Original Article

Anti-Angiogenic Effect of Aqueous Extract of Shallot (*Allium ascalonicum*) Bulbs in Rat Aorta Ring Model

Hamid Reza Mohammadi Motlagh, M.Sc.[1], Kamran Mansouri, M.Sc.[2], Yadollah Shakiba, M.D.[2], Maryam Keshavarz, M.Sc.[3], Reza Khodarahmi, Ph.D.[2], Abbas Siami, Ph.D.[1], Ali Mostafaie, Ph.D.[2]*

1. Biology Department, Faculty of Sciences, Azarbaijan University of Tarbiat Moallem, Tabriz, Iran
2. Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3. Biology Department, Faculty of Sciences, Razi University, Tehran, Iran

**** Corresponding Address: P.O.Box: 1568, Medical Biology Research Center, Sorkheh Ligeh, Kermanshah, Iran***
Email: amostafaie@kums.ac.ir

Received: 11/May/2008, Accepted: 12/Nov/2008

Abstract

Objective: Angiogenesis is a key process in the promotion of cancer and its metastasis. Many natural health products inhibit angiogenesis. Because of the lack of molecular studies on anti-tumor and anti-angiogenic effects of shallot (*Allium ascalonicum*); except a few clinical studies on other shallot properties, such as the anti-proliferative effect of shallot chloroformic extract on two tumor cell lines, the present study focuses on the anti-angiogenic effect of aqueous shallot extract using an aorta ring model.

Materials and Methods: Aortic rings were obtained by cross-sectioning, at 1-2 mm intervals, the thoracic aorta of 4-8 weeks old Wistar male rats and cultured them in a thin drop of type I collagen gel. After 3 days of culturing and first sprouting, the extract of *A. ascalonicum* (from 25 to 800 µg/ml) was added to cultures. The results of anti-angiogenic activity were investigated by microscope. The cytotoxicity of extract at different doses on HUVECs was measured by trypan blue assay.

Results: The results showed that the shallot extract has suitable anti-angiogenic effect in a range of 50 to 800 µg/ml, but in 25 µg/ml, the extract has no considerable effect. In addition, a tangible cytotoxic effect on endothelial cells at the above mentioned doses was observed.

Conclusion: Our study showed that aqueous extract of *A. ascalonicum* bulbs has noticeable anti-angiogenic activity without toxic effect on the cells in doses that ranged from 50-800 µg/ml. Therefore, *A. ascalonicum* can be a potential candidate for further investigations used in angiogenesis-related pathologic conditions.

Keywords: Angiogenesis, *Allium ascalonicum*, Aortic Rings, Endothelial Cells, Aqueous Extract

Yakhteh Medical Journal, Vol 11, No 2, Summer 2009, Pages: 190-195

بررسی اثر ضد رگ‌زایی عصاره آبی پیازچه موسیر در مدل حلقه آئورت موش صحرایی

حمیدرضا محمدی مطلق M.Sc.[1]، کامران منصوری M.Sc.[2]، یداله شکیبا M.D.[2]، مریم کشاورز M.Sc.[3]،
رضا خدارحمی Ph.D.[2]، عباس صیامی Ph.D.[1]، علی مصطفایی Ph.D.[2*]

۱. دانشگاه تربیت معلم آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تبریز، ایران
۲. دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، کرمانشاه، ایران
۳. دانشگاه رازی کرمانشاه، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، کرمانشاه، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، کرمانشاه، صندوق پستی: ۱۵۶۸، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی
پست الکترونیک: Email: amostafaie@kums.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۷/۲/۲۲، پذیرش مقاله: ۸۷/۸/۲۲

چکیده

* **هدف:** بررسی فعالیت ضد رگ‌زایی عصاره آبی موسیر در مدل حلقه آئورت موش صحرایی
* **مواد و روش‌ها:** ابتدا آئورت موش صحرایی را به قطعات ۱ تا ۲ میلی‌متری در آورده سپس در ماتریکس کلاژن نوع یک کشت داده شد. پس از ظاهر شدن نخستین جوانه‌ها از حلقه آئورت در روز سوم، عصارهٔ آبی گیاه موسیر (در غلظت‌های ۲۵ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به نمونه‌ها اضافه گردید. در نهایت، نتایج فعالیت ضد رگ‌زایی آن با میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. سمی بودن غلظت‌های مختلف عصاره موسیر روی سلول‌های اندوتلیال بندناف انسان با روش تریپان‌بلو مورد سنجش قرار گرفت.
* **یافته‌ها:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره موسیر اثر ضد رگ‌زایی مناسبی در محدوده غلظتی ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دارد ولی در غلظت ۲۵ میکروگرم، اثری محسوس در مهار رگ‌زایی ندارد. هم‌چنین، مشخص شد که عصاره در غلظت‌های فوق، اثر سمی محسوسی بر روی سلول‌های اندوتلیال ندارد.
* **نتیجه‌گیری:** مطالعه نشان داد که عصارهٔ آبی پیازچه‌های موسیر دارای فعالیت مهار رگ‌زایی چشم‌گیر است که بدون اثر سمی بر روی سلول‌ها در دامنهٔ غلظتی ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. بنابراین موسیر یک نامزد مناسب برای تحقیقات بیشتر به عنوان یک داروی مورد استفاده در حالات پاتولوژیک وابسته به رگ‌زایی است.

* **کلیدواژگان:** رگ‌زایی، موسیر، حلقه‌های آئورت، سلول‌های اندوتلیال، عصاره آبی
فصلنامه پزشکی یاخته، سال یازدهم، شماره ۲، تابستان ۸۸، صفحات: ۱۹۵-۱۹۰

مقدمه

آنژیوژنز یا رگ‌زایی به معنی تشکیل مویرگ‌های جدید از عروق اولیه است (۱). رگ‌زایی در حالات مختلف پاتولوژیک از قبیل رشد تومور، متاستاز، آرتریت و همچنین در فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد ونمو اندام، ترمیم زخم و تولید مثل دخیل می‌باشد (۲). فرضیه‌ای که رشد تومور وابسته به رگ‌زایی است، اولین بار توسط فولکمن مطرح شد (۳). گسترش تومور سفت وابسته به ایجاد عروق جدید است و مهار ایجاد رگ به طرف آن می‌تواند رشد تومور را متوقف کند. تومورهای جامد با ضخامت بیش از ۲ تا ۳ میلی‌متر، قادر به تامین خون مورد نیاز خود نبوده و نمی‌توانند رشد کنند و نیازمند عروق جدید هستند (۴). از همین روی بسیاری از محققین، اثرات فاکتورهای تحریک کننده و مهارکننده رگ‌زایی را به دلیل اهمیت آنها در جلوگیری از بروز و درمان این نوع بیماری‌ها، در انواعی از مدل‌های آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار داده‌اند.

از زمان باستان تا کنون، گیاهان جهت پیشگیری یا درمان بسیاری از بیماری‌ها قرار می‌گرفته‌اند. گیاهان حاوی ترکیبات فعالی هستند که در میان آنها ترکیباتی با ویژگی‌های مؤثر بر روی رگ‌زایی وجود دارند. گیاهان، کوکتل‌های شیمیایی پیچیده‌ای با خواص دارویی هستند که داروسازی مدرن امروزی هم نمی‌تواند آن را تولید کند (۵). گیاه موسیر (*Allium ascalonicum*) گونه‌ای از خانواده بزرگ لاله‌سانان است. این خانواده متشکل از حدود ۵۰۰ گونه مختلف شناخته شده است و علاوه بر موسیر، گونه‌های مهم و شناخته شده دیگری از قبیل سیر، پیازها و تره‌فرنگی را در بر می‌گیرد که در سرتاسر جهان مورد استفاده غذایی و دارویی هستند (۶، ۷). گیاهان آلیوم از زمان‌های باستان به عنوان داروی سنتی محلی متداول بوده و چنین گیاهانی برای قرن‌ها به خاطر ارزش و خواص دارویی مختلف خود مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این گیاهان غنی از فلاونول‌ها و ترکیبات ارگانوسولفوری هستند و در مطالعات آزمایشگاهی ویژگی‌های ضدسرطانی از خود نشان داده‌اند (۷، ۸).

موسیر گیاهی سنتی شبیه به سیر بوده اما پیازچه‌های آن نسبت به سیر تیره‌تر است و در رژیم غذایی، بیشتر به عنوان چاشنی غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات متعددی تاکنون در مورد خواص و ویژگی‌های موسیر صورت گرفته که از جملهٔ آنها می‌توان به اثرات هیپوکلسترولمی (۹)، داشتن فعالیت ممانعت از همولیز و تخلیهٔ گلوتاتیون ناشی از فشار استرس در اریتروسیت انسان (۱۰)، اثر هیپوگلیسمی (۱۱)، اثرات ضد باکتریایی (۱۲)، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالا (۹، ۱۳) و اثرات هماتولوژیکی (۱۴) اشاره کرد. علاوه بر اینها برخی از ترکیبات مؤثر این گیاه مثل پپتید ضد قارچ آسکالین (۱۵) و لکتین اختصاصی مانوز (۱۶) شناسایی و جداسازی شده‌اند. در این مطالعه، با استفاده از مدل استاندارد آزمایشگاهی حلقه آئورت که

یکی از مدل‌های معتبر رگ‌زایی محسوب می‌گردد، برای نخستین بار فعالیت ضدرگ‌زایی عصارهٔ موسیر را مورد سنجش قرار دادیم. نتایج این تحقیق به خوبی نشان داد که گیاه موسیر دارای اثر ضدرگ‌زایی قابل توجهی می‌باشد و به همین دلیل می‌تواند در تحقیقات مربوط به بیماری‌های متأثر از رگ‌زایی از جمله در زمینهٔ جلوگیری و درمان سرطان مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

عصاره گیری

حدود ۱۰۰ گرم از پیازچه‌های سالم گیاه موسیر انتخاب و پوسته خارجی آنها جدا شد، سپس پیازچه‌ها در یک دستگاه آسیاب برقی به صورت ماده نرمی درآمد. پس از له شدن کامل بافت موسیر، با نسبت ۱ به ۱ آب دیونیزه استریل (۱۰۰میلی‌لیتر) مخلوط و با همزن به آرامی هم زده شد. پس از عصاره‌گیری کامل، عصاره جهت صاف شدن تحت شرایط ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و مایع رویی جدا گردید. سپس با استفاده از دستگاه فریز درایر به صورت پودر خشک درآمده و در فریزر نگهداری شد. برای هر بار استفاده، مقدار مورد نیاز از آن وزن و در محیط کشت حل گردید.

اثر عصاره موسیر بر روی مدل آنژیوژنز حلقه آئورت

در این آزمایش، از موش‌های صحرایی نژاد ویستار (Wistar) که سن آنها بین ۴ تا ۸ هفته بود و ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم وزن داشتند، استفاده گردید. روش کار با اندکی تغییرات و بر اساس روش استاندارد نیکوزیا و اوتینتی (۱۷) به صورت زیر انجام شد:

ابتدا موش‌ها با استفاده از کلروفرم بیهوش گردیدند (بر اساس مصوبه کمیته اخلاق مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه) و محل حفره شکمی با استفاده از الکل ۷۰ درصد استریل شد. حفرهٔ شکمی با استفاده از ست جراحی باز شد و پس از پیدا کردن آئورت سینه‌ای، قطعه‌ای با طول مناسب از آئورت جدا گردید و بلافاصله به بافر فسفات استریل که حاوی آنتی بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) و استروپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بود، منتقل شد. در مرحله بعد در شرایط استریل و در زیر هود کشت سلولی، ابتدا بافت زائد چربی اطراف با استفاده از قیچی و پنس جراحی پاک گردید و آئورت چند بار با بافر فسفات شست‌وشو داده شد تا درون آن از وجود باقی‌مانده خون و ترکیبات اضافی پاک شود. در نهایت با استفاده از تیغ جراحی، آئورت به حلقه‌های ۱ تا ۲ میلی‌متری قطعه قطعه گردید و به درون چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه‌ای منتقل شد. بلافاصله روی قطعات کاشته شده با لایه‌ای نازک به ضخامت ۴ میلی‌متر از محلول کلاژن نوع یک (با غلظت ۳ تا ۴ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) پوشانده شد. پلیت به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شد تا محلول کلاژن به صورت کامل ژل گردد. پس از تشکیل ژل پایدار کلاژن، از محیط کشت DMEM حاوی ۲۰ درصد سرم گوساله (Fetal Calf Serum :FCS) و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) و استروپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به آن اضافه گردید. پس از ۳ روز از زمان کشت و پیدایش اولین جوانه‌های کوچک عروق از حلقه‌های آئورت، عصاره موسیر در غلظت‌های مختلف ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ (میکروگرم در هر میلی‌لیتر عصاره) به صورت دوتایی به چاهک‌ها اضافه گردید. چند چاهک هم به عنوان کنترل انتخاب شد. پلیت به انکوباتور منتقل شد و پس از گذشت ۴ روز دیگر از نتایج حاصله با استفاده از دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ نوع اینورت (Olympus-IM) عکس‌برداری شد و مورد بررسی و تفسیر قرار گرفت. هر آزمایش حداقل سه بار تکرار شد. برای تعیین درصد مهار رگ‌زایی که شامل ممانعت از تعداد و طول جوانه‌های عروقی حاصل از حلقه آئورت بود از نرم‌افزار آنژیوژنز Angiosys Software TCS cellwork Ltd استفاده گردید.

تعیین درصد سمیت عصاره گیاه موسیر بر روی سلول‌های اندوتلیال

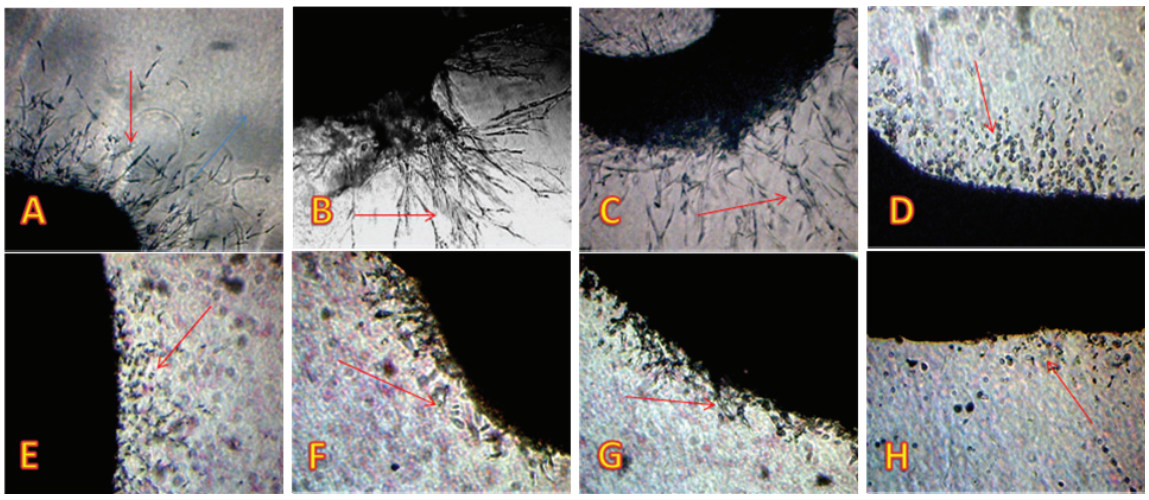
برای تعیین میزان سمی بودن عصارهٔ موسیر بر روی سلول‌های اندوتلیال، تعداد 10^4 سلول در هر چاهک از سلول‌های اندوتلیال لاین بندناف انسان (HUVEC) (انستیتو پاستور) همراه با محیط کشت DMEM حاوی FCS به هر چاهک پلیت ۲۴ خانه‌ای اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت که سلول‌ها به کف پلیت چسبیده و به تراکم مناسب رسیدند، این سلول‌ها با غلظت‌های به کار رفته از عصارهٔ موسیر در مدل حلقه آئورت، به مدت ۷۲ ساعت مورد تیمار قرار گرفتند. پس از گذشت این مدت، سلول‌های هر چاهک به طور جداگانه تریپسینه گشته و سوسپانسیون‌های سلولی در میکروتیوب‌های جداگانه با بافر فسفات نمکی PBS و سانتریفیوژ در ۱۵۰۰ دور در دقیقه چند بار شست‌وشو داده شد. سپس با اضافه کردن چند میلی‌لیتر بافر PBS به هر یک از رسوب‌های سلولی حاصل، سلول‌ها به حالت سوسپانسیون درآورده شد. پس از مخلوط کردن ۱۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون با ۱۰ میکرولیتر از رنگ حیاتی تریپان‌بلو ۰/۴ درصد (Gibco)، قطره‌ای از آن بر روی لام شمارش سلول (لام نئوبار) قرار داده و با میکروسکوپ مشاهده شد. در نهایت، میزان سمی بودن عصاره در غلظت‌های مختلف با استفاده از درصد سلول‌های زنده نسبت به کل سلول‌های شمارش شده طبق فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفت:

۱۰۰ × (تعداد کل سلول‌ها / تعداد سلول‌های رنگ نگرفته) = درصد بقا

یافته‌ها

در این مطالعه پس از عصاره‌گیری آبی از پیازچه‌های گیاه موسیر با استفاده از دستگاه فریز درایر پودر خشک آن تهیه شد که بازده مادهٔ خشک آن نسبت به وزن تر گیاه ۳۰ درصد محاسبه شد. پودر حاصله حلالیت مطلوبی در بافر فسفات نمکی (PBS) به عنوان یک بافر فیزیولوژیک داشت. با توجه به تجربیات قبلی مقادیر مختلفی از عصاره با غلظت‌های معینی شامل ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم انتخاب شده و پس از پیدایش اولین جوانه‌های عروق از نمونه‌های حلقه آئورت موش صحرائی (شکل 1A) به محیط عمل اضافه گردید. پس از گذشت ۴ تا ۷ روز، نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر روی مدل با استفاده از میکروسکوپ مشاهده و از آنها عکس‌برداری شد که در شکل ۱ قابل مشاهده است. نتایج نشان داد که عصاره آبی موسیر در غلظت ۲۵ میکروگرم دارای اثر محسوسی در مهار تشکیل عروق جدید از حلقه آئورت ندارد (شکل 1C). در غلظت ۵۰ میکروگرم عصاره اثر ممانعت کنندگی نسبی بر روی مدل مورد مطالعه داشت و رشد جوانه‌ها پس از اندکی پیشرفت دچار توقف و از گسترش آنها ممانعت گردید (شکل 1D).

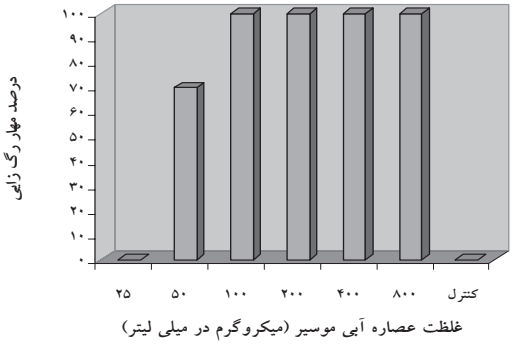
علاوه بر این، در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره، مهار رگ‌زایی به طور کامل صورت گرفت و در اکثر موارد جوانه‌ها دچار پسرفت و اضمحلال نیز شدند (شکل 1E تا 1H). نتایج حاصل از مهار رگ‌زایی غلظت های مختلف عصاره موسیر به صورت



شکل ۱: اثر مهارکنندگی بر روی آنژیوژنز عصاره آبی موسیر با استفاده از مدل حلقه آئورت. تصاویر با استفاده از میکروسکوپ نوری معکوس (Olympus-IM) گرفته شده‌اند (بزرگ‌نمایی ۱۰۰×). پدیدار شدن زواید شبه رگی از حلقه آئورت کشت شده در ماتریکس کلاژن در روز سوم (A). گسترش و بلوغ جوانه‌های عروقی در روز هفتم (B). غلظت ۲۵ میکروگرم که قادر به مهار آنژیوژنز نبود (C). اثر ضدآنژیوژنزی عصاره آبی موسیر در غلظت‌های ۵۰ میکرو گرم در هر میلی‌لیتر با اثر مهاری ضعیف (D)، ۱۰۰ (E) ، ۲۰۰ (F)، ۴۰۰ (G)، ۸۰۰ میکرو گرم در هر میلی‌لیتر (H) به خوبی قابل مشاهده می‌باشد.

نمودار ستونی در شکل ۲ قابل مشاهده است که در آن درصد مهار رگ‌زایی توسط غلظت‌های مختلف عصاره مشخص است.

همان طور که در این نمودار نشان داده می‌شود عصاره موسیر در دامنه غلظتی ۱۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر رگ‌زایی را در مدل حلقه آئورت به طور کامل تا ۷ روز مهار نموده است.



شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی موسیر بر روی ایجاد و رشد جوانه‌های عروقی در مدل رگ‌زایی حلقه آئورت. محاسبه درصدهای به دست آمده توسط نرم‌افزار آنژیوژنز Angiosys software TCS cell work Ltd محاسبه گردیده‌اند (p<۰/۰۰۵).

برای بررسی اثر سمی بودن عصاره موسیر از سلول‌های اندوتلیال بندناف انسان استفاده گردید؛ زیرا سلول‌های اندوتلیال ارکان اصلی پدیده آنژیوژنز را در هر بافتی تشکیل می‌دهند و برای این منظور انتخاب شدند. نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های به کار رفته در مدل با استفاده از رنگ حیاتی تریپان‌بلو نشان داد که پس از گذشت ۷۲ ساعت از تیمار آنها با غلظت‌های متنوع عصاره دارای درصد بقای ۹۰ درصد بودند و به همین دلیل عصاره حتی در غلظت بیش از ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز اثر سمی محسوس بر روی سلول‌ها نداشت.

بحث

رگ‌زایی یا گسترش عروق خونی جدید از ساختار رگی موجود، فرایند پیچیده‌ای است که در آن سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های ماهیچه صاف، پری‌سیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و همچنین ماتریکس خارج سلولی و انواعی از فاکتورهای محلول نقش ایفا می‌کنند (۱۸). با توجه به اهمیت رگ‌زایی در حالات فیزیولوژیک و پاتولوژیک، انواعی از مدل‌های آزمایشگاهی جهت مطالعه این فرایند پیچیده و تشریح مراحل اختصاصی منتج به گسترش بلوغ عروق خونی، ابداع و توسعه یافته است. به عنوان مثال، سلول‌های اندوتلیال اولیه و سلول‌های ماهیچه صاف کشت داده شده در محیط *in vitro* قادر به رشد بوده و به این ترتیب به طور وسیعی می‌توان از آنها در مطالعه آنژیوژنز استفاده کرد (۱۹).

رگ‌زایی را همچنین می‌توان به صورت *ex vivo* با استفاده از کشت قطعات پیوندی حلقه‌های آئورت در ژل‌های بیولوژیک مورد مطالعه قرار داد. قطعات نازکی از آئورت موش صحرایی کاشته شده در ماتریکس‌های کلاژن یا فیبرین، در غیاب فاکتورهای رشد بیرونی، قابلیت تشکیل عروق خونی جدیدی دارند که از دیواره رگ موجود جوانه می‌زند (۱۷، ۲۰). آزمایش استاندارد *ex vivo* آئورت موش صحرایی شکاف بین مدل‌های *in vivo* و *in vitro* را پر می‌کند و مزایایی از هر دو سیستم را در بر می‌گیرد و اثرات رگ‌زایی و ضد رگ‌زایی فاکتورهای محلول مختلف یا فاکتورهای ماتریکسی به آسانی با استفاده از این مدل قابل ارزیابی و سنجش خواهد بود، به همین دلیل در این مطالعه از این مدل استفاده کردیم.

مطالعات نشان می‌دهد که غذاها به خصوص غذاهای با منشا گیاهی، پتانسیل پیشگیری از حدود یک سوم سرطان‌ها را دارند (۲۱). مصرف رژیم غذایی گیاهی می‌تواند از گسترش و پیشرفت بیماری‌های مزمن مثل تومورهای بدخیم سفت که سترش و پیشرفت آنها با رگ‌زایی ارتباط دارد، جلوگیری کند (۲۲). به عنوان مثال می‌توان به کشف اثرات ضد رگ‌زایی تاکسول

از پوست درخت Taxus Brevifolia (۲۳)، جداسازی ترکیب مهارکننده رگ‌زایی کامپتوتسین (Camptothecin) از درخت Camptotheca Acuminata (۲۴)، جداسازی پپتید ضدرگ‌زایی از سویا (۲۵) و مطالعه بر روی خاصیت ضدرگ‌زایی چای سبز (۲۶) و دهها ترکیب ضد رگ‌زایی شناسایی شده دیگر با منشا گیاهی اشاره کرد.

گیاه موسیر که گونه مهمی از جنس آلیوم (*Allium*) محسوب می‌گردد از دیرباز در بسیاری از کشورها از جمله ایران مصارف درمانی سنتی یا غذایی داشته است. این گیاه دارای خواص شناخته شده‌ای مثل اثر بر روی شاخص‌های هماتولوژیکی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، خواص ضد قارچ و ضد باکتریایی بوده که مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۵-۱۲). علاوه بر این، ترکیب شیمیایی آن نشان می‌دهد که دارای ترکیبات زیادی مثل ارگانوسولفورها و پلی فنول‌ها بوده که بسیار مشابه ترکیبات موجود در گونه‌های هم‌خانواده آن می‌باشد (۸-۶).

طبق شواهد موجود تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر ممانعت از رگ‌زایی ناشی از این گیاه انجام نشده و تحقیق حاضر ظاهرا اولین مطالعه در این زمینه می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، معلوم گردید که عصاره آبی پیازچه موسیر در طیف نسبتا مناسبی از غلظت‌ها در دامنه‌ای از ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به صورت وابسته به دوز دارای اثر مهاری مطلوب و قابل توجه بر روی رگ‌زایی است.

نتایج حاصل از میزان سمی بودن عصاره موسیر بر روی سلول‌های اندوتلیال بندناف انسان نشان داد که این عصاره در محدوده غلظتی مورد استفاده اثر سمی محسوسی نداشته و در تمام غلظت‌های مورد مطالعه، سلول‌های تیمار شده بعد از گذشت ۷۲ ساعت میزان بقای بالای ۹۰ درصد نشان می‌دهند. بدین لحاظ اثر مهارکنندگی عصاره بر روی رگ‌زایی ناشی از فعالیت ضد رگ‌زایی آن بوده و ناشی از اثر توکسیک یا نامطلوب بر روی سلول‌ها نبوده است. لذا شناسایی این ویژگی مهم گیاه موسیر به همراه دیگر ویژگی‌های مفید و مؤثر آن، اهمیت آن را بیش از پیش می‌نماید. بنابراین با توجه به مصرف آن در جوامع مختلف و با توجه به اثر مهار رگ‌زایی آن و نقش مسلم این پدیده در بروز و گسترش بیماری‌های مزمن مختلف از جمله بیماری سرطان، نقش پیشگیرانه آن در بروز این بیماری‌ها اهمیت بسیاری پیدا می‌کند. علاوه بر این، با توجه به علاقه محققان برای کشف و استفاده از داروهای با منشا طبیعی به علت عوارض جانبی کمتر جهت درمان اینگونه بیماری‌ها، گیاه موسیر در این زمینه می‌تواند مورد توجه بیشتری قرار گیرد البته یافتن ترکیب یا ترکیبات احتمالی موثر و مکانیسم اثر آنها در پدیدهٔ رگ‌زایی مقوله‌ای است که روشن شدن آن نیازمند تحقیقات بیشتر و کمی‌تر است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه برای اولین بار نشان داد که عصاره آبی گیاه موسیر به صورت وابسته به دوز دارای اثر مهاری قوی بر روی رگ‌زایی در مدل رگ‌زایی حلقه آئورت موش صحرایی است و در غلظت‌های مورد مطالعه اثر سمی محسوس بر روی سلول‌های اندوتلیال بندناف انسان ندارد. بدین جهت انتخاب مناسبی جهت مطالعات بیشتر به عنوان یک دارو مورد استفاده در حالات پاتولوژیک وابسته به رگ‌زایی است. علاوه بر این، لازم است که اثر ضد رگ‌زایی موسیر در مدل‌های دیگری مثل مدل‌های *in vivo* مورد تحقیق قرار گرفته و میزان پایداری آن در برابر تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که از زحمات جناب آقای شهرام پروانه به خاطر کمک‌های فکری و تکنیکی ارزشمند ایشان و همچنین دیگر همکاران محترم مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی که در انجام این مطالعه یاور ما بودند، تقدیر وتشکرنمایند. ضمنا از مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی کرمانشاه که هزینه‌های مالی این طرح را تامین کردند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Hertig AT. Angiogenesis in the early human chorion and in the placenta of the macaque monkey. Carnegie Contrib Embryol. 1935; 25: 37-81.
2. Ruhrberg C. Endogenous inhibitors of angiogenesis. J Cell Sci. 2001; 114: 3215-3216.
3. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. New Engl J Med. 1971; 285 (21): 1182-1186.
4. Folkman J. Tumor Angiogenesis Factor. J Cancer Res. 1974; 34: 2109-2113.
5. Fan TP, Yeh JC, Leung KW, Yue PYK, Wong RNS. Angiogenesis: from plants to blood vessels. Trends Pharmacol Sci. 2006; 27(6): 297-309.
6. Bianchini F, Vainio H. Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? J Environ Health Persp. 2001; 109(9): 893-902.
7. Fattorusso E, Iorizzi M, Lanzotti V, Taglialatela-Scafati O. Chemical composition of shallot (Allium ascalonicum Hort.). J Agr Food Chem. 2002; 50 (20): 5686 -5690.
8. Mubarak AM, Kulatilleke CP. Sulfur constituents of need seed volatiles: a revision. J Phytochemistry. 1990; 29: 3351-3352.
9. Nishimura H, Higuchi O. Antioxidative activity of sulfur-containing compounds in Allium species for human LDL oxidation in vitro. J BioFactors. 2004; 21: 277-280.
10. Leelarungrayub N, Chanarat N, Rattanapanone V. Potential activity of Thai shallot (Allium Ascalonicum L.) extract on the prevention of hemolysis and glutathione depletion in human erythrocyte from oxidative stress. CMU J. 2004; 3: 225-234.
11. Jalal R, Majid Bagheri S, Moghimi A, Behnam Rasuli M. Hypoglycemic effect of aqueous shallot and garlic extracts in rats with fructose-induced insulin resistance. J Clin Biochem Nutr. 2007; 41(3): 218-223.
12. Adeniyi BA, Anyiam FM. *In vitro* anti-Helicobacter pylori potential of methanol extract of Allium ascalonicum Linn. (Liliaceae) leaf: susceptibility and effect on urease activity. J Phytother Res. 2002; 18(5): 358-361.
13. Leelarungrayub N, Rattanapanone V, Chanarat N Gebicki, J. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. J Nutrition. 2006; 22(3): 266-274.
14. Owoyele BV, Alabi OT, Adebayo JO, Soladoyea AO, Abioyeb AIR, Jimohb SA. Haematological evaluation of ethanolic extract of Allium ascalonicum in male albino rats. J Fitoterapia. 2004; 75: 322-326.
15. Wang HX, Ng TB. Ascalin, a new anti-fungal peptide with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase-inhibiting activity from shallot bulbs. J Peptides. 2002; 23: 1025-1029.

16. Mo HQ, Vandamme EJM, Peumans WJ, Goldstein IJ. Purification and characterization of a mannose-specific lectin from shallot (Allium ascalonicum) Bulbs. J Arch Biochem Biophys. 1993; 306(2): 431-438.
17. Nicosia RF, Ottinetti A. Modulation of microvascular growth and morphogenesis by reconstituted basement membrane gel in three-dimensional cultures of rat aorta: a comparative study of angiogenesis in Matrigel, collagen, fibrin, and plasma clot. J In Vitro Cell Dev Biol. 1990; 26:119-128.
18. Nicosia RF, Villaschi S. Autoregulation of angiogenesis by cells of the vessel wall. Int Rev Cytol. 1999; 185: 1-43.
19. Kader KN, Akella R, Ziats NP, Lakey LA, Harasaki H, Ranieri JP, et al. eNOS-overexpressing endothelial cells inhibit platelet aggregation and smooth muscle cell proliferation in vitro. J Tissue Eng. 2000; 6: 241-251.
20. Diglio CA, Grammas P, Giacomelli F, Wiener J. Angiogenesis in rat aorta ring explant cultures. Lab Invest. 1989; 60: 523-531.
21. Adlercreutz H. Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. Scandinavian J Clin Lab Invest. 1990; 50: 3-23
22. Greenwald P, Clifford CK, Milner JA. Diet and cancer prevention. Eur J Cancer. 2001; 37: 948-965.
23. Wani MC, Taylor HL, Wall ME, Coggon P, McPhail AT. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from Taxus brevifolia. J Am Chem Soc. 1971; 93, 2325-2327.
24. Wall ME, Wani MC, Cook CE, Palmer KH, McPhail AT, Sim GA. Plant antitumor agents. I. Isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from Camptotheca acuminata. J Am Chem Soc. 1966; 88: 3888-3890.
25. Shakiba Y, Mansouri K, Mostafaie A. Anti-angiogenic effect of soybean kunitz trypsin inhibitor on human umbilical vein endothelial cells. J Fitoterapia. 2007; 78: 587-589.
26. Shakiba Y, Mostafaie A. Inhibition of Corneal Neovascularization with a Nutrient Mixture Containing Lysine, Proline, Ascorbic Acid, and Green Tea Extract. J Arch Med Res. 2007; 38: 789-791.