Pejouhesh dar Pezeshki *(i.e., Research in Medicine)* *Original Article*

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2024; Vol. 48; No. 1

The Effect of the Hydroalcoholic Extract of Ferula Assa- Foetida Resin Root and Shoot on the VEGF and FGF Gene Expression in the Chorioallantoic Membrane of Chick Embryos

Mohammadreza Pourmohammad[1], Jina Khayatzadeh[2*], Mostafa Azarizadeh[2], Vahid Pouresmaeil[3], Saeedeh Zafar Balanjad[2]

1. Department of Medical Parasitology, Faculty of Paramedicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran.
2. Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
3. Department of Biochemistry, Mashhad Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Received: December 18, 2023; Accepted: March 03, 2024

Abstract

Background and Aim: Angiogenesis is the biological process of sprouting new vessels from existing vessels in the tissue. The main factor in the molecular guidance of this process is vascular endothelial growth factors (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF). Considering the importance of plant medicine sciences and also, the role of angiogenesis in the processes such as wound healing, menstrual cycles, placental growth, and ovulation, the aim of this study was to investigate the effect of hydroalcoholic extract of the root and shoot of *Ferula assa- foetida* plant (as one of the prominent medicinal plants in traditional medicine) on changes in the gene expression of VEGF and FGF in the angiogenesis pathway of the chorioallantoic membrane (CAM) of chick embryos.

Methods: In this experimental research, 80 Ross fertilized eggs of the were randomly divided into 8 groups including the control group, laboratory control (pbs), 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 doses of 100, 200 and 300 µg/ml of the hydroalcoholic extract of the shoot and root of *Ferula assa- foetida* plant. On the twelfth day, a photo was taken of the chorioallantoic membrane to count the number of vessels and measure the length of the vessels. CAM samples were prepared for RNA extraction and cDNA production. The collected data were analyzed by t-test and ANOVA.

Results: The average number of vessels (26.1 ± 3.45) and vessel length (31.1 ± 0.78) in the treated group showed a significant decrease ($P < 0.05$) compared to the control group. Also, the gene expression level of VEGF and FGF in the treated group was significantly ($P < 0.05$) lower than the control group.

Conclusion: It seems that the hydroalcoholic extract of Ferula assa- foetida plant can affect the gene expression level of VEGF and FGF and the process of angiogenesis of the chorioallantoic membrane of chick embryos.

Keywords: *Ferula assa- foetida* resin; Hydroalcoholic extract; chorioallantoic membrane; angiogenesis; VEGF; FGF

Please cite this article as: Pourmohammad M, Khayatzadeh J, Azarizadeh M, Pouresmaeil V, Zafar Balanjad S. The Effect of the Hydroalcoholic Extract of Ferula Assa- Foetida Resin Root and Shoot on the VEGF and FGF Gene Expression in the Chorioallantoic Membrane of Chick Embryos. Pejouhesh dar Pezeshki. 2024;48(1):50-62.

[*]**Corresponding Author:** Jina Khayatzadeh; **Email:** j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir
Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی-پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۸، شماره ۱، سال ۱۴۰۳ شمسی، صفحات ۵۰ تا ۶۲

تأثیر عصاره هیدروالکلی صمغ ریشه و ساقه گیاه آنغوزه Ferula assa- foetida بر بیان ژن‌های VEGF و FGF در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه

محمدرضا پورمحمد[۱]، جینا خیاط‌زاده[۲*]، مصطفی آذری‌زاده[۲]، وحید پوراسماعیل[۳]، سعیده ظفر بالانژاد[۲]

۱- گروه انگل‌شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
۳- گروه بیوشیمی، واحد علوم پزشکی مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۳

چکیده

سابقه و هدف: 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) هستند. با توجه به اهمیت علوم گیاه پزشکی و از طرفی نقش رگزایی در فرآیندهایی مانند ترمیم زخم، سیکل‌های قاعدگی، رشد جفت و تخمک‌گذاری، هدف این پژوهش بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ریشه و ساقه گیاه آنغوزه (به عنوان یکی از گیاهان دارویی شاخص در طب سنتی) بر تغییرهای بیان ژن‌های VEGF و FGF در مسیر آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک (CAM) جنین جوجه بود.

روش کار: در این پژوهش تجربی، تعداد ۸۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد Ross به طور تصادفی به هشت گروه شامل گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی (pbs)، و شش گروه تجربی تقسیم شدند. در روز هشتم انکوباسیون، گروه شاهد آزمایشگاهی با نرمال سالین و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره هیدروالکلی ساقه و ریشه گیاه آنغوزه تیمار شدند. در روز دوازدهم، عکس‌برداری از پرده کوریوآلانتوئیک برای شمارش تعداد عروق و اندازه‌گیری طول عروق انجام شد. تهیه نمونه CAM برای استخراج RNA و ساخت cDNA انجام گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده توسط آزمون‌های آماری t- test و ANOVA بررسی شدند.

یافته‌ها: میانگین تعداد عروق (۳/۴۵ ± ۱/ ۲۶) و طول عروق (۰/۷۸± ۳۱/۱) در گروه تیمارشده کاهش معناداری ($P < ۰/۰۵$) را نسبت به گروه شاهد نشان داد. همچنین میزان بیان ژن‌های VEGF (۰/۳۰۴۵) و FGF (۰/۴۲۲۹) در گروه تیمارشده به طور معناداری ($P < ۰/۰۵$) کمتر از گروه شاهد بود.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه می‌تواند بر میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF و روند رگ‌زایی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه تأثیر گذارد.

واژگان کلیدی: صمغ آنغوزه؛ عصاره هیدروالکلی؛ پرده کوریوآلانتوئیک؛ آنژیوژنز؛ VEGF؛ FGF

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Pourmohammad M, Khayatzadeh J, Azarizadeh M, Pouresmaeil V, Zafar Balanjad S. The Effect of the Hydroalcoholic Extract of Ferula Assa- Foetida Resin Root and Shoot on the VEGF and FGF Gene Expression in the Chorioallantoic Membrane of Chick Embryos. Pejouhesh dar Pezeshki. 2024;48(1):50-62.

***نویسنده مسئول مکاتبات:** جینا خیاط‌زاده؛ **آدرس پست الکترونیکی:** j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]
CC BY NC

مقدمه

نخستین رگ‌های خونی در اثر پدیده واسکولوژنز 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. آنژیوژنز یا رگ‌زایی فرآیند تکثیر فعال سلول‌های اندوتلیال است و تشکیل رگ‌های فعال مستلزم برهم کنش‌های هماهنگ بین سلول‌های اندوتلیال، ماتریکس خارج سلولی و سلول‌های احاطه‌کننده آنها است (۱). این سلول‌ها در بلوغ خاموش هستند، ولی توانایی فعال‌شدن در پاسخ به عوامل مناسب را دارند. رگ‌زایی یک فرآیند 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 ازجمله رشد و متاستاز تومور فراهم می‌شود (۲).

مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر آنژیوژنز شامل فاکتور سلول بنیادی (SCF)، فاکتور رشد اپیتلیال (EGF)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF)، فاکتور رشد مشتق از پلاکت‌ها (PDGF) و همچنین فاکتور رشد عروقی اندوتلیالی (VEGF) است (۳).

در بسیاری از بیماری‌های پاتولوژیک نظیر تومورهای پیشرفته متاستاز، ورم مفاصل، تصلب شرائین و بسیاری از بیماری‌های دیگر آنژیوژنز به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. متاستاز نقش ویژه در گسترس سرطان‌هایی دارد که منجر به مرگ می‌شوند. در طی روند متاستاز سلول‌های سرطانی از طریق عروق خونی مهاجرت نموکرده و به سایر بافت‌ها وارد می‌شوند و در نهایت سبب درگیر شدن بافت‌های سالم بدن می‌شوند (۴).

از این‌رو مهار رگ‌زایی و متعاقب 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). با توجه به مصرف منابع گیاهی به طور گسترده در میان ملل مختلف نقش درمانی آنها در بیماری‌ها اهمیت بسیاری پیدا کرده است. همچنین به دلیل عوارض جانبی کمتر گیاهان انجام مطالعه‌ها با هدف شناسایی ترکیب‌های ضدتوموری و ضدرگ‌زایی با منشأ گیاهی اهمیت شایانی پیدا کرده است.

ترکیب‌های فنلی خواص آنتی اکسیدانی قوی دارند و غالباً در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شوند (۶).

گیاهان حاوی ترکیب‌های مختلفی ازجمله فلاوونوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کوئینون‌ها، گلیکوزیدهای قلبی و کومارین هستند که این ترکیب‌ها می‌توانند پتانسیل بالقوه‌ای در درمان بیماری‌های مختلف ناشی از ضایعه‌های پاتولوژیک آنژیوژنز را دارا باشند (۷). به تازگی توجه زیادی از محققان به کشف داروهای طبیعی و سنتزی به عنوان ترکیب‌های ضدآنژیوژنز معطوف شده است تا بتوانند آنها را به عنوان درمان سرطان‌های مختلف و یا حداقل بخشی از پروتکل‌های درمانی تومورها مطرح کنند (۸).

آنغوزه (*Ferula assa-foetida*) ازجمله گیاهان بومی ایران از خانواده چتریان (Apiaceae) است که دارای خواص دارویی فراوانی است. ترکیب‌های اصلی واجد خواص دارویی آن شامل رزین (درصد۶۴-۴۰)، صمغ (درصد۲۵) و روغن‌های ضروری (درصد۱۷-۱۰) است. بخش رزینی آن شامل فرولیک اسید و استرهای آن، کومارین، سزکویی ترپن کومارین‌ها و سایر ترپنوییدها است (۹). بو و مزه خاص آنغوزه به دلیل وجود ترکیب‌های سولفوره در صمغ آنغوزه است که شامل دی، تری و تتراسولفیدها هستند. صمغ آن دارای گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی‌ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها بوده و روغن‌های فرار آن از ترکیب‌های سولفوره و ترپنوییدها تشکیل شده است. آنغوزه در تهیه داروهای ضدقارچ، ضدتشنج، قاعده‌آور و مقوی قلب استفاده می‌شود و در رفع بیماری‌های عصبی و تنفسی نظیر اسپاسم حنجره و آسم و همچنین در رفع یبوست افراد مسن مؤثر است. آثار ضدمیکروبی و ضدانگلی برای آنغوزه نیز گزارش شده است (۱۰).

یکی از مدل‌های آزمایشگاهی برای بررسی آنژیوژنز استفاده از پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه است. از طرفی استفاده از تخم‌مرغ جنین‌دار یک روش ساده و مقرون به صرفه است و چون پرده کوریوآلانتوئیک یک سیستم بسته است، نیمه عمر ترکیب‌های مختلفی که استفاده می‌شوند نسبت به مدل‌های حیوانی بیشتر خواهد بود (۱۱). با توجه به آثار ضدسرطانی

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

آنغوزه و نظر به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در مورد آثار عصاره هیدروالکلی صمغ ریشه و ساقه آن روی آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مشاهده نشده است، هدف از این مطالعه بررسی بیان ژن‌های VEGFو FGF در روند آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه تحت اثر عصاره هیدروالکلی صمغ ریشه و ساقه گیاه آنغوزه بر روی تخم‌مرغ جنین‌دار به عنوان یک مدل آزمایشگاهی بود. این مطالعه در نیمه اول سال ۱۴۰۲ در دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شد.

روش کار

این مطالعه یک پژوهش تجربی بود که در سال ۱۴۰۲ انجام شد. کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد با شناسه IR.IAU.MSHD.REC.1402.101 این مطالعه را تأیید کرد. برای انجام آزمایشاهایی از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار نژاد Ross به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد. نمونه‌های مورد مطالعه از شرکت مرغداری جهاد کشاورزی مشهد تهیه شد. برای انجام مطالعه‌ها تعداد ۸۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار مطابق سایر تحقیق‌ها انجام شده به طور تصادفی به هشت گروه آزمایشگاهی تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه شامل گروه شاهد (بدون تیمار)، شاهد آزمایشگاهی (تیمار با نرمال سالین)، گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ (تیمار با عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ µl/ ml) و گروه‌های تجربی ۴ و ۵ و ۶ (تیمار با عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ µl/ ml) بود (۱۲).

آماده‌سازی عصاره هیدروالکلی ریشه و ساقه گیاه آنغوزه

پودر ریشه و ساقه گیاه آنغوزه از شرکت گیاهان دارویی تهیه شد. عصاره هیدرو الکلی توسط روش سوکسله (Soxhlet Extractor) که یک روش متداول علمی آزمایشگاهی است تهیه شد. در این روش مقدار ۱۰۰ گرم از پودر ریشه و یا ساقه داخل کاغذ صافی ریخته و به دستگاه سوکسله که شامل یک بالن ته گرد در بخش پایینی و یک مبرد در بخش فوقانی است، انتقال داده شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه، حدود ۲۰۰ سی‌سی اتانول ۹۶ درصد در محفظه مخصوص ریخته شده و عصاره‌گیری انجام شد. عصاره‌گیری در طی دو روز متوالی انجام شد تا تمام عصاره قابل حل از گیاه استخراج و جدا شود. سپس عصاره در دستگاه روتاتوری تقطیر در خلا قرار داده شد تا یک سوم حجم اولیه تغلیظ شود. بعد از آن عصاره در انکوباتور با دمای ۴۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا به طور کامل خشک شود. در نهایت عصاره خشک شده برای به دست آوردن غلظت‌های مورد نظر با حلال مخصوص (PBS) رقیق شد (۱۳).

تزریق به تخم‌مرغ جنین‌دار

تخم‌مرغ‌های تهیه شده 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 شد و دستگاه در وضعیت روشن و در حالت چرخش خودکار قرار گرفت. دستگاه جوجه‌کشی برای تبدیل اتوماتیک و خودکار تخم‌مرغ نطفه‌دار به جوجه یک روزه استفاده می‌شود، در واقع تخم‌مرغ نطفه‌دار در داخل دستگاه قرار گرفته و جوجه یک روزه از آن خارج می‌شود. فرآیند تبدیل تخم به جوجه به صورت اتوماتیک انجام می‌گیرد. روز دوم انکوباسیون در شرایط استریل و زیر هود لامینار به کمک پنس استریل در سمت پهن تخم‌مرغ سوراخ کوچکی ایجاد و سپس در سمت پهلویی آن پنجره ایجاد شد و محل نیز به وسیله لامل، چسب و پارافیلم استریل پوشانده و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شد. روز هشتم انکوباسیون پنجره در زیر هود لامینار باز شد و روی پرده کوریوآلانتوئیک جوجه یک اسفنج ژلاتینی به ابعاد ۱×۴×۴ میلی‌متر قرار داده شد تا تیمارها در آن ناحیه انجام گیرد. در نمونه شاهد آزمایشگاهی تیمار با نرمال سالین انجام و در نمونه‌های تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی ریشه و ساقه گیاه آنغوزه به اسفنج ژلاتینی مقدار ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های هیدروالکلی آنغوزه با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ µg/ ml اضافه شد، سپس پنجره‌ها دوباره بسته شدند و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شد. در روز دوازدهم انکوباسیون تصاویر از عروق خونی سطح پرده کوریوآلانتوئیک تمام نمونه‌ها با استفاده از فوتواستروئومیکروسکوپ تحقیقاتی تهیه و با کمک نرم‌افزار imageJ تعداد و طول انشعاب‌های عروقی در سطح مقطع

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

یکسان برای تمام نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان کار طول سری- دمی وضعیت مورفولوژیکی و وزن جنین‌های هر گروه نیز بررسی و ثبت شد (۱۴).

استخراج RNA

برای 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 تحقیق در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اطمینان از درستی استخراج RNA کیفیت و کمیت آن توسط ژل الکتروفورز و تکنیک اسپکتروفتومتری نانودراپ بررسی شد و در مرحله بعد از نمونه‌های استخراج شده cDNA سنتز شد. کیت مخصوص سنتز cDNA از شرکت پارس توس تهیه و در پایان سنتز cDNAها به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد بازگردانده شدند (۱۵).

بررسی بیان ژن‌های VEGFو FGF با استفاده از تکنیک Real time PCR

برای بررسی بیان ژن VEGF و FGF پرایمرهای اختصاصی به کمک سایت NCBI طراحی و سپس برای اطمینان از درستی آن BLAST شد. همچنین توالی پرایمر ژن GAPDH به عنوان هاوس کیپینگ ژن تعیین و طراحی شد. جدول ۱ توالی پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق را نشان می‌دهد. در نهایت برای دستیابی به پاسخ بیان ژن تحت تأثیر عصاره‌های مورد نظر، واکنش Real Time PCR انجام شد. بر این اساس، ۱۰میکرولیتر Master Mix از شرکت Bioneer، هفت میکرولیتر آب مقطر استریل، یک میکرولیتر cDNA تهیه شده، یک میکرولیتر پرایمر Forward و یک میکرولیتر پرایمر Reverse باهم ترکیب شدند. برنامه زمان‌بندی 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 طویل‌سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه انجام گرفت. در پایان محصولات PCR بر روی ژل آگاروز یک درصد حاوی اتیدیوم بروماید منتقل و الکتروفورز شدند (۱۶).

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

ردیف	نام ژن	توالی رفت (Forward)	توالی برگشت (Reverse)
1	VEGF	CCTGCCTTGC TGCTCTACC	CACACAGGATGG CTTGAAG
2	GAPDH	TGCTGGTGCTGAGTATGTCG	GCATGTCAGATCCACAACGG
3	FGF	AAACAGCGTCTTCAGTATCC	ATCCTCTCCACAAACTCACA

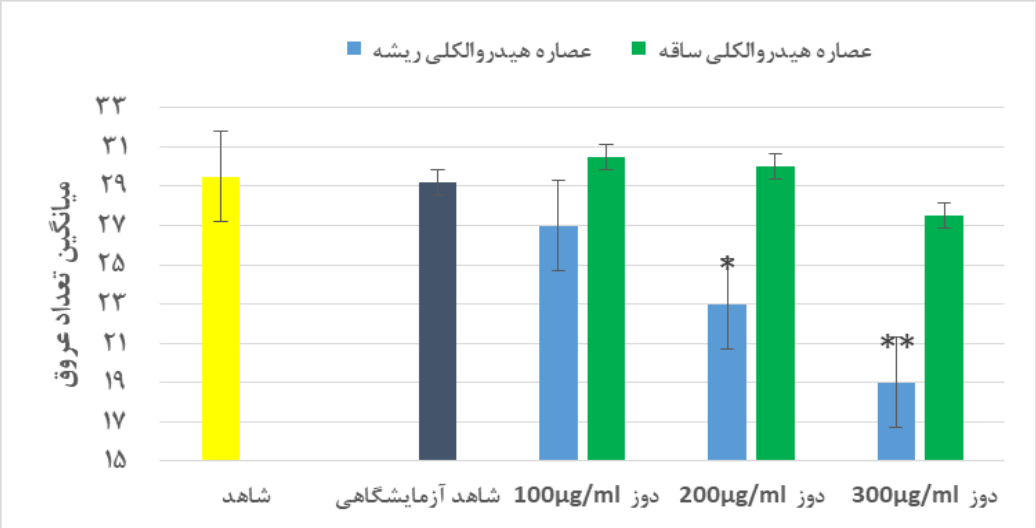
آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزارهای آماری Excel و SPSS 20 تحلیل شدند. روش‌های آماری استفاده شده در این پژوهش عبارت بودند از: آزمون تی استیودنت (T-student)، آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون توکی (Tukey-Test). همچنین از میانگین، خطای معیار و نمودارهای ستونی برای توصیف اطلاعات استفاده شد. سطح معناداری آماری درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

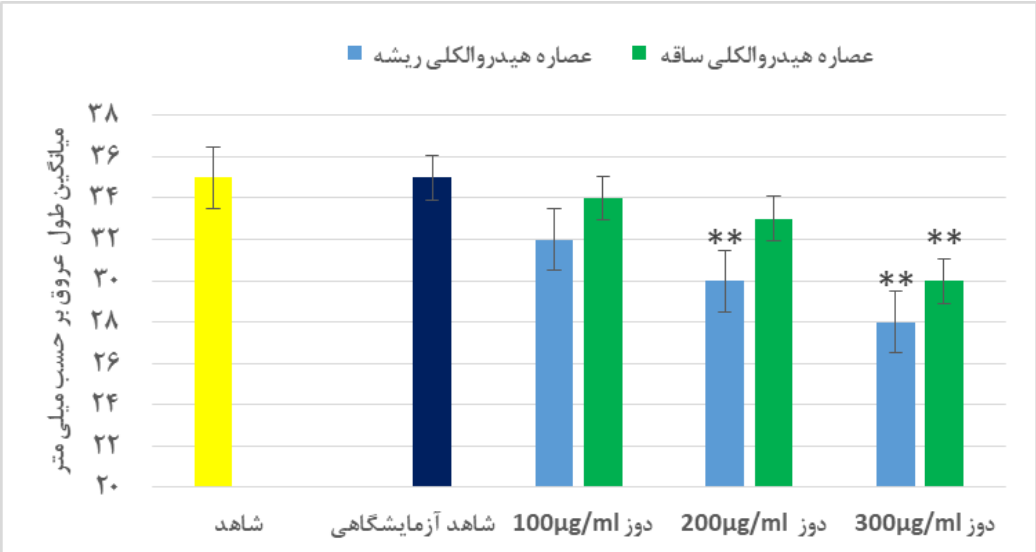
این تحقیق با هدف بررسی روند آنژیوژنز و میزان تغییرهای بیان ژن VEGF و FGF تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی ساقه و ریشه گیاه آنغوزه در مدل آزمایشگاهی پرده CAM در جنین جوجه انجام گرفت.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]



نمودار ۱- تعداد انشعاب‌های عروقی در گروه‌های مطالعه‌شده

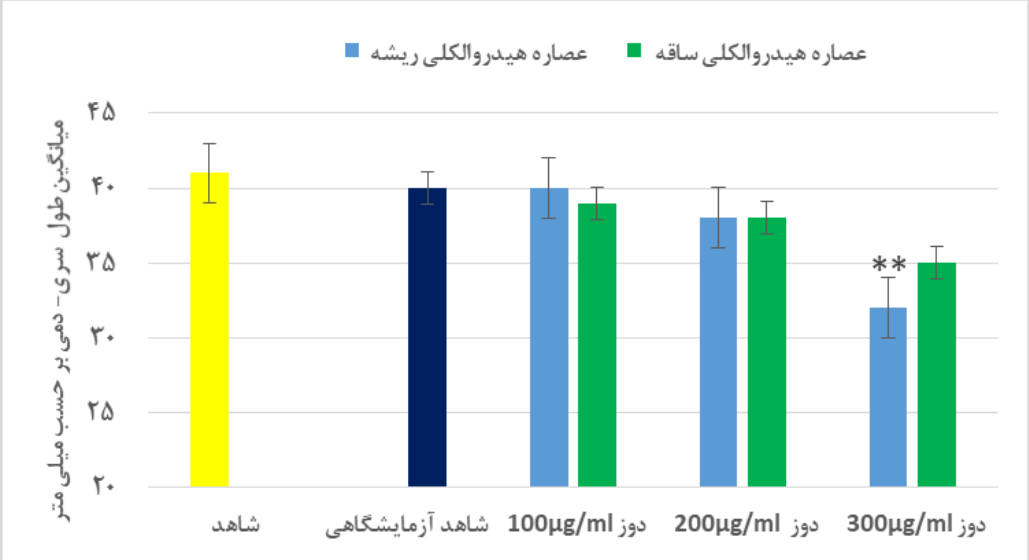
مقایسه میانگین تعداد عروق در گروه شاهد (۲/۴۵ ± ۲۹ /۵) با شاهد آزمایشگاهی (۱/۱۳ ± ۲۹ /۲) نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد (P > ۰/۰۵). بنابراین، در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد. مقایسه میانگین تعداد عروق بین گروه تجربی ۱ (تیمار با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد (P > ۰/۰۵). اما مقایسه گروه تجربی ۲ (۲/۰۷ ± ۲۳ /۱) و ۳ (۲/۵۵ ± ۱۹ /۲) (به ترتیب تیمار با ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان‌دهنده تفاوت معناداری در سطح خطای ۵ درصد بود. همچنین مقایسه میانگین تعداد عروق در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) نشان داد که اختلاف معناداری بین آنها وجود ندارد (P >۰/۰۵).



نمودار ۲- میزان طول انشعاب‌های عروقی در گروه‌های مطالعه‌شده

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

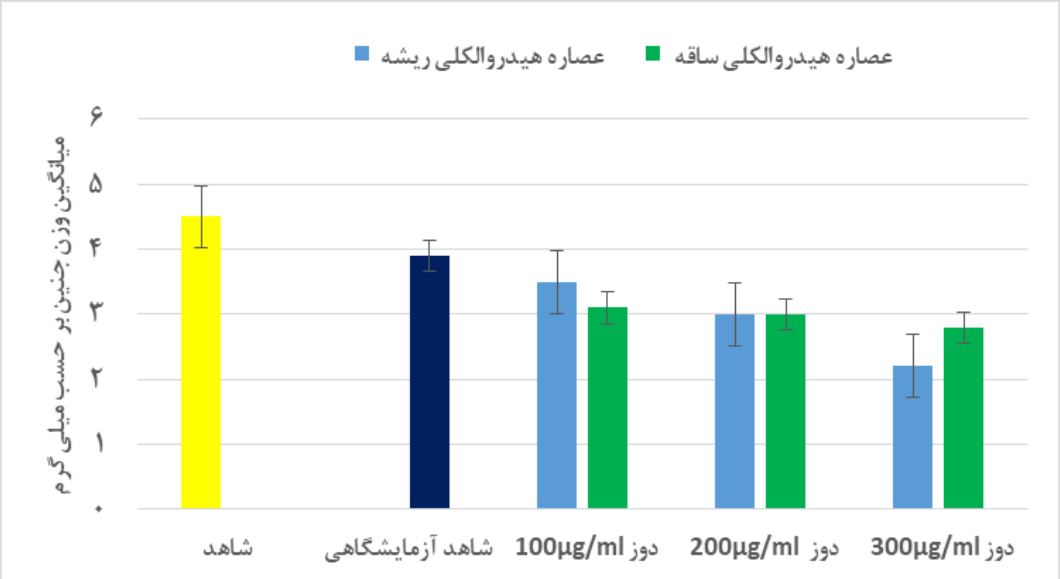
مقایسه میانگین طول انشعاب‌های عروقی در گروه شاهد (۱/۳۵ ± ۳۵ /۱) با شاهد آزمایشگاهی (۱/۲۵ ± ۳۴ /۹) نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد. مقایسه میانگین طول عروق بین گروه تجربی۱ (تیمار با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$). اما مقایسه گروه تجربی ۲ (۱/۸۲ ± ۳۰ /۰۵) و ۳ (۱/۷۵ ± ۲۸ /۰۲) (به ترتیب تیمار با ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان دهنده تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد بود. همچنین مقایسه میانگین طول انشعابات عروقی در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۴ و ۵ (شامل تیمار با ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) نشان داد که اختلاف معناداری بین آنها وجود ندارد. اما مقایسه گروه تجربی ۶ (۱/۱۵ ± ۳۰ /۰۳) (تیمار با ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان دهنده تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد بود.



نمودار ۳- میزان طول سری– دمی در گروه‌های شده

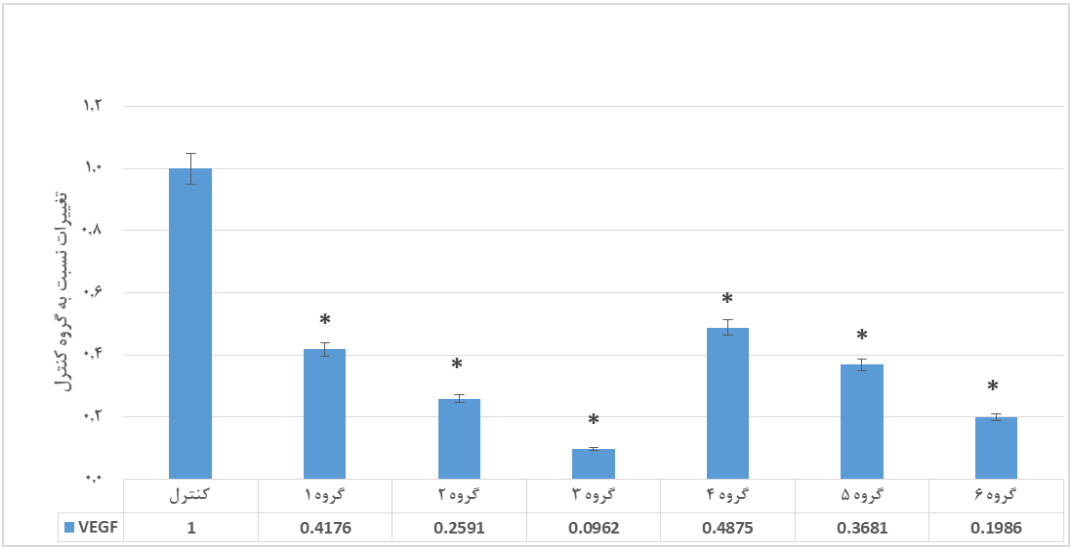
مقایسه میانگین طول سری - دمی در گروه شاهد (۲/۵۵ ± ۴۱/۲) با شاهد آزمایشگاهی (۱/۱۵ ± ۴۰/۰۵) نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد. مقایسه میانگین طول سری - دمی بین گروه تجربی ۱ و ۲ (به ترتیب تیمار با ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$). اما مقایسه گروه تجربی ۳ (۲/۴۵ ± ۳۲ /۲) (تیمار با ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان دهنده تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد بود. همچنین مقایسه میانگین طول سری - دمی در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) نشان داد که اختلاف معناداری بین آنها وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]



نمودار ۴- میزان وزن جنین در گروه‌های مطالعه شده

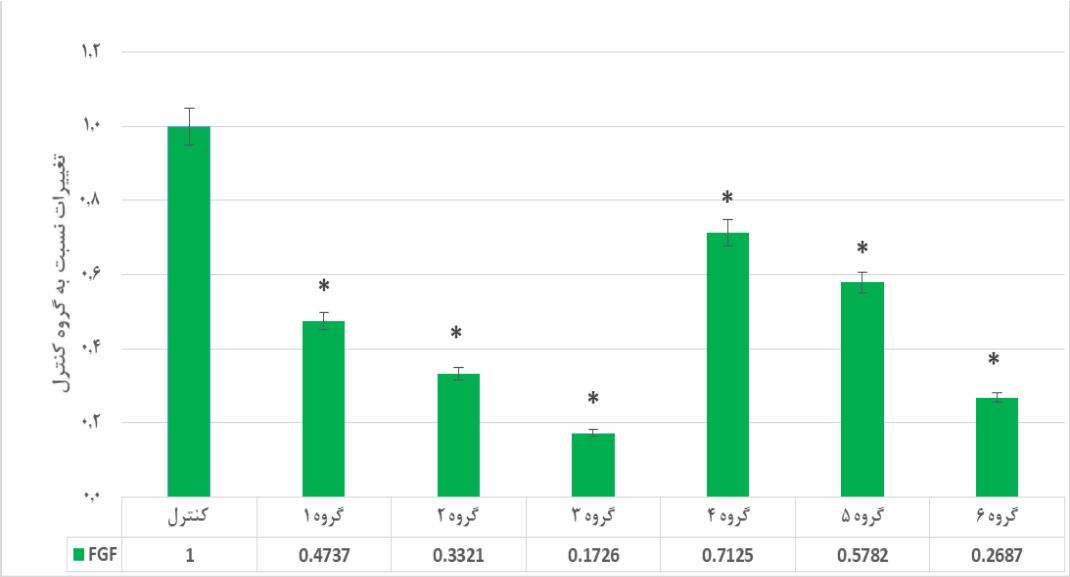
مقایسه میانگین وزن جنین‌ها در گروه شاهد (۰/۵۵ ± ۴/۵) با شاهد آزمایشگاهی (۰/۲ ± ۳/۹) نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد (P > ۰/۰۵). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد. مقایسه میانگین میانگین وزن جنین‌ها بین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد (P > ۰/۰۵). همچنین مقایسه میانگین وزن جنین‌ها در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) نشان داد که اختلاف معناداری بین آنها وجود ندارد (P > ۰/۰۵).



نمودار۵- میزان بیان ژن VEGF در گروه‌های مطالعه‌شده

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

مقایسه میزان بیان ژن VEGF در گروه شاهد با شاهد آزمایشگاهی نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد (P > ۰/۰۵). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد. مقایسه میزان بیان ژن VEGF بین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری در سطح خطای ۵ درصد وجود دارد. همچنین مقایسه میزان بیان ژن VEGF در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) نشان داد که تفاوت معناداری در سطح خطای ۵ درصد وجود دارد.



نمودار۶- میزان بیان ژن FGF در گروه‌های مطالعه شده

مقایسه میزان بیان ژن FGF در گروه شاهد با شاهد آزمایشگاهی نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد (P > ۰/۰۵). بنابراین در بررسی‌های بعدی تمام نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد. مقایسه میزان بیان ژن FGF بین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه آنغوزه) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری در سطح خطای ۵ درصد وجود دارد. همچنین مقایسه میزان بیان ژن FGF در نمونه شاهد با گروه‌های تجربی ۴، ۵ و ۶ (شامل تیمار با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه آنغوزه) نشان داد که تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ درصد وجود دارد.

بحث

نتایج این بررسی نشان داد عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه می‌تواند به طور معناداری میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF و روند رگ‌زایی پرده کوریوآلانتوئیک تخم‌مرغ جنین‌دار را کاهش دهد. اسید گالبانیک یکی از ترکیب‌های صمغ گیاه آنغوزه است که دارای آثار سیتوتوکسیک روی سلول‌ها بوده و همچنین سبب کاهش تکثیر سلولی می‌شود. بنابراین می‌توان گفت اسید گالبانیک موجود در عصاره این گیاه روی تکثیر سلول‌های آندوتلیال عروق خونی اثر مهاری داشته و سبب کاهش تکثیر و در نتیجه کاهش تعداد و طول انشعاب‌های عروقی شده است (۱۷). Shabestarian و همکاران در مطالعه‌ای اعلام کردند اسید گالبانیک موجود در گیاه آنغوزه منجر به القای آپوپتوز در

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

سلول‌های آندوتلیالی می‌شود (۱۸). Buhr و همکاران دریافتند کامپتوتسین و توپوتکان که از ترکیب‌های صمغ آنغوزه هستند از رشد سلول‌های آندوتلیال انسانی در شرایط *In vitro* جلوگیری می‌کند و این مهار تا ۹۶ ساعت پس از قطع عصاره از محیط، باقی می‌ماند. این دو ترکیب علاوه بر فعالیت ضدرگزایی، می‌توانند از طریق مهار رگ‌زایی نیز به صورت غیرمستقیم اثر ضدتوموری داشته باشند (۱۹). Sarkar ثابت کرد گیاه آنغوزه حاوی مقدار زیادی ایزوفلاونوئید است که از تکثیر سلول‌های اندوتلیال القاء شده توسط VEGF و FGF ممانعت می‌کند (۲۰). Mallikarjuna در مطالعه طولانی‌مدت نشان داد که تجویز صمغ آنغوزه از رشد سلول‌های سرطانی پستان ناشی از تجویز نیتروز اوره پیشگیری و زمان ظهور سرطان را به تأخیر می‌اندازد. در این تحقیق دلیل اصلی این تأخیر را اثر مهاری ترکیب‌های موجود در آنغوزه بر کاهش رگ‌زایی در اطراف سلول و بافت سرطانی اعلام شد (۲۱). Jiang و همکاران اعلام کردند آنغوزه حاوی ترکیب‌هایی است که با سلول‌های سرطانی در سطوح مختلف برهمکنش داشته و می‌تواند سبب افزایش آثار تومورکشی پرتو داروها و داروهای شیمیایی شود. همچنین اثرات ضدرگ‌زایی و ضدمتاستازی آن تا حدودی از طریق کاهش بیان آنزیم متالوپروتئیناز ماتریکس (MMP-2) و افزایش بیان مهارکننده بافتی متالوپروتئیناز یک (TIMP1) می‌باشد (۲۲). **نتایج پژوهش حاضر با تحقیق فوق هم راستاست.** طبق پژوهش حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه سبب کاهش روند آنژیوژنز و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه شد. نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی این گیاه می‌تواند با کاهش روند رگ‌زایی دارای آثار بالقوه در درمان سرطان باشد که البته نیازمند انجام مطالعه‌های بالینی است.

تجویز (Farnesiferol) که یکی از مواد مهم تشکیل‌دهنده رزین آنغوزه است می‌تواند در مهار فاکتور رشد اندوتلیوم عروق مؤثر باشد. مهار این فاکتور رشد، موجب مهار سلول‌های تولید سرطان در تکثیر، مهاجرت، تهاجم، تشکیل عروق و بافت همبند می‌شود. تجویز خوراکی شیر آنغوزه به موش آزمایشگاهی موجب مهار رشد سرطان پستان ناشی از تجویز نیتروزاوره (nitrosourea-N-methyl-N) شد. در این مطالعه گزارش شده است که تجویز آنغوزه، موجب تحریک در فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون شده است (۲۳). همچنین رزین آنغوزه موجب کاتالاز و بازسازی سیستم آنتی اکسیدانی ناشی از تجویز نیتروز اوره شده است (۲۴). در مطالعه دیگر تجویز ماده سرطان‌زا روی پوست که موجب تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی در سلول‌های پوستی و تشکیل سلول‌های سرطانی می‌شد با پیش درمانی رزین آنغوزه موجب بازسازی سیستم آنتی اکسیدانی و پیشگیری از سرطانی‌شدن سلول‌های پوست شده است (۲۵). در یک مطالعه تجویز خوراکی آنغوزه موجب مهار دو مرحله گسترش سرطان و همچنین افزایش طول عمر موش‌های سرطانی شده با ماده سرطان‌زای دی فیل بنز آن ترانس روی پوست شد (۲۶). در یک مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی رزین آنغوزه در مهار آسیب وارده به DNA توسط H_2O_2 در مقایسه با آسکوربیک اسید بررسی شد. نتایج نشان داد که اثر رزین آنغوزه در این مورد قویتر از آسکوربیک اسید است (۲۷). **نتایج پژوهش حاضر با تحقیق فوق هم راستاست.** طبق پژوهش حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه سبب کاهش روند آنژیوژنز و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه می‌شود. گیاه آنغوزه می‌تواند با کاهش روند رگ‌زایی دارای اثرات بالقوه در درمان سرطان باشد که البته نیازمند انجام مطالعه‌های بالینی است.

در سال‌های اخیر میزان سرطان در جهان روند صعودی داشته است و بنابراین تلاش در جهت جستوجوی داروهای ضدسرطانی نیز افزایش پیدا کرده است. به تازگی توجه محققان به استفاده از ترکیب‌های ضدآنژیوژنز با منابع مختلف معطوف شده است (۲۸). ازجمله پروتئین مهارکننده تریپسین کونیتز، فراکسیون‌های غضروف کوسه، ترکیب‌های گیاهی مانند نوعی پیاز کوچک با نام علمی *Allium ascalonicum*، مریم گلی *Salvia officinalis*، انجیر *Ficus carica*، کانابینوئیدها و حتی قارچها یا آنتی‌بادی‌های مونوکلونال مانند Bevacizumab.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

اگرچه تمامی این ترکیب‌ها قادر به مهار آنژیوژنز هستند. به نظر می‌رسد ترکیب‌هایی که از گیاهان و داروهای گیاهی تهیه می‌شوند از نظر اقتصادی مقرون به صرفه‌تر و از سوی دیگر به مقدار زیاد در دسترس هستند. همچنین در صورت استفاده از آنها به صورت خوراکی این ترکیب‌ها به پروتئینازها مقاوم هستند. در مطالعه‌های مختلف به آثار ضدسرطانی آنغوزه در شرایط *in vitro* اشاره شده است (۲۹).

در این تحقیق با توجه به کمبود زمان، آزمایش‌های مولکولی بیشتر انجام نشد که امیداست در آینده در این زمینه تحقیق‌های مولکولی و فارماکولوژی بیشتری انجام شود. همچنین پیشنهاد می‌شود تأثیر گیاه آنغوزه در بیماری‌های متعدد ازجمله سرطان و بررسی آثار آن در تأیید یافته‌های این پژوهش بررسی شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه دارای آثار ضدرگ‌زایی است. بنابراین بر اساس نتایج پژوهش حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه آنغوزه می‌تواند در درمان بیماری‌های مختلف انسانی ازجمله سرطان استفاده شود.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در کمیته اخلاق در پژوهش دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم پزشکی مشهد بررسی و با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1402.101 ثبت شده است.

تشکر و قدردانی

از مشارکت‌کنندگان محترم و تمامی بزرگوارانی که در اجرای پژوهش حاضر ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

References

1. Ramezani T, Baharara J. A review on Angiogenesis in tumor. J Cell Tissue 2014; 5(1): 89-100. [Persian]

2. Bahararab J, Zafar-Balannezhad S, ShahrokhAbadi K, Hesami Z. Synergic effects of Atorvastatin and low frequency electromagnetic field on chorioallantoic membrane angiogenesis of chick embryo. J Birjand Univ Med Sci 2012; 19(2): 148-56. [Persian]

3. Vimalraj S, Renugaa S, Dhanasekaran A. Chick embryo chorioallantoic membrane: a biomaterial testing platform for tissue engineering applications. Process Biochemistry. 2023 Jan 1; 124:81-91.

4. Gulcu A, Akkaya O. Investigation of the antiangiogenic properties of zoledronic acid by using chorioallantoic membrane model. Dose-Response. 2022 Apr 7;20(2):15593258221093410.

5. CHU, Pei-Yu, et al. Applications of the chick chorioallantoic membrane as an alternative model for cancer studies. Cells Tissues Organs, 2022, 211.2: 222-237.

6. Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A, et al. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. Eur J Nutr 2012; 51(6): 637-63.

7. Prabhakar P, Mukherjee S, Kumar A, Kumar S, Verma DK, Dhara S, Maiti MK, Banerjee M. 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. Journal of Food Measurement and Characterization. 2023 Jul 31:1-24.

8. Majnooni M, et al. Inhibiting Angiogenesis by Anti-Cancer Saponins: From Phytochemistry to Cellular Signaling Pathways. Metabolites, 2023, 13.3: 323.

9. Mortazaei S, Rafieian M, Ansary Samani R, Shahinfard N. Comparison of phenolic compoundsConcentrations and antioxidant activity of eight medicinal plants. J Rafsanjan Univ Med Sci 2013; 12(7): 519- 30. [Persian]

10. Farhangfar A, Tajik H, Razavi Rohani SM, Moradi M, Aliakbarlu J. Combined influence of the clove essential oil and grape seed extract on the spoilage related bacteria of buffalo patties during the storag at 8°C. J Food Sci Res 2011; 21(1): 106-16. [Persian]

11. Ejaz S, Anwar K, Taj R, Ashraf M. A novel link between angiogenesis and natural products: Anti - angiogenic effects of Opuntia dillenii. Open Life Sci. 2014;9(3):298-308.

12. Niazi F, Shahrokh abadi K, Tehranipour M. The Effects of Total Extract Ocimumbasilicumon VEGF Gene Expression Changes in Chick Embryo Chorioallantoic Membrane Angiogenesis. JSSU 2017; 25 (8) :629-640.

13. Yuan R, Hou Y, Sun W, Yu J, Liu X, Niu Y, et al. Natural products to prevent drug resistance in cancer chemotherapy: a review. Ann N Y Acad Sci. 2017;1401(1):19-27.

14. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay. Reproductive toxicology. 2017;70:97-101.

15. Hormozi M, Talebi S, Khorshid HRK, Zarnani A-H, Kamali K, Jeddi-Tehrani M, et al. The effect of Setarud (IMODTM) on angiogenesis in transplanted human ovarian tissue to nude mice. Iranian Journal of Reproductive Medicine. 2015;13(10):605.

16. Abdullah NK, Shindala MK, Mustafa NG. VEGF Gene Expression and Angiogenesis in the Chorioallantoic Membrane: the Role of Cloprostenol. Egyptian Journal of Veterinary Sciences. 2023;54(3):359-68.

17. ragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. Biochim Biophys Acta. 2013;1830(6):3670-95.

18. 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. Journal of Microencapsulation. 2021;38(5):324-37.

19. 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.

20. 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 Virology. 2023;18(12):767-82.

21. Mallikarjuna P, Zhou Y, Landström M. The Synergistic Cooperation between TGF-β and hypoxia in Cancer and fibrosis. Biomolecules. 2022;12(5):635.

22. 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.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]

23. 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 Journal of Biological Chemistry. 2023;14(2):28-39.

24. 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 and Chemical Toxicology. 2020;140:111312.

25. 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.

26. 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.

27. Sharifalhoseini, M., Es-haghi, A., Vaezi, G., Shajiee, H. Anti-Angiogenic Effects of Synthesized Solid Lipid Nanoparticles Containing Foeniculum vulgare Essential Oil. *Journal of Animal Biology*, 2023; 15(3): 243-256.

28. 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.

29. Hoseinkhani Z, Norooznezhad F, Rastegari-Pouyani M, Mansouri K. Medicinal plants extracts with antiangiogenic activity: where is the link? Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2020;10(3):370.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-03]