

Original Article

Investigation of Anti-Angiogenesis Properties of Cerium Oxide Nanoparticles Synthesized by Green Method from *Persicaria bistorta* Plant

Ehsan Abdossalami¹, Ali Neamati^{1*}, Touran Ardalan²

¹Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

²Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

*Corresponding Author:
Ali Neamati; Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Email:
neamati.ali@gmail.com

Received: 20 Jan, 2020
Accepted: 20 Apr, 2020

Abstract

Background and Objectives: Nanoparticles have a wide range of applications, such as environmental, pharmaceutical, nutritional, diagnostic and therapeutic, cosmetics, agricultural, energy, textile, and electronics applications. This study aimed to investigate the anti-angiogenesis properties of cerium oxide nanoparticles synthesized by green method from *Persicaria bistorta* Plant. Angiogenesis refers to the process of formation of new blood vessels from pre-existing blood vessels, which is important for the normal growth and development of the body. *Persicaria bistorta* is a perennial plant that its height is slightly less than 1 m and in some areas is very short and up to 20 cm. One of the distinct characteristics of the plant is its thick underground stem that is cylindrical clinging and its outer surface is covered by a lot of beads with medicinal uses.

Methods: In this study, chick chorioallantoic membrane was treated with cerium oxide nanoparticles synthesized by green method from *Persicaria bistorta* plant (CAM test). Comparison of the results in the groups, was performed by SPSS software.

Results: The obtained data showed that the number and length of the vessels formed during 12 days after the treatment with nanoparticles significantly decreased.

Conclusion: Cerium oxide nanoparticles synthesized by green method from *Persicaria bistorta* plant can be effective in the treatment of angiogenesis-related diseases, including cancer, through reduction of the angiogenesis process.

Keywords: Angiogenesis; Nanoparticles; Ceric oxide; Polygonum; Chorioallantoic Membrane.

DOI: 10.29252/qums.14.2.13

بررسی خواص ضد رگ‌زایی نانوذرات اکسید سریم سنتز شده به روش سبز از گیاه انجبار (*Persicaria bistorta*)

احسان عبدالسلامی^۱، علی نعمتی^{۱*}، توران اردلان^۲

چکیده

زمینه و هدف: نانوذرات دارای کاربردهای وسیعی نظیر کاربردهای محیطی زیستی، دارویی، غذایی، تشخیصی و درمانی، مواد آرایشی، کشاورزی، انرژی، نساجی و الکترونیک می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی خواص ضد رگ‌زایی نانوذرات اکسید سریم که به روش سبز از گیاه انجبار سنتز شده بودند، انجام شد. رگ‌زایی یا آنژیوژنز به فرایند تشکیل عروق خونی جدید از انواع موجود گفته می‌شود که برای رشد و نمو طبیعی بدن اهمیت فراوانی دارد. انجبار گیاهی است چند ساله که بلندی آن کمی کمتر از ۱ متر بوده و در برخی نقاط بسیار کوتاه و تا ۲۰ سانتی‌متر می‌باشد. از ویژگی‌های بارز گیاه، ساقه زیرزمینی ضخیم آن است که استوانه‌ای و به هم چسبیده بوده و اطراف سطح خارجی آن را ریشک‌های فراوانی که از نظر دارویی مصرف دارند، پوشانده است.

روش بررسی: در این مطالعه پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه تحت تیمار نانوذرات اکسید سریم سنتز شده به روش سبز از گیاه انجبار از نظر رگ‌زایی بررسی گردید (آزمون SPSS و مقایسه نتایج در گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت.

یافته‌ها: اطلاعات به دست آمده نشان دادند که تعداد و طول عروق تشکیل شده طی ۱۲ روز پس از تیمار با نانوذرات به طور چشم‌گیری کاهش یافته است. همچنین قد و وزن جنین جوجه، نشان از کاهش معناداری داشت.

نتیجه‌گیری: نانوذرات اکسید سریم سنتز شده به روش سبز از گیاه انجبار قادر است با کاهش فرایند رگ‌زایی در درمان برخی از بیماری‌های مرتبط با آنژیوژنز از جمله سرطان مؤثر واقع شود.
کلیدواژه‌ها: رگ‌زایی؛ نانوذرات‌ها؛ اکسید سربیک؛ گیاه پلی‌گنوم؛ غشای کوریو آلانتوئیک.

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران.

^۲گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

علی نعمتی؛ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

neamati.ali@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۱

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Abdossalami E, Neamati A, Ardalan T. Investigation of Anti-Angiogenesis Properties of Cerium Oxide Nanoparticles Synthesized by Green Method from *Persicaria bistorta* Plant. *Qom Univ Med Sci J* 2020;14(2):1-12. [Full Text in Persian]

مقدمه

نانوذره اکسید سریم با فرمول شیمیایی CeO_2 و جرم مولی ۱۷۲/۱۱۵ گرم بر مول در سال‌های اخیر توجه بسیاری را به خود جلب نموده است. این توجه به دلیل ویژگی‌های بی‌همتای فیزیکی و شیمیایی می‌باشد که با مواد بالک تفاوت دارد. نانوذره اکسید سریم به صورت گسترده در زمینه‌های مختلفی همچون کاتالیز، سنسورهای گازی، سلول‌های سوختی، مواد ذخیره هیدروژن، دستگاه‌های اپتیکی، مواد جاذب ماوراء بنفش، مواد صیقل‌دهنده و بسیاری از زمینه‌های علم زیست پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بیان شده است که نانوذرات سریم در مقابله با استرس اکسیداتیو مؤثر هستند و نقش آنتی‌اکسیدانتهی دارند (۱). نانوذرات اکسید سریم (نانوسریا) شکل اکسید شده عنصر کمیاب سریم هستند که به دلیل تغییرات جای خالی اکسیژن سطحی و آرایش ظرفیتی قادر به تقلید فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌باشند؛ بنابراین این نانوذرات می‌توانند به عنوان جاروب‌کننده‌های گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر

(ROS: Reactive Oxygen Species) در بسیاری از زمینه‌های بیولوژیک عمل کنند (۲).

اکسید سریم نانوساختار، یک اکسید نادر است که به دلیل کاربردهای متنوع آن همچون کاتالیزورهای آگروز خودرو، هادی‌های اکسید یون در سلول‌های سوخت جامد اکسید، مواد الکتروود برای سنسورهای گاز، جاذب‌های فرابنفش و مواد شیشه‌ای مورد توجه می‌باشد. با این وجود، نانوذرات دارای لومینسانس کم یا ضعیف هستند؛ بنابراین استفاده از آن‌ها در دستگاه‌های لامپ فلورسنت با عملکرد بالا در مناطق زیست پزشکی محدود است. نانوذرات اکسید سریم را می‌توان با استفاده از روش‌های مبتنی بر محلول از جمله ترکیب سدیم، هیدروترمال، فرایند میکروامولسیون، روش‌های سل-ژل، واکنش احتراق و غیره سنتز نمود. به دست آوردن مورفولوژی‌های کنترل شده و کارایی لومینسانس افزایش‌یافته نانوذرات برای کاربرد بالقوه انرژی و محیط زیست بسیار ضروری است. علاوه بر این، مرز جدیدی برای ذرات نانوسریا در تحقیقات زیست پزشکی در نظر گرفته شده است که شامل: سمیت کم، رتینوپاتی، بیوسنسورها و جنبه‌های درمان سرطان می‌باشد (۳).

واژه رگ‌زایی به معنای ایجاد مویرگ‌های جدید از عروق موجود است. می‌توان رگ‌زایی را یک فرایند ضروری در فیزیولوژی بدن دانست که به واسطه تعادل بین فاکتورهای القاکننده و مهارکننده رگ‌زایی تنظیم می‌گردد و در صورتی که این تعادل از بین برود، زمینه برای بروز برخی بیماری‌ها از جمله رشد و متاستاز تومور فراهم می‌شود (۴). این فرایند نیازمند تکثیر فعال سلول‌های اندوتلیال است. به این صورت که تشکیل رگ‌های فعال مستلزم برهمکنش‌های هماهنگ بین سلول‌های اندوتلیال، ماتریکس خارج سلولی و سلول‌های احاطه‌کننده آن‌ها می‌باشد (۵).

مهم‌ترین محرک‌های فیزیولوژیکی رگ‌زایی ایسکمی بافتی، هیپوکسی و التهاب هستند و علاوه بر آن برخی از فاکتورهای اختصاصی از قبیل فاکتور رشد رگی، سایتوکاین‌های التهابی، مولکول‌های چسباننده و نیتریک اکساید، رگ‌زایی را تحریک و یا مهار می‌کنند.

متاستاز نقش ویژه‌ای در گسترش سرطان‌هایی دارد که منجر به مرگ می‌شوند. طی فرایند متاستاز، سلول‌های سرطانی از طریق عروق خونی مهاجرت نموده و به سایر بافت‌ها وارد می‌شوند و در نهایت منجر به درگیر شدن بافت‌های سالم بدن می‌گردند (۴،۵). Folkman (۱۹۷۱) خاطر نشان کرده است که "تومورها هرگز فراتر از اندازه مشخصی رشد نمی‌کنند؛ مگر اینکه عروق آن‌ها افزایش یابد". وی همچنین نظریه‌ای را مطرح کرد مبنی بر اینکه تومورها دارای رگ‌های خونی جدیدی هستند که فاکتوری قابل انتشار را به نوعی به کار می‌گیرند. این پژوهشگر از این فاکتورها به عنوان فاکتور آنژیوژنزی تومور یاد نموده و اظهار داشته است که به لحاظ تئوری، اگر بتوان رگ‌زایی را مهار نمود، تومورها در اندازه کوچک باقی می‌مانند و آسیب‌رسان نخواهند شد؛ از این رو مطابق با نظریه فولکمن، مهار رگ‌زایی و متعاقب آن مهار متاستاز سلول‌ها روش مناسبی برای مقابله با سرطان است و شناخت عوامل درگیر در رگ‌زایی طبیعی و یا غیر طبیعی بسیار مهم و حیاتی می‌باشد (۶).

امروزه به دلیل خواص و ویژگی‌های جدیدی که مواد با ابعاد نانو از خود نشان می‌دهند، تمایل به تهیه موادی با ابعاد نانومتری و استفاده از آن‌ها در حال افزایش است.

روش جوانه زنی به عنوان مکانیسم اصلی رگ‌زایی طی مراحل تکوین طبیعی و سرطان‌ها محسوب می‌گردد (۱۰). جوانه زدن به شاخه‌دار شدن و بیرون‌زدگی یک مویرگ جدید از مویرگ قبلی اشاره دارد و تکثیر بیش از حد سلول‌های آندوتلیال، لازمه این رخداد است (۱۱). برعکس این روش، در مدل دوم دو نیمه‌شدن رگ و تبدیل یک مویرگ به دو مویرگ اتفاق می‌افتد. در این روش نیاز کمتری به تکثیر سلول آندوتلیال بوده و در مقایسه با جوانه زدن کاراتر می‌باشد (۱۲).

رگ‌زایی طبیعی وابسته به هماهنگی چندین فرایند مستقل است. برای تشکیل عروق خونی جدید، ابتدا سلول‌های مورال از شاخه رگ موجود حرکت می‌کنند. بی‌ثبات شدن عروق توسط آنژیوپوئیتین-۲، سلول‌های اندوتلیال را از یک وضعیت پایدار بدون رشد به یک فنوتیپ تکثیری تغییر می‌دهد. پس از آن VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) سبب افزایش نفوذپذیری عروق شده و در این مرحله پروتئازها و ترکیبات ماتریکس از جدار رگ نشت یافته و سلول‌های اندوتلیال شروع به تکثیر می‌کنند. به دنبال تکثیر، مهاجرت سلول‌های اندوتلیال اتفاق می‌افتد. سپس ساختارهای لوله مانند تشکیل شده و خون می‌تواند جریان یابد. سپس، سلول‌های مزانشیال تکثیر پیدا نموده و در طول عروق جدید مهاجرت می‌کنند و پس از آن به سلول‌های پریشیت بالغ تمایز می‌یابند. تقویت برهم‌کنش‌های سلول-سلول و ساخت دقیق ماتریکس جدید موجب پایداری رگ جدید می‌شود (۱۳).

آرتریوژنز

فرایند دیگری نیز در خصوص رگ‌زایی به نام آرتریوژنز وجود دارد. آرتریوژنز به معنای بزرگ‌شدگی رگ‌ها هم از نظر قطر و هم از نظر ضخامت دیواره عروقی است (۱۳، ۱۴). آرتریوژنز عمدتاً در آرتریول‌های بزرگ و آرتریت‌های کوچک صورت می‌گیرد. آرتریوژنز مستلزم تکثیر سلول‌های عضله صاف و سلول‌های آندوتلیال است. مهم‌ترین محرک‌های درگیر در فرایند آرتریوژنز، محرک همودینامیکی شیر استرس (فشار تنشی) می‌باشد (۱۴، ۱۵).

در سنتز نانوذرات به روش‌های شیمیایی از مواد شیمیایی خطرناک و سمی استفاده شده و آسیب‌های زیست محیطی حاصل از آن‌ها، نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده است. با توجه به معایب روش‌های شیمیایی، امروزه گیاهان و محصولات کشاورزی به عنوان منابع تجدیدپذیر و ارزان در جهت تهیه نانومواد زیستی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند. به طور کلی، ویژگی‌های مربوط به نسبت بین سطح و حجم ماده در مقیاس نانومتری، تغییرات چشمگیری را از خود نشان می‌دهند؛ بنابراین می‌توانند در تولید نانوداروهایی با عملکرد و بازده بهتر مورد استفاده قرار بگیرند. نانوفناوری زیستی یکی از امیدوارکننده‌ترین حوزه‌های علم و فناوری نانو در عصر جدید است. این فناوری در حوزه‌های گوناگون علم از جمله شیمی، زیست‌شناسی و داروسازی در حال ظهور می‌باشد.

واسکولوژنز

در ابتدایی‌ترین مراحل جنینی، جنین در فقدان عروق، توسعه و مواد غذایی را از طریق انتشار دریافت می‌کند. سپس در یک روند منظم و پی در پی، جنین به سرعت تبدیل به موجودی با عروق بسیار می‌شود. سازماندهی اولیه سلول‌های اندوتلیال که منجر به ایجاد عروق می‌گردد، واسکولوژنز خوانده شده و پیش از آن هیچ سیستم عروقی دیگری وجود ندارد (۷)؛ بنابراین هنگامی که بافت جدیدی تشکیل می‌شود، عروق خونی نیز می‌بایست توأم با آن به وجود آیند. واسکولوژنز با تمایز سلول‌های مزودرمی به همانژیوبلاست‌ها که پیش‌ساز سلول‌های هماتوپوئیتیک و سلول‌های اندوتلیال هستند، آغاز می‌گردد (۸).

با تمایز بیشتر، همانژیوبلاست‌ها به آنژیوبلاست تبدیل شده و با تجمع آنژیوبلاست‌ها، جزایر خونی اولیه تشکیل می‌شوند. سپس این جزایر خونی با یکدیگر ادغام شده و شبکه اولیه عروقی که شامل مویرگ‌های نازک تشکیل شده توسط سلول‌های اندوتلیال است، پدیدار می‌شود. واسکولوژنز با تشکیل شبکه عروقی اولیه و تغییر شکل آن در حین فرایند رگ‌زایی ادامه می‌یابد (۹، ۸).

رگ‌زایی (آرتریوژنز)

رگ‌زایی به ایجاد عروق جدید از عروق موجود اطلاق شده و به دو شکل جوانه زدن و غیر جوانه زدن اتفاق می‌افتد.

نقش رگ‌زایی در تومور و متاستاز

سلول‌های تومور جمعیتی از سلول‌های میزبان هستند که توانایی تنظیم تکثیر خود را از دست داده‌اند؛ بنابراین به مقدار نامحدود تکثیر می‌شوند. بافت توموری می‌تواند مواد تغذیه‌ای و اکسیژن کافی را از طریق انتشار ساده تا محدوده ۲ تا ۹ میلی‌متر جذب نماید و از این نقطه به بعد نیازمند ایجاد رگ‌های تغذیه‌کننده جدید می‌باشد. طی فرایندی که بسیار به رگ‌زایی نرمال شباهت دارد، یک تومور می‌تواند تشکیل رگ‌های جدید را از شبکه مویرگی موجود القا کند (۱۶، ۱۷).

انجبار

انجبار گیاهی از خانواده *Polygonaceae* با نام علمی *Polygonum bistorta* است. خواص ریشه آن بسیار شبیه خواص دارویی ریشه گونه *Polygonum bistorta* می‌باشد (۱۸). این گیاه چند ساله بوده و بلندی آن کمی کمتر از ۱ متر می‌باشد؛ در برخی نقاط بسیار کوتاه بوده و حدود ۲۰ سانتی‌متر می‌شود. یکی از مشخصات بارز گیاه، ساقه زیرزمینی ضخیم آن است که استوانه‌ای و به هم چسبیده بوده و اطراف سطح خارجی آن را ریشک‌های فراوانی که از نظر دارویی مصرف دارند، پوشانده است. از این ساقه زیرزمینی تعدادی برگ و ساقه گل‌دهنده بدون شاخه بیرون می‌آید. برگ‌های این گیاه طویل، بیضی، نوک تیز و به رنگ سبز روشن شفاف بوده و رنگ زیر برگ سبز غباری است که با دم‌برگ درازی به ساقه زیرزمینی متصل می‌شود. برگ‌های قسمت بالای گیاه بدون دم‌برگ بوده و گل‌های آن قرمز (به ندرت سفید) به طور مجتمع در انتهای شاخه گل‌دهنده ظاهر می‌شوند. انجبار از گیاهانی است که به واسطه گل‌های زیبایش در گلکاری‌ها کاشته می‌شود. این گیاه بومی اروپا بوده و در انگلستان در مرزهای مرطوب می‌روید و در آسیا نیز انتشار دارد. در ایران در مناطق غرب کشور در تخت سلیمان، همدان، ارتفاعات کوهستان الوند و نیز ارتفاعات کوه سهند در آذربایجان مشاهده می‌شود. تکثیر این گیاه از طریق تقسیم بوته آن صورت می‌گیرد (۱۸).

از نظر ترکیبات شیمیایی در ریزوم خشک و ریشه گیاه، مقدار قابل ملاحظه‌ای (حدود ۲۰ درصد) انواع تانن، (حدود ۳۰ درصد)

نشاسته، کمی قند، اسید گالیک و یک ماده رنگی قرمز به نام قرمز انجبار وجود دارد. در چین از ریشه گیاه به عنوان بندآورنده خون، ضد تب، مدر و ملین استفاده می‌شود. در فرانسه نیز در موارد بواسیر برای قطع خونریزی به کار می‌رود. همچنین در انگلستان از ریشه آن به عنوان قابض و تونیک استفاده می‌شود. در هند نیز از جوشانده ریشه برای رفع التهاب مزمن و سوزاکی مجرای ادرار و رفع ترشحات سفید مهبل استفاده می‌شود. از این گیاه به صورت غرغره برای التیام زخم، ناراحتی‌های حلق و نیز سفت کردن لته‌های نرم بهره گرفته می‌شود. برای قطع اسهال نیز به کار می‌رود. انجبار از نظر طبیعت (طبق نظر حکمای طب سنتی) سرد و خشک بوده و در ارتباط با خواص آن، این اعتقاد وجود دارد که در بند آوردن خون‌روی و خونریزی در هر عضو به ویژه سینه، ریه و بواسیر بسیار مؤثر است. همچنین در جلوگیری از اسهال خونی نافع می‌باشد (۱۸).

انجبار به علت تانن زیادی که دارد مقوی اعضا و روده‌ها بوده و برای تسکین التهاب صفرا و خون و همچنین بهبود سل و رفع ضعف اشتها استفاده می‌شود. انجبار برای قطع خون در ادرار بسیار مؤثر بوده و در استعمال خارجی برای قطع خونریزی و گوشت آوردن زخم‌ها بسیار مفید می‌باشد. باید خاطر نشان ساخت که این گیاه برای سرد مزاجان مضر بوده و باید همراه با زنجبیل استفاده شود. معمولاً از ساقه زیرزمینی با ریشک‌های اطراف آن و همچنین از پوست ساقه زیرزمینی و عصاره آن استفاده می‌شود. رنگ قسمت داخل ریشه و ساقه زیرزمینی قرمز بوده و دم‌کرده آن مایع قرمز رنگ می‌شود (۱۸).

روش بررسی

سنتز نانوذرات اکسید سریم به روش سبز از گیاه انجبار

در این روش ابتدا پودر گیاه انجبار تهیه گردید و سپس با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد و به مدت یک ساعت روی هات پلیت استیرر قرار گرفت. سپس از کاغذ صافی عبور داده شد و نیترات سریم به محلول حاصل اضافه گردید و سه ساعت روی هات پلیت استیرر قرار گرفت. رسوب شیری رنگ تشکیل شده همان نانوذرات اکسید سریم می‌باشد. با افزایش یا کاهش دما و همچنین تغییر PH می‌توان اندازه نانوذرات را تنظیم کرد.

آزمون CAM

آزمون پرده کوریو آلانتوئیک جوجه یک روش *In vivo* می‌باشد. در این روش از پرده کوریو آلانتوئیک جوجه که حاوی تعداد زیادی رگ می‌باشد، استفاده می‌شود و طی آن با ایجاد پنجره‌ای در پوسته تخم، تیمارهای مختلف روی پرده اعمال می‌گردد و پس از طی مدت زمان تعیین شده، میزان رگ‌زایی و تغییرات آن نسبت به نمونه کنترل مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در پژوهش حاضر از این آزمون جهت بررسی اثر ضد رگ‌زایی نانوذره اکسید سریم سنتز شده با عصاره گیاه انجبار در غلظت‌های مختلف استفاده گردید. ابتدا ۴۰ عدد تخم مرغ نطفه‌دار نژاد ROSS از شرکت مرغداران طوس تهیه شد و به دستگاه جوجه‌کشی منتقل گردید. شرایط دستگاه جوجه‌کشی شامل دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۵ درصد بود. پس از دو روز انکوباسیون، سوراخی کوچک در سمت پهن تخم مرغ و متعاقب آن در سمت پهلویی پنجره ایجاد شد و محل آن به وسیله لامل و پارافین استریل گردید و تخم مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شدند. سپس به طور تصادفی در گروه‌های ۱۰ تایی به شرح زیر جای گرفتند: گروه اول نمونه‌های کنترل فاقد تیمار، گروه دوم گروه کنترل آزمایشگاهی و گروه‌های سه تا پنج گروه‌های تیمار با نانوذره. در نمونه کنترل فقط پنجره ایجاد شده و در گروه‌های تحت تیمار، اثر نانوذره سریم در مقایسه با نمونه کنترل در غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت. در زمان تیمار تخم مرغ‌ها، برش‌هایی از اسفنج ژلاتینی تهیه گردید و روی پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه قرار داده شد و تیمار نمونه‌ها در این محل صورت گرفت.

پس از تیمار، پنجره تخم مرغ‌ها بسته شد و آن‌ها به دستگاه بازگردانده شدند. در روز دوازدهم پس از انکوباسیون، نمونه‌ها از دستگاه خارج شدند و پس از برداشتن پنجره‌ها از تمامی آن‌ها، تصاویر به کمک فتو استریو میکروسکوپ تحقیقاتی با درشت‌نمایی X 40 تهیه شدند (۱۹).

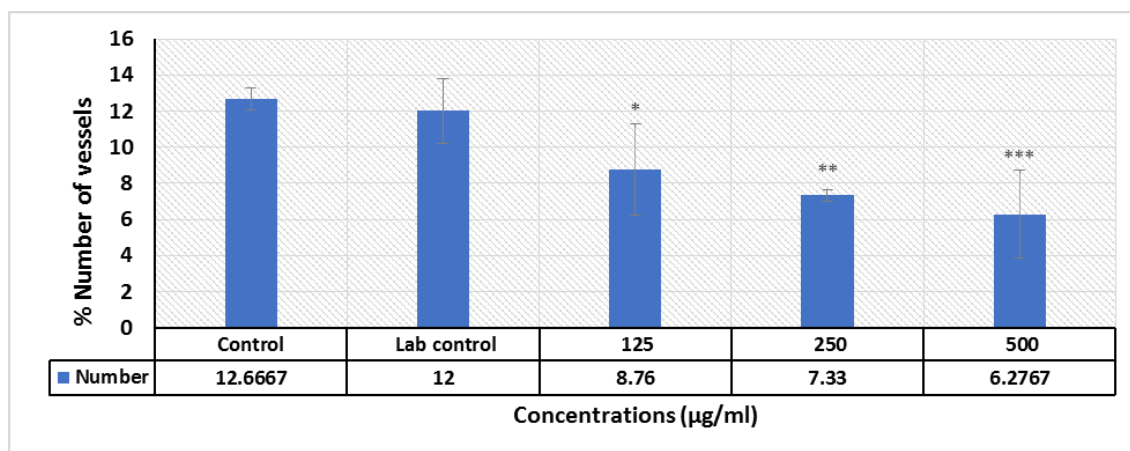
در کلیه مراحل آزمایش، معیارهای اخلاقی پژوهش رعایت گردیده است. این مقاله دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.MSHD.REC. 1398.059 از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی مشهد می‌باشد.

مقایسه نتایج بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد و ($P \leq 0.05$) به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی تعداد رگ‌ها تحت تأثیر نانوذرات اکسید سریم سنتز شده به روش سبز از گیاه انجبار ۱۲ روز پس از تیمار تخم مرغ‌ها با نانوذرات اکسید سریم

تصاویر مربوط به پرده کوریو آلانتوئیک با استفاده از نرم‌افزار Image J بررسی گردید. در غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کاهش معناداری ($P < 0.05$) در درصد تشکیل عروق در مقایسه با نمونه کنترل مشاهده شد (نمودار ۱). همچنین در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات اکسید سریم، کاهش معناداری ($P < 0.01$) در درصد تشکیل عروق در مقایسه با نمونه کنترل وجود داشت. در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز در مقایسه با نمونه کنترل، کاهش بسیار معناداری ($P < 0.001$) مشاهده گردید (نمودار ۱).

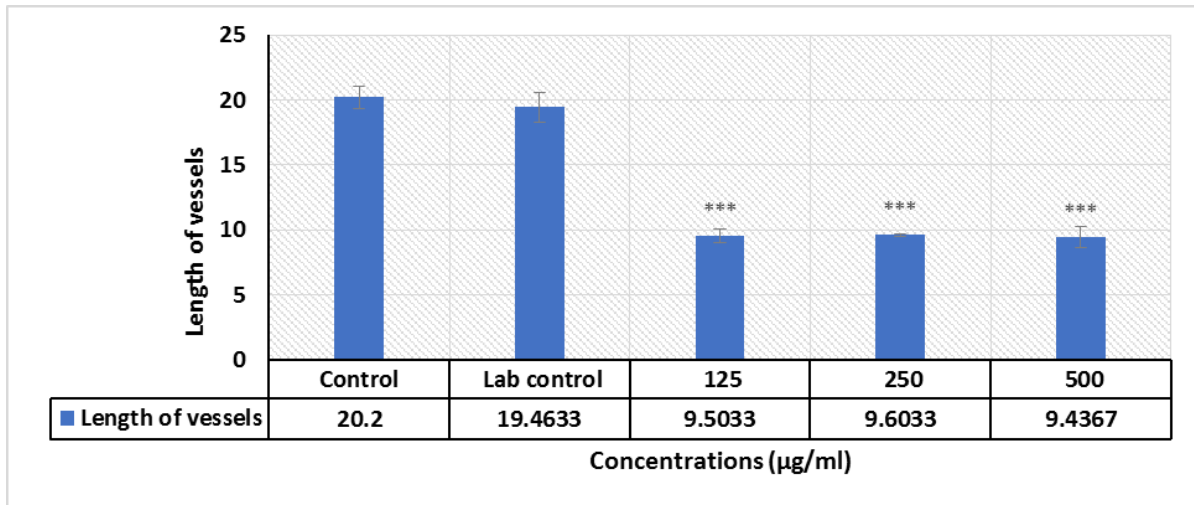


نمودار شماره ۱: مقایسه تعداد عروق تشکیل شده ۱۲ روز پس از تیمار با نانوذره

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات اکسید سربم نیز کاهش بسیار معناداری ($P < 0.001$) در اندازه طول عروق در مقایسه با نمونه کنترل وجود داشت. همچنین در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با نمونه کنترل، کاهش بسیار معناداری ($P < 0.001$) مشاهده گردید (نمودار ۲).

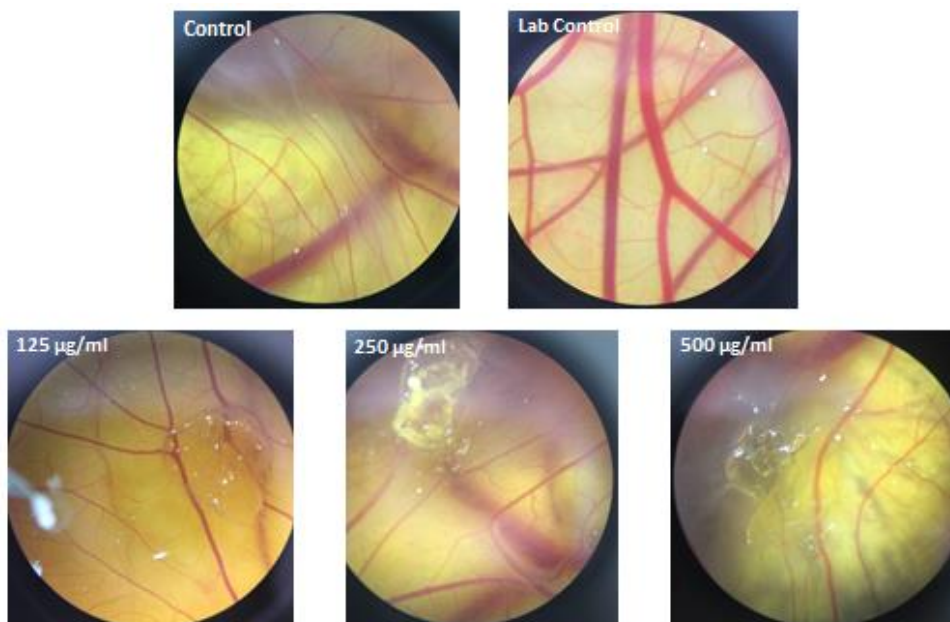
بررسی طول عروق در اثر تیمار با نانوذرات اکسید سربم سنتز شده به روش سبز از گیاه انجبار ۱۲ روز پس از تیمار تخم مرغها با نانوذرات اکسید سربم
 نتایج نشان می‌دهند که در غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کاهش بسیار معناداری ($P < 0.001$) در اندازه طول عروق در مقایسه با نمونه کنترل ایجاد شده است.



نمودار شماره ۲: مقایسه طول عروق تشکیل شده ۱۲ روز پس از تیمار با نانوذره
 $P < 0.001$ ***

نمونه شاهد (Control) در مقایسه با شاهد آزمایشگاهی (Lab Control)، در شاهد آزمایشگاهی علاوه بر ایجاد پنجره جانبی از آب مقطر به جای نانوذرات استفاده شد. در غلظت‌های بالا، تعداد و طول عروق کاهش محسوسی را نشان داد (تصویر ۱).

بررسی مورفولوژی پرده کوریو آلتوتویک جنین جوجه ۱۲ روز پس از تیمار با نانوذرات اکسید سربم
 تصاویر توسط استریو میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ تهیه شدند.

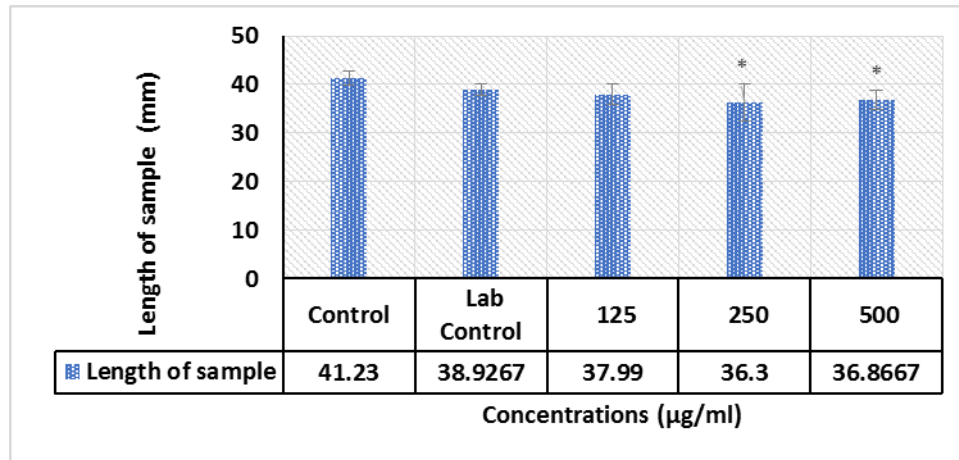


تصویر شماره ۱: مورفولوژی پرده کوریو آلتوتویک جنین جوجه در گروه‌های پنج‌گانه

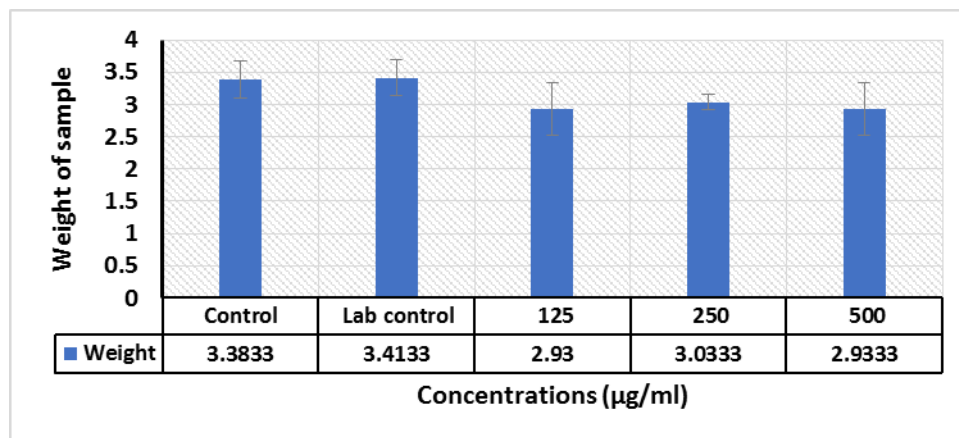
مطالعه تغییرات قد و وزن جنین در اثر تیمار با نانوذرات اکسید سریم سنتز شده به روش سبز

قد جنین جوجه در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

در مقایسه با نمونه کنترل کاهش معناداری ($P < 0.05$) را نشان می‌دهد (نمودار ۳)؛ اما پس از گذشت ۱۲ روز از تزریق نانوذرات، تغییر محسوسی در وزن جنین جوجه مشاهده نمی‌شود (نمودار ۴).



نمودار شماره ۳: مقایسه تغییرات قد جنین جوجه ۱۲ روز پس از تیمار با نانوذره $P < 0.05$ *



نمودار شماره ۴: مقایسه تغییرات وزن جنین جوجه ۱۲ روز پس از تیمار با نانوذره

بحث

امروزه افزایش مقاومت سرطان‌ها نسبت به درمان‌های رایج مشکل‌ساز شده است. مقاومت سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای شیمیایی منجر به کاهش سطح پاسخ این سلول‌ها نسبت به دارو و در نتیجه شکست اقدامات درمانی می‌شود؛ بنابراین، تحقیق و توسعه داروهای مؤثرتر و یا دارای اثرات جانبی کمتر از اهمیت بسیاری برخوردار است (۲۰).

عادی شدن فرایند رگ‌زایی تحت تأثیر عوامل مهارکننده VEGF روشی برای افزایش اثرات ضد توموری در شیمی‌درمانی می‌باشد؛

اما به دلیل آنکه وابسته به غلظت و زمان است، برای استفاده بالینی با مشکلاتی مواجه می‌باشد. درمان‌های رشد عروق و ضد انعقادی، فرصت جدیدی برای اثبات تأثیر درمان‌های ضد سرطانی هستند. آگاهی بیشتر نسبت به مفهوم توسعه عروق، عوامل ضد انعقاد و تأثیر آن‌ها بر جلوگیری از سرطان در آینده باعث جلب توجه محققان به این حوزه خواهد شد. با این وجود، چالش‌ها و موانع در این مسیر برای استفاده کامل از فرایندها در بیماران مبتلا به سرطان می‌بایست مورد توجه قرار گیرد (۲۱).

، (ROS: Reactive Oxygen Species) در سلول‌های A2780، کاهش فاکتورهای رشد (stromal derived factor-1 =SDF1)، heparin-binding epidermal growth factor =HB-EGF و vascular endothelial growth factor= VEGF165 و (hepatocyte growth factor= HGF) و نیز کاهش مهاجرت سلولی و تهاجم سلول‌های SKOV3 بدون تأثیر بر تکثیر سلول‌ها شده است.

از سوی دیگر، درمان NCE مانع تکثیر القا شده توسط VEGF165، تشکیل لوله‌های مویرگی و فعال‌سازی VEGFR2 و MMP2 (Matrix Metalloproteinase 2) در سلول‌های اندوتلیال عروقی انسانی (HUVEC: Human umbilical vein endothelial cells) می‌شود (۲۵).

در مطالعه انجام شده توسط صفوی و همکاران نیز مشخص شد که نانوذرات اکسید روی تهیه شده به روش سبز از عصاره آبی ریشه گیاه انجبار می‌تواند به طور معناداری میزان رگ‌زایی بر پرده کوریو آلاتوئیک تخم مرغ را تحت تأثیر قرار داده و این روند را کاهش دهد. به نظر می‌رسد نانوذرات اکسید روی و اکسید سریم عملکرد مشابهی در رابطه با رگ‌زایی دارند (۲۶).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه نانوذرات اکسید سریم سنتز شده به روش سبز از گیاه انجبار قادر است با کاهش فرایند رگ‌زایی در درمان برخی از بیماری‌های مرتبط با آنژیوژنز از جمله سرطان مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از کارکنان گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در راستای انجام این مطالعه همکاری نمودند، اعلام می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی با یکدیگر ندارند.

شیمی‌درمانی به همراه داروهای ضد

(vascular endothelial growth factor receptor) VEGFR (مانند Ramucirumab و Apatinib) در مدیریت سرطان معده به روشنی اثبات شده است (۲۲).

برای سالیان دراز روش‌های ضد رگ‌زایی با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال یک روش مؤثر در سرکوب پیشرفت تومور و متاستاز به همراه شیمی‌درمانی بوده و به ویژه Bevacizumab پرفروش‌ترین محصول در میان محصولات سرطانی در سال ۲۰۱۶ بوده است. انقضای Bevacizumab موجب توسعه انواع مشابه و آنتی‌بادی‌های آنژیوژنیک گردیده که شامل آنتی‌بادی‌هایی می‌شود که عامل VEGF را هدف قرار می‌دهند. آنتی‌بادی‌هایی که دارای جایگاه اختصاصی هستند نیز همراه Bevacizumab استفاده می‌شوند. برای بهبود مستمر حیات بیماران و کیفیت زندگی آن‌ها، نسل بعدی آنتی‌بادی‌های درمانی می‌بایست به نیازهای درمانی از نظر تنوع تأثیر و مقاومت دارویی پاسخ دهد (۲۳).

در این راستا در پژوهشی که توسط Das و همکاران انجام شد، بیان گردید که

CNPs (Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase) باعث ایجاد رگ‌زایی می‌شود و این فعالیت به شدت وابسته به حالات واکنش سطح می‌باشد. به طور خاص، کاهش یافته منجر به تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل لوله در کشت سلولی *in vitro* و انشعاب عروقی *in vivo* می‌شود. علاوه بر این، CNPs باعث تثبیت HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor 1-alpha) در سلول‌های اندوتلیال شده و تنظیم ژن را تغییر می‌دهد که این امر موجب آنژیوژنز می‌شود. نسبت Ce^{3+}/Ce^{4+} و اندازه ذرات، کلیدی برای آنژیوژنز بوده و CNPs قادر به انجام فعالیت کاتالیزوری به عنوان مدولاتور اکسیژن از طریق ارائه مسیرهای آسان برای آزادسازی و تجدید اکسیژن داخل سلولی می‌باشد (۲۴).

همچنین در مطالعه‌ای که Giri و همکاران انجام دادند، بیان نمودند که نانو سریا (NCE) به طور قابل ملاحظه‌ای باعث مهار تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی

References:

1. Carretero A, León Z, García-Cañaveras JC, Zaragoza Á, Gómez-Lechón MJ, Donato MT, et al. In vitro/in vivo screening of oxidative homeostasis and damage to DNA, protein, and lipids using UPLC/MS-MS. *Anal Bioanal Chem* 2014;406(22):5465-76. PMID: 24969468
2. Celardo I, Pedersen JZ, Traversa E, Ghibelli L. Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles. *Nanoscale* 2011;3(4):1411-20. PMID: 21369578
3. Liying HE, Yumin SU, Lanhong J, Shikao SH. Recent advances of cerium oxide nanoparticles in synthesis, luminescence and biomedical studies: a review. *J Rare Earths* 2015;33(8):791-9. Link
4. Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene* 2003;22(42):6549-56. PMID: 14528279
5. Fam PN, Verma S, Kutryk M, Stewart JD. Clinician guide to angiogenesis. *Circulation* 2003;108(21):2613-8. PMID: 14638526
6. Folkman J. Proceedings: tumor angiogenesis factor. *Cancer Res* 1974;34(8):2109-13. PMID: 4842257
7. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res* 2001;49(3):507-21. PMID: 11166264
8. Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Mosc)* 2008;73(7):751-62. PMID: 18707583
9. Ucuzian AA, Gassman AA, East AT, Greisler HP. Molecular mediators of angiogenesis. *J Burn Care Res* 2010;31(1):158-75. PMID: 20061852
10. Ruhrberg C. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *J Cell Sci* 2001;14(Pt 18):3215-6. PMID: 11591810
11. Martinez A. A new family of angiogenic factors. *Cancer Lett* 2006;236(2):157-63. PMID: 15927357
12. Welti J, Loges S, Dimmeler S, Carmeliet P. Recent molecular discoveries in angiogenesis and antiangiogenic therapies in cancer. *J Clin Invest* 2013;123(8):3190-200. PMID: 23908119
13. Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. *Pflugers Arch* 2009;457(5):963-77. PMID: 18704490
14. Shibuya M. VEGF-VEGFR signals in health and disease. *Biomol Ther (Seoul)* 2014;22(1):1-9. PMID: 24596615
15. Friesel RE, Maciag T. Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal transduction. *FASEB J* 1995;9(10):919-25. PMID: 7542215
16. Pasquet M, Golzio M, Mery E, Raffi A, Benabbou N, Mirshahi P, et al. Hospicells (ascites-derived stromal cells) promote tumorigenicity and angiogenesis. *Int J Cancer* 2010;126(9):2090-101. PMID: 19739074
17. Semenza LG. Vasculogenesis, angiogenesis, and arteriogenesis: mechanisms of blood vessel formation and remodeling. *J Cell Biochem* 2007;102(4):840-7. PMID: 17891779
18. Heyadri M, Hashempur MH, Ayati MH, Quintern D, Nimrouzi M, Mosavat SH. The use of Chinese herbal drugs in Islamic medicine. *J Integr Med* 2015;13(6):363-7. PMID: 26559361
19. Lokman NA, Elder AS, Ricciardelli C, Oehler MK. Chick chorioallantoic membrane (CAM) assay as an in vivo model to study the effect of newly identified molecules on ovarian cancer invasion and metastasis. *Int J Mol Sci* 2012;13(8):9959-70. PMID: 22949841
20. Ramezani T, Baharara J. A review on angiogenesis in tumor. *J Cell Tissue* 2014;5(1):89-100. Link

21. Huang D, Lan H, Liu F, Wang S, Chen X, Jin K, et al. Anti-angiogenesis or pro-angiogenesis for cancer treatment: focus on drug distribution. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(6):8369-76. PMID: 26309490
22. Mawalla B, Yuan X, Luo X, Chalya PL. Treatment outcome of anti-angiogenesis through VEGF-pathway in the management of gastric cancer: a systematic review of phase II and III clinical trials. *BMC Res Notes* 2018;11(1):21. PMID: 29329598
23. Kong DH, Kim MR, Jang JH, Na HJ, Lee S. A review of anti-angiogenic targets for monoclonal antibody cancer therapy. *Int J Mol Sci* 2017;18(8):E1786. PMID: 28817103
24. Das S, Singh S, Dowding JM, Oommen S, Kumar A, Sayle TX, et al. The induction of angiogenesis by cerium oxide nanoparticles through the modulation of oxygen in intracellular environments. *Biomaterials* 2012;33(31):7746-55. PMID: 22858004
25. Giri S, Karakoti A, Graham RP, Maguire JL, Reilly CM, Seal S, et al. Nanoceria: a rare-earth nanoparticle as a novel anti-angiogenic therapeutic agent in ovarian cancer. *PloS One* 2013;8(1):e54578. PMID: 23382918
26. Safavi E, Homayouni TM, Karimi E. Investigation of antiangiogenic properties of green ZnO nanoparticles synthesized by root extract of *Panicum bispurpureum*. *J Ilam Univ Med Sci* 2018;26(2):45-56. Link