فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۲، جلد ۹، شماره ۱، زمستان۹۴، صفحه ۳۹تا ۴۷

بررسی اثر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی(*Berberis vulgaris*) بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه

شیما شایسته پور[۱]، **سعیده ظفر بالانژاد[۲]**، خدیجه نژاد شاهرخ آبادی[۲]
۱- کارشناسی ارشد علوم جانوری(تکوینی)، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد. ایران.
۲-استادیار گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد.ایران.**mojgan_zafar@yahoo.com.**

تاریخ دریافت: ۹٤/۸/۲ تاریخ پذیرش:۹٤/۱۲/۵

چکیده

زمینه و هدف: آنژیوژنز یا تشکیل رگ‌های خونی جدید، پدیده‌ای پیچیده ای است که برای تکوین جنین و سایر وقایع فیزیولوژیکی مورد نیاز می باشد. بسیاری از شرایط پاتولوژیک نظیر رشد تومورها و پیشرفت بیماری با رگ‌زایی ارتباط دارد. در پژوهش حاضر اثر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی(*Berberis vulgaris*) بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: تعداد ۵۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد Ross به طور تصادفی در ۵ گروه مساوی شامل، گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه‌های تجربی تیمار با محلول عصاره تام آبی برگ زرشک توزیع شدند. در روز دوم انکوباسیون روی تخم‌مرغ‌ها پنجره باز و روز هشتم گروه شاهد آزمایشگاهی با ۱۰ میکرولیتر PBS و گروه‌های تجربی با ۱۰ میکرولیتر عصاره به ترتیب با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تیمار گردیدند. روز دوازدهم از پرده کوریوآلانتوئیک تمام نمونه‌ها در ناحیه تیمار به کمک فتواسترئومیکروسکوپ عکس‌برداری شد، تعداد و طول انشعابات عروقی با کمک نرم افزار Image J اندازه‌گیری و داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS، آزمون آماری t و آزمون مکمل ANOVA تحلیل شدند($P<0/05$).

یافته ها: مقایسه میانگین تعداد عروق در گروه‌های تجربی با گروه شاهد، در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری نشان داد. مقایسه میانگین طول عروق در گروه‌های تجربی با گروه شاهد، در همه گروه‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه گیری: بر طبق مطالعات انجام شده در این پژوهش استفاده از برگ گیاه زرشک می‌تواند با کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی، رگ‌زایی را در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مهار کند.

واژه های کلیدی: آنژیوژنز، زرشک(*Berberis vulgaris*)، پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه.

مقدمه

آنژیوژنز یا رگ زایی به فرآیند رشد و تکوین عروق خونی جدید گفته می‌شود که برای رشد و نمو طبیعی بدن اهمیت فراوانی دارد(۴). دکتر هانتر در سال ۱۷۸۷ برای اولین بار از این واژه برای تشکیل عروق خونی جدید از عروق قبلی استفاده کرد(۲۵). آنژیوژنز وابسته به تعادل بین عوامل تحریک کننده و مهار کننده آن است (۲۴). این فرآیند تحت تاثیر عوامل مختلف بوده و در بر گیرنده رخدادهای سلولی از قبیل مهاجرت، تکثیر و تمایز سلول‌های اندوتلیال و در نهایت تشکیل عروق، بلوغ و بازسازی آن ها است(۵). به طور کلی برای فرآیند آنژیوژنز، ۱۰ مرحله متوالی در نظر گرفته می‌شود که یک یا چند مرحله از آن می‌تواند هدف عوامل محرک و یا بازدارنده آنژیوژنز باشد، این مراحل به اختصار عبارتند از: سنتز و رها شدن فاکتورهای آنژیوژنیک از بافت‌های بیمار یا صدمه دیده؛ اتصال فاکتورهای آنژیوژنیک به گیرنده های خود بر روی سلول های اندوتلیال؛ رها شدن پروتئازها جهت هضم غشاء پایه؛ فعال شدن سلول های اندوتلیال به وسیله اتصال فاکتورهای آنژیوژنیک به آن‌ها؛ مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال؛ کشیده شدن رگ خونی در حال جوانه زدن به سمت جلو توسط مولکول-

www.SID.ir

های چسبان؛ تولید متالوپروتئینازهای ماتریکس جهت هضم ماتریکس سلولی و آغاز بازسازی آن؛ تعدیل تشکیل ساختارهای لوله مانند توسط سیستم آنژیوپوئیتین –Tie2؛ تنظیم تشکیل لوپ توسط سیستم آفرین B؛ پیوستن پریسیت ها به رگ های جدید برای پایدار کردن ساختار آن ها(۲۰). فرآیند رگ‌زایی برای تکوین عروق و اندام‌های جانبی‌اش در طی دوران جنینی و حفظ عروق، بهبود زخم، کم‌خونی، عملکرد تخمدان، تکثیر آندومتر رحم در طی چرخه‌ی تولید مثلی و هم چنین تشکیل جفت در دوران بزرگسالی ضروری است(۱۱). در افراد بالغ رگ‌زایی محدود است و فقط در پستانداران ماده در طی سیکل تولیدمثلی ماهیانه(ساخت مجدد پوشش رحم، بلوغ تخم در طی تخمک‌گذاری) و در طول بارداری(برای ساخت جفت) رخ می‌دهد(۳) و در فرآیندهای ترمیمی فیزیولوژیکی هم چون ترمیم زخم نیز انجام می‌گیرد(۱۵، ۷). در صورتی که تعادل بین فاکتورهای القا کننده و مهار کننده آنژیوژنز بر هم خورد شرایط برای بروز برخی بیماری‌ها به وجود می آید(۵). در بسیاری از بیماری‌ها و حالات وخیم از قبیل سرطان، دژنره شدن وابسته به سن خال ها، پسوریازیس و اندومتریوزیس، کنترل رگ‌زایی دچار اختلال می‌شود. به طور کلی، بیش از ۷۰ نوع بیماری دیگر مثل چاقی، رماتیسم مفصلی و آسم وجود دارند که با رگ‌زایی غیر طبیعی ارتباط دارند(۲۲، ۲۱). آنژیوژنز تومور به عنوان یک اصل اساسی در تحقیقات مربوط به سرطان مورد توجه است، تومورها در ابتدا عروق میزبان را برای بقای خود به کار می‌گیرند که این امر همراه با اضمحلال عروق میزبان است، رشد مداوم سلول توموری در ادامه منجر به آغاز آنژیوژنز می‌گردد(۵). مطالعات هم چنین نشان داده اند که تشکیل سیستم عروقی در سرطان بدخیم با قدرت متاستاز تومور رابطه مستقیم دارد(۴) و به همین دلیل مهار آنژیوژنز ممکن است یک هدف درمانی برای تومورها باشد(۵). از زمان باستان تاکنون، گیاهان جهت پیشگیری و یا درمان بسیاری از بیماری ها مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند(۱۹). به طور کلی، استفاده از گیاهان در درمان سرطان دارای تاریخچه‌ای طولانی است، به طوری که گیاهان منابع اولیه جهت تهیه داروهای سنتی مؤثر در درمان این بیماری بوده‌اند(۲۳، ۱۳). در سال های اخیر گیاهان مختلف با خواص ضد رگ‌زایی مورد شناسایی قرار گرفته و حتی ترکیبات مؤثره برخی از آن‌ها نیز جداسازی گردید، هم‌اکنون نیز مدل‌های تحقیقاتی زیادی برای غربال گیاهانی که دارای فعالیت ضد رگ‌زایی هستند، مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۷). زرشک خوراکی با نام علمی *Berberis vulgaris* یکی از گیاهانی است که استفاده از آن در طب سنتی دارای تاریخچه‌ای طولانی است(۱۴). ترکیبات موثره موجود در گیاه زرشک خوراکی عبارتند از بربرین، بربامین، پالماتین، ژات‌روریزین، اوکسیاکانتین و کلوم بامین؛ مطالعات انجام شده بر روی این گیاه مشخص نموده اند که عصاره آن می‌تواند به صورت وابسته به دوز و زمان مرگ سلول های سرطانی را القا کند(۶). تحقیقات انجام شده بر ترکیبات گیاهی در سال‌های اخیر این امیدواری را به همراه دارد که بتوان فرآورده‌هایی طبیعی از گیاهان به دست آورد که به طور موثری برای تومورها بسیار سمی باشند و علاوه بر این اثرات جانبی بر روی بافت-های طبیعی و سالم نداشته باشند. هم اکنون مدل‌های تحقیقاتی زیادی برای غربال گیاهانی که دارای فعالیت ضد رگ‌زایی هستند، مورد استفاده قرار می‌گیرند، هدف در این پژوهش بررسی اثر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی(*Berberis vulgaris*) بر آنژیوژنز در مدل حیوانی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه است.

مواد و روش ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی است که در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوین

Archive of SID

www.SID.ir

جانوری گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام و از تخم مرغ‌های نطفه‌دار نژاد راس(ROSS) به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده گردید. نمونه‌های مورد مطالعه از شرکت مرغداران طوس مشهد تهیه شدند. تعداد ۵۰ عدد تخم مرغ نطفه‌دار در ۵ گروه آزمایشی به صورت تصادفی توزیع گردیدند، گروه ها شامل:

شاهد: در نمونه‌های این گروه در روز دوم تکنیک پنجره صورت گرفت و نمونه‌ها در دستگاه جوجه‌کشی تا روز دوازدهم در همین وضعیت انکوبه شدند.

شاهد آزمایشگاهی: نمونه‌ها در روز هشتم انکوباسیون توسط ۱۰ میکرولیتر محلول فسفات‌بافرسالین(PBS) تیمار شدند با این هدف که احتمال اثر مهاری حلال PBS آب محلول ایزوتونیک نمی باشد و برای استفاده از آب نیاز به حل کردن مقادیری املاح مشخص در آب است.که غلظت‌های مختلف عصاره با آن تهیه شدند بر رگ‌زایی بررسی شود(۱).

گروه تجربی یک: نمونه‌ها در روز هشتم انکوباسیون با ۱۰ میکرولیتر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تیمار شدند(۹).

گروه تجربی دو: نمونه‌ها توسط عصاره با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تیمار شدند(۹).

گروه تجربی سه: نمونه‌ها با عصاره به غلظت ۵۰۰ میلی-گرم بر میلی‌لیتر تیمار شدند.

عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام گرفت، بدین صورت که ۵۰ گرم پودر خشک شده برگ گیاه زرشک خوراکی(جمع آوری شده از جاده فریمان-ژرف، خراسان، ایران/ کد هرباریوم ۹۵۷۱ مربوط به هرباریوم دانشگاه آزاد مشهد) با ۳۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره-گیری شد و در نهایت میزان ۴ گرم پودر خشک عصاره حاصل گردید(۹). در هر مرحله تخم مرغ‌ها پس از تمیز شدن توسط اتانول ۷۰٪ درون دستگاه جوجه‌کشی(Cox، هلند) در دمای ۳۷/۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵-۶۰٪ جای داده شدند. روز دوم انکوباسیون در شرایط استریل و زیر هود لامینار(Telstar، اسپانیا) به کمک پنس استریل بر روی قسمت پهن تخم مرغ سوراخ کوچکی ایجاد شد و متعاقب آن در سمت پهلویی پنجره‌ای به قطر ۵ میلی متر باز گردید که به وسیله لامل استریل و پارافین استریل پوشانده و تخم مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شدند. روز هشتم در شرایط استریل پنجره‌ها باز و به کمک قاشقک استریل یک اسفنج ژلاتینی که شامل آلبومین سفیده تخم مرغ و محلول آگار در نرمال‌سالین به علاوه آنتی‌بیوتیک پنی-سیلین – استرپتومایسین بود با ابعاد ۲×۲ میلی متر بر روی پرده کوریوآلانتوئیک همه نمونه‌ها قرار داده و تیمار در این محل انجام گرفت. در نهایت در روز دوازدهم این نکات با توجه به منبع ارائه شده در این قسمت در نظر گرفته شده اند(۲۰،۲). زمان ها با توجه به شکل گیری پرده کوریوآلانتوئیک و توسعه عروق در تمام مقالات مشابه انجام شده روی CAM در نظر گرفته شده است، به دلیل آن که نوشتن دلایل تمام این نکات در مقاله حجم زیادی اشغال می کند اگر در نظر داور وجود آن الزامی است ارائه شود. از پرده کوریوآلانتوئیک نمونه‌ها عکس‌برداری شد(۲۰،۲). عکس‌ها به کمک فتواسترئو میکروسکوپ تحقیقاتی(Zeiss، آلمان) و با درشت‌نمایی ۶۴ برابر تهیه و به کمک نرم افزار Image J در یک مانیتور ۱۵ اینچ بررسی شدند. اندازه گیری شاخص‌های تعداد و طول انشعابات عروقی در مربع‌هایی به ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر در چهار طرف اضلاع اسفنج ژلاتینی صورت گرفت در هر نمونه از چهار طرف ژل عکس گرفته شده است که یکی از عکس ها در بخش شکل مشاهده می شود به همین دلیل یک مربع ترسیم شده است(شکل ۱). میانگین شاخص‌های اندازه گیری شده به کمک نرم افزار SPSS با آزمون t در سطح معنی داری $P < ۰/۰۵$ تحلیل

Archive of SID

www.SID.ir

و از آزمون آماری ANOVA جهت تایید نتایج به دست آمده نیز استفاده شد(۲۰،۲).

نتایج

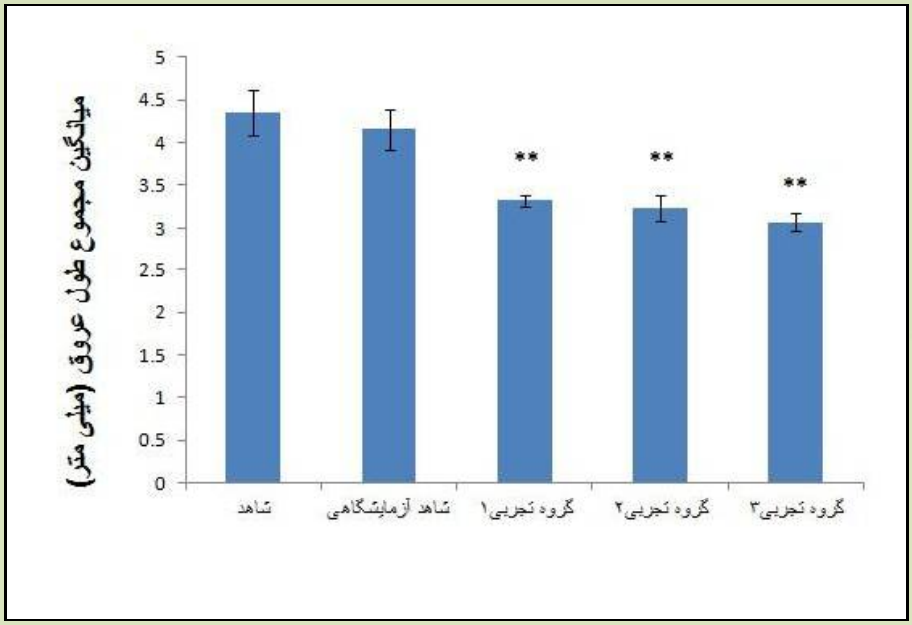
مقایسه میانگین تعداد(۱/۵۹±۷/۷۱) و مجموع طول(۰/۷۲±۴/۳۵ میلی متر) انشعابات عروق خونی گروه شاهد نسبت به میانگین تعداد(۰/۸۳±۸/۳۲) و مجموع طول(۰/۶۱±۴/۱۶ میلی متر) انشعابات عروق خونی در شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. مقایسه میانگین تعداد(۰/۶۴±۶/۳۷) انشعابات عروقی در گروه تجربی۱ نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد که این کاهش معنی دار نبود، اما مقایسه میانگین مجموع طول (۰/۱۵±۳/۳۲ میلی متر) انشعابات عروقی در گروه تجربی۱ نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد(P = ۰/۰۰۹). بررسی تفاوت میانگین تعداد انشعابات عروقی در گروه تجربی۲(۰/۹۱±۵/۶۲) نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد(P = /۰۱۶)، هم چنین کاهش مشاهده شده در میانگین مجموع طول انشعابات عروق خونی در گروه تجربی۲(۰/۳۶±۳/۲۴ میلی متر) نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود(P = ۰/۰۰۶). میانگین تعداد عروق خونی در گروه تجربی۳(۰/۴۰±۵/۱۶) در مقایسه با شاهد دارای کاهش معنی‌دار بود(P= ۰/۰۰۵) و هم چنین در مقایسه میانگین مجموع طول عروق خونی گروه تجربی۳(۰/۲۶±۳/۰۷ میلی متر) با گروه شاهد کاهش مشاهده شده معنی‌دار بود(P = ۰/۰۰۳)(نمودار ۱ و ۲).

بحث و نتیجه گیری

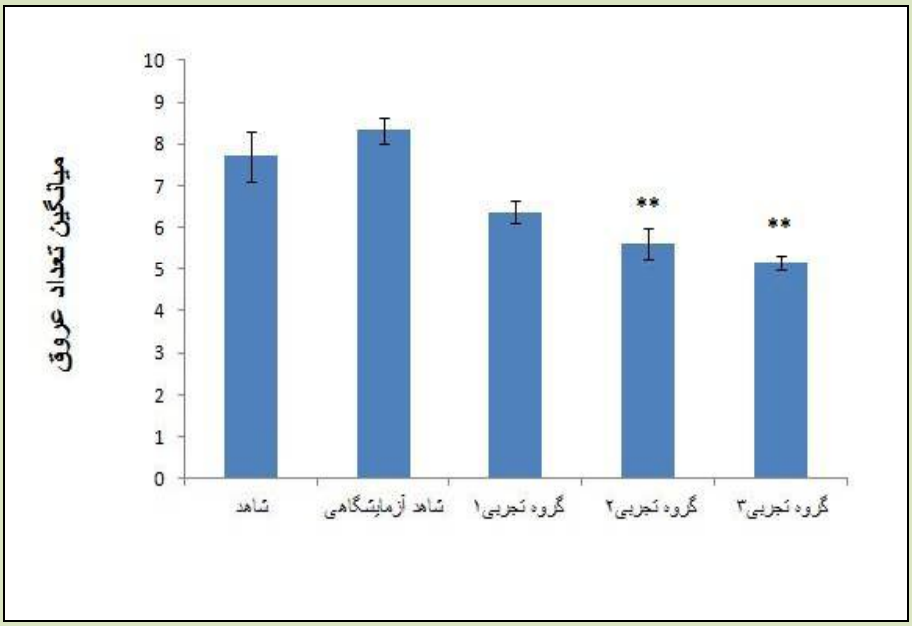
بر اساس نتایج این پژوهش در میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی در اطراف محل تیمار در نمونه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد بنابراین می‌توان گفت حلال عصاره برگ گیاه زرشک(PBS) که توسط آن دوزهای مصرفی آزمایش تهیه شده است تاثیر معنی‌داری بر تعداد و طول انشعابات عروقی ندارد. نتایج به دست آمده در این قسمت هم چنین نشان داد که عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر موجب کاهش تعداد عروق شد اما این کاهش معنی‌دار نبود، غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر با مهار آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک موجب کاهش معنی-دار تعداد عروق شدند. هم چنین در این پژوهش مشاهده شد که عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی در تمام گروه‌های مورد آزمایش، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر با مهار آنژیوژنز کاهش معنی‌داری در مجموع طول انشعابات عروقی ایجاد می‌کنند. در سال ۲۰۱۱ نیز Campisi نشان داد که بربرین استخراج شده از گیاه *Berberis aetnensis* آنژیوژنز را در اجسام شبهه جنینی(سلول‌های بنیادی جنینی تمایز یافته به سلول‌های عصبی در محیط کشت) مهار می‌کند که این امر را به خاصیت این ترکیب در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نسبت داد(۹). به علاوه محققان با مطالعه بر سلول‌های سرطان سینه انسانی پیشنهاد کردند که توانایی ضد رگ-زایی بربرین به علت مهار مسیر PI-3K/AKT می-باشد(۱۶). Duan نیز در پژوهش خود نشان داد که بربامین گرفته شده از گیاه *Berberis amurensis* به طرز معنی‌داری رشد و مهاجرت سلول‌های سرطان ریه (A549) را مهار می کند(۱۲). Bao در آزمایشات خود نشان داد که کلومبامین یک ترکیب فعال گیاهی است که از رگ‌زایی، تکثیر و متاستاز سلول های استئوسارکوم (U2OS) جلوگیری می کند(۸).

Archive of SID

www.SID.ir



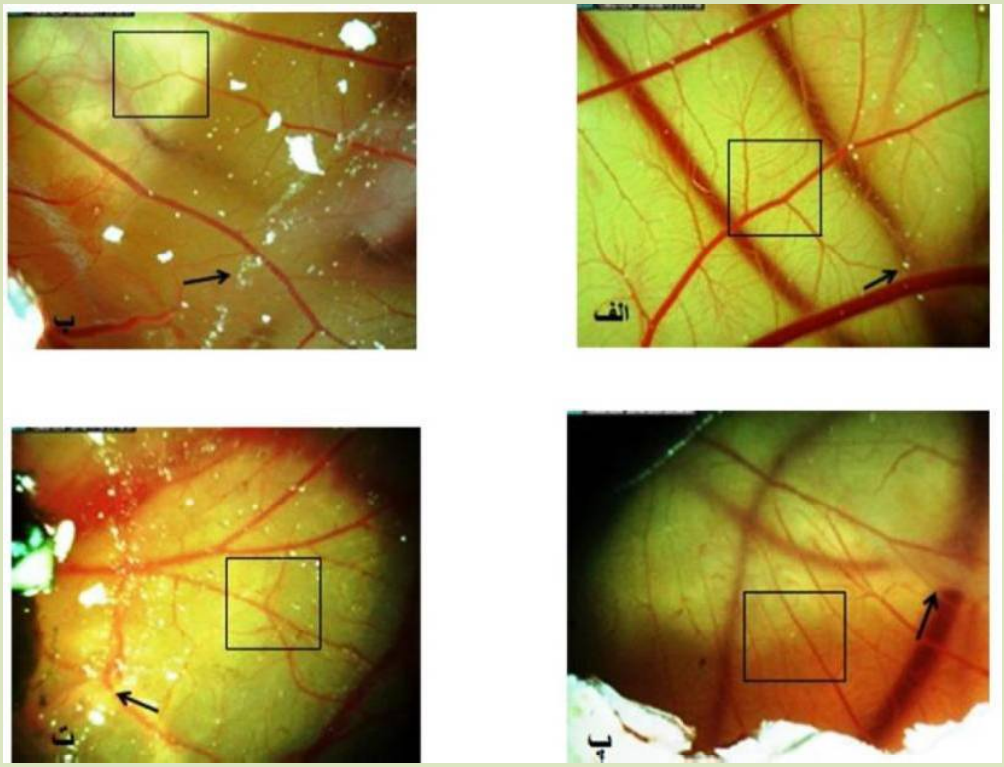
نمودار ۱- مقایسه میانگین مجموع طول انشعابات عروقی در گروه های تجربی تیمار شده با غلظت های متفاوت عصاره آبی برگ گیاه زرشک و شاهد(** P < ۰/۰۱)



نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد انشعابات عروقی در گروه های تجربی تیمار شده با غلظت های متفاوت عصاره آبی برگ گیاه زرشک و شاهد(** P < ۰/۰۱)

گروه تجربی۱: غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر، گروه تجربی۲: غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر، گروه تجربی۳: غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر

www.SID.ir



شکل ۱- نمایش پرده کوریوآلانتوئیک در محل تیمار در گروه‌های تجربی

الف: شاهد. ب: تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی. پ: تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی. ت: تیمار شده با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی.(فلش نشان دهنده محل قرار گیری ژل می باشد)

مطالعه Tan بر روی متابولیسم سرطان سینه نشان دادند که بربرین تعدیل کننده برنامه سلولی در سه سطح، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و گلیکولیز و سنتز ماکرومولکول‌ها به صورت هم زمان است(۲۶). در تحقیق دیگری که توسط Meng و همکارانش بر روی رشد سلول‌های سرطان کبد صورت گرفت، نشان داده شد که بربامین و مشتقات آن می‌توانند رشد سلول‌های سرطان کبد را با هدف‌گیری پروتئین کیناز II وابسته به کلسیم/کالمادولین(CAMKII) سرکوب کند چرا که بیان بیش از حد CAMKII تکثیر سلول‌های سرطانی کبد را موجب می‌شود(۱۸). هم چنین محققان با آزمایشاتی بر روی دودمان سلولی هپاتومای انسانی(SMMC7721) اثر ضدسرطانی بربامین بر سلول‌های سرطانی هپاتومای انسانی را به از بین بردن پتانسیل غشا میتوکندری و کاهش فعالیت کاسپازی(caspase-3 و caspase-9) توسط بربامین نسبت دادند(۲۸). در مطالعه‌ای دیگر اثبات شد که بربرین رگ‌زایی و تهاجم را در سلول‌های سرطان دهانه رحم(SiHa) مهار کرد در این تحقیق که توسط Chu و همکارانش انجام شد نشان داده شد که بربرین باعث کاهش فعالیت‌های رونویسی متالوپروتئیناز-۲ ماتریکس و فعال‌کننده پلاسمینوژن نوع اوروکیناز موثر در متاستاز و هم چنین شکست فاکتور رشد تغییر دهنده-بتا۱ می‌شود، تاثیر بربرین بر افزایش مارکرهای اپی تلیالی مانند E-cadherin و مهار فاکتورهای مزانشیمی مانند N-cadherin و snail-1 از دیگر نتایج مشاهده شده در این مطالعه بود(۱۰). نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر

Archive
www.SID.ir

که نشان دهنده مهار آنژیوژنز به صورت کاهش در تعداد و یا طول انشعابات عروقی در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی برگ گیاه زرشک(*Berberis vulgaris*) می‌باشد با آزمایشات انجام شده و ذکر شده در بالا مشابه است. لازم به ذکر است که مطالعات مذکور در محیط کشت و به صورت in vitro می‌باشد اما پژوهش حاضر به صورت in vivo و بر روی مدل پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه صورت گرفت. طبق مطالعات انجام شده در این پژوهش استفاده از برگ گیاه زرشک خوراکی(*Berberis vulgaris*) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌تواند با کاهش طول انشعابات عروقی و غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌تواند با کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی، رگ‌زایی را در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مهار کند. پیش از این Wang در مطالعه‌ای که بر روی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه انجام داد نشان داد که عصاره آبی گیاه *Berberis paraspecta* توانست آنژیوژنز را مهار کند و نتیجه مشابهی در سلول-های اندوتلیال آئورت گاوی کشت شده نیز به دست آورد(۲۷). در این پژوهش Wang و همکارانش اثر غلظت‌های ۰/۲ و ۱ گرم بر میلی لیتر از عصاره آبی ریشه گیاه مورد نظر را بر مهار رگ زایی پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه مورد بررسی قرار دادند و در تیمارهای هر دو غلظت مهار رگ‌زایی را مشاهده کردند که این مهار رگ زایی در تیمار غلظت ۱ گرم بر میلی‌لیتر بیشتر بود، در پژوهش حاضر تمامی تیمارهای مورد مطالعه(غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) همراه با مهار رگ‌زایی به صورت کاهش در تعداد و طول انشعابات عروقی به صورت معنی دار بودند. لازم به ذکر است که درصد مرگ و میر جنین‌ها در هیچ یک از دوزهای مورد استفاده در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. طبق مطالعات انجام شده در این پژوهش استفاده از برگ گیاه زرشک(*Berberis vulgaris*) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌تواند با کاهش طول انشعابات عروقی و غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌تواند با کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی، رگ‌زایی را در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مهار کند. با توجه به اهمیت آنژیوژنز و عوامل مهار کننده آن برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله تومورها روش‌های مهار آنژیوژنز مسیر امیدوار کننده‌ای برای درمان بیماری‌های وابسته به آنژیوژنز محسوب می‌گردند. تحقیقات بیشتر می‌تواند در آگاهی بر احتمال استفاده کاربردی از برگ گیاه زرشک به عنوان داروی مکمل در درمان برخی بیماری‌ها و یا رژیم‌های غذایی موثر واقع گردد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از مدیر گروه و تمامی اساتید محترم گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد به ویژه سرکار خانم دکتر آذرنوش جعفری که در انجام این پژوهش مرا یاری نموده اند و همکاران آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تشکر و قدردانی می شود.

منابع

۱- بهار آرا، ج.، ظفربالانژاد، س.، مشتاق، ص.، رمضانی، ط. ۱۳۹۳. اثر عصاره آبی زعفران و میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم بر آنژیوژنز در حلقه آئورت موش صحرایی نژاد ویستار. مجله علمی-پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان. دوره۱۵. شماره۴. ص ۵۲۹-۵۲۲.

۲-ظفربالانژاد، س.، پریور، ک.، بهارآرا، ج.، محسنی، ه. ۱۳۸۸. اثر راپامایسین بر رگ زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جوجه. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک. سال دوازدهم. شماره۱. ص ۸۰-۷۳.

۳-عطایی، ن.، خیاط زاده، ج.، رخشنده، ح.، ظفر بالانژاد، س. ۱۳۹۰. اثر عصاره الکلی میوه هندوانه ابوجهل بر رگ

Archive of SID

www.SID.ir

زایی در پرده کوریوآلانتودئیک جنین جوجه. مجله علمی پزوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک. سال چهاردهم. شماره۱. ص ۶۸-۶۲.

٤-منصوری،ک.، سیفی، پ.، مصطفایی، ع.، محمدی مطلق، ح. ۱۳۹۱. بررسی مکانیسم‌ها و علل مربوط به رگ‌زایی. مجله علوم پزشکی کردستان. دوره هفدهم. ص ۱۰۷-۹۶.

۵-منصوری، ک.، مصطفایی، ع.، محمدی مطلق،ح. ۱۳۸۹. آنژیوژنز و تومور. مجله بهبود. سال چهاردهم. شماره چهارم. ص ۳۱۴-۳۰۵.

6.Abd El-Wahab, A., Ghareeb, D., Sarhan, E., Abu-Serie, M., El Demellawy, M. (2013). In vitro biological assessment of berberis vulgaris and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. BMC Complementary and Alternative Medicine, 13 (218); 1-12.

7.Baharara, J., Zahedifar, Z. (2012). The effect of low-frequency electromagnetic fields on some biological activities of animals. Arak Medical University Journal (AMUJ), 15 (66); 80-93.

8.Bao, M., Cao, Z., Yu, D., Fu, S., Zhang, G., Yang, P. (2012). Columbamine suppresses the proliferation and neovascularization of metastatic osteosarcoma U2OS cells with low cytotoxicity. Toxicology letters (ElSEVIER), 215 (3); 174-80.

9.Campisi, A., Acquaviva, R., Mastrojeni, S., Raciti, G., Vanella, A., De Pasquale, R. (2010). Effect of berberine and *Berberis aetnensis* c. Presl. Alkaloid extract on tissue trans glutaminase in primary astroglial cell cultures. Phytotherapy Research Journal, 25 (6); 816-820.

10. Chu, S.C., Yu, C.C., Hsu, L.S., Chen, K.S., Su, M.Y ., Chen, P.N. (2014). Berberine reverses epithelial-to-mesenchymal transition and inhibits metastasis and tumor-induced angiogenesis in human cervical cancer cells. Molecular Pharmacology, 86 (6); 609-23.

11. Chung, A.S., Lee, J., Ferrara, N. (2010). Targeting the tumor vasculature: insights from physiological angiogenesis. Nat Rev Cancer, 10 (7); 505-514.

12. Duan, H., Luan, J., Liu, Q., Yagasaki, K., Zhang, G. (2010). Suppression of human lung cancer cell growth and migration by berbamine. Cytotechnology, 62 (4); 341-348.

13. Gordaliza, M. (2007). Natural products as leads to anticancer drugs. Clin Transl Oncol, 9(12); 767-776.

14. Imanshahi, M,. Hosseinzadeh, H. (2008). Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent, Berberine. Phytotherapy Research, 22 (8); 999-1012.

15. Karamysheva, A.F. (2008). Mechanism of angiogenesis. Biochemistry (Mosc), 73 (7); 751-62.

16. Kim, S., Oh, S.J., Lee, J., Han, J., Jeon, M., Jung, T., Nam, S.J. (2013). Berberine suppresses TPA-induced fibronectin expression through the inhibition of vegf secretion in breast cancer cells. Cellular Physiology and Biochemistry, 32 (5); 1541-1550.

17. Kruger, E.A., Duray, P.H., Price, D.K., Pluda, J.M. (2001). Approaches to preclinical screening of antiangiogenic agents. Semin Oncol, 28 (6); 570-576.

18. Meng, Z., Li, T., Ma, X., Wang, X., Ness, C. (2013). Berbamine inhibits the growth of liver cancer cells and cancer-initiating cells by targeting Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II. Molecular Cancer Therapeutics. 12(10); 2067-77.

19. Mohammadi-Motlagh, H.R., Mansouri, K., Mostafaie, A. (2010). Review: plants as useful agents for angiogenesis and tumor growth prevention. Physiology and Pharmacology, 14 (3); 297-312 .

20. Mostafaie, A., MohammadiMotlagh, H., Mansouri, K. (2009). Review: angiogenesis and the models to study angiogenesis. J Yakhteh Med, 11(4); 379-381.

21. Noonan, D.M., Benelli, R., Albini, A. (2007). Angiogenesis and cancer prevention: a vision. Recent Results Cancer, 174; 219-224.

22. Quesada, A.R., Munoz-Chpuli, R., Medina, M.A. (2006). Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. Med Res Rev, 26(4); 483-530.

23. Rao, B.N. (2003). Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. Asia Pac J Nutr, 12 (1); 9-22.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Ribatti, D. (2010). Review Article: The chick embryo chorioallantoic membrane an an in vitro assay to study angiogenesis. Pharmaceuticals, 3; 482- 513.

25. Ruhrberg, C. (2001). Endogenous inhibitors of angiogenesis. J Cell Sci, 114 (18); 3215-3216.

26. Tan, W., Li, N., Tan, R., Zhong, Z., Suo, Z., Yang, X. (2014). Berberine interfered with breast cancer cells metabolism, balancing energy homeostasis. Anticancer Agents Med Chem, 15(1); 66-78.

27. Wang, S., Zheng, Z., Weng, Y., Yu Y., Zhang, D., Fan, W. (2004). Angiogenesis and anti-angiogenesis activity of Chinese medicinal herbal extracts. Life Science, 74 (20); 2467-78.

28. Wang, GY., Zhang, J., Lü, QH., Xu, RZ., Dong, QH. (2007). Berbamine induces apoptosis in human hepatoma cell line SMMC7721 by loss in mitochondrial transmembrane potential and caspase activation. Journal of Zhejiang University Science B, 8(4); 248-55

Archive of SID

www.SID.ir