, Baharara J, Zafarbalanezhad S. Anti-angiogenic effect of eugenol on a Wistar rat aortic ring. ***Feyz*** 2015; 19(3): 197-203.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]

بررسی اثر ضد رگ‌زایی اوژنول در حلقه آئورت موش صحرایی

کیاندخت کوهستانیان [۱]، جواد بهارآرا [۲*]، سعیده ظفر بالانژاد [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: رگ‌زایی فرآیندی ضروری در تکوین محسوب می‌شود. اوژنول برای درمان بیماری‌های مختلف کاربرد فراوانی دارد. در پژوهش حاضر اثر اوژنول بر رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت موش صحرایی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه تجربی ابتدا آئورت موش صحرایی در ماتریکس کلاژنی کشت داده شد و پس از مشاهده جوانه‌ها نمونه‌ها به گروه‌های کنترل و تجربی (تیمار با غلظت‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌مولار اوژنول) تقسیم گردید؛ به‌طوری‌که در هر غلظت سه نمونه در نظر گرفته شد. پس از طی شدن زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت از انجام تیمار عکس‌برداری انجام شد. و تعداد و طول انشعابات رگی توسط نرم‌افزار Image J تعیین گردید.

نتایج: تعداد و طول جوانه‌های عروقی در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ با مقادیر میانگین و انحراف معیار (۱/۵۶±۱۷۱/۳۱ میلی‌متر، ۰/۵۷±۱۶/۳۶)، (۱/۸۸±۱۶۳/۰۳ میلی‌متر، ۱/۱۵±۱۱/۶۶) و (۰/۵۹±۱۴۰/۳۵ میلی‌متر، ۰/۵۷±۶/۶۶) در ۲۴ ساعت و نیز مقادیر (۰/۴۷±۱۷۱/۳۲ میلی‌متر، ۱/۱۵±۱۵/۳۳)، (۰/۹۱±۱۳۴/۹۱ میلی‌متر، ۱/۱۵±۹/۳۳) و (۰/۵۹±۱۰۰/۶۷ میلی‌متر، ۱/۱۵±۲/۶۶) در ۴۸ ساعت بعد از تیمار با اوژنول نسبت به گروه کنترل (۳/۳۵±۱۹۵/۷۹ میلی‌متر، ۰/۵۷±۱۸/۶۶) کاهش معنی‌دار به‌صورت وابسته به دوز و زمان نشان داد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: اوژنول به‌صورت وابسته به دوز و زمان اثر مهاری بر رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت موش صحرایی دارد، لذا می‌تواند در مطالعات مربوط به سرطان و حالات پاتولوژیک وابسته به رگ‌زایی مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آنژیوژنز، اوژنول، حلقه آئورت رت

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۴، صفحات ۲۰۳-۱۹۷

مقدمه

آنژیوژنز فرآیندی است که در آن رگ‌های جدید از رگ‌های موجود رشد می‌کنند. تشکیل و رشد رگ‌های جدید نقش بسیار مهمی در پدیده‌های فیزیولوژیکی نظیر رشد جنین و ترمیم بافت و پاتولوژیکی نظیر رتینوپاتی دیابتی، آرتریت، رشد غدد سرطانی و متاستاز ایفا می‌کنند [۱]. فرضیه‌ای که در آن عنوان گردیده رشد تومور وابسته به رگ‌زایی است، اولین بار توسط فولکمن مطرح شده است. در این فرضیه ادعا گردید که گسترش تومورها وابسته به ایجاد عروق جدید در آن است و مهار ایجاد عروق در بافت توموری می‌تواند رشد آن را متوقف کند [۳،۲].

از همین رو، بسیاری از محققین اثرات فاکتورهای تحریک کننده و مهار کننده رگ‌زایی را در مدل‌های مختلف آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار داده‌اند [۴]. به‌منظور بررسی رگ‌زایی چندین مدل نظیر پرده کوریوآلانتوئیک جوجه، مدل تشکیل عروق جدید در قرنیه چشم، ماتریژل، مدل آمنیون انسانی و حلقه آئورت مورد توجه می‌باشند [۵]. از میان این مدل‌ها، مدل حلقه آئورت، به‌طور گسترده برای بررسی رگ‌زایی و ساز و کارهای وابسته به آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. از ویژگی‌های مهم این مدل می‌توان به تکرارپذیری بالا، اثر بخشی و هزینه کم آن اشاره کرد [۷،۶]. هم‌چنین، حلقه آئورت پلی بین مطالعات آزمایشگاهی و طبیعی می‌باشد. در این روش جوانه‌های رگی مشتق از حلقه آئورت در ژل کلاژن به یک شبکیه مویرگی تبدیل می‌شوند [۸] که موجب ارائه یک تصویر کامل‌تر از فرآیند رگ‌زایی در مقایسه با سنجش‌های قدیمی‌تر مبتنی بر سلول می‌گردد [۹]. کشت اکسپلانت عروقی (روش مورد استفاده برای جداسازی سلول‌ها از یک قطعه بافت موجود زنده و کشت آنها در شرایط آزمایشگاهی) مانند حلقه آئورت در ماتریکس ژله‌ای شده و سپس مشاهده سلول‌های آندوتلیال به‌عنوان یک مدل سه بعدی محسوب می‌شود [۱۱،۱۰]. از ماتریکس کلاژنی به‌عنوان یکی از مدل‌های کشت، استفاده فراوانی شده است، به‌عنوان نمونه Besse و همکاران از داربست کلاژنی به‌عنوان یک مدل

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد

[۲] استاد، مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد

[۳] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد

* **نشانی نویسنده مسئول:**
مشهد، خیابان راهنمایی، راهنمایی ۲۴، مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد

تلفن: ۰۵۱۱ ۸۴۳۷۰۹۲ **دورنویس:** ۰۵۱۱ ۸۴۳۷۰۹۲

پست الکترونیک: baharara@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۳۰ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۳/۳۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]

مناسب روند رگ‌زایی در موش‌ها استفاده نموده‌اند [۱۲]. امروزه گیاهان دارویی بخش وسیعی از پژوهش‌ها را در حوزه درمان سرطان و آنژیوژنز درمانی به‌خود اختصاص داده‌اند و مطالعات نشان می‌دهد که غذاها به‌خصوص غذاهای با منشا گیاهی، پتانسیل پیشگیری از حدود یک سوم سرطان‌ها را دارند [۱۳]. مصرف رژیم‌های غذایی گیاهی می‌تواند از گسترش و پیشرفت بیماری‌های مزمن مثل تومورهای بدخیم که پیشرفت آن‌ها با رگ‌زایی ارتباط دارد، جلوگیری کند [۱۴]. اوژنول از دیرباز در بسیاری از کشورها از جمله ایران مصارف درمانی یا غذایی فراوانی داشته است [۱۵]. از جمله ترکیبات فنلی موجود در گیاهان، می‌توان به اوژنول ((4-allyl (−2-mthoxyphenol) اشاره کرد [۱۵]. اوژنول مایعی بی‌رنگ، روغنی یا زرد روشن می‌باشد که تا به امروز تحقیقات بسیاری در زمینه اثرات ضد سرطانی این ماده بر روی انواع مختلف سرطان‌ها انجام شده است. میزان بالای اوژنول در میخک اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قوی را باعث می‌شود؛ به‌طوری‌که قادر است پروتئین‌ها را دناتوره کرده و با فسفولیپیدهای غشای سلولی واکنش دهد و نفوذپذیری آن‌ها را تغییر داده و سبب به دام انداختن رادیکال-های آزاد شود [۱۶]. تحقیقات متعددی که اخیرا صورت گرفته‌اند تاثیر بالقوه اوژنول را در درمان سرطان اثبات نموده است. انواع مختلفی از سلول‌های سرطانی مانند سلول‌های سرطانی کلیوی، کبدی، ریوی، پروستاتی، مثانه‌ای، و کارسینومای پستانی توسط اوژنول هدف گیری شده‌اند [۱۸،۱۷]، ولی تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثر ضد آنژیوژنزی این ماده صورت نگرفته است. از این‌رو، در مطالعه حاضر با استفاده از مدل آزمایشگاهی حلقه آئورت که یکی از مدل‌های معتبر مطالعه‌رگ‌زایی است برای نخستین بار فعالیت ضد رگ‌زایی اوژنول را بر حلقه آئورت موش صحرایی مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

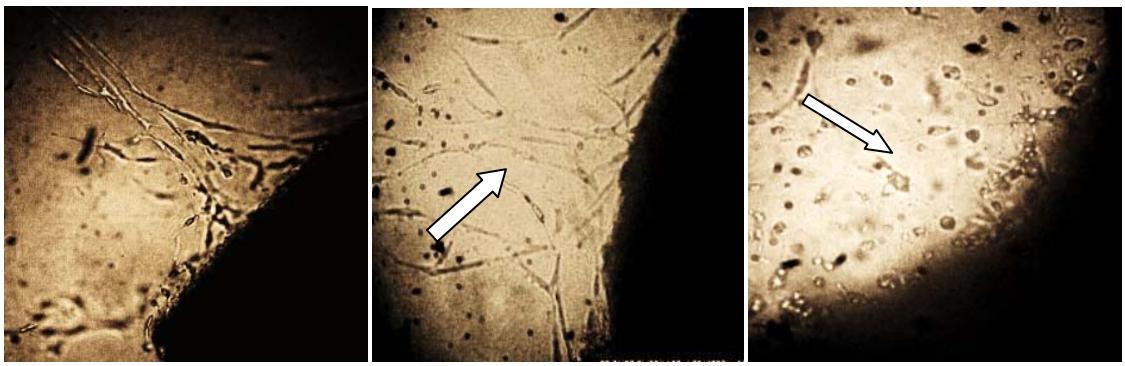
این پژوهش تجربی آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ انجام شده است. در ابتدا کلاژن از دم موش صحرایی نژاد ویستار برای تهیه داربست استخراج گردید؛ بدین ترتیب که رشته‌های تاندونی دم جدا شده و پس از جداسازی چربی‌های اضافه و ۳ بار شستشو با PBS در الکل ۷۰ درصد به‌مدت ۱ ساعت نگهداری شد. به‌منظور حل کردن تاندون از ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر با pH= ۴ استفاده شد و در مرحله آخر به‌مدت ۶۰ دقیقه با ۱۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. محصول به‌دست آمده با کمک روش بردفورد تعیین غلظت گردید [۱۹]. جهت تهیه داربست، کلاژن استخراج شده از دم موش صحرایی، بیکربنات سدیم، و محیط کشت DMEM را به‌نسبت ۱، ۱، ۸ مخلوط نموده، پس از تشکیل داربست حلقه‌های آئورت را درون داربست قرار داده و در انکوباتور به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت تا محلول کلاژن به ژل تبدیل شود. سپس، به آن محیط کشت DMEM حاوی ۳۰ درصد FBS و ۰/۱ درصد پنی‌سیلین و استرپتومایسین اضافه گردید. پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۵ درصد و در فشار CO_2 ۵ درصد نگهداری شدند. پس از ۳ روز پیدایش اولین جوانه‌های عروقی از حلقه آئورت مشاهده گردید [۲۰]. موش‌های صحرایی با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته و وزن تقریبی ۱۲۰ تا ۲۰۰ گرم از پژوهشکده بوعلی سینا دانشگاه علوم پزشکی مشهد تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر نور و دما و نیز دسترسی به آب و غذا به‌مدت دو هفته برای سازگاری با شرایط نگهداری شدند. برای جداسازی آئورت، موش‌های با استفاده از کلروفرم بیهوش شدند و حفره شکمی شکافته شد و قطعه‌ای از آئورت با طول مناسب جدا گردید. آئورت خارج شده به بافر استریل که حاوی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین بود انتقال یافت و در شرایط استریل بافت زاید چربی از آن جدا گردید. آئورت به قطعات ۱ تا ۲ میلی‌متری قطعه قطعه شد و در داربست کلاژنی کشت داده شد. در کلیه مراحل کار قوانین اخلاقی کار با حیوانات مطابق با پروتوکل‌های مربوطه رعایت گردید [۲۱]. ماده موثره اوژنول به‌صورت خالص شده از شرکت سیگما خریداری گردید و در DMSO حل شده و سپس با محیط کشت رقیق شد. به‌منظور بررسی عدم تاثیر حلال اوژنول در رگ‌زایی، گروه شاهد آزمایشگاهی (تیمار با DMSO+ محیط کشت) تعریف گردید. هم‌چنین، نمونه‌هایی به‌عنوان گروه کنترل (بدون تیمار) در نظر گرفته شدند. چهار گروه تیمار با اوژنول تحت عنوان گروه تجربی ۱ (تیمار با ۱ میلی‌مولار)، گروه تجربی ۲ (تیمار با ۲ میلی‌مولار)، گروه تجربی ۳ (تیمار با ۴ میلی‌مولار) و گروه تجربی ۴ (تیمار با ۸ میلی‌مولار) در نظرگرفته شد؛ به‌طوری‌که برای هر غلظت از تیمار با اوژنول سه نمونه در نظر گرفته شد و در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار عکس برداری از نمونه‌ها انجام شده و میانگین آنها اندازه گیری گردید؛ کلیه تجربیات در این مرحله سه بار تکرارشد. به‌منظور بررسی نحوه ارزیابی رشد جوانه‌ها و تعداد آن‌ها طول و تعداد انشعابات عروقی توسط نرم‌افزار Image J در مربع‌هایی با ابعاد ۱۰×۱۰ شمارش شد و میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی محاسبه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]

گردید [۱]. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ و آزمون آماری One way ANOVA و تست تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شدند.

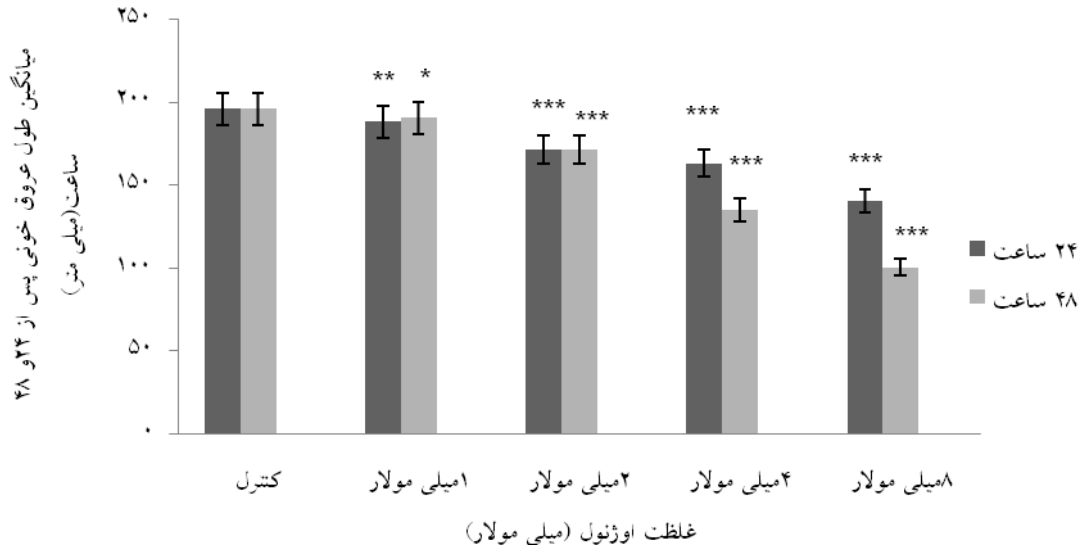
نتایج

مطالعه با میکروسکوپ معکوس نشان داد که در روز سوم انشعابات سلول‌های اندوتلیالی به‌طور بسیار محدودی شروع به تشکیل کرده و در روز پنجم جوانه‌های عروقی به‌خوبی گسترش یافته‌اند؛ از این‌رو، تیمار بر روی نمونه‌ها در روز پنجم به‌دلیل اندازه مناسب زواید شبه عروقی برای مطالعه با میکروسکوپ معکوس انجام گردید. بررسی نمونه‌های تجربی در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار با اوژنول نشان داد که ماده موثره اوژنول در گروه تجربی ۱ (تیمار با غلظت ۱ میلی‌مولار) بر روند تشکیل زواید شبکه عروقی اثر مهاری ندارد، درحالی‌که در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ (تیمار با غلظت‌های ۲، ۴ و ۸ میلی-مولار) باعث مهار رشد و پیشرفت جوانه‌های عروقی می‌گردد. در دوز ۸ میلی‌مولار تخریب کامل جوانه‌های شبکه عروقی مشاهده گردید (شکل شماره ۱). نتایج شمارش طول و انشعابات شبه عروقی و مقایسه آن‌ها با گروه کنترل در ۲۴ ساعت پس از تیمار با اوژنول نشان داد میانگین تعداد انشعابات شبکه عروقی در گروه شاهد (۰/۵۷ ±۱۸/۶۶) و طول انشعابات شبکه عروقی آن (۳/۳۵±۱۹۵/۷۹ میلی‌متر) در مقایسه با تعداد انشعابات شبکه عروقی نمونه‌های شاهد آزمایشگاهی (۰/۴۶±۱۸/۳) و طول انشعابات آن (۳/۴۱±۱۹۵/۲۸ میلی‌متر) اختلاف معنی‌داری نداشته لذا، در بررسی‌های بعدی نمونه‌های تجربی با نمونه‌های شاهد مقایسه شدند. میانگین طول انشعابات شبکه عروقی در گروه تجربی ۱ (۱/۸۷±۱۸۸/۱۳ میلی‌متر) نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۱$)، و تعداد انشعابات عروقی در این گروه (۰/۵۷±۱۷/۳۳) نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد، درحالی‌که طول و تعداد انشعابات عروقی در گروه تجربی ۲ (۱/۵۶±۱۷۱/۳۱ میلی‌متر و ۰/۵۷±۱۶/۳۶)، گروه تجربی ۳ (۱/۸۸±۱۶۳/۰۳ میلی‌متر و ۱/۱۵± ۱۱/۶۶) و هم‌چنین گروه تجربی ۴ (۰/۵۹±۱۴۰/۳۵ میلی‌متر و ۰/۵۷±۶/۶۶) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P<۰/۰۰۱$). هم‌چنین، از بررسی نمونه‌ها در ۴۸ ساعت پس از تیمار با اوژنول نیز نتایج زیر حاصل گردید: میانگین طول انشعابات شبکه عروقی گروه شاهد (۰/۵۶±۱۹۵/۸۹ میلی‌متر) همانند تیمار ۲۴ ساعت، نسبت به گروه تجربی ۱ با میانگین طول ۰/۵۷±۱۹۰/۴۲ میلی‌متر تغییر معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$)، درحالی‌که تعداد انشعابات این گروه (۰/۳۳±۱۷/۳۳) نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد. به‌علاوه، طول و تعداد انشعابات شبکه عروقی در گروه تجربی ۲ در ۴۸ ساعت (۰/۴۷±۱۷۱/۳۲ میلی‌متر و ۱/۱۵±۱۵/۳۳)، گروه تجربی ۳ (۰/۹۱±۱۳۴/۹۱ میلی‌متر و ۱/۱۵±۹/۳۳) و هم‌چنین گروه تجربی ۴ (۰/۵۹±۱۰۰/۶۷ میلی‌متر و ۱/۱۵±۲/۶۶) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<۰/۰۵$ و $P<۰/۰۰۱$) (نمودارهای شماره ۱ و ۲).

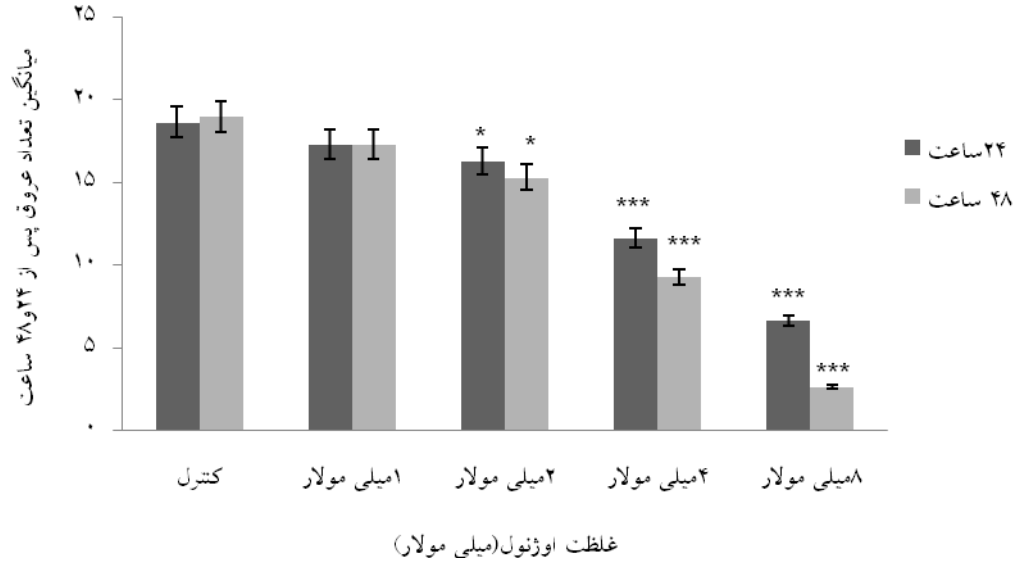


شکل شماره ۱- اثر مهارکنندگی اوژنول بر روی رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت. ۲۴ ساعت پس از تیمار با اوژنول به‌ترتیب از چپ به راست (گروه کنترل و تیمار با غلظت‌های ۱و ۸ میلی‌مولار از اوژنول) را نشان می‌دهد. تصاویر با استفاده از میکروسکوپ نوری معکوس گرفته شده است (بزرگنمایی ۱۰۰X). افزودن اوژنول با غلظت ۱ میلی‌مولار منجر به ایجاد تغییرات شاخص در جوانه‌های شبکه عروقی نگردید. افزودن غلظت ۸ میلی‌مولار اوژنول باعث تخریب ساختار شبکه عروقی در مدل حلقه آئورت شد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین طول انشعابات شبکه عروقی در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۱ (۱میلی‌مولار) ، ۲ (۲ میلی‌مولار)، ۳ (۴ میلی-مولار) و ۴ (۸ میلی مولار) پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار با اوژنول، (* $P<۰/۰۵$ و ** $P<۰/۰۱$ و*** $P<۰/۰۰۱$).



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین تعداد انشعابات عروقی در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۱ (۱ میلی‌مولار) ، ۲ (۲ میلی‌مولار)، ۳ (۴ میلی‌مولار) و ۴ (۸ میلی‌مولار) پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار با اوژنول، (* $P<۰/۰۵$ و ** $P<۰/۰۱$ و*** $P<۰/۰۰۱$).

بحث

در مطالعه حاضر اثرات ضد رگ‌زایی اوژنول با استفاده از مدل حلقه آئورت موش صحرایی بررسی گردید. نتایج نشان داد که این ماده به‌صورت وابسته به دوز و زمان قادر به مهار تشکیل زواید شبه عروقی در حلقه آئورت کشت داده شده می‌شود. استفاده از گیاه میخک در طب سنتی سابقه طولانی دارد. در سال-های اخیر مطالعات وسیعی بر روی اوژنول که از اصلی‌ترین مشتقات عصاره این گیاه است، صورت گرفته و نتایج امیدوار کننده‌ای نیز در این رابطه به‌دست آمده است [۲۲]. تحقیقات مختلف نشان داده است که مشکل اساسی برای درمان سرطان با روش‌های شیمی درمانی، مقاومت اکتسابی تومور به این‌گونه دارو-ها می‌باشد؛ به‌عبارت دیگر، باتوجه به اینکه میزان جهش و نا-پایداری ژنتیکی در سلول‌های سرطانی بالاست، تغییرات ژنتیکی باعث ایجاد مقاومت در این سلول‌ها نسبت به داروها می‌شود و این در حالی است که سلول‌های اندوتلیالی طبیعی بوده، میزان جهش در آنها پایین است و از نظر ژنتیکی پایدار می‌باشند. لذا، مهار رگ‌زایی بر پایه‌ی سرکوب سلول‌های اندوتلیالی باعث ایجاد مقاومت دارویی نمی‌گردد و یا حداقل مقاومت کمتری ایجاد می-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]

کند [۳]. بنابراین، آنژیوژنز درمانی می‌تواند گزینه مهمی برای فایق آمدن بر مسئله‌ی مقاومت به داروها باشد. بدیهی است که در این راستا شناسایی عوامل داخلی و خارجی موثر بر آنژیوژنز بسیار مهم می‌باشد. از ماتریکس کلاژنی به‌عنوان یکی از انواع مدل‌های کشت استفاده فروانی شده است. محمدی مطلق و همکاران با استفاده از داربست کلاژنی به‌عنوان یک مدل مناسب برای کشت حلقه آئورت، اثر عصاره گیاه موسیر را بر روند رگ‌زایی مورد بررسی قرار داده‌اند [۲۰]. اساس مدل‌های سه‌بعدی رگ‌زایی بر پایه ظرفیت سلول‌های آندوتلیال فعال شده و جهت تهاجم به محیط-های سه‌بعدی (ماتریکس) بنا نهاده شده است. این ماتریکس ممکن است ژل کلاژن یا فیبرین، ماتریژل یا مخلوطی از این پروتئین‌ها به‌همراه فاکتورهای دیگر باشد. هم‌چنین، مدل‌های سه‌بعدی نسبت به دو بعدی دارای ویژگی‌ها و شرایط نزدیک‌تر به محیط درون بدن هستند و در حقیقت بسته به ترکیب محیط کشت (درصد سرم، اضافه کردن فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌ها)، در این نوع مدل‌ها، سلول‌ها را می‌توان برای جوانه زدن یا ایجاد انشعاب، تکثیر و مهاجرت و یا تمایز سه بعدی تحریک کرد [۲۳]. هم‌چنین، باتوجه به اهمیت فرآیند رگ‌زایی و وابسته بودن رشد غدد سرطانی به آنژیوژنز و تحلیل و از بین رفتن آن‌ها توسط مواد ضد رگ‌زایی و اهمیتی که استفاده از غذاهای با منشاء گیاهی در مهار رگ‌زایی دارد، در این پژوهش تجربی فرآورده طبیعی اوژنول با هدف ایجاد تداخل در روند رگ‌زایی استفاده گردید. نتایج نشان داد غلظت-های ۲، ۴ و ۸ میلی‌مولار از اوژنول دارای اثر ممانعت کنندگی به-صورت معنی‌دار بر روی جوانه‌های شبکه عروقی در مدل حلقه آئورت می‌باشد؛ به‌طوری‌که رشد جوانه‌های عروقی پس از گذشت مدتی دچار توقف شدند که نشان‌دهنده شدت عمل اوژنول در مهار رگ‌زایی در این غلظت می‌باشد. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که اوژنول می‌تواند منجر به مهار توده‌های سرطانی زنوگراف در حیوانات مدل از جمله توده‌های زنوگراف سرطان سینه و معده گردد. هم‌چنین، این پلی فنل طبیعی قادراست بیان ژن‌های مرتبط با متاستاز و رگ‌زایی MMP-2-9، VEGF، VEGFR1و TIMP-2 را مهار کند [۲۴]. مدل حلقه آئورت بر مبنای مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی از بدنه قطعه آئورتی و تشکیل ساختارهای شبکه رگی در بستری از کلاژن بنا نهاده شده است [۲۶،۲۵]. مهاجرت سلول‌ها نیازمند بیان ماتریکس متالو-پروتئازها می‌باشد و در مطالعات متعدد دیده شده است که یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های عملکردی اوژنول مهار این ژن‌ها است [۲۵]. بنابراین، می‌توان فرض نمود که اوژنول با مهار این مولکول می-تواند از رشد و پیشرفت جوانه‌های عروقی ممانعت نماید. به‌علاوه، در مطالعات متعدد نشان داده شده است که اوژنول توانایی القای آپوپتوز در انواع رده‌های سلول‌های سرطانی را دارد و منجر به مهار سنتز RNA و DNA می‌گردد [۱۸]. اوژنول باعث آپوپتوز در سلول‌های سرطان پستان می‌شود و این روند از طریق مسیر داخلی و تنظیم کاهشی E2F1 صورت می‌پذیرد [۲۶]. در مطالعه‌ی دیگری نیز دیده شد که اوژنول باعث آپوپتوز در سلول‌های سرطان پستان از طریق مسیر میتوکندریایی می‌شود [۲۸،۲۷]. در تحقیق حاضر اوژنول در غلظت‌های ۴ و ۸ میلی‌مولار در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بهترین تاثیر را در کاهش رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت نشان داده است و می‌توان این‌گونه بیان نمود که نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا با نتایج تحقیقات متعدد قبلی است و از این‌رو ماده اوژنول می‌تواند زمینه مناسبی برای تحقیقات بیشتر در زمینه درمان‌های مکمل سرطان در پیش رو قرار دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه برای اولین بار نشان داد که اوژنول به-صورت وابسته به دوز دارای اثر مهاری بر روی رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت موش صحرایی است. از این‌رو، اوژنول می‌تواند انتخاب مناسبی جهت مطالعات بیشتر به‌عنوان یک دارو برای استفاده در حالات پاتولوژیک وابسته به رگ‌زایی باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاران محترم مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در اجرای این طرح همکاری داشتند سپاسگزاری می‌شود.

References:

[1] Moshtagh S, Baharara J, Zafar-Balanejad S, Ramezani T. Antiangiogenesis effect of saffron extract (Crocus sativius L.) on a Wistar rat aortic ring model. ***Shahrekord Univ Med Sci*** 2014; 16(3): 79 –88. [in Persian]

[2] Baharara J, Namvar F, Ramezani T, Hosseini N, Mohamad R. Green synthesis of silver nanoparticles using Achillea biebersteinii flower extract and its anti-angiogenic properties in the rat aortic ring model. ***Molecules*** 2014; 19(4): 4624–34.

[3] Abdullaev F, Espinosa -Aguirre JJ. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. ***Cancer Detect Prev*** 2004: 28(6): 426-32

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]

[4] Baharara J, Zafar-Balanezhad S, Nejad-Shahrokhabadi Kh. The effects of different doses of atorvastatin on angiogenesis of chorioallantoic membrane of chickembryo. ***J Shahrekord Univ Med*** Sci 2012; 14(2): 82-9. [in Persian]
[5] Mansouri K, Mostafaie A, Mohammadi Motlagh H. Angiogenesis and Tumor Biology. ***J Improve Kermanshah Univ Med Sci*** 2010; 14(4): 315-05. [in Persian]
[6] Cao Y. Angiogenesis: What can it offer for future medicine? ***Experimental Cell Res*** 2010; 316(8): 1304-8.
[7] Nicosia R. The aortic ring model of angiogenesis: a quarter century of search and discovery. Angiogenesis Review Series. ***J Cell Mol Med*** 2009; 13(10): 4113-36.
[8] Aplin AC, Fogel E, Zorzi P, Nicosia RF. The Aortic Ring Model of Angiogenesis. ***Methods Enzymol*** 2008; 443(4): 119–136.
[9] Baker M, Robinson SD, Lechertier T, Barber PR, Tavora B, D'Amico G, et al. Use of the mouse aortic ring assay to study angiogenesis. ***Nat Protoc*** 2011; 7(1): 89-104.
[10] Estrada O, Manue J, Salazar-Bookaman M, Fernández A, Cardozo A, Alvarado-Castillo C.Pomolic acid of Licania pittieri elicits endotheliumdependent relaxation in rat aortic rings. ***Phytomedicine J*** 2011; 18(6): 464-9.
[11] Tao L, Shuai Hu H, Chun Shen X. Endothelium-dependent vasodilatation effects of the Essential Oil from Fructu Alpiniae Zerumbet (EOFAZ) on rat thoracic aortic rings in vitro. ***Phytomedicine*** 2013; 20(5): 387-93.
[12] Besse S, Comte R, Fréchault S, Courty J, Joël de L, Delbé J. Pleiotrophin promotes capillary-like sprouting from senescent aortic rings. ***Cytokine*** 2013; 62(1): 44-7.
[13] Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A, et al. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. ***Eur J Nutr*** 2012; 51(6): 637–63.
[14] Mohammadi-Motlagh H, Mansouri K, Mostafaie A. Plants as useful agents for angiogenesis and tumor growth prevention. ***Physiol Phamacol*** 2010; 14(3): 297–312. [in Persian]
[15] Park CK, Kim K, Jung SJ, Kim MJ, Ahn DK, Hong SD, et al. Molecular mechanism for local anesthetic action of eugenol in the rat trigeminal system. ***Pain*** 2009; 144(1-2): 2009.
[16] Lee K, Shibamoto A. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [Syzygium aromaticum (L.) Merr. et Perry]. ***Food Chem*** 2001; 74(4): 443–8.
[17] Pisano M, Pagnan G, Loi M, Mura M, Tilocca M, Palmieri G. Antiproliferative and pro-apoptotic activity of eugenol-related biphenyls on malignant melanoma cells. ***Mol Cancer*** 2007; 6: 8–20.
[18] Ghosh R, Nadiminty N, Fitzpatrick JE, Alworth WL, Slaga TJ, Kumar AP. Eugenol causes melanoma growth suppression through inhibition of E2F1 transcriptional activity. ***J Biol Chem*** 2005; 280(7): 5812–9.
[19] des Rieux A, Ucakar B, Mupendwa BP, Colau D, Feron O, Carmeliet P, et al. 3D systems delivering VEGF to promote angiogenesis For tissue enginering. ***J Control Release*** 2001; 150(3): 272-8.
[20] Gloria Tse H, Nga Yu Hui M, Li L, Ming Yuen Le S. Antigenic eficacy of simplified 2-herb formula (NF3) in zebra fish embryos in vivo and rat aortic ring in vitro. ***J Ethnopharmacol*** 2012; 139(2): 47-53.
[21] Mohammadi Motlagh HR, Mansouri K, Shakiba Y, Keshavarz M, Khodarahmi R, Siami A, et al. Anti- Angiogenic Efect of Aqueous Extract of Shalot (Alium ascalonicum) Bulbs in Rat Aorta Ring Model. ***Yakhte Med J*** 2009; 1(2): 190-5. [in Persian]
[22] Jaganathan SK, Supriyanto E. Antiproliferative and Molecular Mechanism of Eugenol-Induced Apoptosis in Cancer Cells. ***Molecules*** 2012; 17(6): 6290–304.
[23] Xinsheng Xu, Huixia Lu, Huil Lin, Xiaolu Li, Meh Ni, Chingjiang Li, et al. Aortic advential angiogenesis and lymphogiogenesis promote intimal inflammation and hyperplasia. ***Cardiovasc Pathol*** 2009; 18(5): 267-78.
[24] Nam H, Kim MM. Eugenol with antioxidant activity inhibits MMP-9 related to metastasis in human fibrosarcoma cells. ***Food Chem Toxicol*** 2013; 55: 106–12.
[25] Viji RI, Kumar VB, Kiran MS, Sudhakaran PR. Angiogenic response of endothelial cells to heparin-binding domain of fibronectin. ***Int J Biochem Cell Biol*** 2008; 40(2): 215–26.
[26] Mostafaie A, Motlagh HM, Mansouri K. Angiogenesis and the Models to Study Angiogenesis.***Yakhteh Med J*** 2010; 11(4). [in Persian]
[27] Carrasco A, Espinoza C, Cardile V, Gallardo C, Cardona W, Lombardo L, et al. Eugenol and its synthetic analogues inhibit cell growth of human cancercells. ***J Braz Chem Soc*** 2008; 119(1): 543–8.
[28] Hussain A, Priyani A, Sadrieh L, Brahmbhatt K, Ahmed M, Sharma C. Concurrent sulforaphane and eugenol induces differential effects on human cervical cancer cells. ***Integr Cancer Ther*** 2012; 11(2): 2022-8.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-19]