

اثر عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر (*Allium sativum* L.)، آنغوزه (*Ferula assa-foetida*) و میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رگ‌زایی در پرده کوریوآلاتنویک جنین جوجه (*in vivo*) سیددامون صدوقی^{۱*}، سعیده ظفربالانژاد^۲، جواد بهارآرا^۳، خدیجه نژادشاهرخ‌آبادی^۴، حشمت سپهری مقدم^۵، راهله رهباریان^۶

- ۱- دانشجوی دکتری تخصصی بیولوژی سلولی تکوین، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
 - ۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران
 - ۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران
 - ۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران
 - ۵- استادیار، گروه کشاورزی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران
 - ۶- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران
- *آدرس مکاتبه: مشهد، بلوار معلم ۷۱، دانشگاه پیام‌نور، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
صندوق‌پستی: ۴۳۳ - ۹۱۷۳۵، تلفن: ۰۹۱۵۳۰۲۶۳۱۳، شماره: ۰۱ (۰۵۱) ۳۸۶۸۳۰۰۱
پست الکترونیک: Damoon.sadughi@Gmail.com

تاریخ تصویب: ۹۴/۴/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۸

چکیده

مقدمه: مهار رگ‌زایی یکی از اهداف درمان سرطان می‌باشد. در طب سنتی سیر و آنغوزه به عنوان گیاهان دارویی شاخص مورد توجه می‌باشند. اثر میدان‌های الکترومغناطیس بر جنبه‌های مختلف رشد و نمو سلولی تأیید شده است. هدف: این پژوهش با هدف یافتن اثر عصاره اندام هوایی سیر، آنغوزه و میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رگ‌زایی انجام شد. روش بررسی: ۱۰۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار در ۱۰ گروه مساوی تقسیم شدند: شاهد (تیمار با آب مقطر)، شاهد آزمایشگاهی یک (تیمار با نرمال‌سالین)، شاهد آزمایشگاهی دو (در معرض میدان الکترومغناطیس خاموش)، تجربی یک (تیمار با عصاره اندام هوایی سیر)، تجربی دو (تیمار با عصاره اندام هوایی آنغوزه)، تجربی سه (تیمار با ترکیب عصاره سیر و آنغوزه)، تجربی چهار (در معرض میدان الکترومغناطیس ۱۰۰ گاوس)، تجربی پنج (تیمار با عصاره سیر + میدان الکترومغناطیس)، تجربی شش (تیمار با عصاره آنغوزه + میدان الکترومغناطیس)، تجربی هفت (تیمار با ترکیب عصاره آنغوزه + میدان الکترومغناطیس). روز هشتم انکوباسیون تزریق عصاره و در روز دهم، نمونه‌ها در معرض امواج الکترومغناطیس قرار گرفتند. روز دوازدهم از پرده کوریوآلاتنویک عکس‌برداری و طول و تعداد انشعابات عروقی اندازه‌گیری شد. نتایج: میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی در گروه‌های تجربی یک، دو، چهار، پنج و شش در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری یافت. بیشترین کاهش معنی‌دار در گروه سه، بویژه گروه هفت ایجاد شد ($p < 0/05$). همچنین عصاره آنغوزه اثر ضد رگ‌زایی بیشتری نسبت به سیر دارد. نتیجه‌گیری: سیر و آنغوزه اثر مهاری بر رگ‌زایی دارد و این اثر توسط میدان الکترومغناطیس تشدید می‌شود. گل‌واژگان: رگ‌زایی، آنغوزه، سیر، میدان الکترومغناطیس، کوریوآلاتنویک



مقدمه

رگ‌زایی (Angiogenesis) فرآیندی است که طی آن از رگ‌های خونی موجود، رگ‌های جدید به وجود می‌آید. واسکولوژنز (Vasculogenesis) فرآیند بیولوژیکی است که طی تمایز جنین رخ می‌دهد و در آن رگ‌های خونی جدید از سلول‌های آندوتلیال منشاء می‌گیرند و این فرآیند با رگ‌زایی متفاوت است [۱]. فرآیند رگ‌زایی در بسیاری از پدیده‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک اهمیت عمده‌ای دارد. همچنین در بزرگسالان، رگ‌زایی به صورت فیزیولوژیک در پدیده‌هایی همچون ترمیم بافت‌های آسیب دیده مشاهده می‌شود. علاوه بر این رگ‌زایی در برخی از پدیده‌های پاتولوژیک از جمله آرتروز روماتوئید و سرطان‌ها نیز نقش مهمی دارد. به عنوان نمونه در سرطان‌ها رگ‌زایی فرآیندی کلیدی در رشد تومورها و متاستاز سلول‌های سرطانی می‌باشد [۲]. رگ‌زایی درمانی می‌تواند روش کارآمدی برای درمان سرطان محسوب شود. بدین منظور شناسایی جنبه‌های مختلف رگ‌زایی در تومور بسیار مهم است. تکوین رگ‌های عملکردی در درون تومورها برای رشد آن ضروری است و نیز رگ‌زایی در تومور با میانجی‌گری مولکول‌های مختلف القا می‌شود. تعادل بین عوامل پیش‌برنده و مهارکننده رگ‌زایی، این فرآیند را به شدت کنترل می‌کند و این واقعیت منجر به طراحی عوامل درمان بر ضد رگ‌زایی در تومور شده است [۳]. سلول‌های تومور جمعیتی از سلول‌های میزبان هستند که توانایی تنظیم تکثیر خود را از دست داده‌اند و به میزان نامحدود تکثیر می‌شوند. بافت توموری می‌تواند مواد تغذیه‌ای و اکسیژن کافی را از طریق انتشار ساده تا محدوده ۱ تا ۲ میلی‌متر جذب نماید و از این نقطه به بعد نیازمند ایجاد رگ‌های تغذیه کننده جدید می‌باشند. در طی فرآیندی که بسیار به رگ‌زای طبیعی شباهت دارد، یک تومور می‌تواند تشکیل رگ‌های جدید را از شبکه مویرگی موجود القاء کند. بدین صورت که با افزایش اندازه تومور محیط سلول‌های توموری هیپوکسیک و اسیدیک شده و شروع به افزایش تولید چندین نوع فاکتور رشد می‌کنند که در نتیجه آن تشکیل رگ‌های خون موضعی آغاز می‌شود [۳]. همچنین کاهش موضعی اکسیژن در ناحیه تومور منجر به القاء بیان دسته‌ای از

ژن‌ها می‌شود که می‌توان به انواعی از سیتوکین‌ها (Cytokines) اشاره کرد. سلول‌های توموری به کمک بیان این ژن‌ها و سیتوکین‌ها سبب تحریک سلول‌های آندوتلیال می‌شوند، در این حالت سلول‌های آندوتلیال مهار تماسی خود را از دست می‌دهند و به کمک مهاجرت، تکثیر و تمایز، رگ‌های جدیدی را به وجود می‌آورند [۴]. در بافت‌های طبیعی فاکتورهای ضد رگ‌زایی بیشتر از فاکتورهای رگ‌زایی بوده، بنابراین رگ‌زایی اتفاق نمی‌افتد. عواملی دیگری مانند کاهش pH، افزایش اسید لاکتیک، پاسخ‌های ایمنی- التهابی و موتاسیون در آنکوژن‌ها و سرکوب‌کننده‌های تومور باعث افزایش غلظت فاکتورهای رگ‌زایی و یا کاهش غلظت فاکتورهای ضد رگ‌زایی می‌شوند، این تعادل را به هم زده و رگ‌زایی صورت می‌گیرد. از مهم‌ترین فاکتورهای رگ‌زایی می‌توان به فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF: Fibroblast Growth Factor) فاکتور رشد مشتق از پلاکت‌ها (PDGF: Platelet-derived growth factor) و آنژیوپوئین‌ها (Angiopoietins) اشاره کرد [۵]. با توجه به مطالب ذکر شده اگر بتوان تولید رگ‌های جدید را در یک تومور کاهش داد تا حدود زیادی از پیشرفت تومور جلوگیری می‌شود. همچنین امروزه ابداع و استفاده از روش‌های درمانی مؤثر به منظور مهار رگ‌زایی در اطراف تومورها مورد توجه محققین و متخصصان می‌باشد. یکی از این روش‌ها، استفاده از میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس پایین است. میدان‌های الکتریکی ایجاد شده با ولتاژهای مختلف و میدان‌های مغناطیسی حاصل از آن را میدان الکترومغناطیس گویند، این امواج در محیط با طول موج و فرکانس مشخص با سرعت نور منتشر می‌شوند که به تشعشعات الکترومغناطیسی معروف هستند. میزان جذب و نفوذ انرژی تشعشعات الکترومغناطیسی به فرکانس، نوع تشعشعات و نوع بافتی که آن را جذب می‌کند، بستگی دارد [۶]. مشخص شده است تابش‌های ۵۰ هرتز میدان‌های الکترومغناطیس سبب القاء مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شوند [۷]. به عقیده محققین تشعشعات میدان‌های الکترومغناطیسی با شدت ۴۰۰ گوس پالسی و مستقیم با

اپیدمیولوژیک نیز نشان داده است که ارتباط معکوسی میان مصرف گیاه آنگوزه و بروز سرطان وجود دارد. اثرات ضدسرطانی ترکیبات موجود در گیاه آنگوزه مربوط به اثرات مهارى و سیتوتوکسیک مستقیم آن است و این ویژگی‌ها با استفاده از مدل‌های سرطانی در حیوانات مختلف و کشت رده‌های سلول‌های سرطانی نشان داده شده است [۱۵]. استفاده از عصاره الکلی برگ گیاه آنگوزه علیه سلول‌های سرطانی روده بزرگ انسانی نشان دهنده خاصیت ضد تکثیرى و سایتوتوکسیک عصاره الکلی برگ این گیاه می‌باشد [۱۶]. همچنین طی بررسی‌های انجام شده اثرات سایتوتوکسیک عصاره اتانولی صمغ آنگوزه بر سلول‌های کارسینومای کبد انسان مشخص شد. این اثرات به خواص ضد تکثیرى ترکیبات این گیاه نسبت داده شد [۱۷]. از آنجایی که یکی از مکانیسم‌های اصلی درگیر در رشد و متاستاز تومورها رشد عروق خونی و رگ‌زایی می‌باشد، هدف اصلی پژوهش حاضر تلاش برای رسیدن به این پاسخ است که بکارگیری عصاره آبی بخش هوایی گیاه سیر و آنگوزه همراه با میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین چه تأثیری بر پدیده رگ‌زایی در پرده کوریوآنتوتیک جنین جوجه دارد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و گروه‌بندی

این پژوهش یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی است که در سال ۹۳ - ۱۳۹۲ انجام شد. در این مطالعه از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار نژاد Hy-line به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد. تعداد ۱۰۰ عدد تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار به طور تصادفی در ۱۰ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: ۱- شاهد: نمونه‌های گروه شاهد به مدت ۱۲ روز در شرایط طبیعی نگهداری شدند و در روز ۸ انکوباسیون جهت اینکه شرایط با گروه‌های دیگر کاملاً یکسان باشد به اندازه حجم عصاره تزریق شده به گروه‌های تجربی (۱۰ ماکرولیتر)، به اسفنج ژلاتینی گروه شاهد آب مقطر استریل تزریق شد. ۲- شاهد آزمایشگاهی یک: نمونه‌ها در روز ۸ انکوباسیون توسط ۱۰

فرکانس کم می‌تواند سبب کاهش وزن جنین در مراحل اولیه رشد و نمو جنینی جوجه و کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی شود [۸]. از سوی دیگر معالجه و درمان بیماری‌ها با گیاهان دارویی از دیرباز معمول بوده است زیرا فراوان، ارزان و معمولاً دارای کمترین عوارض جانبی هستند. سیر با نام علمی *Allium sativum* L. متعلق به خانواده‌ی Liliaceae که بومی آسیای میانه است و امروزه در تمام نقاط دنیا یافت می‌شود. گونه‌های مختلف این گیاه از قرن‌ها قبل به عنوان ادویه و چاشنی غذایی و نیز به عنوان دارو در طب گیاهی و درمان انواع مختلف بیماری‌ها استفاده شده است [۹]. سیر دارای خواص ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، کاهنده قند خون، محافظت‌کنندگی از سیستم قلبی عروقی، تحریک‌کننده فعالیت‌های ایمنی، سمیت‌زدایی، اثر ضد میکروبی و ضد ویروسی و محافظت از سلول‌های زایا می‌باشد. همچنین مشخص شده است غده زیر زمینی گیاه سیر دارای اثرات ضد رگ‌زایی می‌باشد [۱۰]. از مهم‌ترین ترکیب‌های سیر می‌توان آلتین را نام برد. علاوه بر آن ترکیب‌های دیگری مانند آلیسین، پلی‌سولفیدها، آلبیناز، اینولین، آجولین‌ها، مرکاپتان‌ها، تیوگلیکوزیدها، تیوسولفینات‌ها و آدنوزین نیز در گیاه سیر یافت می‌شوند. اما نسبت به آلتین اهمیت کمتری داشته و مقادیر آنها بسیار ناچیز است. همچنین دارای مواد معدنی، ویتامین‌های A، B و C، پراکسیدازها، پروتئین، چربی، آمینو اسید و پروستاگلاندین است [۱۱]. فعالیت نابودسازی رادیکال‌های آزاد و محتوای فنولی بالا در عصاره سیر به وجود آلیسین به عنوان یک جزء فعال آن، وابسته است [۱۲]. همچنین اثر درمانی سیر بر روی برخی از سرطان‌ها به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد تکثیرى نشان داده شده است [۱۳]. آنگوزه با نام علمی *Ferula assa-foetida* گیاهی است چند ساله از خانواده‌ی Apiaceae که خاستگاه اصلی آن استپ‌های ایران و افغانستان می‌باشد. صمغ آنگوزه حاوی فرولیک اسید و استرهای کومارینی فوئتیدین و کامولونول، آمبلیفرون، فرانسیفرول، تتراسولفیدها، سنکویی‌ترین‌ها، گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها و همچنین روغن‌های فرار سولفور و ترپنوئیدها می‌باشد [۱۴]. مطالعات



روش تیمار نمونه‌ها

تخم‌مرغ‌ها به مدت ۸ روز در دستگاه انکوباسیون (دامدشت، ایران) با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد قرار داشتند. در روز هشتم انکوباسیون در شرایط استریل ایجاد شده توسط هود لامینار (Telstar - Spain) بخشی از پوسته انتهای پهن تخم‌مرغ‌ها برداشته شد و با پنس استریل پرده غشایی انتهای تخم‌مرغ‌ها برداشته و روی پرده کوریوآلانتوئیک یک اسفنج ژلاتینی (آلبومین سفیده تخم‌مرغ و محلول آگار در نرمال سالین به نسبت مساوی) به ابعاد $4 \times 4 \times 1$ میلی‌متر قرار داده شد. تمام تزریقات به اسفنج ژلاتینی در روز ۸ انکوباسیون و به میزان ۱۰ ماکرولیتر صورت گرفت. همچنین قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیس در روز ۱۰ انکوباسیون و به مدت ۴ ساعت بوده است. در روز دوازدهم انکوباسیون از محدوده محل قرارگیری اسفنج ژلاتینی به کمک فوتواسترئومیکروسکوپ تحقیقاتی مجهز به دوربین عکاسی (ziess, Germany) و دوربین دیجیتال (Cannon, Japan) تصاویری با درشت‌نمایی ۲۶ برابر تهیه شد. مجموع طول و تعداد انشعابات عروقی در اطراف ناحیه تیمار (۴ مربع به ابعاد 100×100 میکسل در ۴ طرف اسفنج ژلاتینی) به طور تصادفی توسط نرم‌افزار imageJ نسخه ۲ اندازه‌گیری شد [۱۰].

سیستم مولد میدان الکترومغناطیس

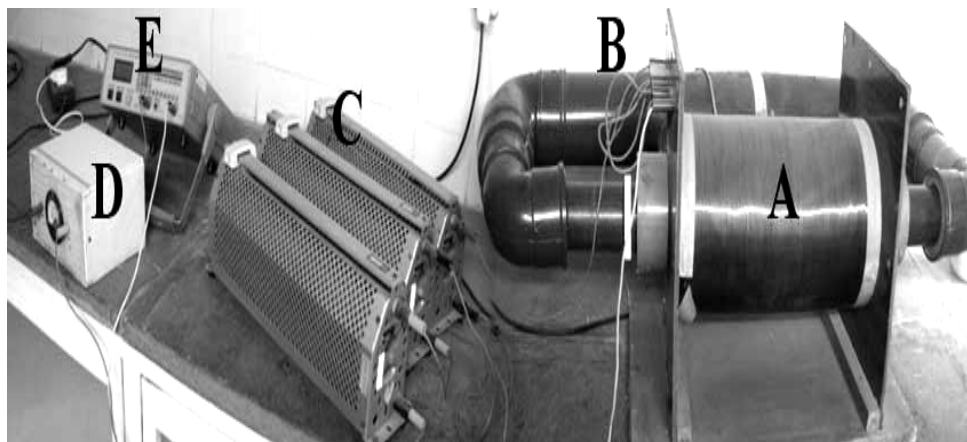
جهت ایجاد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس از یک سیستم ویژه که دارای بوبین، ۳ رئوستا، خازن و آمپر متر است، استفاده شد. همچنین این سیستم دارای شرایط مناسب انکوباسیون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰ درصد) می‌باشد (شکل شماره ۱). برای ساخت بوبین، حول یک لوله از جنس PVC مقادیر مشخصی از سیم مسی، با استفاده از فرمول محاسبه‌ی شدت میدان الکترومغناطیس ($B = \mu n I$) پیچانده شد. (B: شدت میدان الکترومغناطیس برحسب تسلا، $n: 4\pi \times 10^7$ تعداد دور در واحد طول، I: شدت جریان) برای اطمینان از صحت خروجی میدان الکترومغناطیس پس از برقراری جریان در مدار، با استفاده از دستگاه گاوس متر (TES-1392, Taiwan) شدت میدان بررسی شد [۱۰].

ماکرولیتر نرمال سالین (حلال عصاره) تیمار شدند. ۳- شاهد آزمایشگاهی دو: نمونه‌ها در روز ۱۰ انکوباسیون به مدت ۴ ساعت در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس به حالت خاموش ولی سیستم انکوباسیون به حالت روشن قرار گرفتند. ۴- گروه تجربی یک: نمونه‌ها در روز ۸ انکوباسیون توسط ۱۰ ماکرولیتر عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ تیمار شدند. ۵- گروه تجربی دو: نمونه‌ها با عصاره آبی اندام هوایی گیاه آنگوزه با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ تیمار شدند. ۶- گروه تجربی سه: نمونه‌ها با ترکیب (نسبت ۱:۱) عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنگوزه با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ تیمار شدند. ۷- گروه تجربی چهار: نمونه‌ها در روز ۱۰ انکوباسیون به مدت ۴ ساعت در معرض سیستم مولد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس قرار گرفتند. ۸- گروه تجربی پنج: نمونه‌ها همزمان با عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ و میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس تیمار شدند. ۹- گروه تجربی شش: نمونه‌ها همزمان با عصاره آبی اندام هوایی گیاه آنگوزه با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ و میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس تیمار شدند. ۱۰- گروه تجربی هفت: نمونه‌ها همزمان با ترکیب عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنگوزه با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ و میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس تیمار شدند.

جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

برگ و ساقه گیاه سیر و آنگوزه جمع‌آوری شد و توسط گیاه‌شناس شناسایی و تأیید شد. سپس در سایه خشک شد. به منظور استخراج بهتر، برگ و ساقه گیاه توسط دستگاه آسیاب خرد شد. عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام گرفت. بدین صورت که ۵۰ گرم پودر خشک شده اندام هوایی گیاه سیر و آنگوزه به طور جداگانه با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط گرمکن برقی به مدت ۱۰ ساعت جوشانده شد. سپس با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام به دست آمد [۱۰]. عصاره تهیه شده توسط حلال نرمال سالین با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ تهیه و تماماً از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد و استریل شد.





شکل شماره ۱- سیستم مولد میدان الکترومغناطیس و انکوباسیون
A: سیم پیچ مولد میدان الکترومغناطیس، B: محفظه انکوباسیون، C: رئوستا، D: خازن، E: ولت سنج

شماره‌های ۱ و ۲). میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه‌های تجربی تیمار شده با عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنغوزه و ترکیب آنها با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه‌های تیمار شده با عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنغوزه و ترکیب آنها با غلظت $300 \mu\text{g/ml}$ ، توام با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاؤس در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه تجربی قرار داده شده در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاؤس در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل شماره ۲).

تحلیل آماری

در این پژوهش میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در اطراف محل تیمار شده، در همه گروه‌ها ($n=10$)، مورد ارزیابی قرار گرفت و اطلاعات به دست آمده به کمک نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ به کمک آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها و به منظور تفکیک گروه‌هایی که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند از آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتیجه آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey، تفاوت معنی‌داری در میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد، وجود نداشت ($p > 0.05$) (جدول

جدول شماره ۱- نتایج میانگین تعداد انبساطات عروقی به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

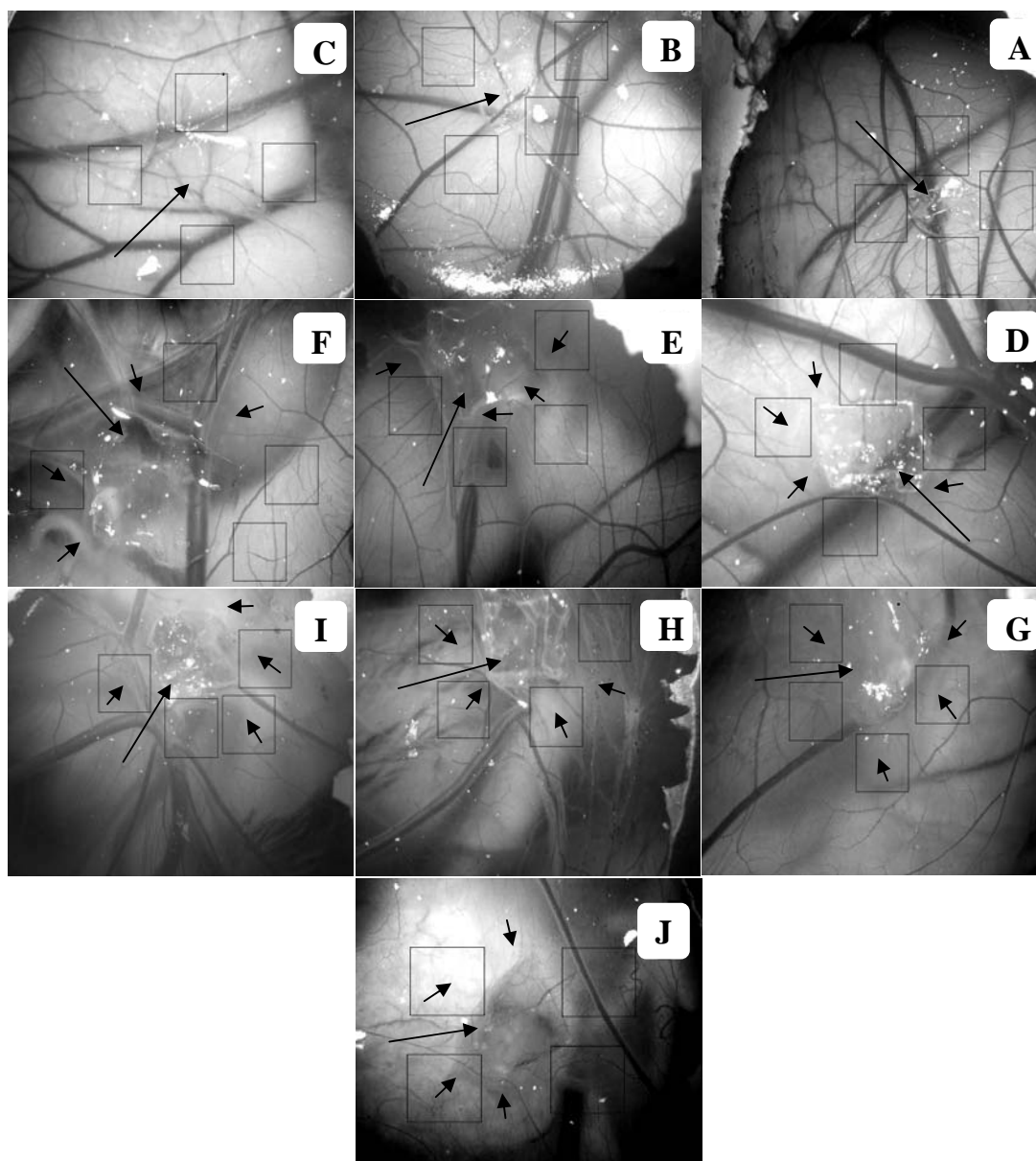
ترکیب عصاره + آنوزه و سیر + میدان	عصاره آنوزه + میدان	عصاره آنوزه + میدان	ترکیب عصاره آنوزه و سیر + میدان	عصاره اندام هوایی سیر	عصاره اندام هوایی آنوزه	شاهد	آزمایشگاهی	شاهد	آزمایشگاهی	شاهد	میانگین تعداد عروق
۵/۸۰	۱۱/۲۰	۱۰/۶۰	۲۰/۳۰	۹/۰۰	۱۹/۲۰	۱۶/۰۰	۳۲/۸۰	۳۱/۴۰	۳۳/۲۰	۳۳/۲۰	میانگین تعداد عروق
۷/۶۷	۲/۰۹	۱/۳۳	۲/۱۵	۲/۸۳	۲/۱۱	۲/۵۲	۱/۴۹	۲/۰۲	۲/۱۶	۲/۱۶	انحراف معیار
۰/۰۰۱*	۰/۰۲۳*	۰/۰۱۸*	۰/۰۴۱*	۰/۰۰۲*	۰/۰۳۸*	۰/۰۳۱*	۰/۰۷۹	۰/۰۷۴	—	—	ANOVA p-value
۰/۰۰۱*	۰/۰۲۳*	۰/۰۱۴*	۰/۰۲۹*	۰/۰۰۳*	۰/۰۳۵*	۰/۰۲۸*	۰/۰۸۶	۰/۰۸۳	—	—	Tukey p-value

*ممکن‌داری در سطح $p < 0.05$

جدول شماره ۲- نتایج میانگین طول انبساطات عروقی (سانتی‌متر) به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

ترکیب عصاره سیر و آنوزه + میدان	عصاره سیر + میدان	عصاره آنوزه + میدان	عصاره آنوزه + میدان	ترکیب عصاره سیر و آنوزه	عصاره اندام هوایی سیر	عصاره اندام هوایی آنوزه	شاهد	آزمایشگاهی	شاهد	آزمایشگاهی	شاهد	میانگین طول عروق (cm)
۱/۰۴	۶/۴۳	۴/۵۱	۱۳/۱۷	۷/۸۴	۱۴/۱۸	۱۷/۴۴	۲۵/۱۲	۲۳/۹۶	۲۴/۶۸	۲۴/۶۸	میانگین طول عروق (cm)	
۳/۰۵	۱/۶۴	۳/۳۸	۱/۲۴	۲/۸۴	۳/۲۹	۳/۵۸	۲/۸۵	۲/۴۱	۱/۵۹	۱/۵۹	انحراف معیار	
۰/۰۰۱*	۰/۰۱۸*	۰/۰۰۸*	۰/۰۳۱*	۰/۰۰۲*	۰/۰۳۴*	۰/۰۲۵*	۰/۰۹۸	۰/۰۷۴	—	—	ANOVA p-value	
۰/۰۰۱*	۰/۰۱۵*	۰/۰۱۱*	۰/۰۳۳*	۰/۰۰۱*	۰/۰۳۳*	۰/۰۲۳*	۰/۰۹۲	۰/۰۹۴	—	—	Tukey p-value	

*ممکن‌داری در سطح $p < 0.05$



شکل شماره ۲ - A) گروه شاهد، B) گروه شاهد آزمایشگاهی ۱، C) گروه شاهد آزمایشگاهی ۲، D) گروه تجربی تیمار شده با عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر با غلظت ۳۰۰ µg/ml، E) گروه تجربی تیمار شده با عصاره آبی اندام هوایی گیاه آنغوزه با غلظت ۳۰۰ µg/ml، F) گروه تجربی تیمار شده با ترکیب عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنغوزه با غلظت ۳۰۰ µg/ml، G) گروه تجربی قرار داده شده در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس، H) گروه تجربی تیمار شده با عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر با غلظت ۳۰۰ µg/ml همراه با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس، I) گروه تجربی تیمار شده با عصاره آبی اندام هوایی گیاه آنغوزه با غلظت ۳۰۰ µg/ml همراه با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس، J) گروه تجربی تیمار شده با ترکیب عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنغوزه با غلظت ۳۰۰ µg/ml همراه با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس. در تصاویر فلش بزرگ محل اسفنج ژلاتینی و فلش‌های کوچک کاهش محسوس انشعابات عروقی (طول و تعداد) را در نمونه‌ها نشان می‌دهد. چهار مربع سیاه رنگ در اطراف اسفنج ژلاتینی، سطح اندازه‌گیری به ابعاد ۱۰۰×۱۰۰ پیکسل، که بصورت تصادفی در اطراف اسفنج قرار داده شده است.

بحث

مطابق نتایج این پژوهش، میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در اطراف محل تیمار شده در گروه‌هایی که با عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه و همچنین در گروه‌هایی که با عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه توأم با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاؤس تیمار شدند و گروهی که فقط در مجاورت میدان الکترومغناطیس قرار داشت، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$). از لحاظ آماری میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه تیمار شده با عصاره اندام هوایی آنغوزه نسبت به گروه تیمار شده با عصاره اندام هوایی سیر، کاهش یافت ولی این اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). همچنین میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه تیمار شده با عصاره اندام هوایی آنغوزه توأم با میدان الکترومغناطیس در مقایسه با گروه تیمار شده با عصاره اندام هوایی سیر توأم با میدان الکترومغناطیس، کاهش یافت ولی این اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه‌هایی که با عصاره‌ها تیمار شدند و همزمان به مدت ۴ ساعت در مجاورت میدان الکترومغناطیس قرار گرفتند در مقایسه با گروه‌هایی که فقط با عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه تیمار شده بودند، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$). بنابراین می‌توان گفت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاؤس توانسته اثر مهاری خود را بر رگ‌زایی اعمال کند و کاهشی که توسط تزریق عصاره‌ها در میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه ایجاد شده است را به طور معنی‌داری تشدید کند. مطابق با نتایج این پژوهش بیشترین کاهش ایجاد شده در میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) مربوط به گروه تیمار شده با ترکیب عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه و همچنین در گروهی که تحت اثر توأم این ترکیب با میدان الکترومغناطیس قرار داشت، می‌باشد. میانگین تعداد و مجموع طول انشعابات عروقی در گروه تیمار شده با ترکیب عصاره‌ها توأم با میدان الکترومغناطیس نسبت به گروهی که فقط با

ترکیب عصاره‌ها تیمار شده بود، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$). بنابراین استفاده مستقیم ترکیب عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاؤس توانسته است بیشترین اثر مهاری بر پدیده رگ‌زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه، ایجاد کند. Lee در سال ۲۰۱۰ گزارش کرد فارنسی فرول که یکی دیگر از مواد مهم تشکیل دهنده‌ی صمغ آنغوزه می‌باشد، می‌تواند باعث مهار فاکتور رشد آندوتلیوم عروقی (VEGF) شود [۱۸]. اسید گالبانیک یکی از ترکیبات صمغ گیاه آنغوزه است و دارای اثرات سیتوتوکسیک بر روی سلول‌هاست و همچنین باعث کاهش تکثیر سلولی می‌شود بنابراین می‌توان گفت اسید گالبانیک موجود در عصاره این گیاه روی تکثیر سلول‌های آندوتلیال عروق خونی اثر مهاری داشته و باعث کاهش تکثیر و در نتیجه کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی شده است [۱۹]. Shahverdi و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مطالعه‌ای اعلام کردند اسید گالبانیک موجود در گیاه آنغوزه منجر به القاء آپوپتوز در سلول‌های آندوتلیالی می‌شود [۲۰]. Clements و همکاران در سال ۲۰۰۵ دریافتند کامپوتوسین و توپوتکان که از ترکیبات صمغ آنغوزه می‌باشند 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 ضد رگ‌زایی، می‌توانند از طریق مهار رگ‌زایی نیز به صورت غیرمستقیم اثر ضد توموری داشته باشند [۲۱]. Sarkar در سال ۲۰۰۳ ثابت کرد گیاه آنغوزه حاوی مقدار زیادی ایزوفلاونوئید است که از تکثیر سلول‌های آندوتلیال القاء شده توسط VEGF و bFGF ممانعت می‌کند [۲۲]. Mallikarjuna در سال ۲۰۰۳ در مطالعه طولانی مدت 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 و علت اصلی این تأخیر را اثر مهاری ترکیبات موجود در آنغوزه بر کاهش رگ‌زایی در اطراف سلول و بافت سرطانی اعلام کرد [۲۳]. Shao و همکاران در سال ۲۰۰۲ اعلام کردند آنغوزه حاوی ترکیباتی است که با سلول‌های سرطانی در سطوح مختلف

همکاران در سال ۲۰۰۴ در مطالعه‌ای نشان دادند تیمار سلول‌های کشت شده با غلظت‌های متفاوتی از اس‌آلیل سولفیدها، منجر به توقف چرخه سلولی و القای آپوپتوز در آنها می‌شود [۳۰]. Iciek و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند اثرات ضدتکثیری اس‌آلیل سولفیدهای مشتق از سیر به تبدیل آن به سولفات سولفور در سلول‌های توموری، کنترل فعالیت ضدتکثیری آنزیم‌ها و فاکتورهای پیام‌دهنده در طول شکل‌گیری سیستمین، وابسته است [۳۱]. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد اثرات مهاری عصاره آبی اندام هوایی سیر و آنغوزه و ترکیب آن بر طول و تعداد انشعابات عروقی، توسط میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس را تشدید شد. Calvente و همکاران بر اساس مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰ یکی از اثرات مخرب امواج الکترومغناطیس بر روی سلول‌ها را پیشبرد آنها به سمت آپوپتوز و حتی نکروز اعلام نمودند و مشخص شد هرچه شدت این میدان و فاصله از منبع مولد میدان بیشتر باشد، اثرات تخریبی آن بر سلول‌ها بیشتر است [۳۲]. McCormick و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱، متوجه شدند زمان تقسیم سلول‌ها در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین از زمان معمول آن بیشتر است همچنین سلول‌های تقسیم شونده در بعضی مواقع درست قبل از اینکه فرآیند کامل شود از هم واپاشیده می‌شود. پیشنهاد داده شد زمان تقسیم سلولی به این دلیل کند می‌شود که میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم مانع از شکل‌گیری و عملکرد دوک‌های میتوزی می‌شود [۳۳]. بهارآرا و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس دارای اثر مهاری بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلاتوئیک جوجه است و تعداد و طول انشعابات عروقی را کاهش می‌دهد. آنها پیشنهاد دادند میدان الکترومغناطیسی می‌تواند با آسیب به DNA و مهار تقسیم سلولی منجر به مهار رگ‌زایی شود [۳۴]. بالانژاد و همکاران در سال ۲۰۱۰ افزایش اثر مهاری راپامایسین توأم با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گوس بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلاتوئیک جنین جوجه را گزارش کردند. به عقیده آنها میدان الکترومغناطیس سینوسی با فرکانس

برهمکنش کرده و می‌تواند سبب افزایش اثرات تومورکشی پرتو داروها و داروهای شیمیایی شود. همچنین اثرات ضد رگ‌زایی و ضد متاستازی آن تا حدودی از طریق کاهش بیان آنزیم متالوپروتئیناز ماتریکس (MMP-2) و افزایش بیان مهارکننده بافتی متالوپروتئیناز یک (TIMP1) می‌باشد [۲۴]. برای توجیه اثرات ضد رگ‌زایی سیر و ترکیبات ارگانوسولفور موجود در آن، مکانیسم‌های مختلفی پیشنهاد شده است که بخشی از این موارد شامل: مهار جهش ژنی، اثر بر فعالیت آنزیم‌ها، مهار DNA، اثر بر دفع رادیکال‌های آزاد، اثر بر پرولیفراسیون سلولی، تغییر در میزان گلوکوتایون داخل سلولی و تغییر فعالیت آنزیم‌ها می‌باشند [۲۵]. بر اساس مطالعه‌ی Belmon در سال ۲۰۰۸ اثر ممانعت‌کنندگی سیر، از رشد سلول‌های سرطانی و خاصیت مهارکنندگی تقسیم سلولی سیر نشان داده شد [۲۶]. Milner در سال ۲۰۰۱ گزارش کرد اس‌آلیل سولفیدهای موجود در سیر می‌توانند نقش مؤثری در جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی داشته باشند، به طوری که مکانیسم‌های مولکولی درگیر در اثرات ضد سرطانی سیر به گونه‌ای است که احتمالاً وجود اس‌آلیل سولفیدها، توانسته است علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی آن، منجر به مهار تقسیم سلولی شود [۲۷]. بر اساس مطالعه‌ی Kucuk و همکاران در سال ۲۰۰۹، برای اولین بار پتانسیل‌های آنتی‌آنژیوژنیک ساقه هوایی سیر نشان داده شد. و مشخص شد پلی‌فنول‌های موجود در سیر خاصیت آنتی‌آنژیوژنیک آن را اعمال می‌کنند. گزارش شده است که ساقه هوایی گیاه سیر بر سرطان‌های پروستات، پستان، پوست، روده بزرگ، ریه، دهان و خون، از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدتکثیری (مهار در رشد و تکثیر، اختلال در سیکل سلولی و آپوپتوز) اثر می‌گذارد [۲۸]. بر اساس مطالعه‌ی Iatrou و همکاران در سال ۲۰۰۸، مشخص شد یکی از ویژگی‌های آغاز رگ‌زایی، هیپوکسی در بافت‌ها و سلول‌هاست لذا حداقل بخشی از اثرات آنتی‌آنژیوژنیک سیر را می‌توان به روند اکسیژن‌رسانی بافتی مربوط دانست. همچنین اجزای تشکیل‌دهنده سیر، خصوصاً کارتنوئیدهای موجود در آن می‌توانند مستقیماً با شیار کوچک DNA باند شوند و سبب القا و تغییر کنفورماسیون در آن شوند [۲۹]. Druesne و



مطالعات انجام شده با نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌توان گفت اثر مهارتی که عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه و ترکیب آن همچنین توام با میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس بر رگ‌زایی دارد، ممکن است ناشی از مهار تکثیر سلولی و توقف چرخه تقسیم سلولی باشد و یا این عوامل می‌توانند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های آندوتلیال عروق خونی شوند. همچنین ممکن است این عوامل منجر به آسیب رساندن به DNA و مانع از بیان ژن‌های فاکتورهای دخیل رگ‌زایی شوند.

نتیجه‌گیری

مطابق با روش‌های این پژوهش و نتایج به دست آمده می‌توان گفت عصاره آبی اندام هوایی گیاه سیر و آنغوزه دارای اثرات ضد رگ‌زایی است. همچنین مشخص شد استفاده ترکیبی از عصاره اندام هوایی سیر و آنغوزه اثرات ضد رگ‌زایی شدیدتری دارد و این اثرات توسط میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاوس تشدید می‌شود. توصیه می‌شود ترکیبات موجود در اندام هوایی گیاه سیر و آنغوزه که بر مهار رگ‌زایی مؤثر است، شناسایی و جداسازی شود و اثرات آن در سایر مدل‌های آزمایشگاهی، به منظور تأیید یافته‌های این پژوهش مورد بررسی قرار گیرد.

کم می‌تواند سبب کاهش تقسیم سلول‌های آندوتلیال عروق خونی شود و همچنین رشد و نمو اولیه جنین جوجه را مهار کنند [۳۵]. Binhi در سال ۲۰۰۸ گزارش نمود نانو ذرات میدان الکترومغناطیسی ۰/۴ میکرو تسلا غلظت رادیکال‌های آزاد درون سلولی را افزایش می‌دهند و به طور غیرمستقیم سبب آسیب DNA، کاهش همانندسازی و تقسیم سلول‌های سرطانی می‌شود [۳۶]. بر اساس مطالعه‌ای که توسط بهارآرا و همکاران در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت، مشخص شد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس دارای اثر مهارتی بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه است و تعداد و طول انشعابات عروقی را در محل تیمار کاهش می‌دهد [۳۷]. مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۲ نشان داد امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۶۰ - ۵۰ هرتز بسته به زمان و شدت مورد مطالعه می‌تواند باعث ایجاد اختلال در سنتز DNA شود [۳۸]. Di Carlo و همکاران در سال ۲۰۰۰، بر اساس مطالعاتی گزارش نمودند، میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین می‌تواند پاسخ به شرایط هیپوکسی را در سلول‌های سرطانی کاهش دهد که این پدیده منجر به کاهش آنژیوژنز و در نتیجه منجر به کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود [۳۹]. تجربیات دیگری نشان داده که سلول‌های سرطانی در معرض همزمان ۰/۴ تا ۱ میکروتسلا میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۶۰ هرتز دچار افزایش آپوپتوز می‌شوند [۴۰]. از مقایسه

منابع

1. Paulo M and Karime K. Role of angiogenesis in the pathogenesis of cancer. *Cancer Treatment* 2012; 38 (7): 825 - 33.
2. Roy S, Khanna S, Alessio HM, Vider J, Bagchi D, Bagchi M and Sen C. Antiangiogenic property of edible berries. *Free Rad Res.* 2008; 36 (19): 1023 - 31.
3. Tayebe R and Baharara J. A review on Angiogenesis in tumor. *Journal of Cell & Tissue (JCT)*. 2014; 5 (1): 89 - 100.
4. Dachs G and Tozer G. Hypoxia modulated gene expression. Angiogenesis, metastasis and therapeutic exploitation. *Eur. J. Cancer* 2000; 36 (1): 1649 - 60.
5. Yasmine A, Masayasu M and Eiry K. The promotion of angiogenesis by growth factors integrated with ECM proteins through coiled-coil structures. *Biomaterials*. 2013; 34 (13): 3315 - 23.
6. Khurana VG, Teo C, Kundi M, Hardell L, Carlberg M. Cell phones and brain tumors: a

- review including the long-term epidemiologic data. *Surgical Neurol.* 2009; 72 (3): 205 - 14.
7. Baharara J, Zahedifar Z. The effect of low-frequency electromagnetic fields on some biological activities of animals. *Arak Medical University Journal (AMUJ).* 2012; 15 (66): 80 - 93.
 8. Zafar-Balanezhad S, Parivar K, Baharara J, Mohseni-Koochesfahani H, Ashraf A. The synergic effects of rapamycin and extremely low frequency electromagnetic field on angiogenesis. *J. Shahrekord Univ. Med. Sci.* 2009; 11 (3): 70 - 6.
 9. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igetic R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliacea). *Food Chem.* 2008; 111 (3): 925 - 9.
 10. Sadooghi SD, Zafar Balanzhad S, Baharara J, Nezhad Shahrokh Abadi Kh. Investigating the synergic effects of ethanolic extract of *Allium sativum* L. and electromagnetic field with low frequency on angiogenesis in chick chorioallantoic membrane (in vivo). *J. Shahid Sadoughi Univ. Med. Sci.* 2013; 21 (4): 493 - 504.
 11. Jenny L, Shalini G, Jin-Sheng H, Lasanthi P and Bao-Shiang L. HPLC-MTT assay anticancer activity of aqueous garlic extract is from allicin. *Analytical Biochem.* 2013; 436 (2): 187 - 9.
 12. Vimal V and Devaki T. Hepatoprotective effect of allicin on tissue defense system in galactosamine/endotoxin challenged rats. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90 (1): 151 - 4.
 13. Balaji M, Ramgopal M and MuraliKrishna T. Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2012; 5 (5): 391 - 5.
 14. Rahbarian R and Sadooghi SD. Investigating the effects of aqueous extract of asafoetida resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. *J. Shahrekord Univ. Med. Sci.* 2014; 16 (3): 16 - 21.
 15. Racha A, Thierry H, Sami J, Thierry I, Claude P, Bruno Q, Sevser S and et al. Activity of elaeochoytrin A from *Ferula* on leukemia cell lines. *Phytochem.* 2008; 69 (17): 2979 - 83.
 16. Roghaye G, Sirous G and Hassan A. Study of apoptosis inducing effects of ethanol extract of *Ferula* leaf. *Clinical Biochem.* 2011; 44 (13): 332 - 41.
 17. Sadooghi SD, Nezhad Shahrokh Abadi Kh, Zafar Balanzhad S and Baharara J. Investigating the cytotoxic effect of ethanolic extract of *Ferula assa-foetida* resin on HepG2 cell line. *Feyz.* 2013; 17 (4): 323 - 30.
 18. Lee JH, Choi S, Lee Y, Lee HJ, Kim KH and et al. Herbal compound farnesiferol C exerts antiangiogenic and antitumor activity and targets multiple aspects of VEGFR1 (Flt1) or VEGFR2 (Flk1) signaling cascades. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9 (2): 389 - 99.
 19. Iranshahy M and Iranshahi M. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafoetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin)-a review. *J. Ethnopharmacol.* 2011; 134 (1): 1 - 10.
 20. Shahverdi AR, Saadat F, Khorramizadeh MR, Iranshahi M, Khoshayand MR. Two matrix metalloproteinases inhibitors from *Ferula persica*. *Phytomedicine* 2006; 13 (9): 712 - 17.
 21. Clements MK, Jones CB, Cumming M, Daoud SS. Antiangiogenic potential of camptothecin and topotecan. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005; 55 (5): 411 - 16.
 22. Sarkar FH, Li Y, *Ferula assafoetida* isoflavones and cancer prevention. *Cancer Invest.* 2003; 21 (5): 744 - 57.
 23. Mallikarjuna GU, Dhanalakshmi S, Raisuddin S and Rao AR. Chemomodulatory influence of *Ferula assafoetida* on mammary epithelial differentiation, hepatic drug metabolizing enzymes, antioxidant profiles and N-methyl N-nitrosourea-induced mammary carcinogenesis in rats. *Breast Cancer Res. Treat.* 2003; 80 (2): 163 - 70.
 24. Shao ZM, Shen ZZ, Liu CH and et al. *Ferula assafoetida* exerts multiple suppressive effects on



- human breast carcinoma cells. *Int. J. Cancer* 2002; 98 (2): 234 - 40.
- 25.** Hofbauer R, Frass M, Gmeiner B, Kaye A and Frost E. Effects of garlic extract (*Allium sativum* L.) on neutrophil migration at the cellular level. *Heart Dis.* 2001; 3 (4): 14 - 17.
- 26.** Belmon S. Onion and garlic oils inhibit tumor promotion. *Carcinogenesis* 2008; 4 (3): 1063 - 5.
- 27.** Milner J. Mechanisms by which garlic and allyl sulfur compounds suppress carcinogen bioactivation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2001; 49 (2): 69 - 81.
- 28.** Kucuk O, Khuri F and Shin D. Perspectives for cancer prevention with natural compounds. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27 (16): 2712 - 25.
- 29.** Iatrou G, Pylara A, Karamanos N, Cordopatis P. Inhibition of breast cancer cell proliferation by garlic species. *Anticancer Res.* 2008; 27 (15): 367 - 72.
- 30.** Druesne N, Pagniez A, Mayeur C, Thomas M, Cherbuy C, Duée P and et al. Diallyl disulfide (DADS) increases histone acetylation and p21 (waf1/cip1) expression in human colon tumor cell lines. *Carcinogenesis* 2004; 25 (7): 1227 - 36.
- 31.** Iciek M, Bilaska A, Ksiazek L, Srebro Z and Włodek L. Allyl disulfide as donor and cyanide as acceptor of sulfane sulfur in the mouse tissues. *Pharmacol. Rep.* 2005; 57 (2): 212 - 18.
- 32.** Calvente I, Fernandez M, Villalba J, Olea N, Nuñez M. Exposure to electromagnetic fields (non-ionizing radiation) and its relationship with childhood leukemia: a systematic review. *Science of the Total Environment.* 2010; 408 (38): 3062 - 9.
- 33.** McCormick DL, Boorman GA, Findlay JC, Hailey JR, Johnson TR, Gauger JR, et al. Chronic toxicity/oncogenicity evaluation of 60 Hz (power frequency) magnetic fields in B6C3F1 mice. *Toxicologic Pathology* 2011; 27 (8): 279 - 85.
- 34.** Baharara J, Ashraf A, Balanejad S. The inhibitory effect of low frequency electromagnetic field (50Hz) on angiogenesis in chorioalantoic membrane of chick. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 2010; 12 (2): 8 - 12.
- 35.** Balanejad S, Parivar K, Baharara J, Mohseni Kochesfahani H. Effect of Combined rapamycine and of low frequency electromagnetic field on angiogenesis. *J. Shahrekord Univ. Med. Sci.* 2010; 11 (3): 70 - 6.
- 36.** Binhi V. Do naturally occurring magnetic nanoparticles in the human body mediate increased risk of childhood leukaemia with EMF exposure? *International Journal of Radiation Biology* 2008; 84 (22): 569 - 79.
- 37.** Baharara J, Daneshjou D, Zafar-Balanezhad S and Shahrokh-Abadi KH. The effects of coadministration of honey bee venom and low frequency electromagnetic field on the inhibition of angiogenesis in chick chorioallantoic membrane. *Feyz.* 2014; 18 (4): 354 - 60.
- 38.** McNamee J, Bellier P, McLean J, Marro L, Gajda G, Thansandote A. DNA damage and apoptosis in the immature mouse cerebellum after acute exposure to a 1 mT, 60 Hz magnetic field. *Mutat Res.* 2002; 513 (3): 121 - 33.
- 39.** Di Carlo A, Mullins J, Litovitz T. Thresholds for electromagnetic field-induced hypoxia protection: evidence for a primary electric field effect. *Bioelectrochem.* 2000; 52 (11): 9 - 16.
- 40.** Blank M, Goodman R. Electromagnetic fields stress living cells. *Pathophysiol.* 2009; 16 (2): 71 - 8.

