Original Article

Effect of aqueous extract of *Ferula assa-foetida* L. resin on angiogenesis in rat aortic ring model

Edalatmanesh MA[1], Sadoughi SD[2*]

1- Department of Physiology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I. R. Iran.
2- Ph.D Student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I. R. Iran.

Received October 13, 2015; Accepted January 30, 2016

Abstract:

Background: Besides embryogenesis, the angiogenesis is required for many physiological and pathological conditions (e.g. tumor growth). Various studies have shown the anti-proliferative and anti-cancer effects of *Ferula assa-foetida* (FF) resin. In the present study using a Wistar rat aortic model the effect of aqueous extract of FF resin on the angiogenesis has been investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, Wistar rat aorta was divided into strips (1 mm) and cultured in collagen matrixes. Following the observation of angiogenic sprouting on third day, the samples were classified into 4 groups (n=8 in each group): Control group, Sham-exposed group (treated with sterile distilled water) and Experimental groups 1 and 2 (treated with 100 and 200 µg/ml of aqueous extract of FF resin, respectively). After 24 hours, the angiogenesis was assessed using the invert microscopy followed by the photography of all samples. The length and number of blood vessels were measured using Image J software.

Results: The Mean for length (143.8±5.3) and number (51.2±7.3) of vessels in Control samples showed no significant difference compared to Sham-exposed samples (138.1±3.8) and (46.3±5.4), respectively. The Mean length and number of vessels in the Experimental groups 1 (81.5±4.5; 26.8±3.5) and 2 (35.9±4.3; 7.7±2.6) were significantly decreased in a dose-dependent manner compared to the Control group (P<0.05).

Conclusion: The aqueous extract of FF resin dose-dependently inhibits the angiogenesis. Therefore, the use of FF resin can be effective in inhibiting the angiogenesis.

Keywords: Angiogenesis, *Ferula assa-foetida* L., Aortic ring, Rat

*** Corresponding Author.**
Email: Damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir
Tel: 0098 915 302 6313
Fax: 0098 51 3868 3001

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2016; Vol. 20, No 2, Pages 100-107

Please cite this article as: Edalatmanesh MA, Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of *Ferula assa-foetida* L. resin on angiogenesis in rat aortic ring model. ***Feyz*** 2016; 20(2): 100-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]

اثر عصاره آبی صمغ آنغوزه (*Ferula assafoetida* L.) بر رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت موش صحرایی

محمد امین عدالت‌منش [۱]، سید دامون صدوقی [۲*]

خلاصه:

سابقه و هدف: رگ‌زایی برای تکوین جنین و بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک همانند رشد تومور مورد نیاز است. مطالعات متعدد اثرات ضدسرطانی و ضدتکثیری صمغ آنغوزه را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر اثر عصاره آبی صمغ آنغوزه بر رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت موش صحرایی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی آئورت موش صحرایی نژاد ویستار به قطعات ۱ میلی‌متری تقسیم شد و در ماتریکس کلاژن کشت گردید. پس از مشاهده اولین جوانه‌های رگ‌زایی از حلقه آئورت در روز سوم، نمونه‌ها به ۴ گروه (n=۸) طبقه‌بندی شدند: گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی (تیمار با آب مقطر استریل) و گروه‌های تجربی ۱ و ۲ (تیمار با عصاره آبی صمغ آنغوزه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر). ۲۴ ساعت پس از تیمار، رگ‌زایی با میکروسکوپ معکوس بررسی و عکس‌برداری شد. طول و تعداد انشعابات عروقی توسط نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد.

نتایج: میانگین طول (۵/۳±۱۴۳/۸) و تعداد (۷/۳±۵۱/۲) انشعابات عروقی در نمونه‌های شاهد در مقایسه با نمونه‌های شاهد آزمایشگاهی (۳/۸±۱۳۸/۱)، (۵/۴±۴۶/۳) اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($P>۰/۰۵$). میانگین طول و تعداد انشعابات عروقی به‌صورت وابسته به دوز در گروه‌های تجربی ۱ (۴/۵±۸۱/۵)، (۳/۵±۲۶/۸) و تجربی ۲ (۴/۳±۳۵/۹)، (۲/۶±۷/۷) نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: عصاره آبی صمغ آنغوزه دارای اثر مهاری وابسته به دوز روی رگ‌زایی است؛ لذا استفاده از صمغ آنغوزه می‌تواند در مهار رگ‌زایی نقش موثری داشته باشد.

واژگان کلیدی: رگ‌زایی، صمغ آنغوزه، حلقه آئورت، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۵، صفحات ۱۰۷-۱۰۰

مقدمه

رگ‌زایی یا فرآیند رشد مویرگ‌های جدید از عروق خونی موجود، به‌سبب نقش دو جانبه در سلامتی و بیماری پدیده‌ای مورد توجه است. این فرآیند منجر به تکوین عروق و تمایز اندام‌ها در طول دوره جنینی شده و در دوران بزرگ‌سالی در ترمیم زخم، رفع کم‌خونی بافت، عملکرد مناسب تخمدان، تکثیر آندومتر رحم در طول چرخه تولید مثلی و تشکیل جفت نقش دارد [۱]. در بسیاری از بیماری‌ها مثل سرطان، دژنره شدن وابسته به سن خال‌ها، پسو-ریازیس و اندومتریوزیس تنظیم رگ‌زایی دچار اختلال می‌شود.

هنگامی‌که سلول‌های بیمار به‌طور غیرطبیعی مقادیر زیادی‌فاکتور-های رگ‌زایی مثل فاکتور رشد سلول‌های اندوتلیال (VEGF)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF-2) و فاکتور رشد هپاتوسیت تولید می‌کنند، این فاکتورها بر اثرات مهارکننده‌های طبیعی رگ-زایی مثل آنژیواستاتین، اندوستاتین و ترومبوسپوندین فائق آمده و در نتیجه رگ‌زایی بیش از اندازه رخ می‌دهد [۳،۲]. رگ‌زایی در پاتوژنز متاستاز تومورهای سرطانی نقش بسیار مهمی دارد؛ بدین‌صورت که یکی از عوامل ایجاد متاستاز خون‌رسانی مناسب به بافت توموری است. فرایند تشکیل عروق جدید یا همان رگ‌زایی به تومورها این امکان را می‌دهد که فراتر از ۲-۱ میلی‌متر مکعب توسعه یابند. به-استثناء تومورهای خوش‌خیم که رگ‌زایی کمی دارند و سرعت رشد آنها کند است، تومورهای بدخیم دارای عروق زیاد هستند و رشدشان سریع است. گسترش سیستم عروقی، احتمال تهاجم سلول‌های توموری را از طریق وارد شدن به جریان خون و انتشار به اندام‌های دیگر افزایش می‌دهد. علاوه‌براین، مشخص شده است که تشکیل سیستم عروقی در تومورهای بدخیم با قدرت متاستاز تومور رابطه مستقیم دارد. بنابراین، اگر از خون‌رسانی به تومور و بافت سرطانی جلوگیری شود تا حدودی سرطان کنترل خواهد شد

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

[۲] دانشجوی دکتری تخصصی بیولوژی سلولی تکوین، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
مشهد، دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۵ ۳۰۲۶۳۱۳ **دورنویس:** ۰۵۱ ۳۸۶۸۳۰۰۱

پست الکترونیک: Damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۱ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۱۱/۱۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]

[۴]. امروزه اعتقاد بر این است که هم تومورهای سفت (سرطان مثانه، مغز، سینه، رحم، کولون، ریه و پروستات) و هم تومورهای نرم (لوسمی حاد میلوبید و میلوما) دارای پتانسیل رگ‌زایی بوده و برای رشد، تهاجم و متاستاز خود وابسته به رگ‌زایی هستند [۵]. امروزه تولید دارو از فرآورده‌های طبیعی به‌سرعت در حال رشدو-توسعه می‌باشد. هم‌چنین، بسیاری از ترکیبات ضد رگ‌زایی که اکنون در مرحله آزمایش‌های کلینیکی قرار دارند، ترکیبات طبیعی هستند [۶]. از طرف دیگر افزایش مقاومت سرطان‌ها به درمان‌های رایج، امروزه تبدیل به مسئله دردسرسازی شده است. بنابراین، یافتن داروهای با اثرات جانبی کمتر و مؤثر بر پدیده رگ‌زایی در تومورهای سرطانی اهمیت بسیار زیادی دارد [۷]. در این راستا، گیاهان از جمله نامزدهای مناسب برای ساخت داروهای مؤثر بر رگ‌زایی بوده و همواره به‌عنوان منبع‌های مهمی برای ایجاد و توسعه فاکتورهای بالقوه جدید برای محققان محسوب می‌شوند [۵]. آنغوزه بانام علمی *Ferula assafoetida* از خانواده Apiaceae گیاهی علفی، کرک‌دار، چندساله بوده و در طول هر سال رویش فقط یک‌بار گل می‌دهد. ریشه و ساقه این گیاه راست، نسبتا ضخیم و فیبری بوده و صمغی را در خود ساخته و ذخیره می‌کند که با عمل تیغ زدن مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد. خاستگاه اصلی گیاه آنغوزه استپ‌های ایران و قسمت‌هایی از هند و افغانستان می‌باشد [۸]. آنغوزه از جمله گیاهان دارویی است که صمغ آن استفاده طولانی در آسیا داشته و مطالعات تجربی و بالینی اثرات درمانی ترکیبات مؤثره متنوع آن را به‌صورت ضدتشنج، ضدانگل، ضد-ویروس و باکتری، رفع بیماری‌های عصبی، اشتها آور، رفع تنبلی روده، رفع درد کلیه، تقویت حافظه، ضدروماتیسم، ضدگرفتگی عضلات و تاثیر بر فشار خون مشخص نموده است [۹]. صمغ آنغوزه حاوی فرولیک اسید، استرهای کومارینی فوئتیدین، کامولو-نول، آمبلیفرون، فرانسیفرول، تتراسولفیدها، سزکویی‌ترپن‌ها، گلو-کز، گالاکتوز، رامنوز، پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها و هم‌چنین روغن‌های فرار سولفوره و ترپنوئیدها می‌باشد [۱۰]. مشخص شده است که صمغ گیاه آنغوزه دارای اثرات هیپوگلیسمیک است و این اثر ناشی از افزایش سطح سرمی انسولین خون است. هم‌چنین، عنوان شده است احتمالا صمغ آنغوزه باعث تحریک سنتز و ترشح انسولین و هیپرپلازی سلول‌های بتای باقیمانده پانکراس می‌شود [۱۰]. تحقیقات نشان داده است صمغ گیاه آنغوزه موجب التیام زخم‌های باز دیابتی می‌شود که این اثر احتمالا به‌دلیل ترکیبات ضدالتهابی آن و نیز نقش آن‌ها در فرایندهای متعدد ترمیم و تسریع فرایند ترمیم زخم می‌باشد [۱۱]. هم‌چنین، مشخص شده است عصاره اتانولی صمغ آنغوزه در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای اثر سمیت بر سلول‌های کارسینومای کبد انسان است و نیز منجر به کاهش درصد زنده ماندن سلول‌های سرطانی می‌شود [۹]. صمغ آنغوزه اثر مهاری بر رگ‌زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه داشته و تشکیل رگ‌های خونی را به-طور موضعی در محل تیمار کاهش می‌دهد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد از ترکیبات موجود در صمغ آنغوزه می‌توان جهت مهار رگ‌زایی در سلول‌ها و بافت‌های سرطانی استفاده کرد [۱۲]. در یک مطالعه دیگر مشخص شد تزریق عصاره آنغوزه به موش‌های صحرایی در غلظت‌های پایین سبب کاهش تری‌گلیسرید و آنزیم‌های کبدی ALT و AST می‌شود؛ درحالی‌که غلظت‌های بالای عصاره با افزایش کلسترول و آنزیم‌های مذکور و کاهش معنی‌دار پارامترهای تولید مثلی مانند تستوسترون، تاثیر منفی بر عملکرد تولید مثلی حیوان دارد [۱۳]. هم‌چنین، گزارش شده است صمغ آنغوزه در غلظت‌های بالا می‌تواند منجر به تخریب اسپرم‌ها و آسیب به DNA شود [۱۳]. این پژوهش با هدف بررسی اثر ضدرگ‌زایی عصاره آبی صمغ آنغوزه در مدل حلقه آئورت موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه زیست‌شناسی تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز در سال ۱۳۹۴ انجام شده است. صمغ گیاه آنغوزه از مرکز فروش گیاهان دارویی واقع در شهر مشهد خریداری شد. سپس، گیاه مربوطه با شماره هرباریوم ۵۹۸۶ توسط کارشناس بخش هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد مورد تایید قرار گرفت. پس از طی مراحل خشک شدن در دمای ۳±۳۶ درجه سانتی‌گراد توسط آسیاب خرد شد. عصاره آبی صمغ آنغوزه با استفاده از دستگاه سوکسله تهیه شد. ابتدا ۵۰ گرم پودر خشک شده صمغ داخل کاغذ کارتوش ریخته شده و در دستگاه قرار داده شد. سپس، ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به-عنوان حلال در داخل بالن دستگاه ریخته شد. آب مقطر توسط گرم‌کن دستگاه به‌جوش آمده و در نهایت موجب جداسازی عصاره صمغ آنغوزه می‌شود. مبرد، کار سرد کردن بخارات اضافی را بر عهده دارد؛ بنابراین کاهش حجم محلول بسیار آهسته می-باشد. پس از حدود ۱۰ ساعت مایع نسبتا غلیظی در ته بالن جمع شد. سپس، با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام استخراج شد. عصاره به‌دست آمده قهوه‌ای متمایل به سیاه و دارای pH معادل ۶/۴ بود. عصاره با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]

میکروگرم بر میلی‌لیتر از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شده و با بالاترین درجه کیفیت و کمترین میزان آلودگی تهیه شد [۱۴].

استخراج کلاژن و تهیه داربست کلاژنی

کلاژن با غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از دم موش صحرایی نژاد ویستار استخراج شد (روش بردفورد). مطابق این روش رشته‌های تاندونی دم جدا شده و ۳ بار توسط بافر فسفات (PBS) شسته شد. سپس، در الکل ۷۰ درصد به‌مدت ۱ ساعت قرار داده شد و در مرحله آخر به‌مدت ۶۰ دقیقه با rpm ۱۶۰۰۰ سانتریفیوژ شده و کلاژن مورد نیاز به‌دست آمد. جهت تهیه داربست، کلاژن استخراجی از دم موش صحرایی، بیکربنات سدیم، و محیط کشت DMEM (Sigma, France) به نسبت ۸،۱،۱ ترکیب شد. پس از تشکیل داربست، حلقه‌های آئورت درون داربست قرار گرفته و برای مدت ۱۵ دقیقه به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. پس از تبدیل محلول کلاژن به ژل، پلیت از انکوباتور خارج شده و زیر هود محیط کشت DMEM حاوی ۳۰ درصد سرم جنین گاوی (Gibco, USA)، پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر)، و استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) (Gibco,USA) به آن اضافه شد [۱۵].

جداسازی حلقه آئورت موش صحرایی

در این پژوهش موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۱-۱۰ هفته و محدوده وزنی ۳۰۰-۲۹۰ گرم از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی مشهد خریداری شد. حیوانات در دمای محیطی ۲۴-۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۴۰ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف ساخت شرکت رازی‌راد قرار داشتند و آب به مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتر در اختیار آن‌ها قرار داده شد و از غذای فشرده (مخصوص موش) شرکت دانه‌داران توس تغذیه نمودند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات انجام شد. جهت انجام آزمایش ابتدا موش‌ها با استفاده از کلروفرم بیهوش شدند و پوست ناحیه شکم با استفاده از الکل ۷۰ درصد استریل شد. پوست ناحیه شکم توسط وسایل جراحی شکافته شده و پس از یافتن آئورت قطعاتی با طول مناسب جدا شده و بلافاصله به بافر فسفات استریل حاوی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین منتقل شد. در شرایط استریل و زیر هود کشت سلولی، ساختارهای اطراف حذف گردید. سپس، آئورت با استفاده از تیغ جراحی به اندازه‌های تقریبی ۱ میلی‌متری قطعه قطعه شد [۱۵]. رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. هم‌چنین، در کلیه مراحل قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

گروه‌بندی و روش تیمار نمونه‌ها

نمونه‌ها به گروه‌های شاهد (بدون تیمار)، شاهد آزمایشگاهی (تیمار با آب مقطر استریل)، تجربی ۱ (تیمار با عصاره صمغ آنغوزه با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، و تجربی ۲ (تیمار با عصاره صمغ آنغوزه با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تقسیم شدند. برای هر گروه ۹ نمونه در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۹۶ ساعت از زمان کشت و پیدایش جوانه‌های عروقی از حلقه‌های آئورت، عصاره آبی صمغ آنغوزه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به محیط کشت اضافه گردید. ۲۴ ساعت پس از تیمار، عکس‌برداری از نمونه‌ها توسط میکرو-سکوپ معکوس (Nikon, Japan) با بزرگ‌نمایی ثابت ۱۰۰X انجام شد و میانگین طول و تعداد انشعابات عروقی در تصاویر اندازه‌گیری گردید. به‌منظور بررسی نحوه ارزیابی رشد جوانه‌ها طول و تعداد انشعابات عروقی در مربع‌هایی (۴ مربع به ابعاد ۱۰۰×۱۰۰ پیکسل به‌صورت تصادفی در ۴ طرف حلقه آئورت) به-طور تصادفی توسط نرم‌افزار Imagej ویرایش ۲ اندازه‌گیری شد [۱۵].

آنالیز آماری

داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش۲۰ و به-کمک آزمون واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شدند. هم‌چنین، باتوجه به حجم کم نمونه در هر گروه و احتمال توزیع غیرنرمال متغیرها، جهت تحلیل نتایج از آزمون Kruskal Wallis در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

اثر تیمار با عصاره صمغ آنغوزه بر طول انشعابات عروق

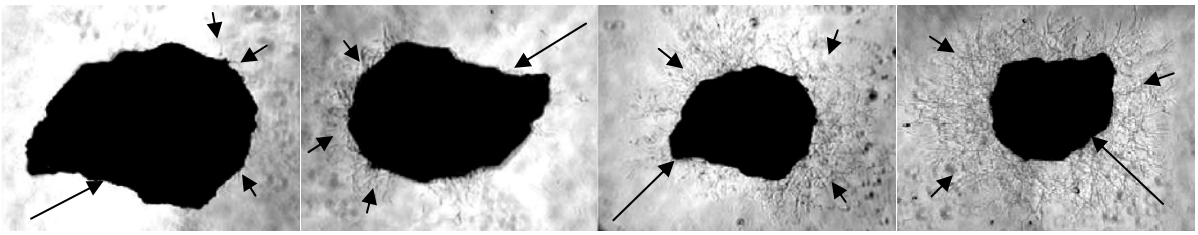
نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون کروسکال‌والیس نشان داد میانگین طول انشعابات عروق خونی در گروه شاهد آزمایشگاهی در مقایسه با گروه شاهد در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار اختلاف معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵). میانگین طول انشعابات عروق خونی در گروه تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد به-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]

طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه برای این مقایسه به‌ترتیب P=۰/۰۲۱ و P=۰/۰۰۲، و نتایج آزمون کروسکال‌والیس P=۰/۰۱۱ و P=۰/۰۰۱ می‌باشد. میانگین طول انشعابات عروق خونی در گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه تجربی ۱ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتیجه آزمون واریانس یک‌طرفه P=۰/۰۲۶ و نتیجه آزمون کروسکال والیس P=۰/۰۱۷ می‌باشد (شکل شماره ۱، جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱).

اثر تیمار با عصاره صمغ آنغوزه بر تعداد انشعابات عروق

نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون کروسکال-والیس نشان داد میانگین تعداد انشعابات عروق خونی در گروه شاهد آزمایشگاهی در مقایسه با گروه شاهد در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار اختلاف معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵). میانگین تعداد انشعابات عروق خونی در گروه تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج آزمون واریانس یک-طرفه برای این مقایسه به‌ترتیب P=۰/۰۰۳ و P=۰/۰۰۱، و نتایج آزمون کروسکال‌والیس P=۰/۰۰۲ و P=۰/۰۰۱ می‌باشد. میانگین تعداد انشعابات عروق خونی در گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه تجربی ۱ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتیجه آزمون واریانس یک‌طرفه P=۰/۰۰۱ و نتیجه آزمون کروسکال والیس P=۰/۰۰۱ می‌باشد (شکل شماره ۱، جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۲).

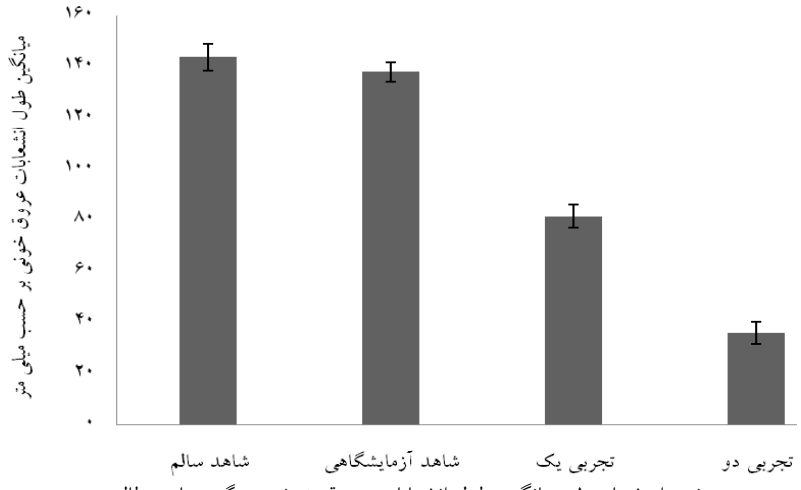


شکل شماره ۱- اثر مهارکنندگی عصاره صمغ آنغوزه بر روی رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت. به‌ترتیب از راست به چپ‌گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی (تیمار با آب مقطر استریل)، تجربی ۱ (تیمار با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره صمغ آنغوزه) و تجربی ۲ (تیمار با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره صمغ آنغوزه). تصاویر توسط میکروسکوپ نوری معکوس با بزرگ‌نمایی X ۱۰۰ گرفته شده است. در تمامی تصاویر فلش بزرگ نشان‌دهنده حلقه آئورت و فلش‌های کوچک نشان‌دهنده انشعابات عروقی است.

جدول شماره ۱- میانگین طول (میلی‌متر) و تعداد انشعابات عروقی در گروه‌های مطالعه

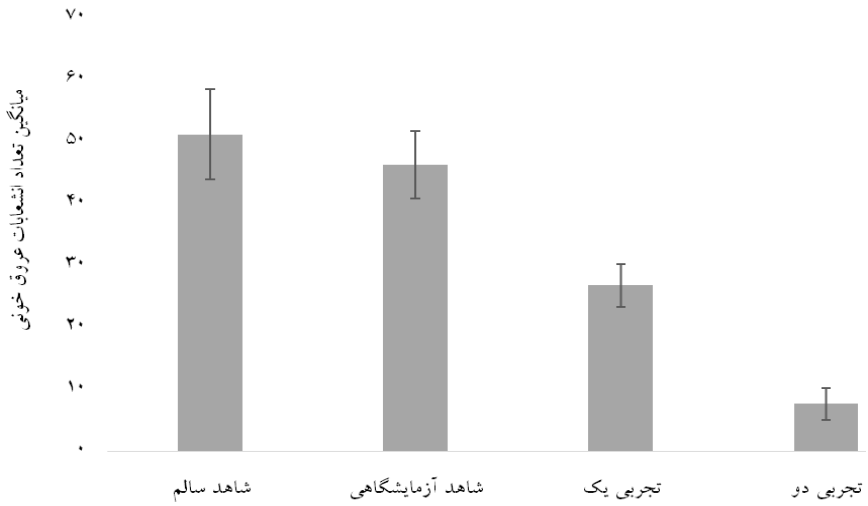
پارامتر/گروه	شاهد	شاهد آزمایشگاهی	تجربی ۱	تجربی ۲
میانگین طول انشعابات عروقی (mm)	۱۴۳/۸±۵/۳	۱۳۸/۱±۳/۸	[a]۸۱/۵±۴/۵	[ab]۳۵/۹±۴/۳
میانگین تعداد انشعابات عروقی	۵۱/۲±۷/۳	۴۶/۳±۵/۴	[a]۲۶/۸±۳/۵	[ab]۷/۷±۲/۶

(n=۸)؛ داده‌ها به‌صورت " $\overline{X} \pm SD$ " می‌باشند؛ a: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد. b: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تجربی ۱.



نمودار شماره ۱- میانگین طول انشعابات عروق خونی در گروه‌های مطالعه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]



نمودار شماره ۲- میانگین تعداد انشعابات عروق خونی در گروه‌های گروه‌های مطالعه

بحث

در این پژوهش اثرات ضد رگ‌زایی عصاره آبی صمغ آنغوزه با استفاده از مدل حلقه آئورت موش صحرایی بررسی شد. نتایج نشان داد که این ماده به‌صورت وابسته به دوز منجر به مهار تشکیل انشعابات عروق خونی در حلقه آئورت موش صحرایی می‌شود. علی‌رغم پیشرفت‌های فراوان در زمینه کنترل و درمان بیماری‌های بدخیم از جمله سرطان، هنوز فرآیندهای درمان و مهار این بیماری‌ها به‌صورت کامل موفقیت‌آمیز نبوده است و پژوهش‌های بسیاری در جهت شناخت مکانیسم‌های درگیر در رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی بدخیم و یا عوامل موثر دیگری مانند رگ‌زایی در حال انجام است و درمان با فرآورده‌های طبیعی بخش وسیعی از این پژوهش‌ها را به‌خود اختصاص داده است [۱۶]. سلول‌های سرطانی بدون حضور رگ‌های خونی توانایی تأمین مواد غذایی مورد نیاز جهت رشد را ندارند، در نتیجه تکثیر آن‌ها متوقف خواهد شد؛ بنابراین، استفاده از روش‌های درمانی که منجر به مهار رگ‌زایی شود، روشی امیدبخش برای کنترل رشد و متاستاز تومورهای سرطانی می‌باشد [۱۷]. گزارش شده است تجویز فارنسی‌فرول که یکی از ترکیبات مهم صمغ آنغوزه است، می‌تواند در مهار فاکتور رشد اندوتلیوم عروق موثر باشد. مهار این فاکتور رشد موجب مهار تکثیر، مهاجرت، تهاجم، تشکیل عروق و تولید بافت هم‌بند سلول‌های سرطانی می‌شود [۱۸]. در پژوهشی دیگر تجویز خوراکی صمغ آنغوزه به موش کوچک آزمایشگاهی موجب مهار رشد سرطان پستان ناشی از تجویز نیتروز اوره شد و این توقف ایجاد شده در رشد تومور به اثرات ضد تکثیری ترکیبات موجود در صمغ آنغوزه نسبت داده شد [۱۸]. در یک مطالعه دیگر، محققین پانزده نوع سزکویی‌ترپن‌های کومارینی را از گونه‌های مختلف جنس *Ferula* L. جداسازی نمودند و در محیط کشت به سلول‌های سرطانی رده Mcf-7 اثر دادند. مشخص شد در تمام گونه‌های این جنس سزکویی‌ترپن‌ها مانند فارنسی‌فرول اثرات ضد‌تکثیری داشته و موجب کاهش رشد و درصد بقاء سلول‌های سرطانی می‌شود [۱۹]. در پژوهشی دیگر اثر مواد شیمیایی موثر گونه‌های مختلف Ferula بر سرطان‌های تخمدان (رده CH1)، سرطان ریه (رده A549) و سرطان ملانوما (رده SK-MEL-28) مورد بررسی قرار گرفت؛ بدین‌صورت‌که درصد بقاء سلول‌های سرطانی با روش بررسی MTT assay سنجش شد و مشخص گردید برخی از مواد موثره موجود در صمغ آنغوزه مانند گالبانیک اسید و فارنسی‌فرول نوع A و C موجب مهار تقسیم سلولی و افزایش آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شوند [۲۰]. برای توجیه اثرات سمیت سلولی صمغ آنغوزه و ترکیبات موجود در آن مکانیسم‌های مختلفی پیشنهاد شده است که بخشی از آن نیز القا آپوپتوز در سلول‌های سرطانی از طریق مسیرهای وابسته به P53 و مسیر غیروابسته به P53 می‌باشد [۲۲،۲۱]. باتوجه به نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر و مقایسه آن با نتایج سایر محققان می‌توان گفت کاهش طول و تعداد انشعابات عروقی در محل تیمار حلقه آئورت موش صحرایی در اثر ترکیبات ضد تکثیری صمغ آنغوزه می‌باشد. و نیز باتوجه به نتایج سایر محققین، کاهش ایجاد شده در انشعابات عروقی در نتیجه فعال شدن مسیر سیگنالی آپوپتوز در سلول‌های آندوتلیوم عروق خونی است. مطابق با تحقیقات صورت گرفته عصاره اتانولی صمغ آنغوزه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر اثر مهاری بر رگ‌زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه داشته و تشکیل رگ‌های خونی را به‌طور موضعی در محل تیمار کاهش می‌دهد [۱۲]. هم‌چنین، گزارش شده است عصاره اتانولی صمغ آنغوزه در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر دارای اثر سمیت بر سلول‌های کارسینومای کبد

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]

انسان است و نیز منجر به تغییرات مورفولوژی (افزایش اندازه واکوئل‌ها، کاهش سیتوپلاسم و پیگمانته شدن هسته) در سلول‌های سرطانی می‌شود؛ درصورتی‌که اثر سایتوتوکسیک در سلول‌های طبیعی L929 فقط در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی-لیتر مشاهده شد [۹]. به‌نظر می‌رسد بخشی از اثرات مهارکننده رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت نیز از طریق کاهش بیان ژن‌های دخیل در فرایند رگ‌زایی و به‌دنبال آن اختلال در عملکرد سلول-های اندوتلیال عروق خونی به‌منظور گسترش رگ‌های خونی است [۲۳]. مدل‌های سه‌بعدی رگ‌زایی بر پایه سلول‌های اندوتلیال فعال شده در جهت تهاجم به محیط‌های سه‌بعدی (ماتریکس) ساخته می‌شوند. هم‌چنین، مدل‌های سه‌بعدی نسبت به دوبعدی 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 سه‌بعدی تحریک کرد [۲۴]. نتایج پژوهش حاضر می‌تواند مقدمه‌ای جهت تحقیقات هرچه بیشتر روی ترکیبات ضد رگ‌زا و ضدتکثیری ضمغ آنغوزه و سایر متابولیت‌های فعال آن باشد. اثرات مهاری بر تکثیر سلول، سمیت در سلول و خواص ضدرگ‌زایی و هم‌چنین توانایی القاء مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، ضمغ آنغوزه را به‌عنوان نامزدی مناسب جهت ساخت داروهای ضدرگ‌زایی در مهار سرطان و با منشاء گیاهی پیشنهاد می‌نماید.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی صمغ آنغوزه به-صورت وابسته به دوز دارای اثر مهاری بر رگ‌زایی در مدل حلقه آئورت موش صحرایی است و منجر به کاهش طول و تعداد انشعابات عروقی در محل تیمار می‌شود. ازاین‌رو، عصاره صمغ آنغوزه می‌تواند انتخاب مناسبی جهت مطالعات بیشتر به‌عنوان یک دارو برای استفاده در حالات پاتولوژیک وابسته به رگ‌زایی باشد.

تشکر و قدردانی

تأمین اعتبار این طرح پژوهشی از محل اعتبارات تفاهم‌نامه دانشگاه آزاد اسلامی با بنیاد ملی نخبگان تأمین شده است. بدین‌وسیله، نویسندگان مقاله برخود واجب می‌دانند که از بنیاد ملی نخبگان و معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی، هم‌چنین از هیات تحریریه مجله وزین علمی دانشگاه علوم پزشکی کاشان (فیض) و نیز داوران محترم مقاله که نقطه-نظرهای آن‌ها نقش ارزشمندی در ارتقاء کیفیت مقاله داشته است، سپاس‌گزاری و قدردانی نمایند.

References:

[1] Chung AS, Lee J, Ferrara N. Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. ***Nat Rev Cancer*** 2010; 10(7): 505-14.
[2] Noonan DM, Benelli R, Albini A. Angiogenesis and cancer prevention: a vision. ***Recent Results Cancer Res*** 2007; 174: 219-24.
[3] Quesada AR, Munoz-Chapuli R, Medina MA. Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. ***Med Res Rev*** 2006; 26(4): 483-530.
[4] Kerbel RS. Tumor angiogenesis. ***N Engl J Med*** 2008; 358(19): 2039-49.
[5] Mohammadi-Motlagh H, Mansouri K, Mostafaie A. Plants as useful agents for angiogenesis and tumor growth prevention. ***Physiol Pharmacol*** 2010; 14(3): 297-312. [in Persian]
[6] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. ***Nature*** 2011; 473(7347): 298-307.
[7] Kummalue T. Molecular mechanism of herbs in human lung cancer cells. ***J Med Assoc Thai*** 2005; 88(11): 1725-34.
[8] Rajabian T, Saboora A, Hassani B, Fallah Hosseini H. Effects of GA_3 and chilling on seed germination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. ***Iran J Med Aromatic Plants*** 2007; 23(3): [in Persian]
[9] Sadooghi SD, Nezhad-Shahrokh-Abadi Kh, Zafar-Balanzhad S, Baharara J. Investigating the cytotoxic effects of ethanolic extract of Ferula assa-foetida resin on HepG2 cancer cell line. ***Feyz*** 2013; 17(4): 323-30. [in Persian]
[10] Rahbarian R, Sadooghi SD. Investigating the effects of aqueous extract of asafoetida resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. ***J Shahrekord Univ Med Sci*** 2014; 16(3): 16-21. [in Persian]
[11] Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of Ferula assa-foetida's resin on wound healing of streptozotocin induced diabetic rats. ***Horizon Med Sci*** 2013; 19(3): 129-35. [in Persian]
[12] Sadoughi S, Zafar-Balanezhad S, Baharara J, Nejhad Shahrokhabadi K, Rahbarian R, Sepehri-Moghadam H. Investigating the effect of ethanolic extract of Ferula assa-foetida's resin on angiogenesis in chick chorioalantoic membrane. ***Razi J Med Sci*** 2015; 22(131): 80-7. [in Persian]
[13] Dehaj M, Khajeh-Bahabadi Z, Rezvani-Bafroei ME. Investigating the effect of oral consumption of tear assafoetida on hepatic, renal, cardiac, and blood biochemical parameters of rats. ***J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*** 2013; 21(5): 641-50. [in Persian]

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]

[14] Sadooghi SD, Zafar Balanzhad S, Baharara J, Nezhad Shahrokh Abadi Kh. Investigating the synergic effects of ethanolic extract of allium sativum L and electromagnetic field with low frequency on angiogenesis in chick chorioallantoic membrane (in vivo). ***J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*** 2013; 21(4): 493-504. [in Persian]
[15] Moshtagh S, Baharara J, Zafar-Balanejad S, Ramezani T. Antiangiogenesis effect of saffron extract (Crocus sativius L.) on a Wistar rat aortic ring model. ***J Shahrekord Univ Med Sci*** 2014; 16(3): 79-88. [in Persian]
[16] Son DJ, Lee JW, Lee YH, Song HS, Lee CK, Hong JT. Therapeutic application of anti-arthritis, painreleasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. ***Pharmacol Ther*** 2007; 115(2): 246-27.
[17] Baharara J, Zafar-Balanezhad S, Nejad-Shahrokhabadi Kh. The effects of different doses of atorvastatin on angiogenesis of chorioallantoic membrane of chick embryo. ***J Shahrekord Univ Med Sci*** 2012; 14(2): 82-9. [in Persian]
[18] Lee JH, Choi S, Lee Y, Lee HJ, Kim KH, Ahn KS, et al. Herbal compound farnesiferol C exerts antiangiogenic and antitumor activity and targets multiple aspects of VEGFR1 (Flt1) or VEGFR2 (Flk1) signaling cascades. ***Mol Cancer Ther*** 2010; 9(2): 389-99.
[19] Kasaian J, Mosaffa F, Behravan J, Masullo M, Piacente S, Ghandadi M, et al. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in MCF-7/Adr cancer cells by sesquiterpene coumarins. ***Fitoterapia*** 2015; 103: 149-54.
[20] Valiahdi SM, Iranshahi M, Sahebkar A. Cytotoxic activities of phytochemicals from Ferula species. ***Daru*** 2013; 21(1): 39.
[21] Aas Z, Babaei E, Hosseinpour Feizi MA, Dehghan G. Anti-proliferative and Apoptotic Effects of Dendrosomal Farnesiferol C on Gastric Cancer Cells. ***Asian Pac J Cancer Prev*** 2015; 16(13): 5325-9.
[22] Iranshahy M, Iranshahi M. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafetida (Ferula assa-foetida oleo-gum-resin) a review. ***J Ethnopharmacol*** 2011; 134(1): 1-10.
[23] Jonson JJ, Mukhtar H. Curcumin for chemoprevention of colon cancer. ***Cancer Lett*** 2007; 255(2): 170-81.
[24] Mostafaie A, Mohammadi-Motlagh HR, Mansouri K. Angiogenesis and the models to study. ***Cell J Yakhteh*** 2010; 11(4): 374-81. [in Persian]

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-08-11]