Archive of SID

مقاله مروری

آنژیوژنز و تومور

کامران منصوری[1]*؛ علی مصطفایی[1]؛ حمیدرضا محمدی مطلق[1]

چکیده

رگزایی یا آنژیوژنز، به فرایند تشکیل عروق خونی جدید از عروق پیشین گفته می‌شود. این فرایند نقش مهمی در وقایع فیزیولوژیک مانند رشد و نمو، ترمیم زخم و تولید مثل دارد. علاوه بر این، در پیشرفت پدیده‌های پاتولوژیکی و بروز بیماری‌های مختلف به‌خصوص رشد تومور و متاستاز، نقش حیاتی دارد. به‌طور کلی، این فرایند تحت تأثیر عوامل مختلف بوده و دربرگیرنده یکسری رخدادهای سلولی از قبیل مهاجرت، تکثیر و تمایز سلول‌های اندوتلیال و در نهایت تشکیل عروق، بلوغ و بازسازی نهایی آن‌ها است. به‌همین دلیل، مهار رگزایی به‌عنوان یک عامل کمک‌کننده در درمان‌های مرسوم سرطان مانند شیمی‌درمانی و پرتودرمانی، توجه محققانی که در این زمینه به مطالعه می‌پردازند را به خود معطوف کرده است. در سال‌های اخیر، مهار رگزایی به‌عنوان ایده‌ای نوین در کنترل و درمان انواعی از اختلالات وابسته به رگزایی، به‌ویژه رشد و متاستاز تومور مطرح شده است.

کلیدواژه‌ها: رگزایی، سرطان، متاستاز

«دریافت: 1388/9/3 پذیرش: 1389/3/4»

1. مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

***عهده‌دار مکاتبات:** کرمانشاه، صندوق پستی 1568، سرخه لیژه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، تلفاکس: 4276471-831،

Email: kmansouri@kums.ac.ir

مقدمه

واژه آنژیوژنز به‌معنی ایجاد مویرگ‌های جدید از عروق موجود برای اولین بار توسط محققی بنام Hertig در سال 1935 به‌کار رفت. هرچند اساس بسیاری از تحقیقات بنیادی آنژیوژنز بر طبق نظریات پروفسور جودا فولکمن (Judah Folkman) بنا نهاده شده است. در سال 1971 فولمکن مقاله‌ای را در مجله پزشکی نیوانگلند (New England Journal of Medincine) منتشر کرد که تئوری جدید آنژیوژنز را براساس چندین‌سال کار و تحقیق مورد بحث قرار می‌داد. در این تحقیق، فولکمن خاطرنشان کرد که "تومورها هرگز فراتر از اندازه مشخصی رشد نمی‌کنند مگر این‌که عروق آن‌ها افزایش یابد". در این مقاله، او همچنین نظریه‌ای را مطرح کرد مبنی بر این که تومورها دارای رگ‌های خونی جدیدی هستند که فاکتوری قابل انتشار را به‌نوعی به کار می‌گیرند. او از این فاکتورها به‌عنوان فاکتور آنژیوژنزی تومور (TAF= Tumor Angiogenic Factor) یاد می‌کند در نهایت، اظهار داشت که" از لحاظ تئوری، اگر بتوان آنژیوژنز را مهار نمود، تومورها در اندازه کوچک باقی می‌مانند و سرانجام آسیب‌رسان نخواهند شد". نظریه جدید فولکمن همچون سایر نظریات، ابتدا با بدبینی زیادی از سوی جامعه علمی مواجه شد و پذیرش آن نزدیک به یک دهه به‌طول انجامید. اکنون، پس از گذشت بیش از 30 سال از انتشار تئوری فولکمن، آنژیوژنز تومور به‌عنوان یک اصل اساسی در تحقیقات مربوط به سرطان مورد توجه است. علاوه بر این در سال 1984، فولکمن و همکارانش مقاله دیگری در مجله Science منتشر کردند و توجه جامعه علمی دنیا را به سوی اولین فاکتور شناسایی‌شده آنژیوژنزی سوق دادند. این مقاله موجب ایجاد انگیزه‌های بسیاری برای تحقیق در این زمینه شد به‌طوری‌که اکنون فاکتورهای محرک و بازدارنده آنژیوژنزی زیادی مورد شناسایی قرار گرفته‌اند (1 و 2).

www.SID.ir

Archive of SID

آنژیوژنز و سرطان

آنژیوژنز (Angiogenesis) یا رگ‌زایی، به‌معنی تشکیل مویرگ‌های جدید از عروق اولیه است که در حالات مختلف پاتولوژیک از قبیل رشد تومور، متاستاز، آرتریت روماتوئید (Rheumatoid arthritis) و همچنین در فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد و نمو ارگان، ترمیم زخم و تولید مثل دخالت دارد. اساساً آنژیوژنز یک فرایند لازم در فیزیولوژی طبیعی است و در صورتی‌که تعادل بین فاکتورهای القاءکننده و مهارکننده آنژیوژنز بر هم خورد، شرایط برای بروز برخی بیماری‌ها به‌وجود می‌آید. به‌طورکلی برای فرایند آنژیوژنز، **10** مرحله متوالی در نظر گرفته می‌شود که یک یا چند مرحله از این مراحل می‌تواند هدف عوامل محرک و یا بازدارنده آنژیوژنز باشد. هنگامی‌که بافت‌ها دچار هیپوکسی**3** (کمبود اکسیژن) می‌شوند، این بافت‌های آسیب‌دیده اقدام به سنتز و رهاسازی فاکتورهای آنژیوژنیک می‌کنند. سپس فاکتورهای مذکور با اتصال به گیرنده‌های خود واقع بر روی سلول‌های اندوتلیال، منجر به فعال شدن آن‌ها می‌شوند. در مرحله بعد، پروتئازها از این سلول‌ها رها شده تا غشای پایه را حل کنند، با حل شدن غشای پایه، سلول‌های اندوتلیال مهاجرت کرده و تکثیر می‌یابند، علاوه بر این، مولکول‌های اتصالی (از قبیل اینتگرین αvβ5 و α3βv) نیز به کشیدن و جلو رفتن رگ‌های خونی در حال جوانه‌زدن کمک می‌کنند، در ادامه، متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMP= Matrix metalloproteinases)، برای تجزیه ماتریکس خارج سلولی و آغاز بازسازی مجدد آن تولید می‌گردند. سپس برهمکنش آنژیوپوئیتین-Tie-2 موجب تعدیل تشکیل لوله می‌گردد و سیستم EphB-ephrinB نیز تنظیم تشکیل حلقه را بر عهده گرفته و در نهایت پری‌سیت‌ها و سلول‌های ماهیچه صاف برای پایدار کردن رگ خونی تازه تشکیل‌شده به این ساختار اضافه می‌شوند (3 و 4).

ویرچو (Virchow) اولین کسی بود که وجود میزان زیاد عروق‌زایی را در تومورها ثابت کرده و گزارش آن‌را در سال **1863** منتشر کرد. او پیشنهاد کرد که این پدیده در ارتباط با طبیعت بی‌نظم سلول‌های توموری است. منشأ رگ‌های مشاهده شده ابتدا نامشخص بود و علت آن می‌توانست سلول‌های تغییریافته توموری یا سلول‌های طبیعی که از بافت‌های خوش‌خیم مجاور منشأ گرفته بودند، باشد. مدتی بعد این تئوری مطرح شد که عامل محرک رشد زیاد رگ‌های خونی در تومورها از سلول‌های بدخیم مهاجم منشأ می‌گیرد و به این ترتیب پیشنهاد شد که تحریک ایجاد عروق جدید از میزبان، ویژگی مشخص سلول‌های توموری است. در طی روند این همکاری، تومورها در ابتدا عروق میزبان را برای بقای خود به‌کار می‌گیرند که این امر همراه با اضمحلال عروق میزبان است. رشد مداوم سلول توموری در ادامه منجر به آغاز آنژیوژنز می‌گردد (5 و 6).

به‌خاطر اهمیت آن در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی، بسیاری از محققین آنژیوژنز را در انواعی از مدل‌های آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار داده‌اند. این ایده که فرایند آنژیوژنز می‌تواند هدفی برای درمان باشد، تنها پس از مشخص شدن این‌که گسترش تومور توپر نیازمند ایجاد رگ‌های جدید است، مطرح گردید. علاوه بر این، مطالعات اخیر به اثبات رسانده‌اند که بیماری‌هایی از قبیل لوسمی و لنفوما هم وابسته به آنژیوژنز هستند. در واقع، افزایش بیان FGF و VEGF در لوسمی حاد میلوئیدی، لوسمی لنفوئیدی حاد و لنفوما مشاهده شده‌اند و به‌همین دلیل، آنژیوژنز ممکن است یک هدف درمانی برای تومورهای خونی نیز باشد (13-7).

آنژیوژنز در پاتوژنز متاستاز

ادامه رشد نئوپلاسم اولیه و متاستاز بستگی به خون‌رسانی کافی به آن منطقه دارد. فرایند تشکیل عروق جدید یا همان آنژیوژنز، به تومورها این امکان را می‌دهد که فراتر از **2-1** میلی‌متر مکعب توسعه یابند. به استثنای تومورهای خوش‌خیم که آنژیوژنز کمی دارند و سرعت

www.SID.ir

Archive of SID

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. علاوه بر این، نشان داده شده که تشکیل سیستم عروقی در تومورهای بدخیم با قدرت متاستاز تومور رابطه مستقیم دارد. به‌طور کلی در بافت‌های سالم و پایدار (Quiescent) فاکتورهایی که از آنژیوژنز ممانعت می‌کنند غالب هستند اما در بافت‌هایی که به‌سرعت تقسیم می‌شوند مولکول‌هایی که فرایند آنژیوژنز را تحریک می‌کنند غلبه دارند. به‌عنوان مثال در فیبروبلاست‌های کشت‌داده‌شده، از دست دادن آلل ژن سرکوبگر TP53 منجربه فنوتیپ آنژیوژنز می‌شود که نتیجه آن کاهش تولید TSP-1 است **(14 و 15)**.

نقش محیط سلولی (Microenvironment) اندام‌ها در وقوع متاستاز

مطالعات نشان داده‌اند که محل متاستاز علاوه بر ویژگی‌های سلول‌های نئوپلاستیک، به محیط در برگیرنده بافت یا اندام میزبان نیز ارتباط دارد این پدیده، تئوری دانه و خاک نام گرفته است. تئوری دانه و خاک (Seed and Soil) شامل سه قسمت است:

اول این‌که، نئوپلاسم‌ها از نظر بیولوژیک ناهمگون بوده و شامل جمعیت‌های سلولی با خاصیت‌های بیولوژیکی متفاوت است. از سوی دیگر، فرایند متاستاز بسیار انتخابی است همچنین، نتایج متاستاز بستگی به واکنش‌های مختلف سلول‌های متاستاتیک با مکانیسم‌های هموستازی دارد به‌طوری‌که می‌تواند در میان تومورهای مختلف با منشأ بافتی یکسان در بیماران مختلف، متفاوت باشد. به‌هرحال، متاستاز در بسیاری از تومورهای منتشرشونده از مسیرهای آناتومیک پیروی می‌کند. با وجود این، توانایی سرطان معده در ایجاد متاستازهایی روی سطح تخمدان و توانایی سرطان تخمدان برای متاستاز به پستان، باعث ارائه پیشنهادهایی مبنی بر وجود فاکتورهایی مستقیم در این‌گونه موارد شده است. در واقع این فاکتورها، علایم لانه‌گزینی (Homing) هستند که از طریق سایتوکاین‌های جلب‌کننده برای سلول‌های توموری در حال متاستاز ارسال می‌شوند **(16)**.

شناخت پدیده آنژیوژنز در ایجاد و گسترش تومورها

رشد تومورهای توپر (Solid tumor) به‌طور کامل به ایجاد رگ‌های جدید و رفع نیازهای تغذیه‌ای تومور بستگی دارد. فاکتورهای آنژیوژنیک به‌وسیله سلول‌های توموری در محیط رها و موجب تحریک انواع مختلف سلول‌های طبیعی مانند سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌های مجاور تومور می‌گردند. این سلول‌ها غشای پایه خود **(تکیه‌گاه سلول‌های اندوتلیال)** را تجزیه کرده و با جداشدن از سلول‌های همسایه و ورود به ماتریکس خارج‌سلولی، به‌سمت توده تومورها مهاجرت می‌کنند.

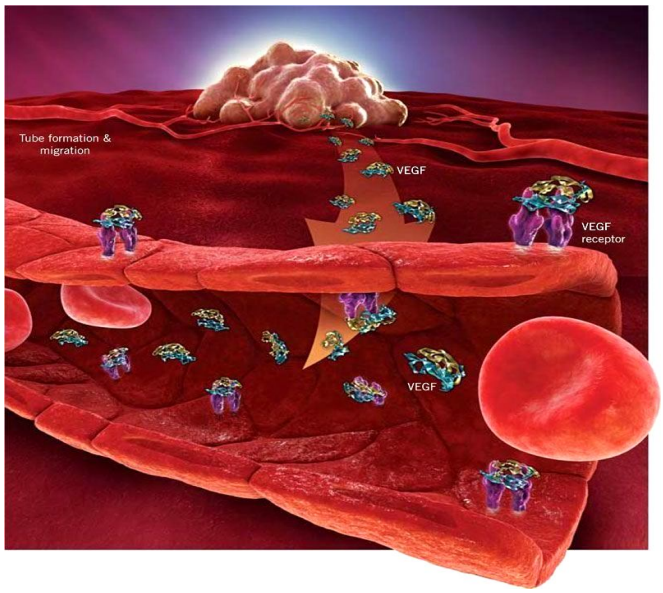
VEGF برای سلول‌های اندوتلیال عروق مشتق شده از سرخرگ‌ها، سیاه‌رگ‌ها و عروق لنفاوی به‌عنوان میتوژن عمل کرده و باعث افزایش آنژیوژنز می‌شود. مطالعات همچنین نشان می‌دهند که VEGF باعث نفوذپذیری عروق می‌شود به‌طوری‌که افزایش در نفوذپذیری عروق، یک مرحله مهم و اساسی در آنژیوژنز تومورها و زخم‌ها است. طبق این تئوری، عملکرد اصلی VPF/VEGF در فرایند آنژیوژنز، افزایش نشت پروتئین‌های پلاسمایی است. این اثر منجر به تشکیل ژل فیبرین در خارج عروق می‌شود که سوبسترایی برای رشد سلول‌های توموری و اندوتلیال است. علاوه بر این، تقسیم سلولی نیز در جوانه به‌وجود آمده اتفاق افتاده و با افزایش مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، رشته‌ای از این سلول‌ها تشکیل شده و غشای پایه خارج و داخل سلولی را تکامل می‌بخشد. حلقه‌های این رشته‌های توخالی با هم ارتباط پیدا کرده و ساختمان عروق جدید را که در آخر به سیستم گردش خون متصل می‌گردد تشکیل می‌دهند. بدین‌ترتیب شبکه مویرگی در توده توموری ایجاد شده و می‌تواند به رشدش ادامه دهد

www.SID.ir

Archive of SID

(تصویر 1) (17 و 18).

از سوی دیگر رشد تومورها موجب بروز هایپوکسی و اسیدوز پیشرفته می‌شود. به هرحال، عروق تومور دارای عملکرد طبیعی دستگاه عروقی نیستند و یک فیدیک مثبت برای تکثیر مداوم تومور ایجاد می‌کنند که منجر به هایپوکسی مداوم می‌شود. این پدیده سبب تعدیل سایتوکین‌ها و گیرنده‌هایی می‌شود که در آنژیوژنز نقش دارند (جدول 1) (19).



تصویر 1- نقش فاکتور آنژیوژنیک VEGF در آنژیوژنز تومورها. مولکول‌های VEGF ترشح‌شده توسط تومورها با اتصال بر روی گیرنده‌های خود بر روی سلول‌های اندوتلیال اطراف تومور، سبب شروع و تحریک فرایند آنژیوژنز و در نهایت ایجاد عروق جدید برای تغذیه سلول‌های توموری می‌گردند.

جدول 1- فهرست سایتوکاین‌ها و گیرنده‌هایی که عرضه آن‌ها توسط هایپوکسی تعدیل می‌شود.

Cytokines or receptor	Hypoxia level PO2	Hypoxia level Time	Gene expression
Angiopoietin 1	NS	18 h	↓ (27)
aFGF, bFGF	2.0%	24 h	↑ (28)
Flk-1/KDR	2.0/2.0%	24/24 h	↓/↑ (29[a], 30[b])
Flt-1	2.0%	24 h	↑ (30)
Interleukin-8	2.0%	24 h	↑ (31)
PDGF-A, PDGF-B	1.0%	16 h	↑ (32)
TGF-β	0.0%	24 h	↑ (33)
TNF-α	1.0%	24 h	↑ (34)
VEGF	1 .0%	06 h	↑ (35)

↑: increase, ↓: decrease, NS: not specified.

a: Reoxygenation performed in the experiments.

b: Conflicting data has been reported in the papers.

www.SID.ir

Archive of SID

مهار آنژیوژنز و فاکتورهای مهارکننده آنژیوژنز

تاکنون تعداد زیادی از فاکتورهای درون‌زای مهارکننده آنژیوژنز شناسایی شده‌اند که بسیاری از آن‌ها به‌طور طبیعی از ماتریکس خارج سلولی منشأ گرفته و برخی هم پروتئین‌های غشای پایه هستند. به‌طورکلی مهارکننده‌های آنژیوژنز به دو کلاس اصلی تقسیم می‌شوند که شامل مهارکننده‌های مشتق از ماتریکس و مهارکننده‌های مشتق‌نشده از ماتریکس هستند (جدول 2) (20-22).

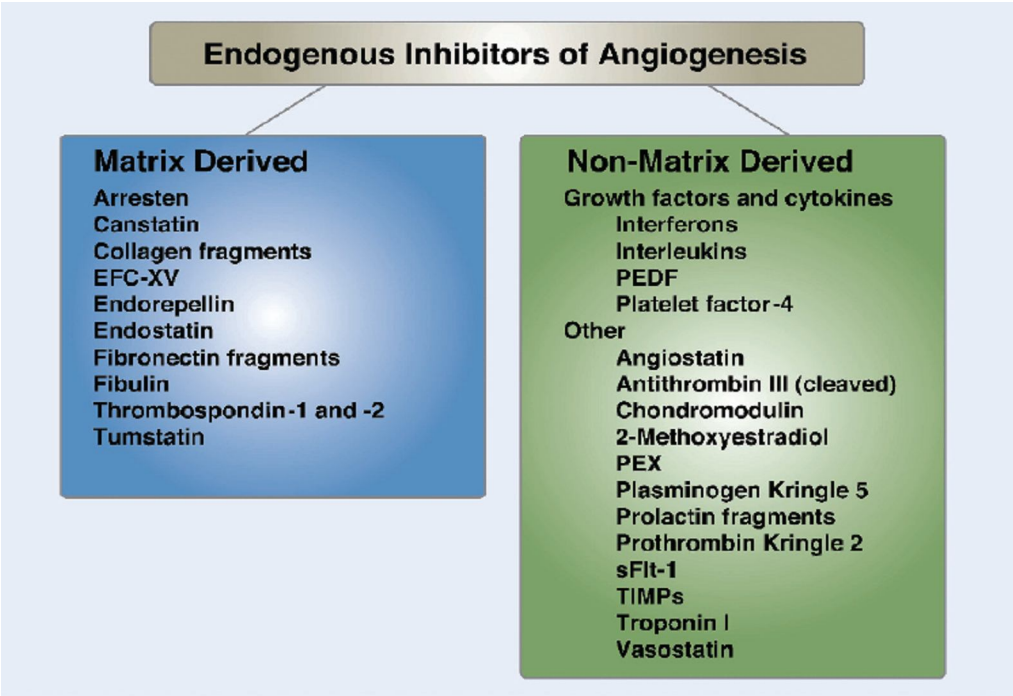
فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیک درون‌زا

بسیاری از فاکتورهای مهارکننده آنژیوژنز، قطعاتی از مولکول‌های پیش‌ساز بزرگ‌تر هستند که برخی از آن‌ها به‌عنوان عوامل میانجی‌کننده انعقاد و فیبرینولیز عمل می‌کنند. برخی از این فاکتورهای مهارکننده آنتی‌آنژیوژنیک شامل دومنِ 5 از کینوزن با وزن مولکولی بالا (HMWK)، قطعات 1 و 2 پروترومبین و آنتی‌ترومبین 3(AT-III) هستند. علاوه بر این، تنظیم‌کننده‌های آنژیوژنز در مسیر فیبرینولیز شامل آنتی‌پلاسمینِ α2، ماکروگلوبولینِ α2، سرکوبگر فعال‌کننده پلاسمینوژن و احتمالاً آنژیواستاتین می‌باشند. از آن‌جایی که تومورها یا زخم‌ها موجب سست شدن غشاهای پایه می‌شوند، پلی‌پپتیدهای جدیدی که قبلاً به‌صورت مخفی بودند ممکن است در این هنگام با فعالیت آنتی‌آنژیوژنیک در معرض قرار گیرند. این پلی‌پپتیدها ممکن است از کلاژن، فیبرونکتین و سایر اجزای ماتریکس حاصل شوند. اجزای حاصل از این تجزیه با فعالیت بیولوژیکی ممکن است توسط ماتریکس متالوپروتئازها (MMP) و سایر آنزیم‌های ترشح‌شده توسط تومورها و حتی دیگر سلول‌ها ایجاد شوند. بنابراین، سیستم هموستازی احتمالاً به‌عنوان تنظیم‌کننده مهم آنژیوژنز عمل می‌کند، به‌ویژه از این جهت که آنژیوژنز در بهبود زخم‌ها نقش انکارناپذیری دارد (23 و 24).

کانستاتین (Canstatin)

کانستاتین شامل قطعه‌ای 24 کیلودالتونی از زنجیره α2 کلاژن نوع چهارم است. مطالعات انجام‌شده با کانستاتین نوترکیب نشان داده‌اند که این مولکول به

جدول 2 - مهارکننده‌های درون‌زای آنژیوژنز. این مهارکننده‌ها به دو گروه مشتق از ماتریکس و مشتق‌نشده از ماتریکس تقسیم‌بندی می‌گردند.



www.SID.ir

Archive of SID

خوبی از مهاجرت سلول اندوتلیال و تشکیل لوله به روش وابسته به دوز ممانعت می‌کند. کانستاتین از تکثیر سلول اندوتلیال انسان تحریک شده توسط سرم نیز جلوگیری کرده و آپوپتوز را بدون هیچ اثر مهاری بر روی تکثیر یا آپوپتوز سلول‌های غیراندوتلیال فعال می‌کند. کانستاتین همچنین موجب تحریک بیان لیگاندِ Fas (L Fas) شده و با برش پروکاسپازهای **8** و **9** موجب فعال شدن آن‌ها می‌شود. این مهارکننده همچنین سبب کاهش پتانسیل غشاء میتوکندری شده و مرگ سلولی را افزایش می‌دهد. به‌نظر می‌رسد که آپوپتوز تحریک‌شده توسط کانستاتین، از طریق مهار فسفاتیدیل اینوزیتول **3**-کیناز (PI3K)/ Akt بوده و وابسته به وقایع پیام‌رسانی هدایت‌شده از طریق گیرنده‌های مرگ غشاء باشد. با وجودی که گیرنده‌های عملکردی برای این مولکول هنوز شناسایی نشده‌اند، اما احتمال می‌رود که آن‌ها از طریق اینتگرین‌های سطح سلولی عمل کنند. علاوه بر دومن‌های NC1 مربوط به زنجیره‌های **α1**، **α2** و **α3** کلاژن نوع چهارم، زنجیره **α6** دارای فعالیت آنتی‌آنژیوژنیک بوده و رشد تومور را مهار می‌کند. در واقع، دومن محلول زنجیره **α6** اتصال و مهاجرت سلول اندوتلیال را تنظیم می‌کند **(25)**.

اندورپلین (Endorepellin)

پرلکان (Perlecan) یک پروتئوگلیکان هپاران سولفات غشای پایه است که نقش‌های کلیدی در رشد عروق ایفا می‌کند. انتهای کربوکسیل پرلکان که اندورپلین یا دومنِ **5** پرلکان نامیده می‌شود، آنژیوژنز را از طریق مکانیسم‌های گوناگون به‌خوبی مهار می‌نند. از جمله این مکانیسم‌ها، ممانعت از مهاجرت سلول اندوتلیال و تشکیل ساختار لوله‌ای تحریک‌شده توسط کلاژن، مهار رشد رگ خونی در آزمایشات غشاء کوریوآلانتوئیک و جلوگیری از اتصال سلول اندوتلیال به فیبرونکتین و کلاژن نوع اول بدون اتصال مستقیم به پروتئین‌های ماتریکس مذکور می‌باشد. علاوه بر این، اندورپلین به اندوستاتین، که مهارکننده آنژیوژنز مشتق از ماتریکس دیگری است، متصل شده و با اثرات ضد آنژیوژنزی آن مقابله می‌کند. مکانیسم دقیق اندورپلین هنوز شناخته نشده است، اما مشخص شده که اینتگرین β1 و دستروگلیکان **α** با ناحیه کربوکسیلِ پرلکان (ناحیه حاوی اندورپلین) برهمکنش می‌کنند **(26** و **27)**.

اندوستاتین (Endostatin)

اندوستاتین یک مهارکننده درون‌زای آنژیوژنزی مشتق از کلاژن نوع **18** بوده که نخست از رده سلولی همانژیواندوتلیوما (hemangioendothelioma) موش مورین تخلیص شده و بعداً در موش‌های mice نیز شناسایی و تعیین خصوصیت گردید. فرم نوترکیب اندوستاتین که یک قطعه **20** کیلودالتونی مشتق از دومن کربوکسیل NC1 کلاژن نوع **18** است، از آنژیوژنز ممانعت کرده و رشد اولیه تومور و متاستاز را در مدل‌های حیوانی آزمایشگاهی بدون اثرات جانبی محسوس، سمیت یا مقاومت به دارو سرکوب می‌کند. مطالعات جدید همچنین نشان داده‌اند که اندوستاتین، اعمال مختلف دیگری از قبیل تداخل با انتقال پیام القاء شده توسط FGF-2، مهار تحرک سلول اندوتلیال، تحریک آپوپتوز، توقف مرحله G1 در سلول‌های اندوتلیال از طریق مهار سیکلینِ D1، مهار پیام‌رسانی از طریق VEGF توسط برهمکنش مستقیم با گیرنده تیروزین کینازی Flk-1/KDR/VEGF-R2 در سلول‌های اندوتلیال سیاهرگ بند ناف و سرکوب فاکتور نکروزی محرک را نیز انجام می‌دهد. علاوه بر این‌ها، اندوستاتین سریعاً موجب افزایش بیان بسیاری از ژن‌ها در سلول‌های اندوتلیال در حال رشد، شامل ژن‌های با پاسخ فوری، ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی، ژن‌های تنظیم‌کننده مهار آپوپتوز، MAPKs، FAKs و پروتئینِ G جفت‌شده با گیرنده‌های انتقال پیام رشد سلول اندوتلیال، فاکتورهای میتوژنی، مولکول‌های اتصالی و اجزای ساختار سلولی می‌شود. اخیراً نیز نشان داده شده است که اندوستاتین موجب

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش بیان بسیاری از ژن‌های مهارکننده آنژیوژنز شده و همچنین مکانیسم‌های پیام‌رسانی را که مرتبط با آنژیوژنز نیستند، تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. این مولکول به اینتگرینِ αβ متصل شده و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را توسط بلوکه کردن مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به Ras و Raf مهار می‌کند. علاوه بر این، مطالعات جدیدتر نشان می‌دهند که عمل اندوستاتین وابسته به بیان سلکتین-E موجود بر روی سلول‌های اندوتلیال بوده، گرچه اتصال مستقیم اندوستاتین به این سلکتین مشاهده نشده است. به‌نظر می‌رسد فعالیت آنتی‌آنژیوژنیک اندوستاتین وابسته به برهمکنش با پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات از طریق برهمکنش بین دومن‌های مجزای سولفاته در پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات و خوشه‌های آرژنین در سطح اندوستاتین باشد. اخیراً یک موتیف شامل توالی ویژه غنی از آرژینین متعلق به مولکول اندوستاتین انسانی، که به احتمال زیاد مسئول فعالیت آنتی آنژیوژنیک آن است، شناسایی شده که با اینتگرین β1 برهمکنش کرده و از مهاجرت سلول اندوتلیال و تشکیل لوله ممانعت می‌کند. علاوه بر این‌ها، این مولکول از فعال‌سازی و فعالیت متالوپروتئینازهای ماتریکس 2، 9 و 13 و همچنین MT1-MMP به جز MMP-8 از طریق اتصال به آن‌ها جلوگیری کرده و با اعمال دیگر پروتئازها مانند سیستم فعال‌کننده پلاسمینوژن نیز تداخل می‌کند (28 و 29).

مهارکننده‌های آنژیوژنز مشتق از منابع غیرماتریکسی

آنژیواستاتین (Angiostatin)

پلاسمینوژن حاوی پنج کرینگل (kringle) است. برش این آنزیم توسط پروتئازها منجر به تشکیل پپتیدهای ضد آنژیوژنز 45-38 کیلودالتونی می‌شود که حاوی دومن‌های کرینگلی با پل‌های سولفیدی سه‌تایی همانند کرینگلِ 1 تا 4 یا کرینگلِ 1 تا 3 می‌شود و در مجموع آنژیواستاتین نامیده می‌شوند. برخی مطالعات نشان داده‌اند که کرینگل شماره 5 نیز خودش به تنهایی دارای فعالیت آنتی‌آنژیوژنیک است. آنژیواستاتین، تکثیر سلول اندوتلیال و مهاجرت آن را مهار می‌کند. از جمله اهداف عمل آنژیواستاتین، اتصال مستقیم به آنزیم ATP سنتتاز موجود بر روی سطح سلول‌های اندوتلیال است. این عمل ممکن است منجر به کاهش و سقوط pH درون‌سلولی شده و به‌همین دلیل باعث رخ دادن وقایع آپوپتوزی در سلول‌های اندوتلیال شود. علاوه بر این، نشان داده شده است که هم آنژیواستاتین و هم پلاسمین به‌طور اختصاصی به اینتگرین αvβ3 متصل می‌شوند. آنژیواستاتین به‌طور ویژه‌ای از مهاجرت سلولی القاءشده توسط پلاسمین ممانعت می‌کند. این موضوع پیشنهاد می‌کند که اتصال پلاسمین به اینتگرین αvβ3 برای فعالیت آن ضروری است و آنژیواستاتین ممکن است با چنین فعالیتی مداخله کند (30).

آنتی‌ترومبین برش‌خورده 3 و پروترومبین کرینگل 2

به‌نظر می‌رسد که فاکتورهای انعقادی در حال گردش در خون، نقش مهمی در آنژیوژنز ایفا می‌نمایند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که علاوه بر آنژیواستاتین، ترومبوسپوندین‌ها، فاکتور پلاکتی 4 (PF-4)، آنتی‌ترومبینِ 2 و پروترومبین کرینگلِ 2 که دارای ویژگی‌های آنتی‌آنژیوژنیک می‌باشند، در خون وجود دارند. برش حلقه انتهای کربوکسیل آنتی‌ترومبین، با ایجاد تغییر کنفورماسیونی در مولکول به آن خواص قوی آنتی‌آنژیوژنیک و ضدتوموری می‌دهد. در این زمینه، مطالعات همچنین نشان داده‌اند که دومن پروترومبین کرینگلِ 2 نیز از تکثیر سلول‌های اندوتلیال ممانعت می‌کند (31).

کندرومدولین یک Chondromodulin-I

گرچه غضروف حاوی بسیاری از فاکتورهای محرک آنژیوژنز (آنژیوژنیک) در طی استخوانی شدن است، ولی در افراد بالغ یک بافت بدون عروق محسوب می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئینِ **25** کیلودالتونی ماتریکس NC1 اختصاصی غضروف کندرومدولین یک، دارای خواص مهارکنندگی آنژیوژنز است. تجویز موضعی کندرومدولینِ **I** انسانی تا حد زیادی سبب توقف و مهار تهاجم عروقی و رشد تومور در شرایط in vivo شده و علاوه بر این، از رشد آدنوکارسینومای کولون در شرایط in vivo جلوگیری می‌کند که این خود دلالت بر پتانسیل درمانی آن برای تومورهای توپر دارد **(32)**.

تیروزین کیناز یک شبیه Fms محلول Soluble (sFlt-1) Fms-like tyrosine kinase 1

نسخه محلول VEGFR-1 **(**تیروزین کیناز یک محلول شبه Fms یا sFlt-1**)** توسط کندال **(**Kendall**)** و همکارانش شناسایی گردید. sFlt-1 تمایل قوی برای VEGF و فاکتور رشد جفتی دارد. مطالعات انسانی نشان داده‌اند که VEGF می‌تواند به‌صورت اتصال به sFlt-1 و یا در حالت آزاد و بسته به مقدار sFlt-1 در جریان خون گردش کند. بنابراین، امکان استفاده از مولکول sFlt-1 به‌عنوان یک عامل ضد توموری مهار کننده VEGF وجود دارد **(33)**.

اینترفرون‌ها Interferons

اینترفرون‌ها **(**IFNs**)**، سایتوکاین‌هایی با اثرات چندگانه یا پلیوتروپیک بوده و از جمله اولین عوامل تنظیم‌کننده درون‌زای شناخته‌شده با خواص آنتی‌آنژیوژنیک هستند که پاسخ‌های ضد ویروسی، ضد توموری، آپوپتوزی و پاسخ‌های ایمنی سلولی را نیز تنظیم می‌کنند. مطالعه اثر سایتوکاین‌ها بر آنژیوژنز القاءشده توسط سلول‌های توموری موش حاکی از اثبات عمل ممانعت‌کنندگی آن‌هاست. مطالعات همچنین نشان داده‌اند که IFN-α یا IFN-β فعالیت بیولوژیکی بر ضد کارسینوماهای سلول اسکواموس داشته و از آنژیوژنز در موش‌های nude توموردار جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، محققان نشان داده‌اند که فاکتورهای مشتق‌شده از غضروف نیز سبب مهار تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال از طریق ممانعت از فعالیت کلاژناز می‌گردند زیرا تجزیه و حل شدن کلاژن مهم‌ترین قدم در رخداد آنژیوژنز است. هر چند که قطعات مجزای اسید هیالورونیک دارای اثرات آنژیوژنیک هستند اما این اسید با وزن مولکولی بالا در مدل Chick embryo limb bud از آنژیوژنز ممانعت می‌کند و موجب تمایز و رشد عروق، بیشتر از طریق افزایش فعالیت هیالورونیداز بافتی می‌شود. همچنین اسید هیالورونیک می‌تواند سرعت رشد و نمو مویرگ‌های تازه‌تشکیل‌شده را در اطراف محل‌هایی که به‌صورت زیر جلدی قرار گرفته‌اند، افزایش دهد**(34)**.

راه‌های مداخله در آنژیوژنز

تاکنون، استراتژی‌های وسیعی توسط دانشمندان جهت مداخله در آنژیوژنز تعریف و ارائه شده و مورد توجه محققان و پزشکان بسیاری قرار گرفته است. از آن‌جایی‌که، آنژیوژنز اساساً وابسته به فعال شدن تکثیر، اتصال، مهاجرت و بلوغ سلول اندوتلیال است، بنابراین اکثر رویکردها برای تعدیل آنژیوژنز، بر اعمال سلول‌های اندوتلیال در طی تشکیل رگ خونی متمرکز شده است **(35** و **36)**.

مداخله در رشد سلول اندوتلیال

تا به امروز، موفق‌ترین استراتژی برای مهار آنژیوژنز، استفاده از عواملی بوده است که به‌طور اختصاصی از رشد سلول‌های اندوتلیال ممانعت می‌نمایند. یکی از اولین ترکیباتی که برای نشان دادن اثرات مهاری بر روی رشد سلول‌ها مخصوصاً سلول‌های اندوتلیال مورد استفاده قرار گرفت، ترکیب O- کلرواستیل کربامیل فوماژیلول (O-chloroacetylcarbamoyl fumagillol) یا AGM-**470** -1470/TNP بود. این ترکیب یک آنالوگ آنتی‌بیوتیک مشتق از قارچ فوماژیلین است. طی سال‌های بعد، چندین مولکول درون‌زا با فعالیت مهار آنژیوژنز شناسایی شدند. از بین این مولکول‌ها، می‌توان از ترومبوسپوندین-

www.SID.ir

Archive of SID

1 (Thrombospondin-1)، فاکتور پلاکتی-4 (Platelet factor-4) و پروتئین-10 القاءشونده توسط اینترفرون (Interferon-inducible protein-10) نام برد. دو عضو دیگر این کلاس که به‌صورت درون‌زا تولید می‌گردند پروتئین‌های آنتی‌آنژیوژنیک آنژیواستاتین (Angiostatin) و اندوستاتین (Endostatin) هستند. راه‌کار مستقل دیگر برای مداخله در آنژیوژنز، مقابله با فاکتورهای آنژیوژنیک از قبیل VEGF یا FGF و گیرنده‌های آن‌ها است (37 و 38).

مقابله با اتصال و مهاجرت سلول اندوتلیال

به‌دلیل این‌که فرایند آنژیوژنز همچنین وابسته به وقایع اتصال سلول اندوتلیال به ماتریکس خارج سلولی و مهاجرت این سلول‌ها از طریق آن است، پایه و اساس بسیاری از تلاش‌ها برای تحقیق در مورد عوامل مؤثر بر مهار این برهمکنش‌ها بنا نهاده شده است. اولین عضو شناخته شده این گروه از ترکیبات، سایتوکاین اینترفرون است که از مهاجرت سلول‌های اندوتلیال مویرگ ممانعت می‌کند. گرچه اینترفرون‌ها ممکن است به اندازه کافی برای درمان همه تومورها مؤثر نباشند، اما تومورهای خوش‌خیم عمدتاً دارای سلول‌های اندوتلیالی هستند که مخصوصاً به درمان با اینترفرون حساس هستند. زمانی‌که محققان پی بردند که سلول‌های اندوتلیال فعال‌شده موجب افزایش بیان گیرنده‌هایی جهت ترکیبات ماتریکس خارج سلولی می‌شوند، برهمکنش سلول‌های اندوتلیال با ماتریکس به‌عنوان یک هدف برای مهار آنژیوژنز انتخاب شد (41-39).

در این زمینه، محققان کشورمان نیز همچون دیگر محققان در سراسر دنیا با بهره‌گیری از مدل‌های آنژیوژنز موفق به مطالعه، شناسایی و مطالعه انواعی از ترکیبات مهارکننده آنژیوژنز همچون شناسایی پپتید ضد آنژیوژنزی از غضروف کوسه ماهی (42)، آنتی‌بادی مونوکلونال ضد پلاسمینوژن (43)، مهارکننده تریپسین کونیتز (Kunitz trypsin inhibitor) از دانه سویا (44)، مطالعه خواص و مکانیسم‌های ضدرگ‌زایی گیاه موسیر (45 و 46) و گیاه مریم گلی (47)، همچنین مطالعه اثر ضد آنژیوژنز چای سبز (48) و عصاره موم عسل (49) شده‌اند.

نتیجه‌گیری و بحث

با توجه به این‌که امروزه افزایش مقاومت سرطان‌ها نسبت به درمان‌های رایج، مسأله دردسرسازی شده است، تلاش‌ها برای کشف و شناسایی عوامل ضد سرطانی جدید که موجب افزایش میزان حساسیت سلول‌های سرطانی گردند، رو به افزایش است. مقاومت سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای شیمیایی منجر به کاهش سطح پاسخ این سلول‌ها نسبت به دارو و در نتیجه شکست اقدامات درمانی می‌گردد. بنابراین، تحقیق و توسعه داروهای مؤثرتر و یا با اثرات جانبی کم‌تر از اهمیت فزاینده‌ای برخوردار است (50). فولکمن از اولین محققانی بود که استفاده از مهار تشکیل عروق تومور را جهت درمان سرطان پیشنهاد کرد. پیشنهاد او و دیگر محققان منجر به توسعه تحقیق و بررسی کلینیکی بیش از 20 داروی متنوع شده که مراحل مختلف رگ‌زایی را مهار می‌کنند. از جمله مزایای بالقوه این نوع درمان که می‌توان ذکر کرد شامل دسترسی آسان به اهداف داخل عروقی، عدم وجود مشکل مقاومت سلول توموری در مقایسه با شیمی درمانی مرسوم بر علیه سرطان و همچنین کاربرد گسترده این نوع استراتژی برای درمان انواع بسیاری از بیماری‌های وابسته به آنژیوژنز می‌باشد. بنابراین، استراتژی مهار رگ‌زایی از این لحاظ اهمیت دارد که ممکن است سلول‌های سرطانی، مقاومت کم‌تری نسبت به درمان با این روش نشان دهند، زیرا این قضیه مستقیماً و بیشتر مربوط به استروما می‌شود نه به سلول‌های توموری که از لحاظ ژنتیکی ناپایدار هستند. طرح این ایده براساس این حقیقت است که فرایندهای به‌کار رفته توسط سلول‌های اندوتلیال در رگ‌زایی، نتیجه تغییرات ژنتیکی در فعالیت ژن سرکوب‌کننده انکوژن سلول‌های

www.SID.ir

Archive of SID

اندوتلیال نیستند. به عبارت دیگر، نبود مقاومت دارویی به مهارکننده‌های رگ‌زایی در فرایند ضدرگ‌زایی درمانی به احتمال فراوان به این علت است که سلول‌های اندوتلیال به‌طور ژنتیکی فعال هستند و به اشکال مقاوم به دارو جهش نمی‌یابند. گرچه این نوع درمان بسیار امیدوارکننده است، عدم مقاومت قویاً به نوع درمان آنژیواستاتیکی به‌کار رفته وابسته است **(51)**.

با توجه به آن‌چه که ذکر شد و اهمیت آنژیوژنز در تحقیقات مربوط به کشف و شناسایی فاکتورهای آنژیوژنیک و عوامل مهارکننده آنژیوژنز برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله انواعی از تومورها که با آنژیوژنز ارتباط تنگاتنگی داشته و به آن وابسته هستند، روش‌های مهار آنژیوژنز که به هدف تداخل با این فرآیند مهم جهت‌گیری نموده‌اند، مسیر امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماری‌های وابسته به آنژیوژنز محسوب می‌گردند. بر این اساس، توسعه و استفاده از مدل‌های مختلف آنژیوژنز برای این منظور، بیش از پیش اهمیت پیدا می‌کند تا جایی‌که محققان بسیاری در سراسر جهان از مدل‌های مختلف آنژیوژنز برای مطالعه این پدیده مهم و عوامل تأثیر گذار بر آن سود می‌برند.

References

1. Makhni E. Angiogenesis: an examination of both tumorigenic and rehabilitative properties. J MUR 2003; 8: 23-6.
2. Ribatti D, Nico B, Crivellato E, Roccaro AM, Vacca A. The history of angiogenic switch concept. Leukemia 2007; 21(1): 44–52.
3. Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process. Curr Mol Med 2003; 3(7): 643–51.
4. Heidenreich R, R?cken M, Ghoreschi K. Angiogenesis: the new potential target for the therapy of psoriasis? Drug News Perspect 2008; 21(2): 97-105.
5. Hendrix MJC, Seftor EA, Hess AR, Seftor RE. Vasculogenicmimicry and tumor-cell plasticity: lessons from melanoma. Nat Rev Cancer 2003; 3: 411–21.
6. Noonan DM, Benelli R, Albini A. Angiogenesis and cancer prevention: a vision. Recent Results Cancer Res 2007; 174: 219-24
7. Mansouri K, Mostafaei A, Mirshahi M, Mohammadi Motlagh HR, Maleki A, Keshavarz M. Human coagulated plasma as a natural and low cost matrix for in vitro Angiogenesis. Iran Biomed J 2009; 13(3): 179-83.
8. Mansouri K, Sheikh Aleslami A, Bahrami GH, Mostafaie A. [Isolation of human umbilical vein endothelial cells and development of an angiogenesis model in fibrin matrix (Persian)]. J Zanjan Univ Med Sci & Health Serv 2006; 14(55): 17-23.
9. Mansouri K, Mirshahi M, Pourfathelah AA, Hasan ZM. [Development of an experimental model of angiogenesis in 3-dimensional fibrin matrix for screening of angiogenesis agents (Persian)]. Behbood Journal 2005; 9 (3): 27-35.
10. Vailhé B, Vittet D, Feige JJ. In vitro models of vasculogenesis and angiogenesis. Lab Invest 2001; 81(4): 439-52
11. Griggs J, Metcalfe JC, Hesketh R. Targeting tumour vasculature: the development of combretastatin A4. Lancet Oncol 2001; 2(2): 82–7.
12. Foa R, Norton L, Seidman AD. Taxol (paclitaxel): a novel anti-microtubule agent with remarkable anti-neoplastic activity. Int J Clin Lab Res 1994; 24(1): 6–14.
13. Kruger EA, Duray PH, Price DK, Pluda JM, Figg WD. Approaches to preclinical screening of antiangiogenic agents. Semin Oncol 2001; 28(6): 570–6.
14. Kerbel RS. Tumor angiogenesis. N Engl J Med 2008; 358(19): 2039-49.
15. Tortora G, Melisi1 D, Ciardiello F. Angiogenesis: A target for cancer therapy. Curr Pharm Design 2004; 10: 11-26.
16. Ellis LM, Fiddler IJ. Angiogenesis and metastasis. Eur J Cancer 1996; 32: 2451-60.
17. Makrilia N, Lappa T, Xyla V, Nikolaidis I, Syrigos K. Role of angiogenesis in solid tumours: an overview. Eur. J. Int. Med. 2009; 20: 663–71.
18. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem 1992; 267: 10931-34.
19. Folkman J. Angiogenesis. Ann Rev Med 2006; 57: 1-18.
20. Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition. An Overview EXS 1997; 79: 1-8.
21. Ruhberg C. Endogenous inhibitors of angiogenesis. J Cell Sci 2001; 14: 3215-16.
22. Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis.Cancer Res 2005; 65: 3967-79.
23. Kampaus GD, Colorado PC, Panka DJ, et al. Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. J Biol Chem 2000; 275 (2): 1209-15.

www.SID.ir

Archive of SID

24. Mongiat M, Sweeney SM, San Antonio JD, lozzo RV. Endorepellin, a novel inhibitor of angiogenesis derived from the C terminus of perlecan. J Biol Chem 2003; 278 (6): 4238-49.
25. Bix G, Castello R, Burrows M, Zoeller JJ, Weech M, Iozzo RA, et al. Endorepellin in vivo:targeting the tumor vasculature and retarding cancer growth and metabolism. J Natl Cancer Inst 2006; 98 (22): 1634-46.
26. Zheng MJ. Endostatin derivative angiogenesis inhibitors. Chin Med J 2009; 122(16): 1947-51.
27. Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review. Lewk Res 2009; 33 (5): 638-44.
28. Le TY, Muschal S, Parvda EA, Folkman J, Abdollahi A, Javaherian K. Angiostatin regulates the expression of antiangiogenic and proapoptotic pathways via targeted inhibition of mitochondrial proteins. Blood 2009; 114(9): 1727-8.
29. Larsson H, Akerud P, Nordling K, Raub-Segall E, Claesson-Welsh L, Bj?rk I. A novel anti-angiogenic from antithrombin with retained proteinase binding ability and heparin affinity. J Biol Chem 2001; 267 (15): 1196-2002.
30. Shukunami C, Hiraki Y. Role of cartilage-derived anti-angiogenic factor, chondromodulin-1, during endichondral bone formation. Osteoarthr Cartilage 2001; 9: S91-S101.
31. Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors.Blood Cells,Molecules, Disease J 2007; 38: 258-68.
32. Albini A, Marchisone C, Del Grosso F, Benelli R, Masiello L, Tacchetti C, et al. Inhibition of angiogenesis and vascular tumor growth by interferon-produving cells,a gene therapy approach. Am J Pathol 2000; 156(4): 1381-93.
33. Vernon RB, Sage EH. Between molecules and morphology. Extracellular matrix and creation of vascular form. Am J Pathol 1995; 147: 873–83.
34. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. New Engl J Med. 1971; 285 (21): 1182-6.
35. Madri JA, Williams SK. Capillary endothelial cell cultures: Phenotypic modulation by matrix components. J Cell Biol 1983; 97: 153–65.
36. Ingber DE, Folkman J. Mechanochemical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-stimulated angiogenesis in vitro: Role of extracellular matrix. J Cell Biol 1989b; 109: 317–30.
37. DiPietro LA, Nebgen DR, Polverini PJ. Downregulation of endothelial cell thrombospondin 1 enhances in vitro angiogenesis. J Vasc Res 1994; 31: 178–85.
38. Quesada AR, Mu?oz-Ch?puli R, Medina MA. Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. Med Res Rev 2006; 26: 483-530.
39. Trochon V, Li H, Vasse M, Frankenne F, Thomaidis A, Soria J, et al. Endothelial metalloprotease-disintegrin protein (ADAM) is implicated in angiogenesis in vitro. Angiogenesis 1998; 2: 277–85.
40. Pepper MS, Montesano R, Mandriota SJ, Orci L, Vassali JD. Angiogenesis: A paradigm for balanced extracellular proteolysis during cell migration and morphogenesis. Enzyme Protein 1996; 49: 138–62.
41. Kruger EA, Duray PH, Price DK, Pluda JM, Figg WD. Approaches to preclinical screening of antiangiogenic agents. Semin Oncol 2001; 28: 570–6.
42. Hassan ZM, Feyzi R, Sheikhian A, Bargahi A, Mostafaie A, Mansouri K, et al. Low molecular weight fraction of shark cartilage can modulate immune responses and abolish angiogenesis. Int Immunopharmaco. 2005; 4(3): 961-70.
43. Mansouri K, Maleki A, Mirshahi M, Pourfathelah AA, Hasan ZM, Taheripak R. Anti-plasminogen monoclonal antibody (MC2B8) inhibits angiogenesis. Pak J Biol Sci 2007; 10 (19): 3450-3.
44. Shakiba Y, Mansouri K, Mostafaie A. Anti-angiogenic effect of soybean kunitz trypsin inhibitor on human umbilical vein endothelial cells. Fitoterapia 2007; 78: 587-9.
45. Mohammadi Motlagh HR, Mansouri K, Shakiba Y, Keshavarz M, Khodarahmi R, Siami A, et al. [Anti-angiogenic effect of aqueous extract of shallot (Allium ascalonicum) bulbs in rat aorta ring model (Persian)]. Yakhteh Med J 2009; 11(2): 184-9.
46. Mohammadi Motlagh HR. [The study of anti-angiogenic effects of shallot (Allium hirtifolium) extract and isolation of effective fraction (Persian)]. MS.c Thesis. Tabriz: Azarbayjan Univ Tarbiat Moallem 2008.
47. Keshevarz M. [The study of anti-angiogenic effect of Salvia officinalis on human umbilical vein endothelial cells (Persian)]. MS.c Thesis. Kermanshah: Razi University, 2009.
48. Shakiba Y, Mostafaie A. Inhibition of corneal neovascularization with a nutrient mixture containing Lysine, Proline, ascorbic acid, and green tea extract. Arch Med Res 2007; 38: 789-91.
49. Keshavarz M, Mostafaie A, Mansouri K, Shakiba Y, Mohammadi Motlagh HR. Inhibition of corneal neovascularization with Propolis Extract. Arch Med Res 2009; 40: 59-61.
50. Kummalue T. Molecular Mechanism of Herbs in Human Lung Cancer Cells, J. Med Assoc Thai 2005; 88(11): 1725-34.
51. Boehm T, Folkman J, Browder T, O'Relly MS. Antiangiogenic therapy of sperimental cancer does not induce acquired drug resistance. Nature 1997; 390: 404-7.

www.SID.ir