



The Effects of N-Butanol and Ethyl Acetate Fractions of *Ferula asafoetida* Hydroalcoholic Extract on the Expression of VEGF and FGF Genes in the Chorioallantoic Membrane of Chick Embryos

Mohammadreza Pourmohammad¹ , Jina Khayatzadeh² , Ahmad Zahani³ , Maryam Tehranipour² ,
Saeedeh Zafar Balanjad²

¹ Graduated from the School of Allied Medical Sciences, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

² Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

³ Graduated from the Faculty of Sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: 9 Apr 2025, Reciver in revised from: 23 Jun 2025, Accepted: 11 Jun 2025, Available online: 13 Sep 2025

[10.22059/jvr.2025.385410.3464](https://doi.org/10.22059/jvr.2025.385410.3464)

J Vet Res, Volume 80, Number 3, 2025, 189-200

Abstract

BACKGROUND: Angiogenesis is the biological process of sprouting new vessels from existing vessels in the tissue. The main factors in the molecular guidance of this process are vascular endothelial growth factors (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF).

OBJECTIVES: This study aims to investigate the effects of n-butanol and ethyl acetate fractions of the hydroalcoholic extract of the *Ferula asafoetida* plant (one of the prominent medicinal plants in traditional medicine) on changes in the expression of VEGF and FGF genes in the chorioallantoic membrane (CAM) of chick embryos.

METHODS: In this research, 80 fertilized eggs of Ross chicken were randomly divided into eight groups including control and laboratory control (PBS) groups and 6 experimental groups. On the eighth day of incubation, the laboratory control group was treated with normal saline and the experimental groups were treated with 100, 200, and 300 µg/ml doses of n-butanol and ethyl acetate fractions of the hydroalcoholic extract. On the twelfth day, a photo was taken of CAM to count the number of vessels and measure the length of vessels. The CAM samples were prepared for RNA extraction and cDNA production. The collected data were analyzed using t-test and ANOVA.

RESULTS: The mean number of vessels and the length of vessels in the treatment groups showed a significant decrease compared to the control group. Also, the expression levels of VEGF and FGF genes in the treatment groups were significantly lower than in the control group.

CONCLUSIONS: The n-butanol and ethyl acetate fractions of the hydroalcoholic extract of the *Ferula asafoetida* plant seem to adversely affect the angiogenesis process in the CAM of chick embryos by diminishing the expression levels of VEGF and FGF genes.

Keywords: Aangiogenesis, Chorioallantoic membrane, *Ferula asafoetida*, Fibroblast growth factor, Vascular endothelial growth factor

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Jina Khayatzadeh, Tel/Fax: +9851-38435050 / +9851-38435050



How to cite this article:

Pourmohammad M, Khayatzadeh J, Zahani A, Tehranipour M, Zafar Balanjad S. The effects of n-butanol and ethyl acetate fractions of *Ferula asafoetida* hydroalcoholic extract on the expression of vegf and fgf genes in the chorioallantoic membrane of chick embryos. Journal of Veterinary Research, 2025; 80(3): 189-200.
doi: 10.22059/jvr.2025.385410.3464

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Primer sequences of VEGF, GAPDH and FGF genes.

Graph 1. Comparison of the mean number of blood vessels in the experimental groups compared to the control group. * Significant at the 0.05 level; ** significance at the 0.01 level.

Graph 2. Comparison of the mean length of blood vessels in the experimental groups compared to the control group. * Significant at the 0.05 level; ** significance at the 0.01 level.

Graph 3. Comparison of the mean head-caudal tail length in the experimental groups compared to the control group. * Significant at the 0.05 level; ** significance at the 0.01 level.

Graph 4. Comparison of the mean fetal weights in the experimental groups compared to the control group. * Significant at the 0.05 level; ** significance at the 0.01 level.

Graph 5. Comparison of the relative expression level of the VEGF gene in the experimental groups compared to the control group. * Significant at the 0.05 level; ** significance at the 0.01 level.

Graph 6. Comparison of the relative expression level of the FGF gene in the experimental groups compared to the control group. * Significant at the 0.05 level; ** significance at the 0.01 level.



تأثیر زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه *Ferula asafoetida* بر بیان ژن‌های VEGF و FGF در روند آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه

محمد رضا پورمحمد^۱، جینا خیاطزاده^۲، احمد زهانی^۳، مریم طهرانی پور^۲، سعیده ظفر بالانژاد^۲

^۱ دانش آموخته دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

^۲ گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۳ دانش آموخته دانشکده علوم، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۲۰ فروردین ۱۴۰۴، تاریخ بازنگری: ۱۷ خرداد ۱۴۰۴، تاریخ پذیرش: ۲۱ خرداد ۱۴۰۴، تاریخ انتشار: ۲۲ شهریور ۱۴۰۴

doi: 10.22059/jvr.2025.385410.3464

دوره ۸۰، شماره ۳، ۱۴۰۴، ۱۸۹-۲۰۰

چکیده

زمینه مطالعه: آنژیوژنز فرایند زیستی جوانه زدن رگ‌های جدید از رگ‌های موجود در بافت است. عامل اصلی در هدایت مولکولی این فرایند، فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF) می‌باشند.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه (به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی شاخص در طب سنتی) بر تغییرات بیان ژن‌های VEGF و FGF در مسیر آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک (CAM) جنین جوجه انجام شد.

روش کار: در مطالعه حاضر، ۸۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد Ross به‌طور تصادفی به ۸ گروه شامل گروه کنترل، کنترل آزمایشگاهی (pbs) و ۶ گروه آزمایشی تقسیم شدند. در روز هشتم انکوباسیون، گروه کنترل آزمایشگاهی با نرمال سالین و گروه‌های آزمایشی با دُزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه تیمار شدند. در روز دوازدهم، عکس‌برداری از پرده کوریوآلانتوئیک جهت شمارش تعداد عروق و اندازه‌گیری طول عروق انجام شد. تهیه نمونه CAM جهت استخراج RNA و ساخت cDNA صورت گرفت. داده‌های جمع‌آوری‌شده توسط آزمون‌های آماری t-test و ANOVA بررسی شدند.

نتایج: میانگین تعداد عروق و طول عروق در گروه‌های تیمار کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. همچنین میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF در گروه تیمار به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری نهایی: به نظر می‌رسد زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه می‌توانند با کاهش میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF تأثیر منفی بر روند رگ‌زایی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه داشته باشند.

کلمات کلیدی: آنژیوژنز، پرده کوریوآلانتوئیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، فاکتور رشد فیبروبلاستی، گیاه آنگوزه

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی‌رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: جینا خیاطزاده، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

مقدمه

در اثر پدیده واسکولوژنز اولین رگ‌های خونی از سلول‌های پیش‌ساز آندوتلیال با آرایش خاص به وجود می‌آیند و به تدریج شروع به انتشار، توسعه و تشکیل شاخه‌های جدید می‌کنند که به آن آنژیوژنز می‌گویند. رگ‌زایی یا آنژیوژنز فرایند تکثیر فعال سلول‌های آندوتلیال است و تشکیل رگ‌های فعال مستلزم برهم‌کنش‌های هماهنگ بین ماتریکس خارج سلولی، سلول‌های احاطه‌کننده و سلول‌های آندوتلیال آن‌ها می‌باشد (۱). این سلول‌ها در بلوغ خاموش می‌باشند، اما توانایی فعال شدن در پاسخ به عوامل مناسب را دارند. رگ‌زایی یک فرایند ضروری در فیزیولوژی بدن با واسطه تعادل بین فاکتورهای القاکننده و مهارکننده رگ‌زایی است. در صورتی که این تعادل از بین برود، زمینه برای بروز برخی بیماری‌ها، از جمله رشد و متاستاز تومور فراهم می‌شود (۲).

مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر آنژیوژنز شامل فاکتور رشد اپیتلیال (Epithelial Growth Factor, EGF)، فاکتور سلول بنیادی (Stem Cell Factor, SCF)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (Fibroblast Growth Factor, FGF)، فاکتور رشد مشتق از پلاکت‌ها (Platelet Derivative Growth Factor, PDGF) و همچنین فاکتور رشد عروقی اندوتلیالی (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) است (۳).

آنژیوژنز در بسیاری از بیماری‌ها نظیر تومورهای پیشرفته دارای متاستاز، رتینوپاتی، نفروپاتی دیابتی، آترواسکلروز، اندومتريوز و غیره که ناشی از آسیب اندام است، به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد. متاستاز نقش ویژه در گسترش سرطان‌هایی دارد که به مرگ منجر می‌شوند. در طی روند متاستاز سلول‌های سرطانی از طریق عروق خونی مهاجرت کرده و به سایر بافت‌ها وارد می‌شوند و در نهایت باعث درگیر شدن بافت‌های سالم بدن می‌شوند (۴). مهار رگ‌زایی و به دنبال آن مهار متاستاز سلول‌ها روش مناسب و کارآمدی برای مقابله با سرطان است و شناخت عوامل درگیر در رگ‌زایی نرمال و یا غیرنرمال بسیار مهم و حیاتی به نظر می‌رسد (۵). استفاده از منابع گیاهی به‌طور گسترده در میان ملل مختلف، نقش آزمایشی آن‌ها را در بیماری‌ها بااهمیت کرده است. همچنین به‌دلیل عوارض جانبی کمتر گیاهان، انجام مطالعات با هدف شناسایی ترکیبات ضد رگ‌زایی و ضد توموری با منشأ گیاهی اهمیت شایانی پیدا کرده است. ترکیبات فنلی خواص آنتی‌اکسیدانی قوی دارند و غالباً در سبزیجات و میوه‌ها یافت می‌شوند (۶).

گیاهان حاوی ترکیبات مختلفی، از جمله فلاوونوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کوئینون‌ها، گلیکوزیدهای قلبی و کومارین می‌باشند که این ترکیبات می‌توانند پتانسیل بالقوه‌ای در درمان بیماری‌های مختلف ناشی از ضایعات پاتولوژیک آنژیوژنز داشته باشند (۷). اخیراً توجه زیادی از محققین به کشف داروهای طبیعی و سنتزی به‌عنوان ترکیبات ضد آنژیوژنز معطوف شده است تا بتوانند آن‌ها را به‌عنوان درمان سرطان‌های مختلف و یا حداقل بخشی از پروتکل‌های آزمایشی تومورها مطرح کنند (۸).

آنگوزه (*Ferula asafoetida*) از جمله گیاهان بومی ایران از خانواده چتریان (Apiaceae) است که دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشد. ترکیبات اصلی واجد خواص دارویی آن شامل رزین (۶۴-۴۰ درصد)، صمغ (۲۵ درصد) و روغن‌های ضروری (۱۷-۱۰ درصد) است. بخش رزینی آن شامل فرولیک اسید و استرهای آن، کومارین، سزکویی ترپن کومارین‌ها و سایر ترپنوئیدها می‌باشد (۹). بو و مزه خاص آنگوزه به‌علت وجود ترکیبات سولفور در صمغ آنگوزه است که شامل دی، تری و تترا سولفیدها می‌باشند. صمغ آن دارای گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی‌ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها بوده و روغن‌های فرار آن از ترکیبات سولفور و ترپنوئیدها تشکیل شده است. آنگوزه در تهیه داروهای ضد قارچ، ضد تشنج، قاعده‌آور و مقوی قلب مورد استفاده قرار می‌گیرد و در رفع بیماری‌های عصبی و تنفسی نظیر اسپاسم حنجره و آسم و همچنین در رفع یبوست افراد مسن مؤثر می‌باشد. اثرات ضدمیکروبی و ضدانگلی برای آنگوزه نیز گزارش شده است (۱۰).

یکی از مدل‌های آزمایشگاهی جهت بررسی آنژیوژنز استفاده از پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه می‌باشد. از طرفی استفاده از تخم‌مرغ جنین‌دار یک روش ساده و مقرون‌به‌صرفه می‌باشد و چون پرده کوریوآلانتوئیک یک سیستم بسته است، مدت زمان ماندگاری ترکیبات مختلفی که استفاده می‌شوند نسبت به مدل‌های حیوانی بیشتر خواهد بود (۱۱). با توجه به اثرات ضد سرطانی آنگوزه و نظر به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثرات زیرشاخه‌های آن بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی آن بر روی آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه انجام نشده است، هدف از مطالعه حاضر بررسی بیان ژن‌های VEGF و FGF در روند آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه، تحت اثر زیرشاخه‌های آن بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه، بر روی تخم‌مرغ جنین‌دار به‌عنوان یک مدل آزمایشگاهی بود. مطالعه حاضر در نیمه اول سال ۱۴۰۲ در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر یک پژوهش آزمایشی بود که در سال ۱۴۰۲ انجام شد. برای انجام آزمایشات از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار نژاد Ross به‌عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد. نمونه‌های مورد مطالعه از شرکت مرغداری جهاد کشاورزی تهیه گردید. برای انجام

مطالعه ۸۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار به‌طور تصادفی به ۸ گروه آزمایشگاهی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (بدون تیمار)، کنترل آزمایشگاهی (تیمار با نرمال سالین)، گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ و ۳ (تیمار با زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه با دُز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و گروه‌های آزمایشی ۴ و ۵ و ۶ (تیمار با زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه با دُز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود.

آماده‌سازی زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه: پودر گیاه آنگوزه از شرکت گیاهان دارویی تهیه شد. عصاره هیدروالکلی توسط روش سوکسله (Soxhlet Extractor) که یک روش متداول علمی آزمایشگاهی است تهیه گردید. در این روش مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه داخل کاغذ صافی ریخته و به دستگاه سوکسله که شامل یک بالن ته‌گرد در بخش پایینی و یک مبرد در بخش فوقانی است انتقال داده شد. به‌منظور تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه، حدود ۲۰۰ سی‌سی اتانول ۹۶ درصد در محفظه مخصوص ریخته شد و عصاره‌گیری انجام شد. عصاره‌گیری در طی ۲ روز متوالی صورت گرفت تا تمام عصاره قابل‌حل از گیاه استخراج و جدا شود. سپس عصاره در دستگاه روتاتوری تقطیر در خلأ قرار داده شد تا یک‌سوم حجم اولیه تغلیظ گردد. بعد از آن عصاره در انکوباتور با دمای ۴۵ درجه به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا به‌طور کامل خشک شود. در نهایت عصاره خشک‌شده برای به دست آوردن غلظت‌های موردنظر با حلال مخصوص (PBS) رقیق گردید. جهت تهیه زیرشاخه ان بوتانول از عصاره هیدروالکلی، ۱۰/۶۸ گرم از عصاره هیدروالکلی و ۱۸۰ سی‌سی آب‌مقطر داخل قیف دکانتور ریخته شد و سپس ۵۰ سی‌سی ان بوتانول به آن اضافه گردید. ۲ فاز ایجاد شد که فاز رویی شامل اجزای غیرقطبی (نیژلون، تیموکلینون، کاروتن و ویتامین E) موجود در عصاره بود که در ان بوتانول حل شد. بعد از جدا کردن ۲ فاز از یکدیگر برای تهیه زیرشاخه اتیل استات، فاز پایینی حاصل از مرحله قبل که شامل اجزای قطبی و بینابینی بود داخل قیف دکانتور ریخته و به آن ۵۰ سی‌سی اتیل استات اضافه شد. مجدداً ۲ فاز تشکیل شد. فاز رویی، شامل اجزای بینابینی (فسفولیپیدها) بود که در اتیل استات حل گردید. بعد از تهیه این زیرشاخه‌ها محلول‌های حاصل جهت خشک شدن داخل انکوباتور قرار گرفتند (۱۲).

تزریق به تخم‌مرغ جنین‌دار: تخم‌مرغ‌های تهیه‌شده پس از ضدعفونی کردن پوسته آن‌ها با الکل ۷۰ درصد، در دستگاه جوجه‌کشی (ایران درنا سیستم پارس) با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵ تا ۶۰ درصد قرار داده شدند و دستگاه در وضعیت روشن و در حالت چرخش خودکار قرار گرفت. دستگاه جوجه‌کشی برای تبدیل اتوماتیک و خودکار تخم‌مرغ نطفه‌دار به جوجه ۱ روزه استفاده می‌شود. درواقع تخم‌مرغ نطفه‌دار در داخل دستگاه قرار می‌گیرد و جوجه ۱ روزه از آن خارج می‌شود. فرایند تبدیل تخم به جوجه به‌صورت اتوماتیک صورت می‌گیرد. در روز دوم انکوباسیون در شرایط استریل و زیر هود لامینار به کمک پنس استریل در سمت پهن تخم‌مرغ سوراخی کوچک و سپس در سمت پهلویی آن پنجره ایجاد شد و محل نیز به‌وسیله لامل، چسب و پارافین استریل پوشانده و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شدند. در روز هشتم انکوباسیون پنجره در زیر هود لامینار باز شد و روی پرده کوریوآلانتوئیک جوجه یک اسفنج ژلاتینی به ابعاد ۴×۴×۱ میلی‌متر قرار داده شد تا تیمارها در آن ناحیه صورت گیرد. در نمونه کنترل آزمایشگاهی، تیمار با نرمال سالین انجام شد و در نمونه‌های تحت تیمار با زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه به اسفنج ژلاتینی مقدار ۱۰ میکرولیتر از زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی آنگوزه با دُزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید، سپس پنجره‌ها مجدداً بسته و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شدند. در روز دوازدهم انکوباسیون تصاویر از عروق خونی سطح پرده کوریوآلانتوئیک تمام نمونه‌ها با استفاده از فوتواستروئومیکروسکوپ تحقیقاتی تهیه و با کمک نرم‌افزار image J تعداد و طول انشعابات عروقی در سطح مقطع یکسان برای تمام نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان کار طول سری - دمی وضعیت مورفولوژیکی و وزن جنین‌های هر گروه نیز بررسی و ثبت شد (۱۳).

جدول ۱. توالی پرایمرهای اختصاصی ژن‌های VEGF، GAPDH و FGF

ردیف	نام ژن	توالی رفت (Forward)	توالی برگشت (Reverse)	منبع
۱	VEGF	CCTGCCTTGCTGCTCTACC	CACACAGGATGGCTTGAAG	۱۵
۲	GAPDH	TGCTGGTGCTGAGTATGTCG	GCATGTCAGATCCACAACGG	۱۵
۳	FGF	AAACAGCGTCTTCAGTATCC	ATCCTCTCCACAAACTCACA	۱۶

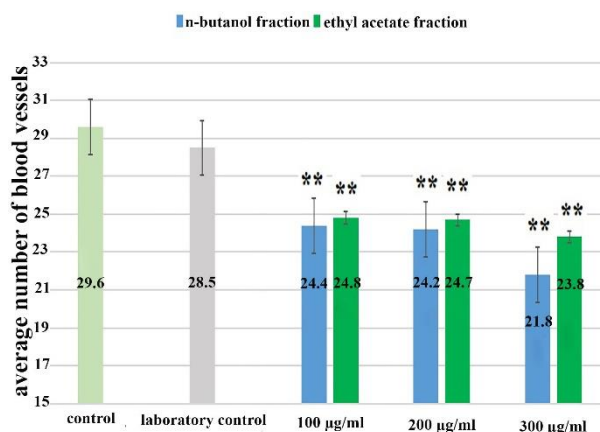
استخراج RNA: جهت استخراج RNA، پرده CAM جدا و به درون هاون چینی استریل انتقال داده شد و با استفاده از ازت مایع کوبیده و پودر شد. مراحل استخراج RNA طبق پروتکل کیت استخراج RNA (شرکت دنا زیست آسیا S-۱۰۲۰۱) انجام شد. سپس RNA استخراج شده تغلیظ شد. نمونه‌های به دست آمده تا مراحل بعدی مطالعه در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اطمینان از درستی استخراج RNA کیفیت و کمیت آن توسط ژل الکتروفورز و تکنیک اسپکتروفتومتری نانودراپ بررسی گردید و در مرحله بعد از نمونه‌های استخراج شده cDNA سنتز گردید. کیت مخصوص سنتز cDNA از شرکت پارس توس تهیه شد و در پایان سنتز cDNA ها به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد بازگردانده شدند (۱۴).

بررسی بیان ژن‌های VEGF و FGF با استفاده از تکنیک Real time PCR: پرایمر اختصاصی برای بیان ژن‌های VEGF (۱۵) و FGF (۱۶) به کمک پایگاه داده‌های بیوتکنولوژی NCBI طراحی و سپس جهت اطمینان از درستی آن BLAST گردید. همچنین توالی پرایمر ژن GAPDH به عنوان هاوس کیپینگ ژن تعیین و طراحی شد. جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه را نشان می‌دهد. در نهایت برای دستیابی به پاسخ بیان ژن تحت تأثیر عصاره‌های مورد نظر، واکنش Real Time PCR انجام شد. براین اساس، ۱۰ میکرولیتر Master Mix از شرکت Bioneer، ۷ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۱ میکرولیتر cDNA، ۱ میکرولیتر پرایمر Forward و ۱ میکرولیتر Reverse با هم ترکیب شدند. برنامه زمان بندی PCR برای بیان ژن VEGF و FGF عبارت بود از: یک مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طولی سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طولی سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. در پایان محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید منتقل و الکتروفورز گردیدند (۱۷).

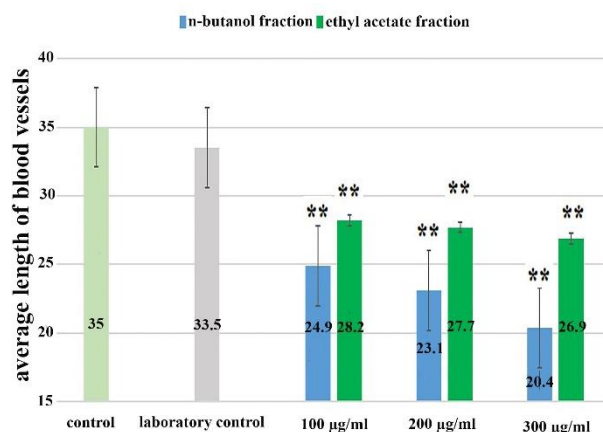
آنالیز آماری: داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزارهای آماری Excel و SPSS نسخه ۲۰ مورد تحلیل قرار گرفتند. روش‌های آماری مورد استفاده در مطالعه حاضر عبارت بودند از آزمون تی استیودنت (T student)، آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون توکی (Test Tukey). همچنین از میانگین، خطای معیار و نمودارهای ستونی جهت توصیف اطلاعات استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

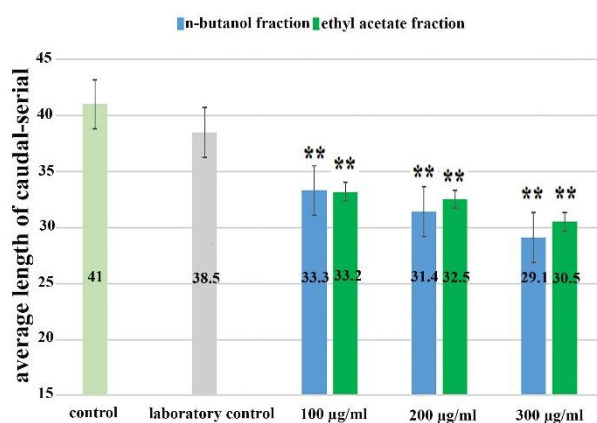
مطالعه حاضر با هدف بررسی روند آنژیوژنز و میزان تغییرات بیان ژن VEGF و FGF تحت تیمار با زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه در مدل آزمایشگاهی پرده CAM در جنین جوجه صورت گرفت.



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد انشعابات عروقی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل. * سطح معنی‌داری (۰/۰۵)، ** سطح معنی‌داری (۰/۰۱).



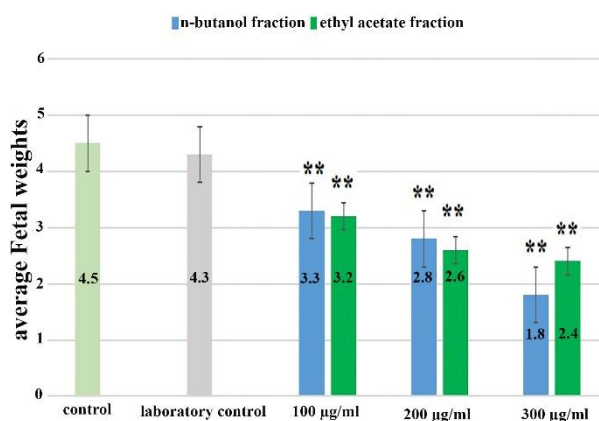
نمودار ۲. مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل. * سطح معنی‌داری (۰/۰۵)، ** سطح معنی‌داری (۰/۰۱).



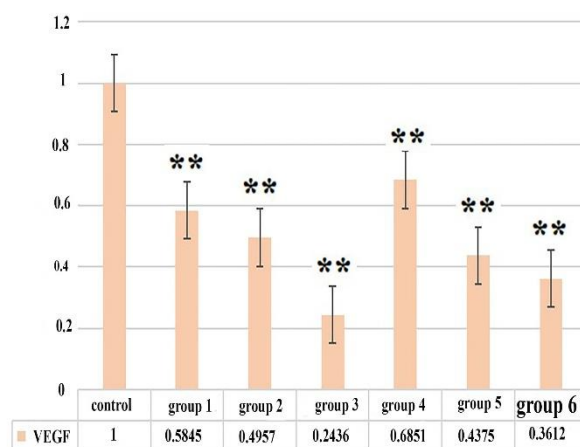
نمودار ۳. مقایسه میانگین طول سری - دمی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل. * سطح معنی‌داری (۰/۰۵)، ** سطح معنی‌داری (۰/۰۱).

میانگین تعداد عروق در گروه کنترل در مقایسه با کنترل آزمایشگاهی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری نبود ($P > 0.05$). براین اساس در بررسی‌های بعدی تمام گروه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. مقایسه میانگین تعداد عروق بین گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد وجود دارد. همچنین مقایسه میانگین تعداد عروق در نمونه کنترل با گروه‌های آزمایشی ۴، ۵ و ۶ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۱ درصد بود (نمودار ۱).

مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی در گروه کنترل با کنترل آزمایشگاهی نشان داد اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد ($P > 0.05$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. مقایسه میانگین طول عروق بین گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد وجود دارد. مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی در نمونه کنترل با گروه‌های آزمایشی ۴ و ۵ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) نشان داد اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد ($P > 0.05$), اما مقایسه گروه آزمایشی ۶ (تیمار با ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) با گروه کنترل نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد بود (نمودار ۲).



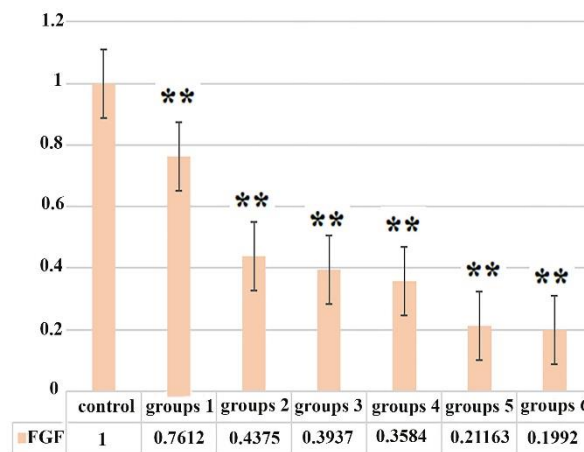
نمودار ۴. مقایسه میانگین وزن جنین‌ها در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل. * سطح معنی‌داری (۰/۰۵)، ** سطح معنی‌داری (۰/۰۱).



نمودار ۵. مقایسه بیان نسبی ژن VEGF در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل. * سطح معنی‌داری (۰/۰۵)، ** سطح معنی‌داری (۰/۰۱).

مقایسه میانگین طول سری - دمی در گروه کنترل با کنترل آزمایشگاهی نشان داد اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد ($P>0/05$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. مقایسه میانگین طول سری - دمی بین گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد وجود دارد. همچنین مقایسه میانگین طول سری - دمی در نمونه کنترل با گروه‌های آزمایشی ۴، ۵ و ۶ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ درصد بود (نمودار ۳).

مقایسه میانگین وزن جنین‌ها در گروه کنترل با کنترل آزمایشگاهی نشان داد اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد ($P>0/05$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. مقایسه میانگین وزن جنین بین گروه آزمایشی ۱ (تیمار با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P>0/05$). اما مقایسه گروه آزمایشی ۲ و ۳ (به ترتیب تیمار با ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه) با گروه کنترل نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد بود. همچنین مقایسه میانگین وزن جنین بین گروه آزمایشی ۴ (تیمار با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P>0/05$), اما مقایسه گروه آزمایشی ۵ و ۶ (به ترتیب تیمار با ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه) با گروه کنترل نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد بود (نمودار ۴).



نمودار ۶. مقایسه بیان نسبی ژن FGF در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل. * سطح معنی‌داری (۰/۰۵)، ** سطح معنی‌داری (۰/۰۱).

مقایسه میزان بیان ژن VEGF در گروه کنترل با کنترل آزمایشگاهی نشان داد اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد ($P > 0/05$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. مقایسه میزان بیان ژن VEGF بین گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد وجود دارد. همچنین مقایسه میزان بیان ژن VEGF در نمونه کنترل با گروه‌های آزمایشی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد وجود دارد (نمودار ۵).

مقایسه میزان بیان ژن FGF در گروه کنترل با کنترل آزمایشگاهی نشان داد اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد ($P > 0/05$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. مقایسه میزان بیان ژن FGF بین گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه ان بوتانول عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) با گروه کنترل نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد وجود دارد. همچنین مقایسه میزان بیان ژن FGF در نمونه کنترل با گروه‌های آزمایشی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از زیرشاخه اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه) نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد وجود دارد (نمودار ۶).

بحث

از آنجاکه آنژیوژنز در پدیده‌های پاتولوژیک نظیر رشد و متاستاز تومورهای سرطانی نقش مهمی ایفا می‌کند، شناسایی و توسعه درمان‌های جدید علیه سرطان منطقی به نظر می‌رسد. مطالعات نشان داده است در افراد بالغ سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در گردش خون وجود دارد که از مغز استخوان منشأ می‌گیرند. این سلول‌ها می‌توانند در محل تشکیل رگ‌های خونی جدید که باید به سلول‌های آندوتلیال تمایز یابند، استقرار پیدا کنند. به علاوه، این سلول‌ها توسط VEGF و سایر سایتوکین‌ها تحریک می‌شوند. VEGF یکی از فاکتورهای اصلی در آنژیوژنز بوده، همچنین دارای فعالیت میتوژنیک است و یک فاکتور تمایز سلولی نیز می‌باشد که همراه با گیرنده‌های خود یک سیستم سیگنالینگ VEGFRs کلیدی را در آنژیوژنز، در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک تشکیل می‌دهد و در پدیده هماتوپویز و تکوین عصبی نیز دخیل می‌باشد (۱۸). FGF یک مولکول طبیعی با ساختار پروتئینی است که در رشد و تمایز سلول‌های متعددی دخیل می‌باشد. همچنین سایتوکائینی است که در آنژیوژنز، بهبود زخم و تکامل جنینی نقش مهمی ایفا می‌کند. FGF از اولین عوامل شناخته‌شده در تحریک آنژیوژنز است و محرک ساخت پروتئازهای، مانند کلاژناز و فعال‌کننده پلاسمینوژن تیپ اوروکیناز و اینترگرین برای تشکیل مویرگ‌های جدید محسوب می‌شود (۱۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه می‌تواند به‌طور معنی‌داری میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF و روند رگ‌زایی پرده کوریوآلانتوئیک تخم‌مرغ جنین‌دار را کاهش دهد.

اسید گالبانیک یکی از ترکیبات صمغ گیاه آنگوزه است که دارای اثرات سیتوتوکسیک بر روی سلول‌ها بوده و همچنین باعث کاهش تکثیر سلولی می‌شود. بنابراین می‌توان گفت اسید گالبانیک موجود در عصاره این گیاه بر تکثیر سلول‌های آندوتلیال عروق خونی اثر مہاری داشته و باعث کاهش تکثیر و در نتیجه کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی شده است (۲۰). Shabestarian و همکاران در سال ۲۰۲۱ در مطالعه‌ای اعلام کردند اسید گالبانیک موجود در گیاه آنگوزه به القای آپوپتوز در سلول‌های آندوتلیالی منجر می‌شود (۲۱). Buhr و همکاران در سال ۲۰۲۰ دریافتند کامپوتوسین و توپوتکان که از ترکیبات صمغ آنگوزه می‌باشند از رشد سلول‌های آندوتلیال انسانی در شرایط *In vitro* جلوگیری می‌کنند و این مہار تا ۹۶ ساعت پس از قطع عصاره از محیط، باقی می‌ماند. این دو ترکیب علاوه بر فعالیت ضد رگ‌زایی، می‌توانند از طریق مہار رگ‌زایی نیز به صورت غیرمستقیم اثر ضد توموری داشته باشند (۲۲). Sarkar در سال ۲۰۲۳ ثابت کرد گیاه آنگوزه حاوی مقدار زیادی ایزوفلاونوئید است که از تکثیر سلول‌های آندوتلیال القا شده توسط VEGF و FGF ممانعت می‌کند (۲۳). Mallikarjuna در سال ۲۰۲۲ طی مطالعه‌ای طولانی مدت نشان داد تجویز صمغ آنگوزه از رشد سلول‌های سرطانی پستان ناشی از تجویز نیتروز اوره پیشگیری و زمان ظهور سرطان را به تأخیر می‌اندازد. در این مطالعه علت اصلی این تأخیر اثر مہاری ترکیبات موجود در آنگوزه بر کاهش رگ‌زایی در اطراف سلول و بافت سرطانی اعلام گردید (۲۴). Jiang و همکاران در سال ۲۰۲۰ اعلام کردند آنگوزه حاوی ترکیباتی است که با سلول‌های سرطانی در سطوح مختلف برهم‌کنش داشته و می‌تواند سبب افزایش اثرات تومورکشی پرتو داروها و داروهای شیمیایی شود. همچنین اثرات ضد رگ‌زایی و ضد متاستازی آن تا حدودی از طریق کاهش بیان آنزیم متالوپروتئیناز ماتریکس (MMP-2) و افزایش بیان مہارکننده بافتی متالوپروتئیناز یک (TIMP1) می‌باشد (۲۵). نتایج مطالعه حاضر با بررسی پیش‌گفت مطابقت داشت. طبق مطالعه حاضر، زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه باعث کاهش روند آنژیوژن و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه گردید. نتایج نشان داد زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی این گیاه می‌تواند با کاهش روند رگ‌زایی دارای اثرات بالقوه در درمان سرطان باشد که البته نیازمند انجام مطالعات بالینی می‌باشد.

تجویز فارنسی فرول (Farnesiferol) که یکی از مواد مہم تشکیل‌دهنده رزین آنگوزه است می‌تواند در مہار فاکتور رشد آندوتلیوم عروق مؤثر باشد. مہار این فاکتور رشد، موجب مہار سلول‌های تولید سرطان در تکثیر، مهاجرت، تهاجم، تشکیل عروق و بافت همبند می‌شود. تجویز خوراکی شیر آنگوزه به موش آزمایشگاهی موجب مہار رشد سرطان پستان ناشی از تجویز نیتروز اوره (Nitrosourea-N-methyl-N) شد. در این مطالعه گزارش شده است که تجویز آنگوزه، موجب تحریک در فعالیت گلوکوتایون اس ترانسفراز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکوتایون شده است (۲۶). همچنین رزین آنگوزه موجب کاتالاز و بازسازی سیستم آنتی‌اکسیدانی ناشی از تجویز نیتروز اوره شده است (۲۷). در مطالعه دیگر تجویز ماده سرطان‌زا روی پوست که موجب تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های پوستی و تشکیل سلول‌های سرطانی می‌شد با پیش‌درمانی رزین آنگوزه موجب بازسازی سیستم آنتی‌اکسیدانی و پیشگیری از سرطانی شدن سلول‌های پوست شده است (۲۸). در مطالعه‌ای، تجویز خوراکی آنگوزه موجب مہار ۲ مرحله گسترش سرطان و همچنین افزایش طول عمر موش‌های سرطانی شده با ماده سرطان‌زای DimethylBenzanthracene روی پوست شد (۲۹). در مطالعه‌ای خواص آنتی‌اکسیدانی رزین آنگوزه در مہار آسیب وارده به DNA توسط H_2O_2 در مقایسه با آسکوربیک اسید بررسی شد. نتایج نشان داد اثر رزین آنگوزه در این مورد قوی‌تر از آسکوربیک اسید است (۳۰). نتایج مطالعه حاضر با بررسی فوق مطابقت داشت. طبق مطالعه حاضر، زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه باعث کاهش روند آنژیوژن و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه می‌شود. گیاه آنگوزه می‌تواند با کاهش روند رگ‌زایی دارای اثرات بالقوه در درمان سرطان باشد که البته نیازمند انجام مطالعات بالینی می‌باشد.

در سال‌های اخیر میزان سرطان در جهان روند صعودی داشته است و بنابراین تلاش در جهت جست‌وجوی داروهای ضد سرطانی نیز افزایش پیدا کرده است. اخیراً توجه محققین به استفاده از ترکیبات ضد آنژیوژن از منابع مختلف معطوف شده است (۳۱)، مانند پروتئین مہارکننده تریپسین کونیتز، فراکسیون‌های غشوف کوسه، ترکیبات گیاهی، مانند نوعی پیاز کوچک (*Allium ascalonicum*)، مریم گلی (*Salvia officinalis*)، انجیر (*Ficus carica*)، کانابینوئیدها و حتی قارچ‌ها، یا آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، مانند (Bevacizumab). اگرچه تمام این ترکیبات قادر به مہار آنژیوژن می‌باشند، به نظر می‌رسد ترکیباتی که از گیاهان و داروهای گیاهی تهیه می‌شوند از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه‌تر و ازسوی دیگر به مقدار زیاد در دسترس می‌باشند. همچنین در صورت استفاده از آن‌ها

به‌صورت خوراکی این ترکیبات به پروتئینازها مقاوم می‌باشند. در مطالعات مختلف به اثرات ضدسرطانی آنگوزه در شرایط *in vitro* اشاره شده است (۳۲).

آنگوزه آنژیوژنز ایجادشده را در بیماری‌های خوش‌خیم، مانند روزاسه و بیماری‌های بدخیم، مانند سرطان‌ها مهار می‌کند. مهار MMPs توسط آنگوزه، استفاده از آن را در درمان بیماری‌ها منطقی کرده که به‌طور گسترده استفاده می‌شود. فارنسی فرول موجود در آنگوزه خاصیت شلاتوری یون‌های فلزی را دارد و دارای خاصیت ضدالتهابی است که به همین دلیل در درمان بیماری‌های التهابی مزمن نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. این دارو فعالیت کلاژناز، فسفولیپاز A₂ و چندین ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) را کاهش می‌دهد (۳۳). این خاصیت هم از طریق مهار فعالیت MMPs و هم از مسیر مستقل از MMPs انجام می‌شود. این مسیر مستقل ناشی از تعدیل در مسیر PI3K-Akt/eNOS است. خانواده PI3K خانواده بزرگی از پروتئین‌های محافظت‌شده می‌باشند که نقش کلیدی در تعداد بی‌شماری از فرایندهای سلولی، مانند رشد، تکثیر، بقا و تحرک سلول ایفا می‌کنند. فعالیت PI3K توسط انکوژن‌های مختلف و گیرنده‌های عامل رشد تحریک می‌شود و افزایش فعالیت مسیر پیام‌رسان PI3K یکی از مشخصه‌های اکثر سرطان‌ها است. مطالعات نشان داده است مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT نقش اساسی در بیماری‌زایی سرطان‌ها دارد (۳۴). مسیر سیگنالی PI3K/AKT در رشد و تکثیر سلول و کنترل متابولیسم در سلول‌های سالم و سرطانی دخالت دارد. اجزای این مسیر در بسیاری از انواع سرطان‌ها با افزایش عملکرد همراه بوده و این امر مهم‌ترین دلیل افزایش بقا و کاهش مرگ سلول‌های سرطانی است. از این‌رو فعال شدن بیش‌ازحد این مسیر در بدخیمی‌های انسان و پیشرفت سرطان نقش دارد. برخی از جهش‌های فعال‌کننده در PI3K/AKT نیز در تومورهای انسانی شایع می‌باشند؛ بنابراین ممکن است رشد تومور را تقویت کنند (۳۵). Du و Lan در سال ۲۰۱۵ مطالعاتی در رابطه با بررسی نقش بالقوه سیگنالینگ AKT در بیماری‌های مزمن کلیوی انجام دادند. همچنین خانواده AKT نقش مهمی در تنظیم رشد، تکثیر، بقا، متابولیسم و دیگر فعالیت‌های سلولی بازی می‌کنند و فعال‌سازی AKT یک نقطه مهم در سرطانی شدن سلول و ایجاد تومور به حساب می‌آید (۳۶). Song و همکاران در سال ۲۰۱۹ ژن AKT را در سرطان بررسی کردند. AKT نقش مهمی در مسیرهای سیگنالینگ PI3K / AKT ایفا کرده و فعال شدن و بیان غیرطبیعی AKT در بسیاری از سرطان‌ها، از جمله سرطان تخمدان، ریه و لوزالمعده مشاهده شده و با افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی و بقا همراه است (۳۷). نتایج مطالعه حاضر با تحقیقات فوق هم‌راستا می‌باشد. مهار MMPs توسط آنگوزه با تعدیل در مسیر PI3K-Akt/eNOS باعث کاهش روند آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه می‌گردد.

نتیجه‌گیری نهایی: مطابق با روش‌های مطالعه حاضر و نتایج می‌توان گفت زیرشاخه‌های ان بوتانول و اتیل استات عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه دارای اثرات ضدسرگ‌زایی می‌باشند. گیاه آنگوزه می‌تواند جهت مطالعه بیماری‌های متعدد، از جمله سرطان مورد بررسی قرار گیرد. در مطالعه حاضر باتوجه‌به کمبود زمان، آزمایش‌های مولکولی بیشتر انجام نشد که امید است در آینده در این زمینه مطالعات مولکولی و فارماکولوژی بیشتری انجام شود. همچنین پیشنهاد می‌شود تأثیر گیاه آنگوزه در بیماری‌های متعدد، از جمله سرطان و همچنین نتایج مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1402.101 در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد به تصویب رسیده است و اصول اخلاقی تماماً در این مقاله رعایت شده است.

حامی مالی

مطالعه حاضر حاصل طرح پژوهشی مصوب باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان استان خراسان رضوی می‌باشد.

سپاسگزاری

از سازمان کتابخانه‌ها، موزه‌ها و مرکز اسناد آستان قدس رضوی که با در اختیار گذاشتن منابع اطلاعاتی مناسب در انجام این مطالعه حاضر همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Ramezani T, Baharara J. A review on angiogenesis in tumor. J Cell Tissue. 2014;5(1):89-100. doi: 10.52547/JCT.5.1.89
2. Pourmohammad M, Khayatzaheh J, Sattari Fard H, Tehranipour M, Rakhshandeh H, Zafar Balanejad S. The effect of aqueous extract of *Crocus sativus* on the vegf and fgf gene expression in the process of angiogenesis of the chorioallantoic membrane of chick embryos. Stud Med Sci. 2024;35(6):479-491. doi: 10.61186/umj.35.6.479
3. Vimalraj S, Renugaa S, Dhanasekaran A. Chick embryo chorioallantoic membrane: a biomaterial testing platform for tissue engineering applications. Process Biochem. 2023;124:81-91. doi: 10.1016/j.procbio.2022.11.007
4. Tondro G, Darvishi MH, Sahab Negah, S, Rajabzadeh G, Mohammadi A, Khaksar Z, et al. Comparative effects of curcumin nanosomes and free curcumin on apoptosis, Intracellular ROS, and STAT3/NF-κB signaling pathway in A549 lung cancer cells. J Vet Res. 2024;79(3):157-165. doi: 10.22059/jvr.2024.372977.3421
5. Chu PY, Koh AP, Antony J, Huang RY. Applications of the chick chorioallantoic membrane as an alternative model for cancer studies. Cells Tissues Organs. 2022;211(2):222-37. doi: 10.1159/000513039 PMID: 33780951
6. Yarmohammadi A, Farkhoy M, Misaghi A, Kiaie SM, Nafarieh N, Barin A. Antimicrobial activity of trachyspermum copticum, thymus vulgaris, and cinnamomum zeylanicum against *Salmonella enteritidis*. J Vet Res. 2021;76(2):179-191. doi: 10.22059/jvr.2020.286511.2954
7. Prabhakar P, Mukherjee S, Kumar A, Kumar S, Verma DK, Dhara S, et al. Optimization of microwave-assisted extraction (MAE) of key phenolic compounds from pigeon pea (*Cajanus cajan* L.), their characterization, and measurement of their anti-diabetic and cytotoxic potential. J Food Meas Charact. 2023;1-24. doi: 10.1007/s11694-023-02082-5
8. Majnooni MB, Fakhri S, Ghanadian SM, Bahrami G, Mansouri K, Iranpanah A, et al. Inhibiting angiogenesis by anti-cancer saponins: from phytochemistry to cellular signaling pathways. Metabolites. 2023;13(3):323. doi: 10.3390/metabo13030323 PMID: 36984763
9. Mortazaei S, Rafieian M, Ansary Samani R, Shahinfard N. Comparison of phenolic compounds Concentrations and antioxidant activity of eight medicinal plants. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2013;12(7):519-30. doi: 20.1001.1.17353165.1392.12.7.7.3
10. Niazmand R, Razavizadeh BM. *Ferula asafoetida*: chemical composition, thermal behavior, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and gum hydroalcoholic extracts. J Food Sci Technol. 2021;58(6):2148-59. doi: 10.1007/s13197-020-04724-8 PMID: 3396731
11. Pourmohammad M, Khayatzaheh J, Sattari Fard H, Tehranipour M, Rakhshandeh H, Zafar Balanejad S. The effect of aqueous extract of *Crocus sativus* on the vegf and fgf gene expression in the process of angiogenesis of the chorioallantoic membrane of chick embryos. Studies in Medical Sciences. 2024;35(6):479-49. doi: 10.61186/umj.35.6.479
12. Toor RH, Tasadduq R, Adhikari A, Chaudhary MI, Lian JB, Stein JL, et al. Ethyl acetate and n-butanol fraction of *Cissus quadrangularis* promotes the mineralization potential of murine pre-osteoblast cell line MC3T3-E1 (sub-clone 4). J Cell Physio. 2019;234(7):10300-14. doi: 10.1002/jcp.27707 PMID: 30443977
13. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay. Reprod Toxicol. 2017;70:97-101. doi: 10.1016/j.reprotox.2016.11.004 PMID: 27832950
14. Ashrafi, A., Staji, H., Keramati, K. Evaluating the effect of culture supernatant of pseudomonas aeruginosa on removing the inhibitory effect of heparin in real-time PCR test. J Vet Res, 2023;78(2):119-129. doi: 10.22059/jvr.2023.354627.3326
15. Pourmohammad M, Khayatzaheh J, Azarizadeh M, Pouresmaeil V, Zafar Balanjad S. The effect of the hydroalcoholic extract of *Ferula assafoetida* resin root and shoot on the VEGF and FGF gene expression in the chorioallantoic membrane of chick embryos. Res Med. 2024;48(1):50-62.
16. Pourmohammad M P, Khayatzaheh J, Akbari S H, Afsharanjad S, Zafar Balanjad S. Investigation of VEGF and FGF gene expression during angiogenesis of chick embryo chorioallantoic membrane treated with doxycycline antibiotic. J Ilam Uni Med Sci. 2024;32(5):80-91.
17. Abdullah NK, Shindala MK, Mustafa NG. VEGF gene expression and angiogenesis in the chorioallantoic membrane: the role of cloprostenol. Egypt J Vet Sci. 2023;54(3):359-68. doi: 10.21608/ejvs.2023.183294.1420

18. Salehi E, Amjadi FS, Khazaei M. Angiogenesis in health and disease: role of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Isfahan Med Sch. 2011;29(132):312-26.
19. Christiaens V LH. Angiogenesis and development of adipose tissue. Mol Cell Endocrinol. 2010;318(1):2-9. doi: [10.1016/j.mce.2009.08.006](https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.006)
20. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. Biochim Biophys Acta. 2013;1830(6):3670-95. doi: [10.1016/j.bbagen.2013.02.008](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008) PMID: 23428572
21. Shabestarian H, Homayouni Tabrizi M, Movahedi M, Neamati A, Sharifnia F. Putative mechanism for cancer suppression by PLGA nanoparticles loaded with Peganum harmala smoke extract. J Microencapsul. 2021;38(5):324-37. doi: [10.1080/02652048.2021.1917715](https://doi.org/10.1080/02652048.2021.1917715) PMID: 33951988
22. Buhr CR, Wiesmann N, Tanner RC, Brieger J, Eckrich J. The chorioallantoic membrane assay in nanotoxicological research-An alternative for in vivo experimentation. Nanomaterials. 2020;10(12):2328. doi: [10.3390/nano10122328](https://doi.org/10.3390/nano10122328) PMID: 33255445
23. Sarkar A, Roy A, Maity M, Nayak D, Das S. Ultradiluted *Eupatorium perfoliatum* alleviates DENV-induced fibrosis by regulation of TGFβ1, MMP-9 and interferons. Future Virol. 2023;18(12):767-82. doi: [10.2217/fvl-2023-0121](https://doi.org/10.2217/fvl-2023-0121)
24. Mallikarjuna P, Zhou Y, Landström M. The synergistic cooperation between TGF-β and hypoxia in cancer and fibrosis. Biomolecules. 2022;12(5):635. doi: [10.3390/biom12050635](https://doi.org/10.3390/biom12050635) PMID: 35625561
25. Jiang K, Liu P, Xu H, Liang D, Fang K, Du S, et al. SASH1 suppresses triple-negative breast cancer cell invasion through yap-arhgap42-actin axis. Oncogene. 2020;39(27):5015-30. doi: [10.1038/s41388-020-1356-7](https://doi.org/10.1038/s41388-020-1356-7)
26. Sirizi MAG, Ghalenoei JA, Allahtavakoli M, Forouzanfar H, Bagheri SM. Anticancer potential of *Ferula assa-foetida* and its constituents, a powerful plant for cancer therapy. World J Biol Chem. 2023;14(2):28-39. doi: [10.4331/wjbc.v14.i2.28](https://doi.org/10.4331/wjbc.v14.i2.28) PMID: 37034135
27. Pavela R, Morshedloo MR, Lupidi G, Carolla G, Barboni L, Quassinti L, et al. The volatile oils from the oleo-gum-resins of *Ferula assa-foetida* and *Ferula gummosa*: a comprehensive investigation of their insecticidal activity and eco-toxicological effects. Food Chem Toxicol. 2020;140:111312. doi: [10.1016/j.fct.2020.111312](https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111312) PMID: 32247803
28. Hosseini R, Namavari M, Ghalegolab N, Shirazinejad A, Alipour S. The effects of zataria multiflora on angiogenesis of chorioallantoic membrane of chick embryo. RJMS. 2022;28(12):206-217. doi: [10.5555/20220531813](https://doi.org/10.5555/20220531813)
29. Hamid IS, Aksono EB, Sukmanadi M, Purnama MTE. Antiangiogenesis activity test of tin leaf (*Ficus carica* L.) on the number of blood vessels and VEGF expression of chorioallantoic membrane of embryonated chicken eggs. Eur J Oncol Pharm. 2018;1(4):e00007. doi: [10.1097/OP9.0000000000000007](https://doi.org/10.1097/OP9.0000000000000007)
30. Ahmadvand H, Amiri H, Dehghani Elmi Z, Bagheri SH. Chemical composition and antioxidant properties of *Ferula-assa-foetida* leaves essential oil. IJPT. 2013;12(2):52-7.
31. Kachooei SA, Rahmani R, Zareh N, Donyadideh F, Kachooei SA, Nabiuni M, et al. Down-regulation of TGF-β, VEGF, and bFGF in vascular endothelial cells of chicken induced by a brittle star (*Ophiocoma erinaceus*) extract. Heliyon. 2020;6(1):e03199. doi: [10.1016/j.heliyon.2020.e03199](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03199) PMID: 31970303
32. Hoseinkhani Z, Norooznezhad F, Rastegari-Pouyani M, Mansouri K. Medicinal plants extracts with antiangiogenic activity: where is the link. Adv Pharm Bull. 2020;10(3):370. doi: [10.34172/apb.2020.045](https://doi.org/10.34172/apb.2020.045) PMID: 32665895
33. Bahetjan Y, Liu W, Muhaxi M, Zheng N, Sefidkon F, Pang K, Shu G, Yang X. *Ferula ferulaeoides* ethyl acetate extract induces apoptosis in esophageal cancer cells via mitochondrial and PI3K/Akt/Bad pathways. Arab J Chem. 2023;16(12):105291. doi: [10.1016/j.arabjc.2023.105291](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105291)
34. Chien CS, Shen KH, Huang JS, Ko SC, Shih YW. Antimetastatic potential of fisetin involves inactivation of the PI3K/Akt and JNK signaling pathways with downregulation of MMP-2/9 expressions in prostate cancer PC-3 cells. Mol Cell Biochem. 2010;333:169-80. doi: [10.1007/s11010-009-0217-z](https://doi.org/10.1007/s11010-009-0217-z)
35. Maruei-Milan R, Saravani M, Heidari Z, Asadi-Tarani M, Salimi S. Effects of the MTOR and AKT1 genes polymorphisms on papillary thyroid cancer developm ent. IUBMB Life 2020;72:2601-10. doi: [10.1002/iub.2388](https://doi.org/10.1002/iub.2388)
36. Lan A, Du J. Potential role of Akt signaling in chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2015;30(3):385-94. doi: [10.1093/ndt/gfu196](https://doi.org/10.1093/ndt/gfu196)
37. Song M, Bode AM, Dong Z, Lee MH. AKT as a therapeutic target for cancer. Cancer Res. 2019;79(6):1019-31. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-18-2738](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-2738)