

Original Article

Inhibition of angiogenesis and improvement of the anti-angiogenic activity of paclitaxel by three insect sex pheromones in chicken chorioallantoic membrane

Zeynab-Sadat Payambarpour¹, Majid Hassanpour-Ezatti^{1*}, Alireza Askarianzadeh²

¹Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

²Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

*Corresponding author; E-mail: hassanpour@shahed.ac.ir

Received: 29 September 2018 Accepted: 4 December 2018 First Published online: 18 July 2020

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August - September; 42(3):245-253

Abstract

Background: Insect sex pheromones contain long chain polyunsaturated fatty acids. Some types of unsaturated fatty acids have been showed anticancer effects. Angiogenesis is considered as a fundamental process in cancer growth and metastasis. Angiogenesis inhibitory effect of three insect-free pheromones alone and the incremental anti-angiogenic effect of each of them with paclitaxel were evaluated on chorioallantoic membrane (CAM) of chick in the current experimental study.

Methods: Ninety fertilized eggs of Ross race were arranged into 9 groups as follows: control, dexamethasone, paclitaxel, pheromones of currant borer (*Synanthedon tipuliformis*); leopard moth (*Zeuzera pyrina* L.) and pistachio twig borer (*Kermania pistaciella*)-alone, and each sex pheromones plus paclitaxel. On day 8 of chick embryo incubation, 50 µl of each compound were applied to CAMs, and their effects were evaluated on day 9.

Results: Compared with controls, application of each of the pheromones alone is equally effective in reducing vessel length and branching points by 88% and 71%, respectively. Angiogenesis was suppressed (82%) by paclitaxel and stimulated (20%) by dexamethasone. Inhibitory effect of paclitaxel on vascular branching points was further increased (7%) after combination treatment with each of three pheromones. Pheromones of *Z. pyrina* and *K. pistaciella* were able to enhance (7%) antiangiogenic effect of paclitaxel.

Conclusion: The direct anti-angiogenic effects of these insect pheromones and the incremental anti-angiogenic effect of each of them with paclitaxel. This antiangiogenic effect seems independent from anti-inflammatory mechanisms. Therefore, we suggest that the effect of these pheromones with paclitaxel be studied on patients with paclitaxel-resistant tumors.

Keyword: Angiogenesis Inhibitors, Chorioallantoic Membrane, Insecta, Pheromones, Paclitaxel, Dexamethasone

How to cite this article: Payambarpour Z S, Hassanpour-Ezatti M, Askarianzadeh A R. [Inhibition of Angiogenesis and Improvement of the Anti-angiogenic Activity of Paclitaxel by Three Insect Sex Pheromones in Chicken Chorioallantoic Membrane]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August-September; 42(3):245-253. Persian.

مقاله پژوهشی

مهار رگزایی و بهبود فعالیت ضد رگزایی پاکلی تاکسل توسط سه فرمون های جنسی حشره ای در غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه

سید زینب پیمبرپور^۱، مجید حسن پورعزتی^{۱*}، علیرضا عسکریان زاده^۲

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
^۲گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
 * نویسنده مسوول: ایمیل: Hassanpour@shahed.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۷/۷ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۴/۲۸
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. مرداد و شهریور ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۲۴۵-۲۵۳

چکیده

زمینه: فرمون های جنسی حشرات حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند هستند. برخی از اسیدهای چرب غیر اشباع خاصیت ضد سرطانی از خود نشان داده اند. رگزایی فرایندی اساسی در رشد و متابولیتومور های سرطانی است. اثرات مهار کننده رگزایی سه فرمون جنسی حشره ای به تنهای و اثر افزایشی ضد رگزایی هر یک از آنها با پاکلی تاکسل بر غشا کوریوآلانتوئیس جوجه در این مطالعه آزمایشگاهی مورد بررسی واقع شد.

روش کار: نود تخم مرغ نطفه دار نژاد Ross در نه گروه مقابل: کنترل، دگزامتازون، پاکلی تاکسل، فرمون شب پره کرم خراط (*Zeuzera pyrina L.*)، شب پره زنبورمانند (*Synanthedon tipuliformis*) و پروانه چوبخوار پسته (*Kermania pistaciella*) به تنهایی و هر فرمون جنسی بعلاوه پاکلی تاکسل منظم شدند. در روز ۸ انکوباسیون، ۵۰ میکرولیتر از هر ترکیب به روی CAM تجویز شد و اثرات آنها در روز ۹ مورد ارزیابی واقع شد.

یافته ها: در مقایسه با گروه کنترل، تجویز هر یک از فرمون ها به تنهای بطور مساوی طول و تعداد انشعابات عروقی را به ترتیب ۸۸٪ و ۷۱٪ کاهش داد. رگزایی توسط پاکلی تاکسل (۸۲٪) سرکوب و توسط دگزامتازون (۲۰٪) تحریک شد. اثر مهار پاکلی تاکسل بر تعداد انشعاب عروقی پس از درمان ترکیبی با هر یک از سه فرمون افزایش (۷٪) یافت. فرمون های شب پره کرم خراط و چوب خوار پسته توانستند اثر ضد رگزایی پاکلی تاکسل را (۷٪) افزایش دهند.

نتیجه گیری: این مطالعه اثر مستقیم ضد رگزایی این فرمون های حشره ای و اثر افزایشی ضد رگزایی هر یک از آنها با پاکلی تاکسل نشان داد. بنابر این، ما پیشنهاد می کنیم که اثر مخلوط این فرمون ها با پاکلی تاکسل بر روی بیماران با تومورهای مقاوم به پاکلی تاکسل مطالعه شود.

کلید واژه ها: مهار کننده های رگزایی، غشا کوریوآلانتوئیس، حشره، فرمون، پاکلی تاکسل، دگزامتازون

نحوه استناد به این مقاله: پیمبرپور س ز، حسن پورعزتی م، عسکریان زاده ع. مهار رگزایی و بهبود فعالیت ضد رگزایی پاکلی تاکسل توسط سه فرمون های جنسی حشره ای در غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۲۴۵-۲۵۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

فرمومون های جنسی حشرات بخصوص در پروانه های چوبخوار حاوی میزان فراوانی از ترکیبات فرار از نوع اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند هستند. فرمون های حشرات در حقیقت ترکیباتی شیمیایی و اختصاصی برای هر حشره هستند که توسط غدد ویژه برون ریز حشره تولید و بمنظور تنظیم فرایندهای بیولوژیکی چون عملکردهای سیستم عصبی و تولید مثلی حشره به بیرون از بدن او ترشح می شوند (۱). نتایج حاصل از آزمایشات انجام شده بر روی نوعی فرمون صناعی جنسی حشره ای به نام داومون (Daumone)، که نوعی مشتق اسید چرب است، نشان داد که این ترکیب دارای خاصیت ضد رگزایی است (۲). تولید فرمون های جنسی حشرات خانواده های پروانه ها و شب پره ها توسط آنزیمی بنام آسیل کوآ ردوکتاز صورت می گیرد که آنزیم های متعلق به خانواده ژنی محافظت شده از نظر تکاملی است (۱). اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلندی که توسط این آنزیم در مهره داران و بخصوص پستانداران تولید می شوند، اثر تنظیمی بر عملکرد گیرنده های فعال کننده تکثیر پروکسی زوم ها نشان داده اند (۳). تنظیم عملکرد این گیرنده ها در پستانداران دارای اثرات مهاری بر فرایندهای چون سرطان و التهاب بوده است (۴ و ۵). بر این اساس، در این پژوهش تصمیم گرفته شده است تا به ارزیابی اثر ضد رگزایی فرمون های جنسی سه حشره چوب خوار به نام های شب پره زنبورمانند (*Synanthedon tipuliformis*)، از خانواده *Sesiidae* شب پره کرم خراط (*Zeuzera pyrina*) از خانواده *Cossidae* و پروانه چوبخوار پسته (*Kermania Pistaciella*) از خانواده *Tineidae* پرداخته شود. ترکیبات شیمیایی فرمون های جنسی این شب پره ها نیز از نوع اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند می باشند (۶ و ۷) (Antony, Triplehorn). اسید بوتیریک یکی از ترکیبات موجود در فرمون این گروه از حشرات است و نشان داده شده است که می تواند سبب مهار تکثیر سلول های اندوتلیال عروقی از طریق مهار بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) شود (۸). امروزه، محققین بر اساس مدارک اولیه ای دال بر خواص مفید بیولوژیک فرمون های حشرات پیشنهاد کرده اند که می توان به فرمون های حشرات، بعنوان منبعی برای تهیه و تولید داروهای جدید درمانی نگاه کرد (۹). داروی پاکلی تاکسل یکی از داروهای شیمی درمانی است با خاصیت مهار کنندگی بر فرایند رگزایی است. اما برخی از بیماران نسبت به این دارو مقاومت نشان می دهند. همچنین گزارش شده است که اثربخشی این دارو بر بیماران پس از مدتی مصرف به دلایل مختلفی چون عدم نفوذ به تومورهای جامد، بروز مقاومت داروی، سمیت وابسته به دوز و عوارض جانبی ناخواسته، از دست می رود و این امر سبب شده تا تحقیقاتی برای کشف ترکیباتی آغاز شود که بتوانند همزمان با این دارو تجویز شده باعث تقویت اثرات پاکلی تاکسل و برطرف شدن این مشکلات شوند (۱۰ و ۱۱). هدف از این پژوهش، شناسایی اثر ضد رگزایی سه فرمون صناعی شب پره زنبورمانند، شب پره کرم خراط و پروانه چوبخوار پسته به تنهایی و

سنجش اثر بهبود بخشنده آنها بر اثر ضد رگزایی پاکلی تاکسل بدنبال تجویز توام در مدل غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه است.

روش کار

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در آزمایشگاه فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه شاهد تهران در طی سال های ۹۷-۹۶ انجام شده است. تخم مرغ های نطفه دار نژاد Ross به عنوان مدل آزمایشگاهی مورد استفاده واقع شدند. تعداد ۹۰ عدد از این تخم مرغ ها به طور تصادفی به ۹ گروه ۱۰ عددی به شرح زیر تقسیم بندی شدند: گروه کنترل، گروه دریافت کننده دگزامتازون، گروه دریافت کننده پاکلی تاکسل، گروه دریافت کننده فرمون جنسی شب پره زنبورمانند (*S. tipuliformis*)، گروه دریافت کننده فرمون جنسی شب پره کرم خراط (*Z. pyrina*)، گروه دریافت کننده فرمون جنسی پروانه چوب خوار پسته (*K. Pistaciella*) به تنهایی و سه گروه دریافت کننده پاکلی تاکسل بعلاوه هر یک از این فرمون های جنسی. مواد مورد استفاده در این پژوهش به شرح زیر خریداری شدند: ۱- فرمون جنسی شب پره زنبورمانند *S. tipuliformis* از شرکت راسل (*Russle IPM*)، ۲- فرمون جنسی شب پره کرم خراط *Z. pyrina* از شرکت (*Scantomos Research & Development Inc*) کشور کانادا و ۳- فرمون جنسی پروانه چوبخوار پسته *K. Pistaciella* از شرکت (*Scantomos Research & Development Inc*) کانادا. ویال پاکلی تاکسل ۶ میلی گرم/میلی لیتر از شرکت جهان بهبود و ویال دگزامتازون ۸ میلی گرم/۲ میلی لیتر از شرکت اسوه تهیه شدند.

روش کار

ابتدا پوسته خارجی تخم مرغ ها توسط الکل ۷۰ درصد تمیز شد و تخم مرغ ها در درون دستگاه جوجه کشی اتوماتیک در دمای 37 ± 1 درجه سانتی گراد انکوبه شدند. روز هشتم انکوباسیون، روزنه ای در دیواره تخم مرغ ها توسط دستگاه برش برقی ایجاد شد. هریک از درمان های داروی و فرمون های حل شده در حلال، در حجم ۵۰ میکرولیتر و بکمک سمپلر از طریق این روزنه بر روی سطح غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه ها تجویز شدند. رگ های خونی سطح غشا کوریوآلانتوئیس بیست و چهار ساعت بعد و توسط یک دوربین دیجیتال ۵ مگاپیکسل مورد تصویر برداری واقع شدند. در گروه های دریافت کننده فرمون بعلاوه پاکلی تاکسل، حجم کل محلول تجویز شده به سطح غشا ۱۰۰ میکرولیتر بود. این حجم در حد مجاز و متعارف برای تجویز محلول ها به سطح غشا کوریوآلانتوئیس است.

روش انتخاب دوزها

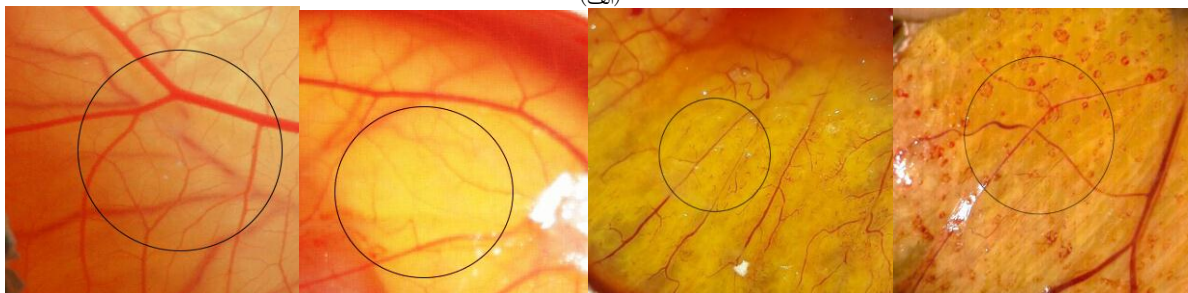
ابتدا در طی یک مطالعه اولیه، دوزهای ۰/۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میکروگرم/میلی لیتر از فرمون پروانه چوب خوار پسته و دوزهای ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکروگرم/میلی لیتر از فرمون شب پره زنبورمانند و دوزهای ۰/۰۵، ۰/۵ و ۵ میکروگرم/میلی لیتر از فرمون شب پره کرم خراط بر رگ زایی در غشا کوریوآلانتوئیس تجویز و اثر ضد

۱۱/۶۸) میکروگرم/میلی لیتر) بر سطح غشا کوریوآلانتویس سبب تحریک معنی دار ($p < 0/01$) رگزایی در مقایسه با گروه کنترل شد (تصویر ۲). میانگین طول عروق بدنال تجویز این دوز از دگزامتازون به میزان ۲۰ درصد و تعداد انشعابات عروقی به میزان ۱۷ درصد در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (تصویر ۲). تجویز پاکلی تاکسل (۶/۴ میکروگرم/میلی لیتر) سبب کاهش ۸۳ درصدی معنی دار ($p < 0/01$) در میانگین کل طول عروق و ۴۲ درصدی در تعداد انشعابات عروقی در غشا کوریوآلانتویس در مقایسه با گروه کنترل شد (تصویر ۲). با توجه به اینکه یافته های ما تا این مرحله، هر سه فرمون های حشره ای به تنهایی و پاکلی تاکسل دارای اثر مهاری بر هر دو فاکتور مورد سنجش رگزایی یعنی میانگین طول کل رگ ها و تعداد انشعابات آنها هستند. در مرحله بعد، به بررسی اثر تجویز همزمان تک تک فرمون های حشره ای همراه با پاکلی تاکسل با هدف کشف برهمکنش تقویتی هر یک از فرمون ها با پاکلی تاکسل پرداخته شد. تصاویر و منحنی های مربوط به تجویز پاکلی تاکسل بعلاوه هر یک از فرمون ها در تصویر ۳ ارائه شده اند. نتایج حاصل از تجزیه تحلیل واریانس دو طرفه داده های میانگین طول کل رگ ها بدنال تجویز هر یک از سه فرمون به تنهایی با پاکلی تاکسل نشان داد (تصویر ۳ قسمت ب) که تجویز هر یک از دو فرمون شب پره کرم خراط و پروانه چوبخوار پسته همراه با پاکلی تاکسل سبب می شود تا اثر ضد رگزایی مخلوط هر یک از فرمون ها با پاکلی تاکسل به میزان بیش از ۱۶ درصد بیشتر از اثر هر یک از این دو فرمون به تنهایی شود. همچنین تجویز هر یک از این دو فرمون سبب تقویت اثر مهاری پاکلی تاکسل به میزان ۵۳ درصد ($p < 0/01$) در مقایسه با پاکلی تاکسل به تنهایی شدند. اما، تجویز پاکلی تاکسل و فرمون شب پره زنبور مانند در مقایسه با اثر همان فرمون به تنهای بر طول عروق خونی دال بر اثر تحریک رگزایی تا سه برابر در مقایسه با تجویز این فرمون به تنهایی بود. ارزیابی فاکتور تعداد انشعابات عروقی بدنال تجویز توام هر یک از فرمون ها همراه با پاکلی تاکسل در مقایسه با پاکلی تاکسل یا همان فرمون به تنهایی دال بر تشدید خاصیت ضد رگزایی مخلوط حاصل به میزان ۵۰ درصد در مقایسه با پاکلی تاکسل و به بیش از ۲۵ درصد در مقایسه با هر یک از فرمون ها به تنهایی بود (تصویر ۳ قسمت ج)

رگزایی این دوزها ارزیابی شد. کمترین دوزی از هر فرمون که اثر مهار کننده رگزایی را از خود نشان داد، به دلیل داشتن کمترین اثرات جانبی بر جنین تخم مرغ ها، به عنوان کمترین دوز موثر برای مطالعه بعدی انتخاب شد. بر اساس نتایج این مطالعه اولیه، محلول های با غلظت های ۰/۱ میکروگرم/میلی لیتر از فرمون پروانه چوب خوار پسته، ۱ میکروگرم/میلی لیتر از فرمون شب پره زنبورمانند و ۵ میکروگرم/میلی لیتر از فرمون شب پره کرم خراط انتخاب و در ۵۰ میکرولیتر پارافین مایع خوراکی حل و سپس توسط سمپلر ۵۰ میکرولیتری بر سطح غشا کوریوآلانتویس جنین تخم مرغ ها تجویز شدند. برای سنجش آماری داده ها، ابتدا توزیع داده ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف ارزیابی شد. سپس، داده توسط آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون متعاقب توکی با سطح معنی دار ($p < 0/05$) توسط نرم افزار پرسم نسخه ۵ مورد مقایسه واقع شدند. داده های مربوط به مهار رگزایی ناشی از تجویز پاکلی تاکسل بعلاوه هر یک از فرمون ها توسط ANOVA دو طرفه و آزمون متعاقب بن فرنی مورد تجزیه و تحلیل واقع شدند

یافته ها

تصاویر عروق سطح غشا کوریوآلانتویس جنین جوجه و نمودار های مربوط به میانگین طول کل رگ ها و تعداد انشعابات عروقی در گروه های دریافت کننده فرمون ها و گروه کنترل در تصویر ۱ نشان داده شده اند. تجویز هر یک از سه فرمون به تنهایی، شامل: فرمون پروانه چوبخوار پسته (۰/۱ میکروگرم/میلی لیتر)، فرمون شب پره زنبورمانند (۱ میکروگرم/میلی لیتر) و فرمون شب پره کرم خراط (۵ میکروگرم/میلی لیتر) سبب مهار رگزایی به طور معنی دار ($p < 0/01$) در غشا کوریوآلانتویس جنین جوجه در مقایسه با گروه کنترل (دریافت کننده نرمال سالیین) شد. نتایج دال بر این هستند که تجویز هر یک از سه فرمون به تنهایی در غلظت های مورد استفاده در این پژوهش سبب کاهش یکسانی به میزان ۸۸ درصد در طول رگ های خونی و ۹۰ درصد در تعداد انشعابات عروقی در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0/01$) می شوند. با در نظر گرفتن غلظت تجویزی از هر یک از فرمون ها در این مطالعه، می شود چنین نتیجه گیری کرد که قدرت مهار رگزایی سه فرمون به ترتیب: فرمون شب پره کرم خراط > شب پره زنبورمانند > پروانه چوب خوار پسته است. تجویز دگزامتازون



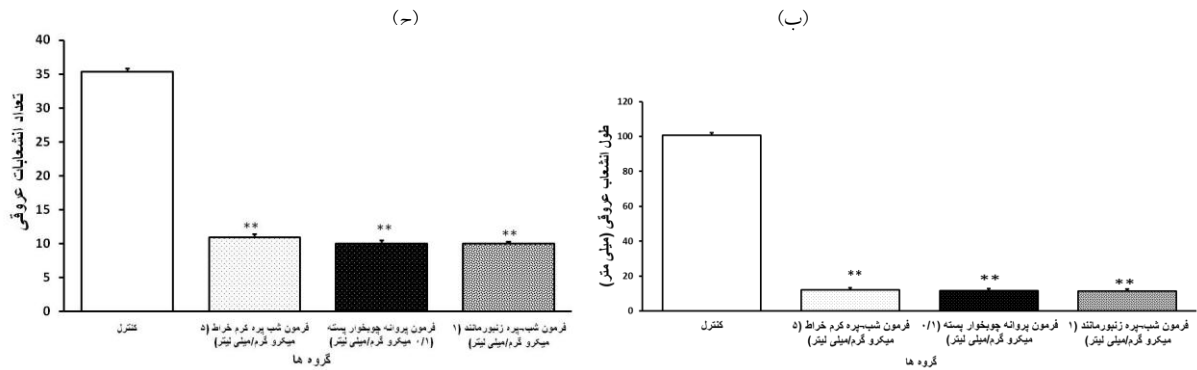
(کنترل)

(درمان با فرمون شب پره زنبورمانند)

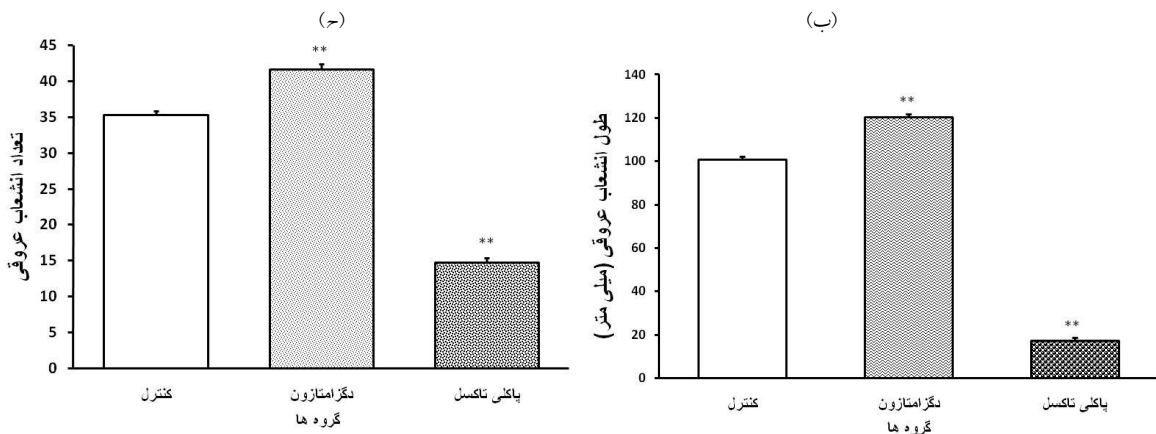
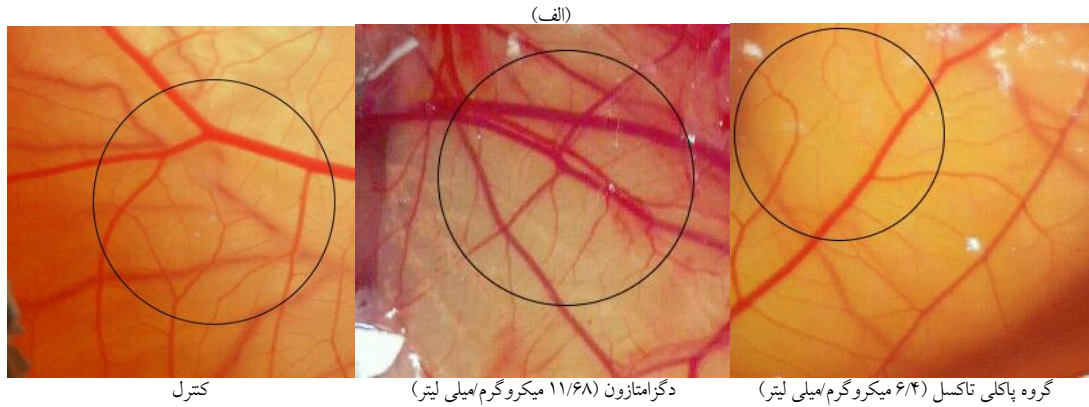
(درمان با فرمون شب پره کرم خراط)

(درمان با فرمون پروانه چوبخوار پسته)

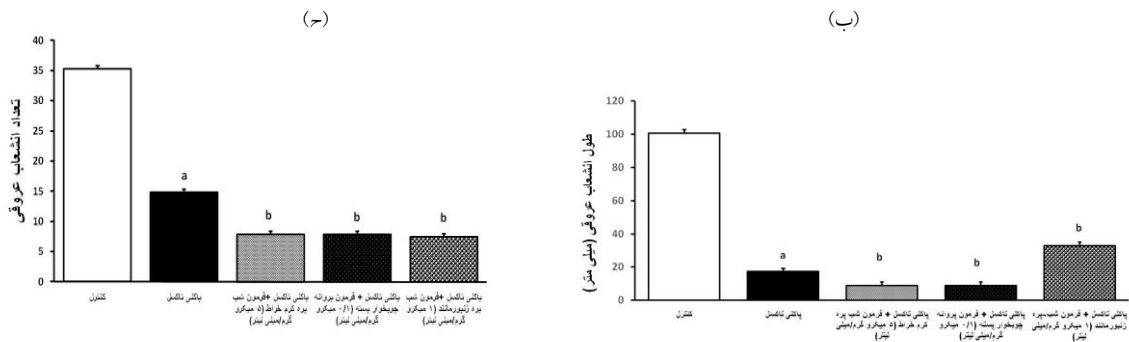
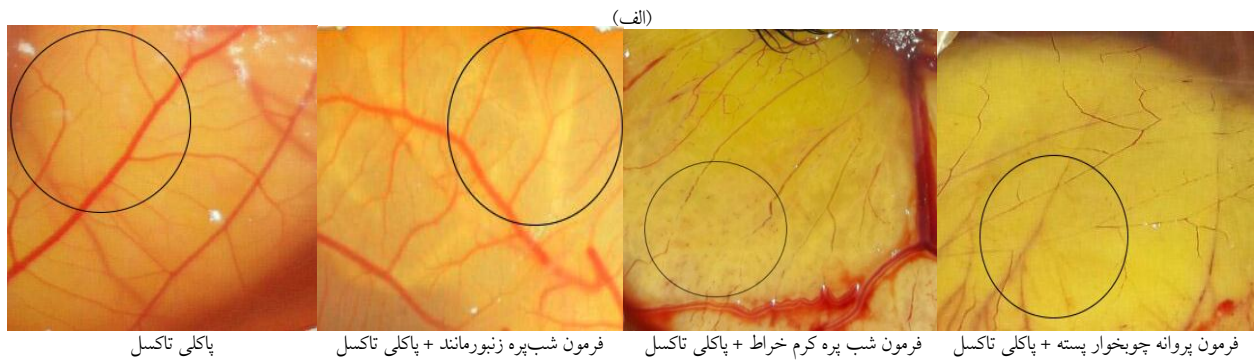
(الف)



تصاویر ۱: تغییرات عروق خونی سطح غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه هر گروه ۲۴ ساعت بعد از تجویز هر یک از فرمون جنسی حشره ای در مقایسه با کنترل که با حجم مشابه (۵۰ میکرو لیتر) محلول PBS دریافت کرده است. الف - تصاویر غشا کوریوآلانتوئیس مربوط به هر یک از گروه ها. فرمون ها در محدوده مشخص شده با دایره بر روی غشا تجویز شدند. تصاویر توسط دوربین ۴ مگاپیکسل دیجیتال و با درشت نمای ۴x گرفته شده اند. ب- مقایسه میانگین طول کل انشعابات عروقی (میلی متر) در هر یک از گروه (داده ها بصورت میانگین \pm SEM نشان داده شده اند). ج- مقایسه تعداد انشعابات عروقی در هر یک از



تصاویر ۲: ارزیابی عروق خونی سطح غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه ۲۴ ساعت بعد از تجویز دگزامتازون و پاکلی تاکسل در مقایسه با گروه کنترل. الف - تصاویر عروق خونی غشا کوریوآلانتوئیس در هر یک از گروه ها. هر یک از ترکیبات پس از حل شدن در پارافین مایع با حجم ۵۰ میکرو لیتر در محدوده که با دایره مشخص شده تجویز شدند. تصاویر توسط دوربین ۴ مگاپیکسل دیجیتال و با درشت نمای ۴x گرفته شده اند. ب- مقایسه میانگین طول کل انشعابات عروقی (میلی متر) تشکیل شده بر سطح غشا کوریوآلانتوئیس در گروه های مختلف (داده ها بصورت میانگین \pm SEM نشان داده شده اند). ج- مقایسه میانگین تعداد انشعابات عروقی غشا کوریوآلانتوئیس (داده ها بصورت میانگین \pm SD نشان داده شده اند). داده ها توسط ANOVA یک طرفه و آزمون توکی ($p < 0.05$) با گروه کنترل مقایسه شده اند.



تصویر ۳: ارزیابی عروق خونی سطح غشا کوریوآلاتوتویس جنین جوجه ۲۴ ساعت بعد از تجویز هر یک از سه فرمون حشره ای همراه با پاکلی تاکسل. الف - تصویر غشا کوریوآلاتوتویس مربوط به هر یک از گروه ها در مقایسه با گروه کنترل. حجم تجویز هر یک از ترکیبات ۵۰ میکرولیتر در محدوده مشخص شده با دایره است. تصاویر توسط دوربین ۴ مگاپیکسل دیجیتال و با درشت نمای ۴x گرفته شده اند. ب- متوسط طول کل رگ ها در گروه ها دریافت کننده فرمون های حشره ای همراه با پاکلی تاکسل (۶/۴ میکروگرم/میلی لیتر) در مقایسه با گروه پاکلی تاکسل و کنترل به تنهایی (داده ها بصورت میانگین \pm SEM نشان داده شده اند). ج- متوسط تعداد انشعابات عروقی رگ های سطح غشا کوریوآلاتوتویس (داده ها بصورت میانگین \pm SD نشان داده شده اند). داده ها توسط ANOVA دوطرفه و آزمون متعاقب ارزیابی شده اند. سطح معنی داری $p < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.01$ در مقایسه با گروه پاکلی تاکسل ارائه شده است.

بحث

یافته های حاصل از تجویز پاکلی تاکسل با هر یک از سه فرمون بر فاکتور تعداد انشعابات عروقی به نمادی از رگزایی در سطح غشا کوریوآلاتوتویس نشان داد که فرمون ها اثر مهار کنندگی پاکلی تاکسل را تقویت می کنند. اما، ارزیابی فاکتور طول کل عروق تشکیل شده در سطح غشا کوریوآلاتوتویس نکته جدیدی را مشخص کرد. تجویز فرمون شب پره زنبور نه تنها فعالیت مهاری پاکلی تاکسل را تقویت نکرد، بلکه سبب بروز پاسخ معکوس و تشدید فرایند رگزایی در سطح غشا کوریوآلاتوتویس شد. مقایسه ترکیب شیمیایی سه فرمون با یکدیگر توجهی مناسبی را برای این مشاهده فراهم آورد و آن این بود که گرچه بخش عمده ترکیب اسیدهای چرب هر سه فرمون مورد بررسی در این پژوهش با یکدیگر مشابه هستند (۱۶)، ولی فرمون شب پره زنبور مانند دارای اسیدهای چرب متفاوتی در مقایسه با فرمون های دیگر حشرات چوبخوار مورد بررسی در پژوهش است (۱۷). در نتیجه، یک توجیه احتمالی برای این یافته می تواند تفاوت ناشی از ترکیب شیمیایی اسیدهای چرب موجود در فرمون این حشره با دو حشره دیگر باشد. تفاوت اثر اسیدهای چرب غیر اشباع بر فرایند رگزایی پیش از این نیز مورد گزارش واقع و تایید شده است (۱۸).

یافته های ما در این پژوهش دال بر اثر مهار کننده رگزایی توسط هر سه فرمون صنایع جنسی حشرات در سطح غشا کوریوآلاتوتویس جنین جوجه است. بعنوان تاییدی بر مشاهدات این پژوهش می توان به این گزارش اشاره کرد که فرمون ها حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند هستند و مصرف این نوع از اسیدهای چرب سبب مهار التهاب و رگزایی در سلول های اندوتلیال عروق روده مهره داران در شرایط برون و درون تنی شده است و این نوع اسیدهای چرب در فرمون حشرات نیز یافت می شوند (۱۲). البته فرمون های حشرات دارای اسیدهای چرب بلند غیر اشباع با ساختار و بنیان های شیمیایی خاص خود هستند و همین امر بخش نوآورانه این پژوهش را به خود اختصاص داده است (۱۳). یافته های این پژوهش همچنین مشخص کردند که پاکلی تاکسل دارای اثر مهاری بر رگزایی در سطح غشا کوریوآلاتوتویس جنین جوجه است. این مشاهدات پیش از این نیز توسط محققین دیگری گزارش و تایید شده است (۱۴). بر اساس مستندات حاصل از پژوهش های ملکولی، اثر مهاری پاکلی تاکسل بر رگزایی با مهار فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF) میانجی گری می شود (۱۵).

ارتباط با اثر تشدید کننده ضد رگزایی تجویز توام فرمون های حشره ای توام با پاکلی تاکسل را فراهم آوردند.

نتیجه گیری

بعنوان یک جمع بندی کلی می توان این نتیجه گیری را ارائه کرد که فرمون های حشره ای مورد مطالعه در این پژوهش به واسطه دارا بودن انواع منحصر بفردی از اسیدهای چرب بخصوص اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند دارای اثر مهاری بر فرایند رگزایی در غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه هستند. همچنین می توانند با مکانیسم های ضد رگزایی مشترک با پاکلی تاکسل را تشدید و از این طریق سبب مهار رگزایی در سطح غشا کوریوآلانتوئیس شوند. یافته های این پژوهش نیازمند مطالعات ملکولی بیشتری برای کشف مکانیسم دقیق اثر فرمون ها و کشف مکانیسم های برهم کنشی با پاکلی تاکسل بر فرایند رگزایی هستند تا امکان یا عدم امکان استفاده از فرمون های حشره ای برای مصارف داروشناختی در ارتباط با مهار رگزایی مشخص شود.

قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از حمایت مالی و معنوی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شاهد اعلام می دارند. بخشی از یافته های این پژوهش بصورت سخنرانی در 7th Global Experts Meeting on Neuropharmacology 2017، میلان، ایتالیا به شکل سخنرانی ارائه شده است. داده های این پژوهش حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول مقاله به شماره ۱۰۸۴۴ است.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش ملاحظات اخلاقی را شامل نمی شود.

منابع مالی

داده های ارائه شده در این پژوهش حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول است که مورد حمایت مالی از پایان نامه توسط معاونت پژوهشی واقع شده است.

منافع متقابل

مؤلفین اظهار می دارند که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

نویسنده مسئول وظیفه طراحی پروژه و تجزیه و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته است. داده های این پژوهش حاصل پایان نامه نویسنده اول می باشد.

نتایج این پژوهش همچنین نشان دادند که دگزامتازون بعنوان یک ترکیب با اثر ضد التهابی دارای خاصیت تحریک بر فرایند رگزایی در مدل غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه است. گزارش قبلی در تایید این مشاهده در دست است که نشان می دهد دگزامتازون سبب تحریک فرایند رگزایی در مدل غشا کوریوآلانتوئیس جنین جوجه می شود (۱۹). بدین ترتیب، می توان این نظریه را مطرح کرد که مهار رگزایی فرمون ها نمی تواند ناشی از خاصیت ضد التهابی این نوع از اسیدهای چرب موجود در فرمون ها در این مدل باشد. این پیشنهاد با یافته های که مشخص کرده اند که برخی از اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند دارای خاصیت ضد التهابی و گروه دیگری نیستند همخوانی دارد (۲۰). البته این توجیه را نیز می توان افزود که اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند دارای اثرات تنظیمی متفاوتی بر عملکرد گیرنده های فعال کننده تکثیر پروکسی زوم ها هستند. برخی اسیدهای چرب غیر اشباع سبب تحریک انواع آلفا و گاما این نوع گیرنده و مهار رگزایی می شوند؛ در حالی که انواعی دیگر از اسیدهای چرب می توانند سبب تحریک انواع بتا و دلتا و سبب تحریک رگزایی شوند (۲۱). گیرنده های فعال کننده تکثیر پروکسی زوم ها همچنین میانجی اثرات فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در زمینه رگزایی می باشند (۲۲). با توجه به اینکه نقش VEGF در فرایند رگزایی در غشا کوریوآلانتوئیس جوجه مشخص شده است (۲۳). ضمن اینکه گزارش شده است که اثر VEGF خود نیز توسط اسیدهای چرب غیر اشباع از نوع امگا ۳ مهار می گردد (۲۴). لذا، بعنوان یک جمع بندی کلی می توان اثر مهاری فرمون های حشره ای بر فرایند رگزایی را ناشی از اثر مهاری آنها بر مسیر گیرنده های فعال کننده تکثیر پروکسی زوم ها - VEGF دانست. در نهایت یافته های این پژوهش مشخص ساختند که تجویز همزمان هر سه فرمون های حشره ای با پاکلی تاکسل می تواند اثر مهاری پاکلی تاکسل بر فرایند رگزایی در جنین جوجه را تشدید کند. در این ارتباط گزارشی در دست می باشد که نشان می دهد تجویز همزمان اسیدهای چرب غیر اشباع و پاکلی تاکسل می تواند اثرات سمی پاکلی تاکسل را بر سلول های سرطانی تشدید کند (۲۵). اما از دیدگاه مکانیسم های ملکولی نیز اثرات ضد رگزایی پاکلی تاکسل و فرمون های جنسی حشرات دارای وجوه مشترکی بوده و هر دو سبب تحریک مکانیسم های چون آپتوز، تولید Bax/BCL، افزایش نفوذ پذیری دیواره میتوکندری ها، افزایش دینامیک میکروتوبول ها در اینترفاز و افزایش توبولین استیله شده شوند (۲۶ و ۲۷). به تازگی در تایید وجود احتمالی چنین برهمکنشی گزارش شده است که اثر مهاری تجویز اسیدهای چرب غیر اشباع بر ترشح VEGF و القا آپتوز در سلول های سرطانی کشت شده در محیط کشت از طریق فعال کرد مکانیسم BCL و BAX صورت می گیرد (۲۸). این داده ها توجیهی مولکولی و محتمل را برای مشاهدات پژوهش حاضر در

References

- Antony B, Ding BJ, Moto K, Aldosari SA, Aldawood AS. Two fatty acyl reductases involved in moth pheromone biosynthesis. *Sci Rep* 2016; **6**: 29927. doi: 10.1038/srep29927.
- Ricci J, Min D, Oh M, Lim H, Chung WY, Park KK, et al. Synthesis of daumone derivatives and their antiangiogenic activities on chorioallantoic membrane. *Med Chem* 2015; **11**(8): 747-752. doi: 10.2174/1573406411666150514100630
- Echeverría F, Ortiz M, Valenzuela R, Videla LA. Long-chain polyunsaturated fatty acids regulation of PPARs, signaling: Relationship to tissue development and aging. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2016; **114**: 28-34. doi: 10.1016/j.plefa.2016.10.001.
- Pozzi A, Capdevila JH. PPAR alpha Ligands as antitumorigenic and antiangiogenic agents. *PPAR Res* 2008; **2008**: 906542. doi: 10.1155/2008/906542
- Grabacka M, Reiss K. Anticancer properties of PPAR alpha-effects on cellular metabolism and inflammation. *PPAR Res* 2008; **2008**: 930705. doi: 10.1155/2008/930705
- Triplehorn C A, Johnson N F, Borror D J. *Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects*. 7th ed. Thomson, Brooks/Cole; Belmont, CA, USA: 2005; PP: 613-614.
- Löfstedt C, Wahlberg N, Millar J. M. Evolutionary patterns of pheromone diversity in Lepidoptera In: Allison JD, Cardé RT, editors. *Pheromone Communication in Moths: Evolution, Behavior, and Application*. Oakland, California: University of California Press; 2016; PP: 43-78. doi: 10.1525/9780520964433-005
- Gururaj AE, Belakavadi M, Salimath BP. Antiangiogenic effects of butyric acid involves inhibition of VEGF/KDR gene expression and endothelial cell proliferation. *Mol Cell Biochem* 2003; **243**(1-2): 107-112.
- Dossey AT. Insects and their chemical weaponry: New potential for drug discovery. *Nat. Prod. Rep* 2010; **27**: 1737-1757. doi: 10.1039/c005319h
- Zhang Y, Ge Y, Ping X, Yu M, Lou D, Shi W. Synergistic apoptotic effects of silibinin in enhancing paclitaxel toxicity in human gastric cancer cell lines. *Mol Med Rep* 2018; **18**(2): 1835-1841. doi: 10.3892/mmr.2018.9129
- Pasquier E, Honore S, Pourroy B, Jordan MA, Lehmann M, Briand C, et al. Antiangiogenic concentrations of paclitaxel induce an increase in microtubule dynamics in endothelial cells but not in cancer cells. *Cancer Res* 2005; **65**(6): 2433-2440. doi: 10.1158/0008-5472.can-04-2624
- Ibrahim A, Mbodji K, Hassan A, Aziz M, Boukhetta N, Coëffier M, et al. Anti-inflammatory and anti-angiogenic effect of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in intestinal microvascular endothelium. *Clin Nutr* 2011; **30**(5): 678-687. doi: 10.1016/j.clnu.2011.05.002
- Buček A, Matoušková P, Vogel H, Šebesta P, Jahn U, Weißflog J, et al. Evolution of moth sex pheromone composition by a single amino acid substitution in a fatty acid desaturase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; **112**(41): 12586-12591. doi: 10.1073/pnas.1514566112
- Kardamakis D, Hadjimichael C, Ginopoulos P, Papaioannou S. Effects of paclitaxel in combination with ionizing radiation on angiogenesis in the chick embryo chorioallantoic membrane. A radiobiological study. *Strahlenther Onkol* 2004; **180**(3): 152-156. doi: 10.1007/s00066-004-1140-6
- Ai B, Bie Z, Zhang S, Li A. Paclitaxel targets VEGF-mediated angiogenesis in ovarian cancer treatment. *Am J Cancer Res* 2016; **6**(8): 1624-1635. ISSN: 2156-6976/ajcr0036227.
- Liénard MA, Wang HL, Lassance JM, Löfstedt C. Sex pheromone biosynthetic pathways are conserved between moths and the butterfly *Bicyclus anynana*. *Nat Commun* 2014; **5**: 3957. doi: 10.1038/ncomms4957
- Mozūraitis R, Karalius V, Būda V, Borg-Karolson AK. Inter- and intraspecific activities of compounds derived from sex pheromone glands of currant borer, *Synanthedon tipuliformis* (Clerck) (Lepidoptera: Sesiidae). *Z Naturforsch C* 2006; **61**(3-4): 278-284. doi: 10.1515/znc-2006-3-421
- Duttaroy A K, Basak S. Docosaehaenoic acid and angiogenesis: a role in early placentation. *Clin. Lipidol* 2012; **7**: 303-312. doi: 10.2217/clp.12.19
- Cheng X, Yan Y, Chen JL, Ma ZL, Yang RH, Wang G, et al. Dexamethasone exposure accelerates endochondral ossification of chick embryos via angiogenesis. *Toxicol Sci* 2016; **149**(1): 167-177. doi: 10.1093/toxsci/kfv227
- Calder PC. Long-chain fatty acids and inflammation. *Proc Nutr Soc* 2012; **71**(2): 284-289. doi: 10.1017/s0029665112000067
- Biscetti F, Gaetani E, Flex A, Aprahamian T, Hopkins T, Straface G, et al. Selective activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PPAR gamma induces neoangiogenesis through a vascular endothelial growth factor-dependent mechanism. *Diabetes* 2008; **57**(5): 1394-1404. doi: 10.2337/db07-0765
- Anderson SM, Siegman SN, Segura T. The effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) presentation within fibrin matrices on endothelial cell branching. *Biomaterials* 2011; **32**(30): 7432-7443. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.027
- Zhuang W, Wang G, Li L, Lin G, Deng Z. Omega-3 polyunsaturated fatty acids reduce vascular endothelial

- growth factor production and suppress endothelial wound repair. *J Cardiovasc Transl Res* 2013; **6**(2): 287-293. doi: 10.1007/s12265-012-9409-0
24. Menéndez JA, del Mar Barbacid M, Montero S, Sevilla E, Escrich E, Solanas M, et al. Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells. *Eur J Cancer* 2001; **37**(3): 402-413. doi: 10.1016/s0959-8049(00)00408-1
25. Bocci G, Di Paolo A, Danesi R. The pharmacological bases of the antiangiogenic activity of paclitaxel. *Angiogenesis* 2013; **16**(3): 481-492. doi: 10.1007/s10456-013-9334-0
26. Sreng L. Apoptosis-inducing brain factors in maturation of an insect sex pheromone gland during differentiation. *Differentiation* 1998; **63**: 53-58. doi: 10.1046/j.1432-0436.1998.6320053.x
27. Yin Y, Sui C, Meng F, Ma P, Jiang Y. The omega-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid inhibits proliferation and progression of non-small cell lung cancer cells through the reactive oxygen species-mediated inactivation of the PI3K /Akt pathway. *Lipids Health Dis* 2017; **16**(1): 87. doi: 10.1186/s12944-017-0474-x