بررسی خصوصیات ضد رگ زایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره آبی ریشه گیاه انجبار(*Persicaria bistorta*)

الهام صفوی[1]، مسعود همایونی تبریزی[1*]، احسان کریمی[1]

۱) گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۳۰ **تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۱/۱۴**

چکیده

مقدمه: رگ زایی فرایندی پویا است که در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک نظیر رشد تومورهای سرطانی نقش مهمی دارد. امروزه استفاده از نانوذرات تولید شده به روش سبز به دلیل قدرت مهار رگ زایی نقش مهمی در مبارزه با سرطان بر عهده دارند. در روش سبز از عصاره گیاه به عنوان عامل کاهنده یون های فلزی و روشی مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست در سنتز نانوذرات استفاده می گردد. در این مطالعه از نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با عصاره ریشه گیاه انجبار در مهار رگ زایی مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش ها: برای بررسی اثرات ضد رگ زایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز، ۳۰ عدد تخم مرغ نژاد Ross در ۶ گروه شامل شاهد و شاهد آزمایشگاهی و ۴ گروه تجربی(تیمار شده با غلظت های ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات اکسیدروی) که به طور کاملاً تصادفی تقسیم شده بودند مورد ارزیابی قرار گرفت. در روز ۱۲، اثرات نانوذرات بر تیـــمارها مورد آنالیز قرار گرفت. داده های حاصل توسط نرم افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA بررسی گردید و $P<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش: یافته های به دست آمده نشان می دهد که استفاده از غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از نانوذرات اکسیدروی می تواند سبب کاهش معنی دار در تعداد عروق و طول عروق پرده کوریوآلانتوئیک($P<0.001$)، کاهش میزان وزن و کاهش طول سری-دمی($P<0.05$) جنین های جوجه در مقایسه با گروه شاهد شود.

بحث و نتیجه گیری: یافته ها نشان داد نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجـــبار دارای توانایـــی لازم در مـــهار رگ زایی است.

واژه های کلیدی: آنژیوژنز، ZnO، پرده کوریوآلانتوئیک

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

Email: mhomayouni6@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

مقدمه

آنژیوژنز یا رگ زایی فرایندی است که در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک نقش مهمی دارد. این فرایند وابسته به هماهنگی بین عوامل تحریک کننده آنژیوژنز و مهارکننده های طبیعی درون بدن است. آنژیوژنز یک روند طبیعی تنظیم شده در بهبود زخم و رشد و نمو طبیعی است. با این حال، زمانی که از کنترل خارج می شود، بیماری هایی نظیر سرطان شکل می گیرد(۱). سلول های سرطانی تومور قادر به استفاده از عروق خونی جدید برای متاستاز به مناطق دیگر هستند به عبارتی توده سرطانی با عروق خونی فراوان می تواند فعالیت متاستازی بیشتری نسبت به تومور با عروق خونی کمتر داشته باشد(۲). اکنون ثابت شده که بدون آنژیوژنز تومور قادر به گسترش بیش از ۱ تا ۲ میلی متر نیست(۳). در حال حاضر درمان های که منجر به مهار آنژیوژنز در تومور می شود به هدف اصلی در مبارزه با سرطان تبدیل شده اند مهار آنژیوژنز و به دنبال آن مهار متاستاز در تومور درمانی مناسب برای مبارزه با سرطان است(۴). درمان های ضد رگ زایی در توده سرطانی عبارت است از مهار تشکیل عروق خونی جدید و یا نابودی رگ هایی که از قبل تشکیل شده اند این روش های درمانی منجر به تولید ترکیباتی شده که رشد تومور را با تخریب رگ های تغذیه کننده تومور و یا رگ های قبلی مهار می کند(۵). روش های درمانی مختلفی جهت مهار آنژیوژنز و فرایندهای مرتبط با آن وجود دارند. استفاده از نانوفناوری و تولید نانوذرات با هسته فلزی به دلیل خصوصیات آنتی اکسیدانی و قدرت آن ها در مهار رگ زایی سبب تحول روش های مبارزه با رگ زایی در مهار تومورهای سرطانی شده است(۶). استفاده از نانوذرات دارای مزایای فراوانی در مقایسه با داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی و درمان های مکمل است. قابلیت بالای نانوذرات در مهار فاکتور رشد سلول های اندوتلیال عروقی(VEGF) از مزیت های این نانوذرات در مقابله با رگ زایی و مهار رشد تومور می باشد(۷). سنتز نانوذرات فلزی اکسیدروی(ZnO) در اندازه ۱۰۰-۱۰ نانومتر با استفاده از منابع گیاهی پایداری بیشتر نانوذرات تولیدی، قابلیت سنتز این نانوذرات در مقادیر بالا و فاقد خطرات زیست محیطی است(۸). اکسیدروی دارای توانایی آنتی اکسیدانی بالایی بوده و به دلیل اندازه مناسب آن در روند ضد رگ زایی بسیار کاربردی عمل می نماید(۹). مطالعات مختلف نشان می دهد که این ترکیب می تواند به صورت انتخابی سلول های سرطانی را شناسایی و مهار نماید در حالی که برای سلول های طبیعی بی خطر است(۱۰). در این میان سنتز سبز نانوذرات ZnO با روش های مقرون به صرفه و با سازگاری زیست محیطی بالا(۱۱) با استفاده از مخمرها، باکتری ها، جلبک ها و گیاهان در زمینه های درمانی اهمیت ویژه ای پیدا کرده است(۱۲). انجبار یکی از گیاهانی است که از آن در درمان خونریزی های ناشی از زخم های عمیق و نیز در درمان اسهال استفاده می شود. بررسی بر روی گیاه انجبار نشان داده که این گیاه حاوی ترکیبات گلیکوزیدی، فنولی و فلاونوئید است که مسبب بروز خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی قدرتمند این گیاه می باشد(۱۳). جهت بررسی اثرات ضد رگ زایی نانوذرات مختلف از مدل های(*in vivo*) از جمله پرده کوریوآلانتوئیک تخم مرغ استفاده می شود(۱۴). این روش ساده و مقرون به صرفه است(۱۵). با توجه به این که یکی از راهکارهای مبارزه با متاستاز تومور و تکثیر سلول های سرطانی مهار آنژیوژنز است در این پژوهش بر آن شدیم تا اثرات ضد رگ زایی نانوذره ZnO سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجبار را بر روی پرده کوریوآلانتوئیک جوجه به عنوان مدل(*in vivo*) در مطالعات آنتی آنژیوژنز مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش ها

به منظور انجام مطالعه حاضر ابتدا نانوذرات اکسیدروی به روش سبز از عصاره آبی ریشه گیاه انجبار تهیه شدند. در روش سبز استات روی(۰/۵ میلی مولار) با عصاره آبی تهیه شده از ریشه گیاه ترکیب شد، سپس بر روی حرارت همراه با همزن مغناطیسی قرار گرفت بعد از گذشت زمان رسوب سفید رنگ حاصل شده که

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

موید سنتز نانوذرات اکسیدروی بود که برای تایید و آنالیز سنتز مورد ارزیابی قرار گرفتند. در ادامه بررسی فعالیت های ضد رگ زایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجبار انجام شد. برای بررسی اثر ضد رگ زایی نانوذرات مورد نظر ۳۰ عدد تخم مرغ نطفه دار نژاد ROSS که تقریباً از لحاظ اندازه و سن یکسان بودند از شرکت مرغداران طوس مشهد خریداری گردید. بعد از ضد عفونی توسط الکل ۷۰ درصد تخم مرغ ها به دستگاه جوجه کشی(درنا سیستم پارس) با دمای ۳۷/۷ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد همراه با چرخش اتوماتیک قرار داده شدند. در روز دوم انکوباسیون در شرایط کاملاً استریل و زیر هود لامینار(JTLVC2X) در شرایط ایزوله توسط پنس استریل نوک تیز در سمت پهن تخم مرغ منفذ کوچکی ایجاد شد و در قسمت پهلویی تخم مرغ ها پنجره ای به ابعاد ۱×۱ سانتی مترمربع ایجاد گردید. سپس محل پنجره توسط چسب و پارافین استریل پوشانده شده و مجدد تخم مرغ ها به انکوباتور برگردانده شد. جهت رشد طبیعی جنین تخم مرغ ها با استفاده از چرخش دستی(Manual) روزی ۲ مرتبه انجام گرفت. در روز هشتم انکوباسیون پنجره ایجاد شده در تخم مرغ ها در شرایط کاملاً استریل باز شده و اسفنج ژلاتینی محتوی آلبومین سفیده تخم مرغ و محلول آگار حل شده در نرمال سالین به نسبت مساوی همراه با ۲۰۰ میکرولیتر آنتی بیوتیک پنی سیلین–استرپتومایسین بر روی پرده کوریوآلانتوئیک همه تخم مرغ ها قرار گرفت. با توجه به شکل گیری پرده کوریوآلانتوئیک در روز پنجم انکوباسیون و اشغال نصف عرض داخلی تخم مرغ توسط پرده کوریوآلانتوئیک و شکل گیری کامل قلب و جدا شدن گردش خون سرخرگی و سیاهرگی در روز هشتم پس از انکوباسیون، تیمار شبکه عروقی در این روز انجام پذیرفت.

بدین منظور تخم مرغ ها در ۶ گروه ۵ تایی به ترتیب زیر به صورت تصادفی تقسیم شدند.

گروه شاهد(بدون تیمار و نگهداری در شرایط طبیعی)

گروه شاهد آزمایشگاهی(تیمار با نرمال سالین)

گروه تجربی ۱(تیمار با نانوذرات ZnO سنتز شده توسط عصاره آبی ریشه گیاه انجبار با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)

گروه تجربی ۲(تیمار با نانوذرات ZnO سنتز شده توسط عصاره آبی ریشه گیاه انجبار با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)

گروه تجربی ۳(تیمار با نانوذرات ZnO سنتز شده توسط عصاره آبی ریشه گیاه انجبار با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)

و گروه تجربی ۴(تیمار با نانوذرات ZnO سنتز شده توسط عصاره آبی ریشه گیاه انجبار با غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر)

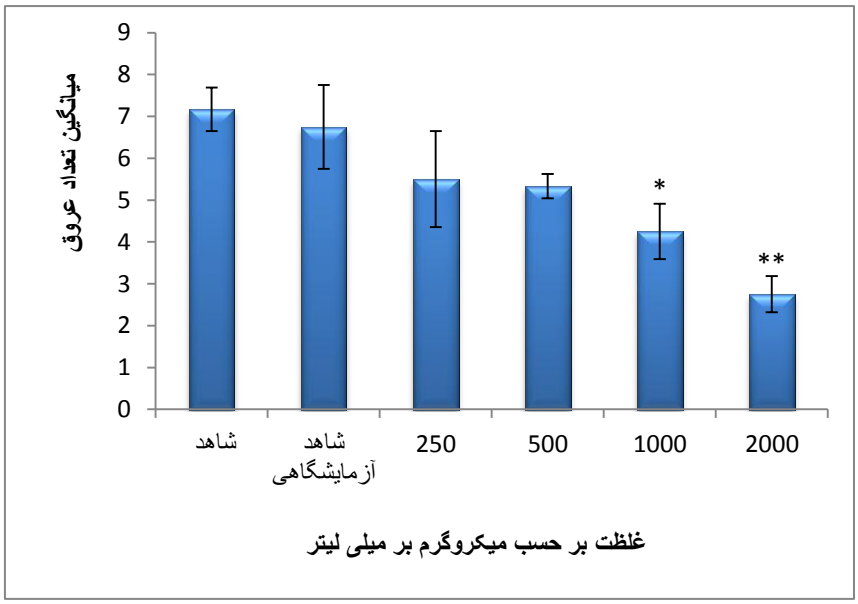
غلظت های مورد استفاده در این پژوهش بر اساس تست های اولیه گذاشته شده و نتایج به دست آمده انتخاب شدند. در روز هشتم بعد از باز شدن پنجره ها و اضافه شدن اسفنج ژلاتینی نمونه ها توسط µl ۱۰ از نانوذره مورد نظر تیمار شدند و نمونه شاهد آزمایشگاهی با µl ۱۰ نرمال سالین تیمار شد و مجدداً پنجره ها توسط چسب و پارافین استریل بسته شدند و تخم مرغ ها به انکوباتور برگردانده شد. در روز دوازدهم انکوباسیون از تمامی نمونه ها، شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه های تجربی ۴، ۳، ۲ و ۱ به کمک فتواستئومیکروسکوپ(KE-S2015B) از محدوده قرارگیری اسفنج تصاویری گرفته شد و از آن جا که هر گونه اختلال در رگ زایی بر میزان خون رسانی به جنین و رشد و نمو آن تاثیرگذار است، اندازه گیری وزن جنین ها با ترازوی دیجیتالی و طول فوق سری–نشیمنگاهی(CR) نیز با کولیس دیجیتالی صورت گرفت و سپس طول و تعداد انشعابات عروقی همه نمونه ها با توجه به ساختار وسیع پرده کوریوآلانتوئیک توسط ۴ مربع به ابعاد ۲/۵×۲/۵ سانتی متر مربع بر روی تصویر مانیتور با نرم افزار Image J محاسبه شد. داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آماری ANOVA تحلیل گردیدند. در این مطالعه نتایج با $P<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

یافته های پژوهش

بررسی میانگین مجموع تعداد انشعابات عروق در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه: مقایسه میانگین مجموع تعداد عروق در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه در گروه شاهد(۷/۱۶۶±۰/۵۲۰) با شاهد آزمایشگاهی (۶/۷۵۰±۱/۰۰) اختلاف معنی داری نشان نداد. هم چنین مقایسه میانگین مجموع تعداد عروق پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه در غلظت ۲۵۰ µg/ml (۶/۵۰۰±۱/۱۴۵) و غلظت ۵۰۰ µg/ml(۵/۳۳۳±۰/۲۸۸) با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان نداد. مقایسه میانگین مجموع تعداد عروق پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه در غلظت µg/ml ۱۰۰۰(۴/۲۵۰±۰/۶۶۱) و غلظت µg/ml ۲۰۰۰(۲/۷۵۰±۰/۴۳۳) با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد.

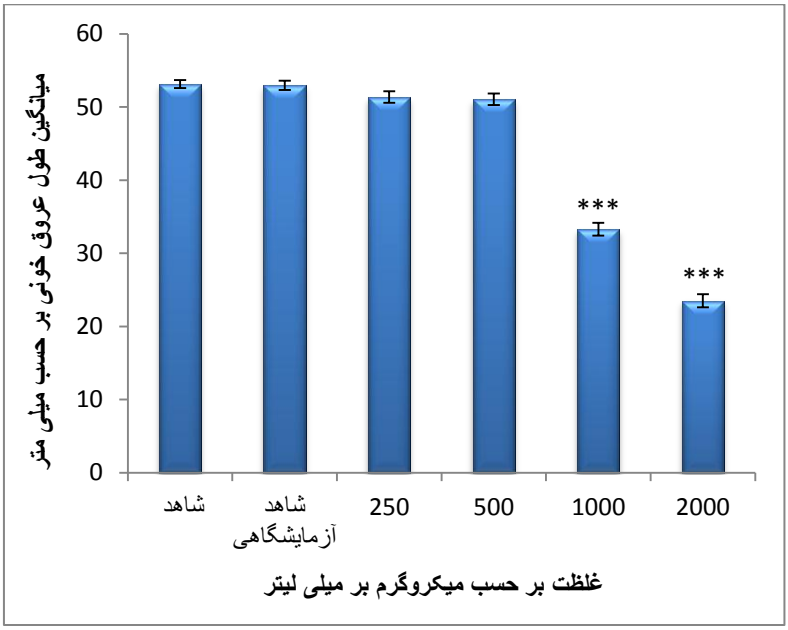


نمودار شماره ۱. مقایسه میانگین(mean ±SD) مجموع تعداد انشعابات عروقی در سطح پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه در گروه های تیمار با ZnO و شاهد (*P<0.05, **P<0.01)

بررسی طول انشعابات عروقی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه: مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه در گروه شاهد(۵۳/۱۴۰±۰/۵۴۱) با شاهد آزمایشگاهی (۵۲±۰/۶۳۱) اختلاف معنی داری نشان نداد. هم چنین مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه غلظت ۲۵۰ µg/ml(۵۱/۳۴۳±۰/۷۸۷ mm) و ۵۰۰ µg/ml (۵۱/۰۶۷±۰/۷۹۱mm) با گروه شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد. مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی در غلظت ۱۰۰۰µg/ml(۳۳/۲۸۰±۰/۸۷۹ mm) و ۲۰۰۰µg/ml (۲۳/۴۹۳±۰/۸۹۴ mm) با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد(P<0.001).

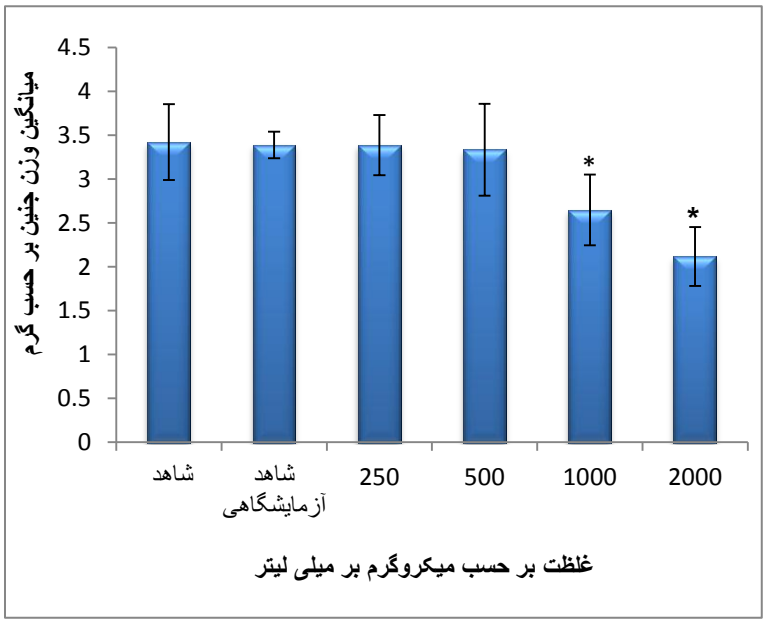
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]



نمودار شماره ۲. مقایسه میانگین(mean±SD) مجموع طول انشعابات عروقی در سطح پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه در گروه های تیمار با ZnO و شاهد(P<0.001*)**

بررسی وزن جنین جوجه: مقایسه میانگین وزن جنین جوجه بر حسب گرم در گروه شاهد (۳/۴۲۲±۰/۴۳۲g) با شاهد آزمایشگاهی (۳/۳۹۰±۰/۱۵۰g) اختلاف معنی داری نشان نداد. هم چنین مقایسه میانگین وزن نمونه های تیمار با ZnO در غلظت ۲۵۰ µg/ml (۳/۳۸۶±۰/۳۴۲ g)، ۵۰۰ µg/ml (۳/۳۳۴±۰/۵۲۳ g) و ۱۰۰۰ µg/ml (۲/۶۴۹±۰/۴۰۲g) با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد. مقایسه میانگین وزن در غلظت ۲۰۰۰ µg/ml (۲/۱۱۸±۰/۳۳۶ g) با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد(P<0.05).

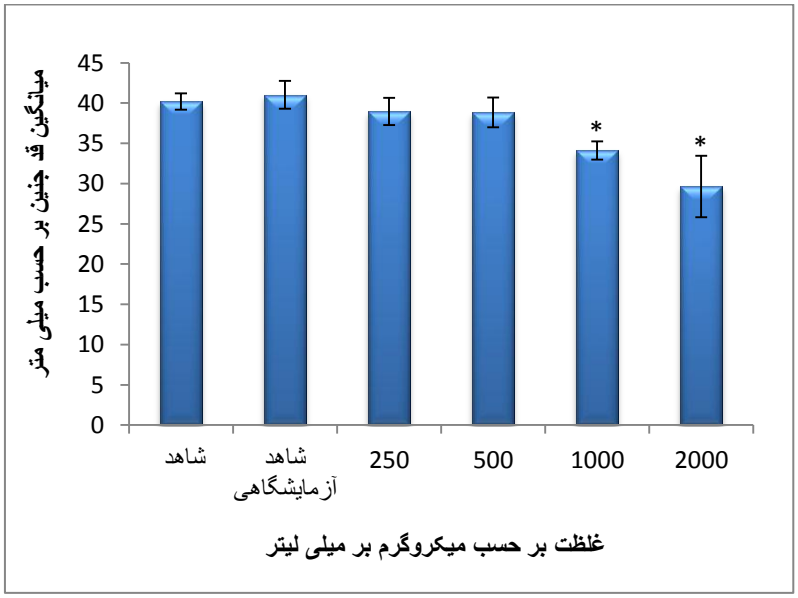


نمودار شماره ۳. مقایسه میانگین(mean±SD) مجموع وزن جنین جوجه بر حسب گرم در گروه های تیمار با ZnO و شاهد(P<0.05*)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

بررسی طول سری-دمی CR جنین جوجه: مقایسه میانگین طول سری-دمی CR جنین جوجه در گروه شاهد(۴۰/۱۸۳±۱/۰۱۷ mm) با شاهد آزمایشگاهی(۴۱/۰۲۷±۱/۷۲۳ mm) اختلاف معنی داری نشان نداد. هم چنین مقایسه میانگین طول سری-دمی CR جنین جوجه غلظت ۲۵۰ µg/ml(۳۸/۹۶۰±۱/۶۷۴mm) و ۵۰۰µg/ml (۳۸/۸۵۰±۱/۸۵۲mm) با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد. مقایسه میانگین طول سری-دمی CR در غلظت های ۱۰۰۰ µg/ml(۳۴/۱۱۷±۱/۱۲۸mm) و ۲۰۰۰µg/ml (۲۹/۶۳۷±۳/۷۹۹ mm) با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد(P<0.05).

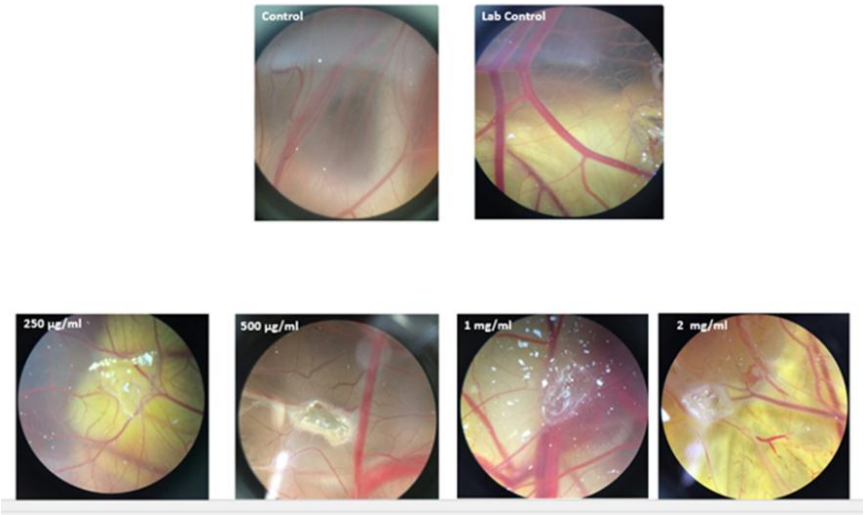


نمودار شماره ۴. مقایسه میانگین(mean±SD) طول سری-دمی CR جنین جوجه در گروه های تیمار با ZnO و شاهد(P<0.05*)

بررسی مورفولوژی رگ های خونی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه: همان طور که از تصاویر گرفته شده زیر فتواستئومیکروسکوپ مشخص است افزایش غلظت نانوذرات ZnO سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجبار توانسته میزان رگ زایی را در پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه در مقایسه با نمونه های شاهد و شاهد آزمایشگاهی کاهش دهد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]



تصویر شماره ۱. اثرات غلظت های مختلف نانوذرات ZnO سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجبار بر پرده کوریوآلانتوئیک در مقایسه با گروه شاهد و شاهد آزمایشگاهی

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان می دهد که نانوذرات اکسیدروی تهیه شده به روش سبز از عصاره آبی ریشه گیاه انجبار می توانند به طور معنی داری میزان رگ زایی بر پرده کوریوآلانتوئیک تخم مرغ را تحت تاثیر قرار داده و این روند را کاهش دهند. با وجود بهره برداری فراگیر از نانوذرات ZnO و تولید روز افزون نانوذرات اکسیدروی و کاربردهای مفید آن در سیستم های بیولوژیک، تاکنون مطالعات اندکی در زمینه اثر ضد رگ زائی نانوذرات ZnO به عنوان هدفی در مهار سرطان انجام شده است، به همین جهت در این مقاله اثر نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجبار را بر مهار رگ زایی در مدل پرده کوریوآلانتوئیک تخم مرغ های جنین دار مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات مختلف نشان داده است که نانوذرات اکسیدروی می توانند به دلیل اندازه کوچکشان از دیواره عروق خونی عبور نمایند و وارد جریان خون شده و اثرات خود را بر روی بافت های مختلف القاء نمایند(۱۶). اثرات نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز بر میزان رگ زایی در پرده کوریوآلانتوئیک تخم مرغ جنین دار نشان می دهد که این ترکیب بعد از انجام مطالعات بیشتر توانایی استفاده شدن به عنوان یک ترکیب مهارکننده رگ زایی پاتولوژیک را داراست. نتایج این مطالعه نشان می دهد که استفاده از رقت های کمتر این ترکیب اثر معنی داری بر روی میزان رگ زایی و کاهش آن در پرده کوریوآلانتوئیک ندارد اما با بالا رفتن میزان غلظت نانوذرات اکسیدروی میزان رگ زایی کاهش پیدا می نماید به نحوی که در غلظت های µg/ml ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ موجب کاهش معنادار در تعداد و طول انشعابات عروقی نسبت به گروه شاهد گردید. یکی از فرضیات مطرح شده در زمینه اثرات کاهنده رگ زایی توسط نانوذرات اکسیدروی تولید شده با استفاده از عصاره آبی ریشه گیاه انجبار بر روی پرده کوریوآلانتوئیک تخم مرغ جنین دار می تواند مربوط به تاثیرات سیتوتوکسیک این ترکیب بر سلول های اندوتلیال پوشاننده سطح داخلی عروق باشد. مطالعات مختلف نشان می دهد جهت رگ زایی سلول های اندوتلیال در گام ابتدایی می بایست تحت تاثیر فاکتورهای مختلف از جمله VEGF تکثیر شوند و در مراحل بعدی با از دست دادن هسته و ایجاد ساختار لوله مانند سبب گسترش رگ زایی شوند(۱۷). در صورتی که غلظت های بالای نانوذرات اکسیدروی بتواند سبب مهار و از بین رفتن سلول های اندوتلیال تحریک شده جهت تولید و ساخت عروق جدید شود احتمالاً می تواند سبب مهار رگ زایی و تاثیرات مهاری بر رشد و پیشرفت تومورهای سرطانی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

گردد. از دیدگاهی دیگر در صورتی که نانوذرات اکسیدروی بتوانند سبب ایجاد و القای آپوپتوز در سلول های اندوتلیال عروق شوند نیز می توانند از رگ زایی ممانعت به عمل آورند. در مطالعه انجام شده در مورد بررسی اثرات نانوذرات اکسیدروی بر سلول های اندوتلیال آئورت در انسان نشان داده شده است که این نانوذرات می توانند در غلظت های ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر سبب مرگ ۲۰ درصد از سلول های اندوتلیال پوشاننده سطح داخلی عروق خونی شوند(۱۸). نانوذرات اکسیدروی به دلیل اندازه و سطح اتصالی که دارند به غشای سلول های اندوتلیال چسبیده و وارد سلول می شوند لذا تماس سلول با میزان کمتر این نانوذرات نیز می تواند در القای آپوپتوز در این سلول ها موثر باشد. این نانوذرات می تواند با القای گونه های فعال اکسیژن(ROS) سبب تغییر در تعادل اکسیدان ها و آنتی اکسیدان های سلولی شوند و بدین ترتیب مسیرهای آپوپتوز را فعال نماید(۱۹). در مطالعات مختلف نشان داده است که نانوذرات دارای هسته فلزی می توانند با فعال نمودن کاسپازهای ۳ و ۹ سبب راه اندازی آبشارهای کاسپازی و در نهایت فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی شوند(۲۰). هم چنین مطالعات دیگری نشان داد که نانوذرات اکسیدروی پس از ورود به سلول با فعال نمودن، تولید پروتیئن های درگیر در فرایند التهاب از جمله سایتوکاین های التهابی و اینترلوکین ها از جمله اینترلوکین ۳ و ۶ و نیز پروتئین های ICAM و VCAM موجب تغییر در بیان ژن ها و در نهایت آپوپتوز سلول های اندوتلیال و مرگ این سلول ها می شود(۱۸).

در بررسی های انجام شده توسط Oikawa و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان می دهد که نانوذرات اکسیدروی می توانند بر تشکیل عروق خونی اثرات مهارکنندگی داشته باشد(۲۱). در این مطالعه نشان داده شده است که نانوذرات اکسیدروی می توانند سبب تحریک روند آپوپتوز شده و سلول های اندوتلیال را از بین ببرند. یکی از مهم ترین پروتئین های درگیر در روند رگ زایی VEGF و گیرنده آن VEGFR (۲۲) و CXCR4 می باشند(۲۳). در مطالعه Oikawa و همکاران مشخص گردید که نانوذرات اکسیدروی می توانند به طور معنی دار سبب کاهش بیان ژن های کدکننده پروتئین های VEGF، VEGFR و CXCR4 شود(۲۱). در مطالعه انجام شده بر روی اثرات نانوذرات اکسید منگنز بر رگ زایی در پرده کوریوآلانتوئیک تخم مرغ جنین دار نیز مشخص گردید که یکی از مهم ترین اثرات نانوذرات دارای هسته فلزی برهم زدن تعادل اکسیدان ها و آنتی اکسیدان های سلولی و نیز فعال شدن مسیرهای پیام رسانی مرتبط با آپوپتوز و در نهایت مهار رگ زایی از طریق غیرفعال نمودن سلول های اندوتلیال مفروش کننده جدار داخلی عروق است(۲۴).

در پژوهش های بسیاری همسو با آزمایش حاضر، اثرات ضد رگ زایی نانوذرات مورد مطالعه قرار گرفته است به عنوان مثال بررسی ها بر روی نانوذرات طلا نشان داده است که این نانوذرات با مهار فاکتور رشد اندوتلیال عروقی(VEGF) باعث کاهش تکثیر، مهاجرت و کاهش تشکیل رگ شده و هم چنین با بلوکه کردن مسیرهای سیگنالینگ توانسته اثر مهاری بر روی آنژیوژنز داشته باشد(۲۵). در تحقیقات دیگری در سال ۲۰۱۵ اثر نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه روی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد که نانوذره نقره سنتز شده به روش سبز در گروه های تیمار شده قادر به کاهش تعداد و طول عروق خونی و به دنبال آن کاهش رگ زایی می باشد(۲۶). که هم راستا با نتایج به دست آمده از نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز بر رگ زایی در این مقاله می باشد. با توجه به مکانیسم های مورد اشاره می توان نشان داد که نانوذرات دارای هسته فلزی از جمله نانوذرات اکسیدروی احتمالاً می توانند از طریق تاثیر بر تعادل اکسیدان و آنتی اکسیدان های مختلف داخل سلولی و نیز تاثیر بر میزان بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز سبب مهار رگ زایی شوند. به عبارت دیگر اگر چه بسیاری از مطالعات انجام شده برای بررسی اثرات نانوذرات اکسیدروی بر روی مدل های حیوانی و سلول های موجود در محیط های برون تنی صورت گرفته است اما محققان نشان داده اند

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

که این نتایج قابل انطباق به سلول های پستانداران و انسان نیز است(۲۷). در مطالعه جاری استفاده از غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از نانوذرات اکسیدروی تهیه شده با روش سبز و دوست دار محیط زیست از عصاره آبی ریشه گیاه انجبار نشان داد که می تواند سبب کاهش در اندازه جنین جوجه های مورد مطالعه گردد. یافته ها نشان می دهد که نانوذرات اکسیدروی با اثر بر رگ زایی و ممانعت از آن سبب کاهش دسترسی جنین به مواد غذایی شده و با محدود نمودن این منبع رشد وزن جنین ها دچار کاهش می شود. این کاهش اگر چه در سایر گروه ها نیز دیده شد اما در صورت افزایش تعداد نمونه ها، احتمال معنادار شدن اثرات نانوذرات اکسیدروی در غلظت های کمتر بر روی وزن جنین جوجه ها نیز افزایش پیدا می کرد. نتایج به دست آمده از اثرات نانوذرات اکسیدروی بر روی جنین های تخم مرغ های مورد آزمایش در راستای نتایج به دست آمده در مطالعه علیپور می باشد. در بررسی های علیپور و همکاران در سال ۱۳۹۴ با بررسی اثرات نانوذره اکسیدروی بر وزن جنین های موش سوری به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت های مختلف نانوذره در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت و هم چنین با افزایش غلظت نانوذره اثرات سمی آن نیز افزایش یافت که هم راستا با نتایج این پژوهش است(۲۸). به طور کلی نانوذرات اکسیدروی می توانند روند رگ زایی را با تاثیر بر مسیرها و مولکول های مختلف تحت تاثیر قرار داده و این فرایند را مهار نمایند. اگر چه مطالعاتی هم وجود دارد که نشان می دهد نانوذرات اکسیدروی سبب افزایش رگ زایی می شود(۲۹) می بایست توجه نمود که یکی از مهم ترین تفاوت ها در این مورد تفاوت در نوع سنتز نانوذرات اکسیدروی می باشد که احتمالاً باعث تاثیر متفاوت

نانوذرات اکسیدروی بر مکانیسم ها و مسیرهای پیام رسانی سلولی می شود. بررسی ها از دیدگاه بیوشیمیایی بر روی ریشه گیاه انجبار نشان داده که عصاره ریشه گیاه انجبار دارای ترکیبات ثانویه غیرسمی از جمله ترکیبات فنولی، تانن ها، مواد آلبومینوئیدی، اگزالات کلسیم، اسید اگزالیک و ویتامین C است که باعث تاثیرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره ریشه گیاه انجبار شده است، هم چنین به عنوان گیاهی درمانی در طب سنتی مطرح است که می تواند خواص درمانی متفاوتی از جمله مهار خونریزی ها و تاثیرات ضدالتهابی در بدن داشته باشد(۳۰). با توجه به مطالب ارائه شده می توان احتمال داد که استفاده از عصاره ریشه گیاه انجبار در سنتز نانوذرات اکسیدروی به روش سبز می تواند سبب تقویت خصوصیات ضد رگ زایی شود. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که غلظت های مشخصی از نانوذرات ZnO سنتز شده با عصاره آبی ریشه گیاه انجبار باعث کاهش تشکیل رگ های خونی در ناحیه تیمار شده روی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه می شود و می توان از نانوذرات ZnO جهت تحقیقات بیشتر به منظور درمان بسیاری از بیماری های مرتبط با آنژیوژنز از جمله سرطان ها استفاده کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله سپاسگزاری خود را از جناب آقای دکتر ابوالفضل نصرتی به دلیل کمک های فراوان در انجام این پژوهش ابراز می نمایند.

References

1.Habibmartin ZA, Hammad HM, Afifi FU, Zihlif M, Alameer HJ, Saleh MM, et al. In vitro and in vivo evaluation of the antiangiogenic activities of Trigonella foenum graecum extracts. Asian Pac J Trop Biomed 2017; 7:732-8. Doi:10.1016/j.apjtb.2017.07.013.

2. Himadri R. Vascular endothelial growth factors role in perivascular therapeutic a ngiogenesis and diabetic macrovascular disease. Kuopio Uni Kuopio 2006;3:22-7.

3.Nishida N, Yano H, Nishida T, Kamura T, Kojiro M. Angiogenesis in cancer. Vasc Health Risk Manag 2006; 2:213.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

4. Quesada AR, Munozchapuli R, Medina MA. Anti angiogenic drugs: from bench to clinical trials. Med Res Rev 2006; 26:483-530. Doi:10.1002/med.20059.

5.Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. Nature 2011;473:298-307. Doi:10.3390/molecules200916540.

6.Boroumandmoghaddam A, Namvar F, Moniri M, Mdtahir P, Azizi S, Mohamad R. Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast a review of their preparation, properties and medical applications. Molecules 2015;20:16540-65. Doi:10.3390/molecules200916540.

7.Banerjee D, Harfouche R, Sengupta S. Nanotechnology-mediated targeting of tumor angiogenesis. Vascular cell 2011;3:3. Doi: 10.1186/2045-824X-3-3.

8. Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnol Adv 2013;31:346-56. Doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.003.

9.Augustine R, Dominic EA, Reju I, Kaimal B, Kalarikkal N, Thomas S. Investigation of angiogenesis and its mechanism using zinc oxide nanoparticle-loaded electrospun tissue engineering scaffolds. RSC Adv 2014;4:51528-36. Doi: 10.1039/c4ra07361d.

10. Zak AK, Aziz NSA, Hashim AM, Kordi F. XPS and UV–vis studies of Ga-doped zinc oxide nanoparticles synthesized by gelatin based sol-gel approach. Ceram Int 2016;42:13605-11.
Doi: 10.1016/j.ceramint.2016.05.155

11.Moghaddam AB, Moniri M, Azizi S, Rahim RA, Ariff AB, Saad WZ, et al. Biosynthesis of ZnO nanoparticles by a new pichia Kudriavzevii yeast strain and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities. Molecules 2017;22:872.
Doi:10.3390/molecules22060872.

12.Agarwal H, Kumar SV, Rajeshkumar S. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles–An eco-friendly approach. Res Efficient Technol2017;2:121-6. Doi: 10.1016/j.reffit.2017.03.002.

13.Klimczak U, Wozniak M, Tomczyk M, Granica S. Chemical composition of edible aerial parts of meadow bistort Persicaria bistorta L. Samp. Food Chem 2017;230:281-90. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.128.

14.Gorustovich AA, Roether JA, Boccaccini AR. Effect of bioactive glasses on angiogenesis: a review of in vitro and in vivo evidences. Tissue Eng Part B Rev 2009;16199-207.
Doi:10.1089/ten.teb.2009.0416.

15. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane as an in vivo assay to study antiangiogenesis. Pharmaceuticals 2010; 3:482-513. Doi: 10.3390/ph3030482.

16.Choi HS, Ashitate Y, Lee JH, Kim SH, Matsui A, Insin N, et al. Rapid translocation of nanoparticles from the lung airspaces to the body. Nat Biotechnol 2010; 28:1300. Doi: 10.1038/nbt.1696.

17. Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibition: a review. PharmacolTher 1994; 63:265-311. Doi: 10.1016/0163-7258(94)90027-2.

18. Gojova A, Guo B, Kota RS, Rutledge JC, Kennedy IM, Barakat AI. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: effect of particle composition. Environ Health perspect 2007; 115:403. Doi:10.1289/ehp.8497 .

19.Wiseman DA, Wells SM, Wilham J, Hubbard M, Welker JE, Black SM. Endothelial response to stress from exogenous Zn2+ resembles that of no mediated nitrosative stress, and is protected by MT-1 overexpression. Am J Physiol Cell Physiol 2006;291: 555-68. Doi:10.1152/ajpcell.00509.2005.

20.Brakenhielm E, Veitonmaki N, Cao R, Kihara S, Matsuzawa Y, Zhivotovsky B, et al. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. Proc

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

Natl Acad Sci USA 2004; 101:2476-81. Doi:10.1073/pnas.0308671100.

21. Tadaoikawa S, Ichihara G, Suzuki Y, Izuoka K, Wu W, Yamada Y, et al. Zn II released from zinc oxide nano micro particles suppresses vasculogenesis in human endothelial colony-forming cells. Toxicol Rep 2015; 2:692-701. Doi:10.1016/j.toxrep.2015.04.003.

22.Wei LH, Kuo ML, Chen CA, Chou CH, Lai KB, Lee CN, et al. Interleukin-6 promotes cervical tumor growth by VEGF-dependent angiogenesis via a STAT3 pathway. Oncogene 2003; 22:1517. Doi:10.1038/sj.onc.1206226.

23.Wang YB, Liu YF, Lu XT, Yan FF, Wang B, Bai WW, et al. Rehmannia glutinosa extract activates endothelial progenitor cells in a rat model of myocardial infarction through a SDF-1 α/CXCR4 cascade. PLos One 2013; 8: 54303. Doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0054303.

24.Majidifard M, HassanpourE. [Anti-angiogenic effect of MnO2 nanoparticles on chicken chorioalantoic membrane]. Daneshvar Med 2014; 121:21-9. (Persian)

25.Kalishwaralal K, Sheikpranbabu S, BarathManiKanth S, Haribalaganesh R, Ramkumarpandian S, Gurunathan S. Gold nanoparticles inhibit vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability via Src dependent pathway in retinal endothelial cells. Angiogenesis 2011;14:29-45. Doi:10.1007/s10456-011-9225-1.

26. Khandia R, Munjal A, Bangrey R, Mehra R, Dhama K, Sharma N. Evaluation of silver nanoparticle mediated reduction of neovascularisation angiogenesis in Chicken model. Adv Anim Vet Sci 2015; 3:372-6. Doi:10.14737/journal.aavs/2015/3.7.372.376.

27. Tahergorabi Z, Khazaei M. [A review on angiogenesis and its assays]. Iran J Basic Med Sci 2012; 15:1110. (Persian)

28. Seyedalipour B, Oshrieh M, Khanbabaee R. [Histopathological evaluation of the embryo and weight assessment of body kidney and liver in pregnant NMRI Mice exposed to Zinc oxide nanoparticles]. J Fasa Uni Med Sci 2015; 5:51-61. (Persian)

29.Zhu X, Wang J, Zhang X, Chang Y, Chen Y. The impact of ZnO nanoparticle aggregates on the embryonic development of Zebrafish Danio rerio. Nanotechnology 2009; 20:195103. Doi:10.1088/0957-4484/20/19/195103.

30. Jahan D, Begum W, Roqaiya M. Review on Beekhe Anjbar root of Polygonum bistorta L. with unani perspective and modern pharmacology. World J Pharm Sci 2015; 4:314-23.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]

Investigation of Antiangiogenic Properties of Green ZnO Nanoparticles Synthesized By Root Extract of *Persicaria bistorta*

*Safavi E[1], Homayounitabrizi M [*1], Karimi E[1]*

(Received: November 21, 2017 Accepted: April 3, 2018)

Abstract

Introduction: Angiogenesis is a dynamic procedure that plays a key role in physiological and pathological conditions such as tumor growth. Today, the green synthesized nanoparticles are applied for cancer treatment due to their anti-angiogenic properties. In the green method, the plant extract is used for metal ions exchange into a nanoparticle as an economic and environmental-friendly procedure. In the present study, the anti-angiogenic effects of green ZnO nanoparticles synthesized by *Persicaria bistorta* root extract were evaluated.

Materials & Methods : As to investigate the anti-angiogenic effects of green synthesized ZnO nanoparticles, 30 Ross eggs were randomly divided into 6 groups including the control ,laboratory control, and 4 experimental groups treated by 250, 500, 1000, and 2000 µg/ml ZnO nanoparticles. On the day 12 after incubation, the effects of ZnO were assessed. The obtained data was analyzed using the SPSS software and ANOVA statistical test. The $P<0.05$ was regarded as a significance.

Findings: The obtained data showed that the 1000 and 2000 µg/ml of green synthesized ZnO nanoparticles significantly decreased the number and length of chorioallantoic membrane vascular splits ($P<0.001$), weight and size and the head to tail length of the chicken's embryos in comparison to the normal controls ($P<0.05$).

Discussion & Conclusion: Our results demonstrated that the green ZnO nanoparticles synthesized by aqueous *Persicaria bistorta* root extract restricted the angiogenesis.

Keywords: Angiogenesis, ZnO, Chorioallantoic membrane

1. Dept of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
Corresponding author: Email address: mhomayouni6@gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.45]