

## بررسی اثر عصاره آبی برگ گیاه زرشک خوراکی (*Berberis vulgaris*) بر آنژیوژنز

### در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه

شیمیا شایسته پور<sup>۱</sup>، سعیده ظفر بالانژاد<sup>۲</sup>، خدیجه نژاد شاهرخ آبادی<sup>۲</sup>

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](mailto:mojgan_zafar@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۵

#### 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 تخم مرغ نطفه‌دار نژاد Ross به طور تصادفی در ۵ گروه مساوی شامل، گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه‌های تجربی تیمار با محلول عصاره نام 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 فتواسترونومیکروسکوپ 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 ( $P < 0.05$ ).

یافته‌ها: 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. نتیجه‌گیری: 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.

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

#### مقدمه

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 گیرنده‌های خود بر روی سلول‌های اندوتلیال؛ رها شدن پروتئازها جهت هضم غشاء پایه؛ فعال شدن سلول‌های 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-

آنژیوژنز یا رگ‌زایی به فرآیند رشد و تکوین عروق خونی جدید گفته می‌شود که برای رشد و نمو طبیعی بدن اهمیت فراوانی دارد (۴). دکتر هاتر 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 تحریک‌کننده و مهارکننده 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 آن‌ها است (۵). به طور کلی برای فرآیند

های چسبان؛ تولید متالوپروتئینازهای ماتریکس جهت هضم ماتریکس سلولی و آغاز بازسازی آن؛ تعدیل تشکیل ساختارهای لوله مانند توسط سیستم آنژیوپوئیتین-2؛ تنظیم تشکیل لوپ توسط سیستم آفرین B؛ پیوستن پرسیت 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 آنژیوزنز بر هم خورد شرایط برای بروز برخی بیماری‌ها به وجود می‌آید (۵). در بسیاری از بیماری‌ها و حالات وخیم از قبیل سرطان، دژنره شدن وابسته به سن خال‌ها، پسوریازیس و اندومتريوزیس، 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). آنژیوزنز 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 آنژیوزنز 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 آنژیوزنز ممکن است یک هدف درمانی برای

تومورها باشد (۵). از زمان باستان تاکنون، گیاهان جهت پیشگیری و یا درمان بسیاری از بیماری‌ها 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 سال‌های 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 مؤثره موجود در گیاه زرشک خوراکی عبارتند از بربرین، برامین، 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 سلول‌های 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 مؤثری برای تومورها بسیار سمی باشند و علاوه بر این اثرات جانبی بر روی بافت‌های طبیعی و سالم نداشته باشند. هم‌اکنون 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 آنژیوزنز در مدل حیوانی پرده کوریوآلاتنوتیک جنین جوجه است.

### مواد و روش‌ها

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

هلند) در دمای  $37/8$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵-٪ 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 پهلوئی 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 نرمال سالین به علاوه آنتی‌بیوتیک پنی-سیلین - استرپتومایسین بود با ابعاد  $2 \times 2$  میلی متر بر روی پرده کوریوآلاتوئیک 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 (۲، ۲۰). زمان ها با توجه به شکل گیری پرده کوریوآلاتوئیک 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 کوریوآلاتوئیک نمونه‌ها عکس‌برداری شد (۲، ۲۰). عکس‌ها به کمک فتواسترو 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 اشعاعات عروقی در مربع‌هایی به ابعاد  $2 \times 2$  سانتی‌متر در چهار طرف اضلاع اسفنج ژلاتینی صورت گرفت در هر نمونه از چهار طرف ژل عکس گرفته شده است که یکی از عکس‌ها 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  $P < 0/05$  تحلیل

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، گروه‌ها 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 فسفات‌بافر سالین (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 میلی گرم بر میلی‌لیتر تیمار شدند (۹).

گروه تجربی دو: نمونه‌ها توسط عصاره با غلظت ۲۰۰ میلی گرم 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،

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

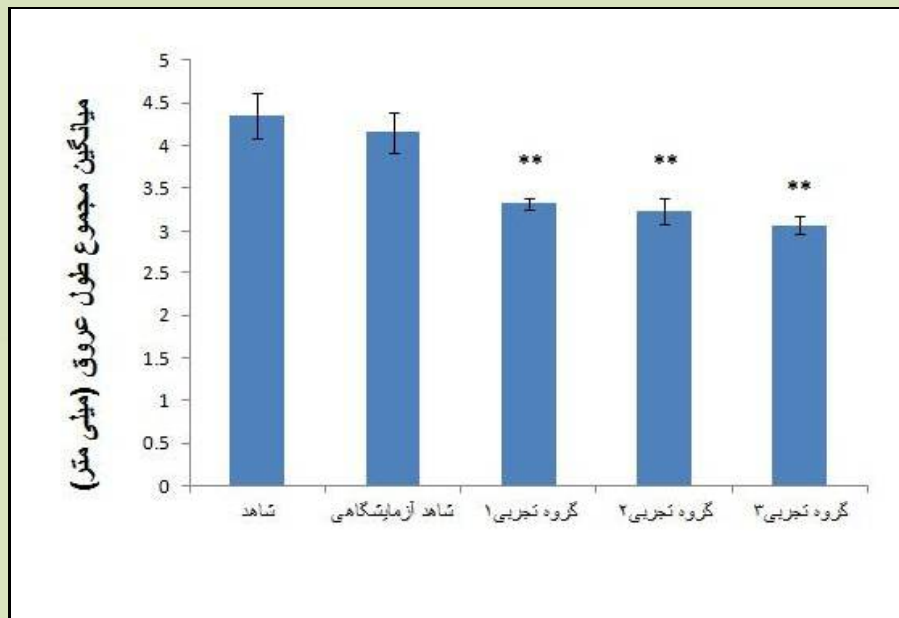
### نتایج

مقایسه میانگین تعداد ( $7/71 \pm 1/59$ ) و مجموع طول ( $4/35 \pm 0/72$  میلی متر) انشعابات عروق خونی گروه شاهد نسبت به میانگین تعداد ( $8/32 \pm 0/83$ ) و مجموع طول ( $4/16 \pm 0/61$  میلی متر) انشعابات عروق خونی در شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی داری نشان نداد. مقایسه میانگین تعداد ( $6/37 \pm 0/64$ ) انشعابات عروقی در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد که این کاهش معنی دار نبود، اما مقایسه میانگین مجموع طول ( $3/32 \pm 0/15$  میلی متر) انشعابات عروقی در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری نشان داد ( $P = 0/009$ ). بررسی تفاوت میانگین تعداد انشعابات عروقی در گروه تجربی ۲ ( $5/62 \pm 0/91$ ) نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان داد ( $P = 0/016$ )، هم چنین کاهش مشاهده شده در میانگین مجموع طول انشعابات عروق خونی در گروه تجربی ۲ ( $3/24 \pm 0/36$  میلی متر) نسبت به گروه شاهد معنی دار بود ( $P = 0/006$ ). میانگین تعداد عروق خونی در گروه تجربی ۳ ( $5/16 \pm 0/40$ ) در مقایسه با شاهد دارای کاهش معنی دار بود ( $P = 0/005$ ) و هم چنین در مقایسه میانگین مجموع طول عروق خونی گروه تجربی ۳ ( $3/07 \pm 0/26$  میلی متر) با گروه شاهد کاهش مشاهده شده معنی دار بود ( $P = 0/003$ ) (نمودار ۱ و ۲).

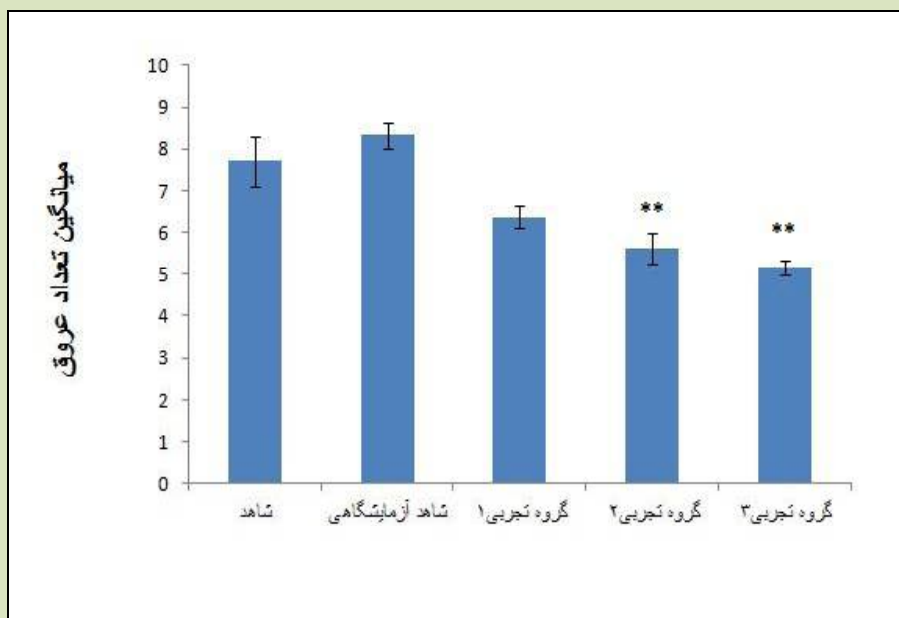
### بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج این پژوهش در میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی در اطراف محل تیمار در نمونه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی داری مشاهده نشد بنابراین می‌توان گفت حلال عصاره برگ گیاه زرشک (PBS) که توسط آن دوزهای مصرفی آزمایش

تهیه شده است تاثیر معنی داری 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 میلی گرم بر میلی لیتر موجب کاهش تعداد عروق شد اما این کاهش معنی دار نبود، غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با مهار آنژیوزنز در پرده کوریوآلاتنوتیک 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 میلی لیتر با مهار آنژیوزنز کاهش معنی داری در مجموع طول انشعابات عروقی ایجاد می‌کنند. در سال ۲۰۱۱ نیز Campisi نشان داد که بربرین استخراج شده از گیاه *Berberis aetnensis* آنژیوزنز 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 می‌باشد (۱۶). Duan نیز در پژوهش خود نشان داد که برامین گرفته شده از گیاه *Berberis amurensis* به طرز معنی داری رشد و مهاجرت سلول‌های سرطان ریه (A549) را مهار می‌کند (۱۲). Bao در آزمایشات خود نشان داد که کلومبامین یک ترکیب فعال گیاهی است که از رنگزایی، تکثیر و متاستاز سلول‌های استئوسارکوم (U2OS) جلوگیری می‌کند (۸).

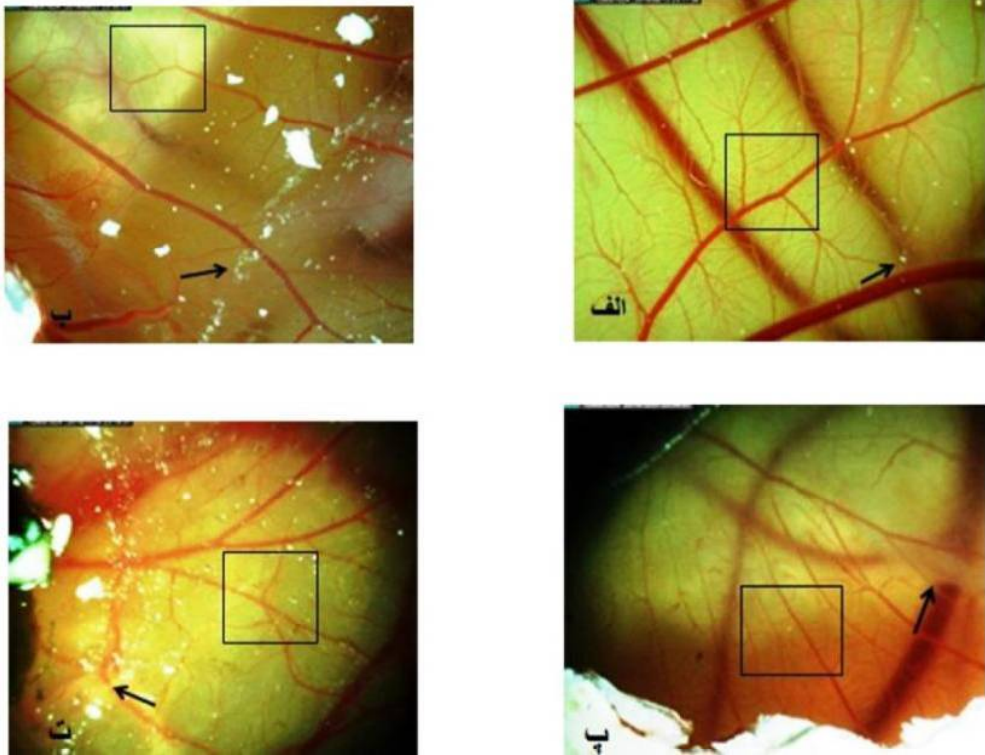


نمودار ۱- مقایسه میانگین مجموع طول انشعابات عروقی در گروه های تجربی تیمار شده با غلظت های متفاوت عصاره آبی برگ گیاه زرشک و شاهد ( $P < 0.01$ ) (\*\*)



نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد انشعابات عروقی در گروه های تجربی تیمار شده با غلظت های متفاوت عصاره آبی برگ گیاه زرشک و شاهد ( $P < 0.01$ ) (\*\*)

گروه تجربی ۱: غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، گروه تجربی ۲: غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، گروه تجربی ۳: غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر



شکل ۱- نمایش پرده کوریوآلاتونیک 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)

انسانی را به از بین بردن پتانسیل غشا میتوکندری و کاهش فعالیت کاسپازی (caspase-3 و caspase-9) توسط برامین 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 متالوپروتیناز-۲ ماتریکس و فعال‌کننده پلاسمینوژن نوع اورو کیناز موثر در متاستاز و هم چنین شکست فاکتور رشد تغییر دهنده-بتا 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

مطالعه Tan بر روی متابولیسم سرطان سینه نشان دادند که بربرین تعدیل‌کننده 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 برامین 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 هیپاتومای انسانی (SMMC7721) اثر ضدسرطانی برامین بر سلول‌های سرطانی هیپاتومای

مورد مطالعه (غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) 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 معنی داری نشان نداد. طبق مطالعات انجام شده در این پژوهش استفاده از برگ گیاه زرشک (*Berberis vulgaris*) با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر می‌تواند با کاهش طول انشعابات عروقی و غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر می‌تواند با کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی، رگ‌زایی را در پرده کوریوآلتوتویک 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 زیست‌شناسی 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 می‌شود.

۲- ظفربالانژاد، س.، پیور، ک.، بهارآرا، ج.، محسنی، ه. ۱۳۸۸. اثر راپاماسین بر رگ‌زایی در پرده کوریوآلتوتویک جوجه. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک. سال دوازدهم، شماره ۱، ص ۸۰-۷۳.

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

که نشان دهنده مهار آنژیوژنز به صورت کاهش در تعداد و یا طول انشعابات عروقی در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر 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* بر روی مدل پرده کوریوآلتوتویک جنین جوجه صورت گرفت. طبق مطالعات انجام شده در این پژوهش استفاده از برگ گیاه زرشک خوراکی (*Berberis vulgaris*) با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر می‌تواند با کاهش طول انشعابات عروقی و غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر می‌تواند با کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی، رگ‌زایی را در پرده کوریوآلتوتویک جنین جوجه مهار کند. پیش از این Wang در مطالعه‌ای که بر روی پرده کوریوآلتوتویک جنین جوجه انجام داد نشان داد که عصاره آبی گیاه *Berberis paraspecta* توانست آنژیوژنز را مهار کند و نتیجه مشابهی در سلول‌های 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 رگ‌زایی پرده کوریوآلتوتویک جنین جوجه مورد بررسی قرار دادند و در تیمارهای هر دو غلظت مهار رگ‌زایی را مشاهده کردند که این مهار رگ‌زایی در تیمار غلظت ۱ گرم بر میلی لیتر بیشتر بود، در پژوهش حاضر تمامی تیمارهای

#### منابع

۱- بهار آرا، ج.، ظفربالانژاد، س.، مشتاق، ص.، رضائی، ط. ۱۳۹۳. اثر عصاره آبی زعفران و میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم بر آنژیوژنز در حلقه آئورت موش صحرائی نژاد ویستار. مجله علمی-پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان. دوره ۱۵، شماره ۴، ص ۵۲۹-۵۲۲.

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<sup>2+</sup>/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., Albin, 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.

زایی در پرده کوریوآلاتودنیک جنین جوجه. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک. سال چهاردهم. شماره ۱. ص ۶۸-۶۲.

۴-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 (EISEVIER)*, 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



24. Ribatti, D. (2010). Review Article: The chick embryo chorioallantoic membrane 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



