مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد رگ زایی کمپلکس اکسووانادیم(IV) از شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل (سیکلوهگزان دی آمین) بر روی پرده کوریوالانتوئیک جنین جوجه

پریسا قربانی[۱]، صفرعلی بیرم آبادی[۲*]، مسعود همایونی تبریزی[۳]، پریچهره یغمایی[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
۳- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۰۷

چکیده

زمینه و هدف: شیف بازها یک گروه مهم از ترکیبات در توسعهٔ داروهای جدید به شمار می‌آیند. رویکرد فعلی جهت یافتن درمانی مؤثرتر برای سرطان، تنظیم مراحل گوناگون فرایند آنژیوژنز با استفاده از سرکوب‌کننده‌های رگ زایی نظیر کمپلکس‌های فلزی سنتز شده از شیف بازها است. از این رو، این پژوهش با هدف بررسی اثرات ضد رگ زایی کمپلکس اکسووانادیم(IV) از شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل(سیکلوهگزان دی آمین) بر روی پرده کوریوالانتوئیک جنین جوجه انجام شده است.

مواد و روش‌ها: فعالیت ضد رگ زایی کمپلکس اکسووانادیم(IV) از شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل(سیکلوهگزان دی آمین) با استفاده از تکنیک Real-time PCR و سنجش بیان ژن‌های مرتبط با رگ زایی در سلول های سرطان پستان (MCF-7) و تست CAM بررسی گردید.

نتایج: مطالعه تغییرات بیان ژن‌ها نشان داد که کمپلکس اکسووانادیم (IV) ز شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل(سیکلوهگزان دی آمین) اثر مهاری چشم‌گیری بر بیان ژن‌های VEGF و VEGF-R می‌گذارد. یافته‌های حاصل از تست CAM نشان داد در عروق تحت تیمار با دوزهای گوناگون از کمپلکس (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تعداد و طول کاهش معنی‌داری یافته است ($P<0/01$ و $P<0/001$) و نیز کاهش معنی‌داری در وزن و قد جنین‌های تحت تیمار با کمپلکس نسبت به گروه کنترل در سطح $P<0/05$، $P<0/01$ و $P<0/001$ مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: در پژوهشی که انجام گرفت، کمپلکس اکسووانادیم(IV) از شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل(سیکلوهگزان دی آمین) دارای اثرات ضد رگ زایی بود که این ویژگی به‌کارگیری این کمپلکس در درمان سرطان را ممکن می‌سازد.

کلمات کلیدی: کمپلکس اکسووانادیم(IV)، شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل، ضد رگ زایی، پرده کوریوالانتوئیک

مقدمه

آنژیوژنز هم توسط مولکول‌های تحریک‌کننده و هم توسط مولکول‌های مهارکننده تنظیم می‌شود (۱). تبدیل به فنوتیپ آنژیوژنیک نیازمند تغییر در معادله عوامل تحریکی و مهاری آنژیوژنز است. این سیگنال منجر به فعال‌سازی ژن‌هایی در بافت موردنظر می‌شود که پروتئین‌هایی را تولید می‌کنند که سبب رشد و تکثیر سلول‌های عروق خونی می‌گردند. سلول‌های سرطانی نیز برای رشد و متاستاز نیازمند دسترسی به عروق خونی می‌باشند. کشف عوامل مهارکننده آنژیوژنز این امید را می‌دهد که بتوان با استفاده از آن‌ها نرخ مرگ‌ومیر و عوارض سرطان‌ها را کاهش داد. شواهد حاکی از آن هستند که عوامل آنتی آنژیوژنیک سلول‌های سرطانی را از بین می‌برند. درمان آنژیوژنیک به‌صورت غیرمستقیم و با محروم ساختن سلول‌ها از اکسیژن و مواد غذایی آن را مهار می‌نماید. استفاده از سرکوب‌کننده‌های آنژیوژنز و مهارکننده‌های رسپتور می‌تواند مانع نئوواسکولاریزاسیون بافت سرطانی و رشد تومور شود، لذا

*نویسنده مسئول: **صفرعلی بیرم آبادی**، گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
Email: beiramabadi6285@mshdiau.ac.ir
https://orcid.org/0000-0001-5123-9524

ممکن است در درمان سرطان کارآمد واقع گردد (۲، ۳). کشف بازدارنده‌های آنژیوژنز تومور که VEGFR را هدف قرار داده‌اند، به زمینه مطالعاتی بسیاری از محققین در طول چند دهه گذشته تبدیل‌شده است. بازدارنده‌های جدید آزمایش‌های کلینیکی را پشت سر گذاشتند و به‌عنوان داروهای جدید هدف قرار دهنده آنژیوژنز وارد بازار شده‌اند. این بازدارنده‌ها دارای عملکرد اثبات‌شده در برابری بسیاری از سرطان‌ها بودند و محققین را به بررسی عمقی‌تر این موضوع تشویق کردند (۴).

شیف بازها به‌عنوان یک گروه مهم از ترکیبات در توسعهٔ داروهای جدید به شمار می‌آیند. این ترکیبات توسط واکنش‌های تراکمی بین ترکیب کربونیل با آمین تحت شرایط خاص، تشکیل می‌شوند (۵). اخیراً مشتقات حاوی شیف بازهای متنوع ساخته‌شده‌اند و ازنظر فعالیت‌های زیستی ازجمله فعالیت‌های ضد سرطان، ضد اکسیدانی، ضد میکروبی، ضدالتهابی، ضد تشنج، ضدافسردگی و ضد اضطراب، ضد فشارخون و ضد قارچ بررسی‌شده‌اند. کمپلکس‌های فلزی شیف بازها به علت ثبات و فعالیت بیولوژیکی در زمینه‌های بی‌شماری مشهور هستند (۶). به‌منظور جلوگیری از رشد تومور و وقوع متاستاز اثرات ضد رگ زایی برخی شیف بازها و کمپلکس‌های فلزی آن‌ها به‌صورت in vitro و in vivo مورد شناسایی قرارگرفته‌اند. ازجمله این مطالعات می‌توان به بررسی اثرات ضد رگ زایی کمپلکس فلزی Mn(II) از شیف بازی مشتق شده از پیریدوکسال (۷) و شیف بازهای سری والپروئیل (۸) اشاره کرد. این ترکیبات ممکن است موجب مهار سنتز پروتئین‌های آنژیوژنیک توسط سلول‌های سرطانی، خنثی‌سازی پروتئین‌های آنژیوژنیک و مهار گیرنده‌های اندوتلیالی برای پروتئین‌های آنژیوژنیک گردند یا به‌طور مستقیم آپوپتوز را در سلول‌های اندوتلیال القا نمایند (۹). برخی پژوهشگران بر این باورند که داروهای ضد رگ زایی دارای اثرات جانبی کمتری هستند و مقاومت دارویی کمتری را طی درمان سرطان ایجاد می‌کنند. به‌علاوه پیشنهادشده است که درمان ضد آنژیوژنیک ممکن است به‌طور موقت رگ‌های تومور را نرمالایز کرده و درنتیجه تحویل و اثربخشی داروهای سیتوتوکسیک را بهبود بخشد؛ بنابراین رویکرد فعلی جهت یافتن درمانی مؤثرتر برای سرطان، تنظیم مراحل مختلف فرایند آنژیوژنز با استفاده از سرکوب‌کننده‌های رگ زایی نظیر کمپلکس‌های فلزی سنتز شده از شیف بازها است (۹).

در این راستا، ما اثرات ضد رگ زایی کمپلکس اکسووانادیم (IV)از شیف باز N و′N-دی پیریدوکسیل (سیکلوهگزان دی آمین) بر روی پرده کوریوالانتوئیک جنین جوجه را موردبررسی قرار می‌دهیم. در این مقاله کمپلکس اکسووانادیم (IV) از شیف باز N و′N-دی پیریدوکسیل (سیکلوهگزان دی آمین) به‌صورت VO-CYC نشان داده می‌شود.

مواد و روش‌ها

فعالیت ضد رگ زایی کمپلکس مذکور با استفاده از تست‌های In vitro و In vivo موردبررسی قرار گرفت. به‌منظور سنجش این فعالیت از طریق In vitro بیان ژن‌های مرتبط با رگ زایی (VEGF و VEGF-R) طبق مراحل ذیل ارزیابی گردید. ابتدا رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) کشت داده شد و سپس با غلظت‌های ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس تیمار گردید (۷). در مرحله بعد باگذشت ۴۸ ساعت از زمان تیمار RNA طبق دستورالعمل کیت Roche استخراج شد و سپس سنتز CDNA توسط کیت DENA انجام گردید. توالی پرایمرهای مورداستفاده در جدول ۱ آورده شده است. درنهایت

جدول ۱- توالی پرایمرهای ژن‌های مرتبط با رگ زایی

Gene	Forward 5'→3'	Reverse 5'→3'
GAPDH	5'CAAGGTCATCCATGACAACTTTG3'	5'GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG3'
VEGF	5'CTGCTGTCTTGGGTGCATTG3'	5'TTCACATTTGTTGTGCTGTAG 3'
VEGFR	5'TATGTCTATGTTCAAGATTAC3'	5'AAGTTTCTTATGCTGATGCTT3'

به‌منظور سنجش میزان تغییرات بیان ژن‌ها تکنیک Real-time PCR انجام گرفت. در این بررسی، از ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد (۱۰).

جهت سنجش فعالیت ضد رگ زایی از طریق In vivo از تست CAM یا تست پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه استفاده شد. پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه دارای میزان بالای عروق است.

به‌منظور انجام تست، ابتدا ۶۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد ROSS از شرکت مرغداران طوس تهیه شد و پس از الکل کشی به دستگاه جوجه‌کشی (با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و رطوبت ۶۵ درجه) منتقل و به‌صورت افقی گذاشته شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت تخم‌مرغ‌ها از دستگاه خارج و به زیر هود انتقال داده شدند و با استفاده از پنس در انتهای تخم‌مرغ (قسمت پهن‌تر که اتاقک هوا قرار دارد) سوراخی کوچک ایجاد کرده و سپس در قسمت رویی تخم‌مرغ پنجره بازگردید. محل پنجره و اتاقک هوا با استفاده از لامل و پارافین استریل پوشانده و تخم‌مرغ‌ها مجدداً در دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. سپس تخم‌مرغ‌ها به شکل تصادفی در گروه‌های ۱۰ تایی به‌صورت زیر تقسیم شدند:

گروه ۱: نمونه‌های کنترل فاقد تیمار

گروه ۲: نمونه‌های شاهد آزمایشگاهی (نرمال سالین)

گروه ۳: نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس

گروه ۴: نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس

گروه ۵: نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس

گروه ۶: نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس

برای تیمار که در روز هشتم انکوباسیون انجام می‌شود به اسفنج ژلاتینی نیاز است که موقعیت تزریق را مشخص نماید و ماده به‌طور یکسان پخش شود. برای تهیه اسفنج ۵ میلی‌لیتر از آلبومین رقیق سفیده تخم‌مرغ جدا گردید و به فالکون انتقال داده شد. سپس محلول ۰/۶٪ آگار در نرمال سالین را به فالکون دیگری منتقل شد و دو فالکون در بن ماری با دمای ۴۹ درجه قرار داده شد تا هم‌دما شوند. سپس، محلول ۰/۶٪ آگار در نرمال سالین به محلول آلبومین رقیق‌شده افزوده و ۲۰۰ میکرولیتر پنی‌سیلین استرپتومایسین به محلول به‌دست‌آمده اضافه شد. نهایتاً محلول حاصل برای بستن به پلیت درب دار منتقل گردید، در فویل پیچیده شد و به یخچال انتقال یافت. به هنگام تیمار تکه‌هایی از اسفنج آماده‌شده بر روی پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه گذاشته شد و به‌این‌ترتیب موقعیت تیمار مشخص گردید. بعد از انجام تیمار پنجره بسته شد و تخم‌مرغ‌ها مجدداً داخل دستگاه قرار گرفتند. در روز دوازدهم انکوباسیون تخم‌مرغ‌ها از دستگاه خارج شدند و با استفاده از فوتواسترئومیکروسکوپ موردبررسی قرار گرفتند. جهت ارزیابی تعداد و طول انشعابات رگ‌های خونی و مقایسه آن با گروه کنترل کلیه تصاویر به کمک نرم‌افزار Image J موردبررسی قرار گرفتند. میانگین شاخص‌های موردسنجش با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۶ با آزمون آماری آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه one-way ANOVA در سطح معنی‌داری $p<0.01$ ارزیابی شد.

نتایج

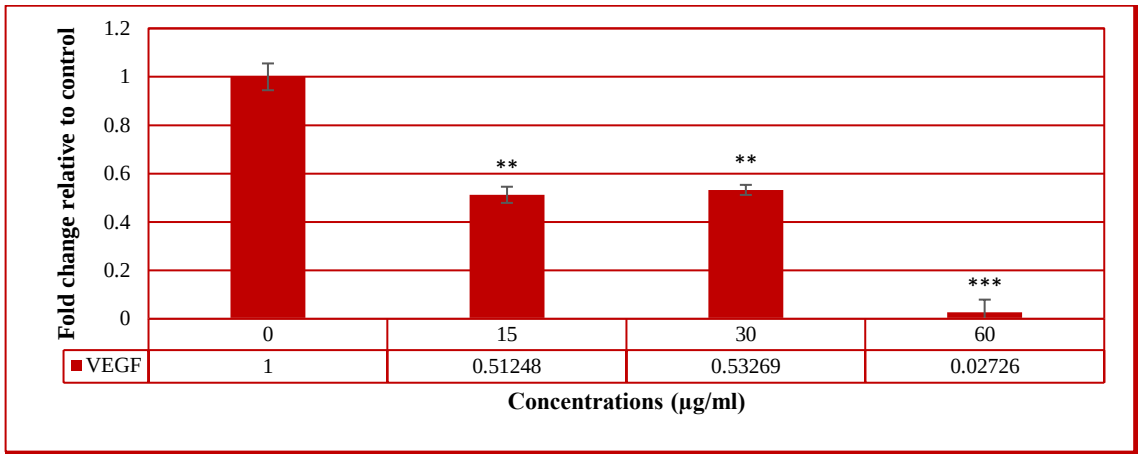
نتایج بررسی In vitro:

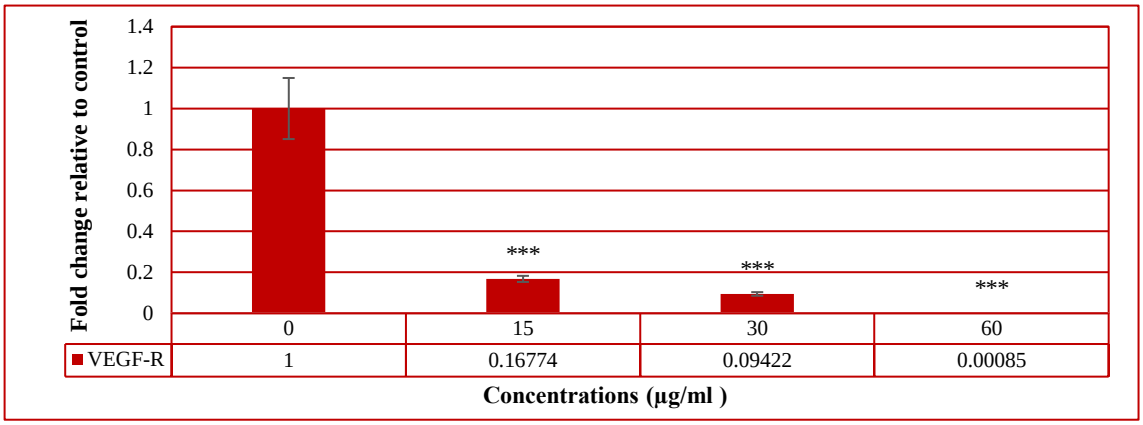
تغییرات بیان ژن‌های VEGF و VEGF-R در سلول‌های MCF-7 تحت تیمار با کمپلکس VO-CYC

بررسی تغییرات بیان ژن VEGF به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ژن‌های دخیل در پدیده رگ زایی نشان داد که کمپلکس VO-CYC دارای اثر مهاری بر بیان این ژن است. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، تغییرات بیان این ژن در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تفاوت چندانی ندارد، اما در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیان این ژن به‌شدت کاهش‌یافته است که در مقایسه با کنترل کاهش معنی‌داری است. همچنین بررسی تغییرات بیان ژن VEGF-R در سلول‌های MCF-7 تحت تیمار با کمپلکس VO-CYC در مقایسه با گروه کنترل نشان داد که این کمپلکس اثر مهاری چشمگیری بر بیان این ژن می‌گذارد. با افزایش غلظت کمپلکس VO-CYC اثر مهاری نیز افزایش یافت که نشان‌دهنده اثرات وابسته به غلظت است.

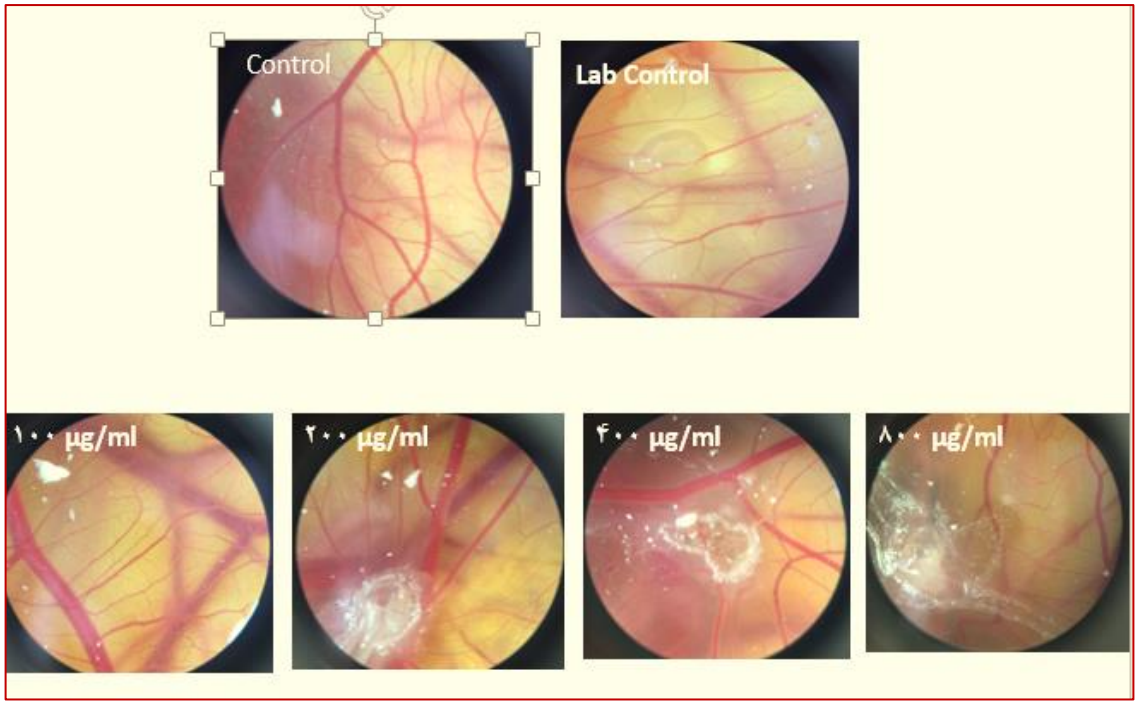
نتایج بررسی‌های In vivo:

یافته‌های حاصل از تست CAM کاهش میزان تعداد و طول عروق تحت تیمار با دوزهای مختلف کمپلکس VO-CYC را نشان می‌دهد. شکل ۱ تغییرات مورفولوژیک میزان رگ زایی پرده کوریوالانتوئیک جنین جوجه را در تیمار با کمپلکس را نشان می‌دهد.





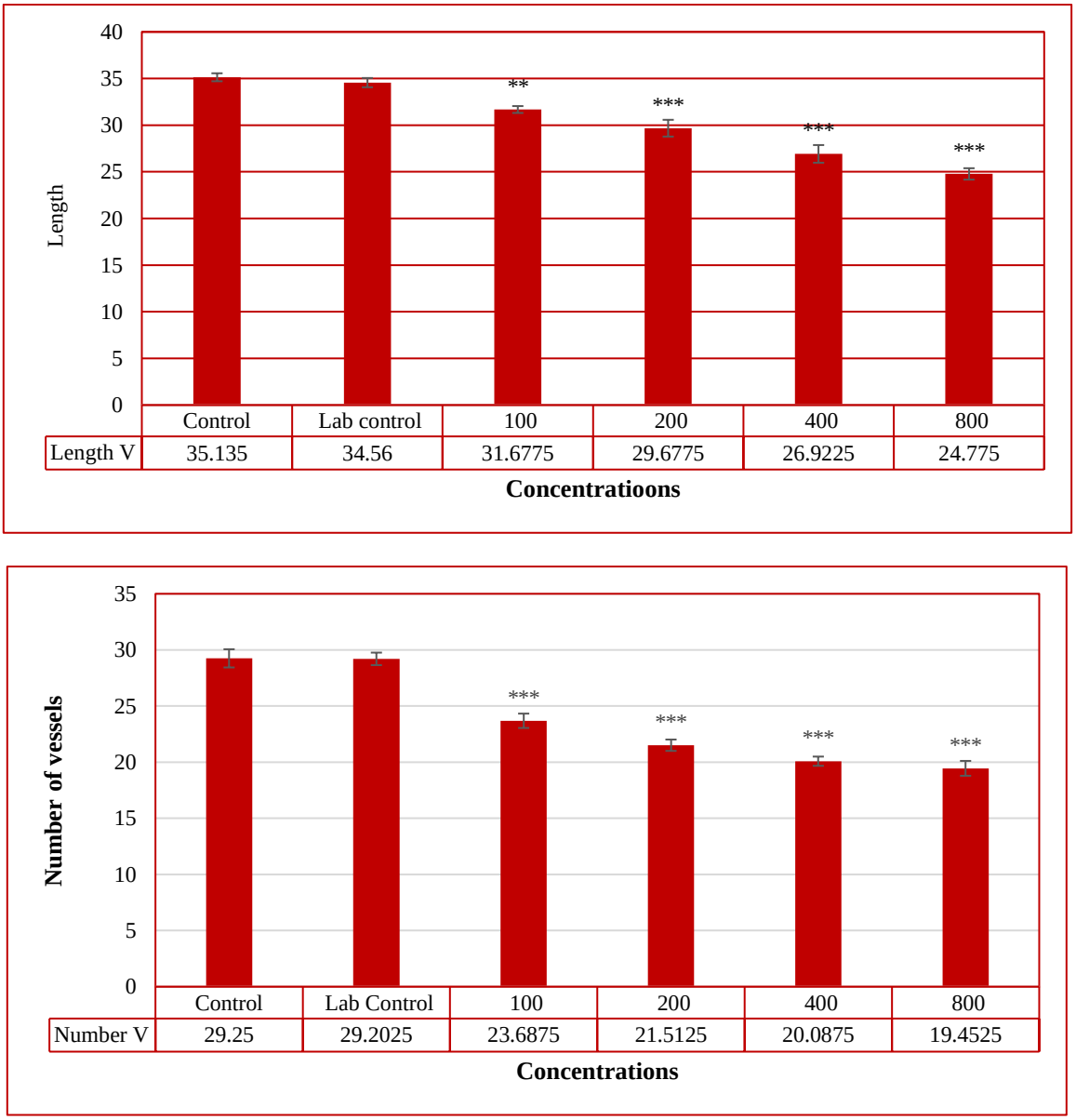
نمودار ۱- تغییرات بیان ژن‌های VEGF و VEGF-R در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس VO-CYC (۱۵، ۳۰ و ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر). داده‌ها در سطح $P<0/01^{**}$ و $P<0/001^{***}$ معنی‌دار است.



شکل ۱- تصاویر به‌دست‌آمده از میزان رگ زایی پرده کوریوالانتوئیک جنین جوجه حاصل از تیمار با غلظت‌های مختلف کمپلکس VO-CYC. همان‌طور که در تصویر مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کمپلکس VO-CYC میزان رگ زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه کاهش می‌یابد.

مطالعه طول و انشعابات رگ‌های خونی تیمار شده با کمپلکس VO-CYC

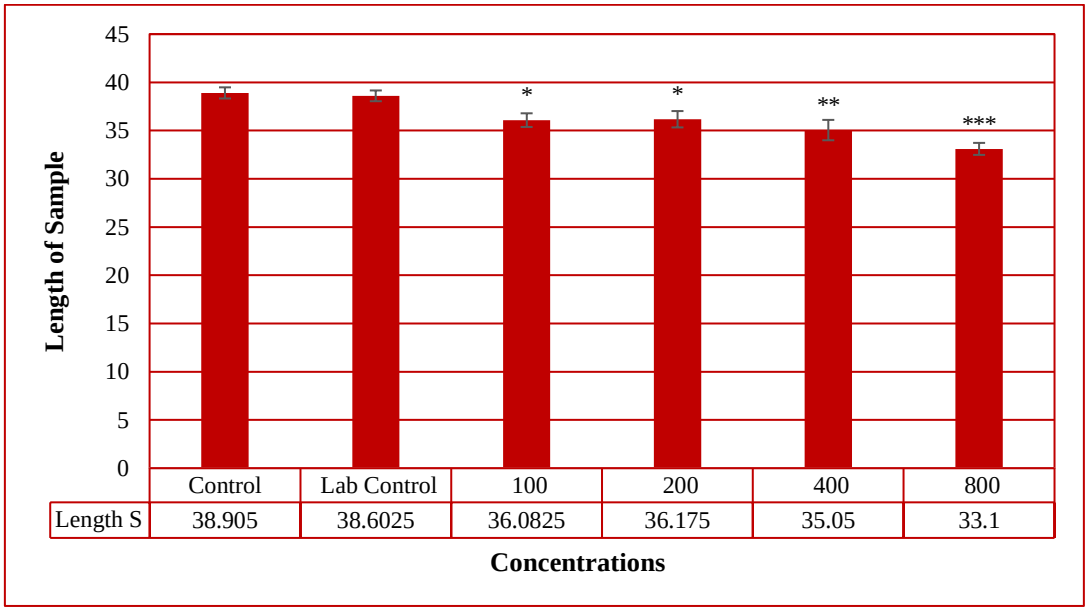
نتایج حاکی از آن است که کمپلکس VO-CYC تعداد و طول عروق خونی را در مقایسه با کنترل و شاهد آزمایشگاهی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. میانگین طول عروق خونی تیمار شده با کمپلکس VO-CYC در مقایسه با نمونه کنترل نشان داد که بین گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس VO-CYC با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۱ وجود دارد. این اختلاف در سایر غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در سطح P<۰/۰۰۱ گزارش گردید. همچنین میانگین تعداد عروق خونی تیمار شده با کمپلکس VO-CYC در مقایسه با نمونه کنترل حاکی از اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۰۱ است. همان‌طور که در نمودار ۲ ملاحظه می‌گردد، کمپلکس VO-CYC در کاهش طول و تعداد رگ‌ها اثرات وابسته به غلظتی را نشان داد و با افزایش غلظت این کمپلکس طول و تعداد عروق نیز کاهش یافت.

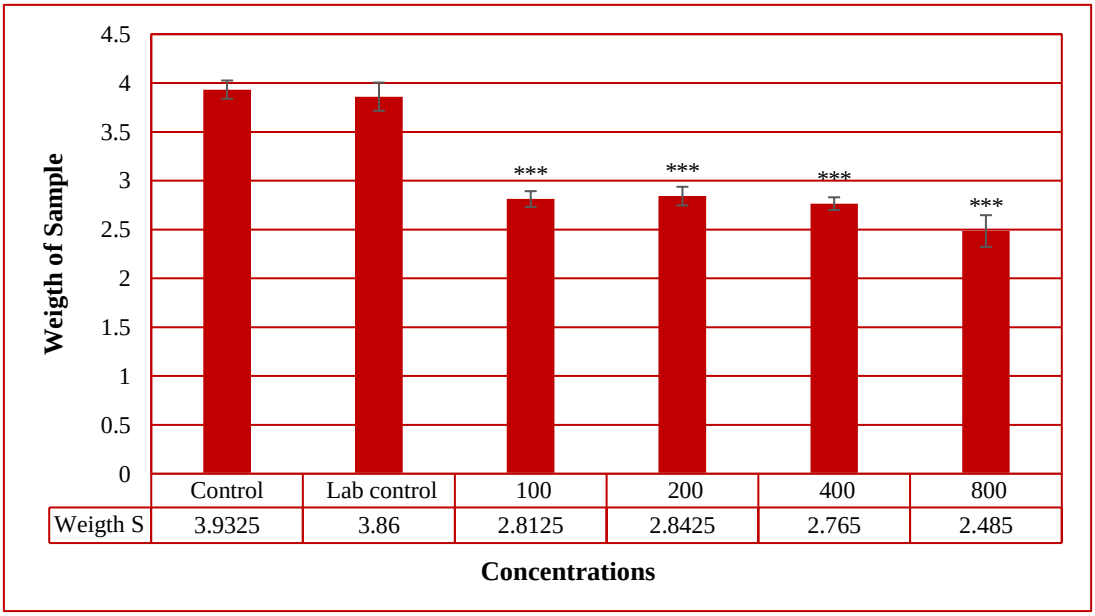


نمودار ۲- میانگین طول و تعداد رگ‌های خونی پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس VO-CYC در مقایسه با گروه کنترل. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کمپلکس VO-CYC طول و تعداد عروق خونی کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند. اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۱** و P<۰/۰۰۱*** گزارش گردید.

مطالعه وزن و قد جنین‌های جوجه در تیمار با کمپلکس VO-CYC

یافته‌های حاصل از این بررسی نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار وزن و قد جنین‌های تحت تیمار با کمپلکس نسبت به گروه کنترل بود. همان‌طور که در نمودار ۳ و تصویر مربوط به قد جنین‌ها ملاحظه می‌شود، بین گروه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس VO-CYC با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ وجود دارد. این اختلاف در غلظت‌های بالاتر کمپلکس یعنی ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر P<۰/۰۱ است. به‌علاوه در تصویر مربوط به وزن جنین‌ها ملاحظه می‌شود که بین تمامی گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۰۱ وجود دارد. همچنین با افزایش غلظت کمپلکس وزن جنین‌ها نیز کاهش یافت که نشان‌دهنده اثر وابسته به غلظت کمپلکس VO-CYC است.





نمودار ۳- میانگین قد و وزن جنین‌های جوجه تحت تیمار با غلظت‌های مختلف کمپلکس VO-CYC در مقایسه با گروه کنترل. اختلاف در سطح P<۰/۰۵*، P<۰/۰۱** و P<۰/۰۰۱*** معنی‌دار است.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد رگ زایی کمپلکس اکسوانادیم (IV) از شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل (سیکلوهگزان دی آمین) بر روی پرده کوریوالانتوئیک جنین جوجه بود و کمپلکس مذکور اثرات ضد رگ زایی قابل‌توجهی را در آزمایش‌های In vitro و In vivo نشان داد.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فاکتورهای آنژیوژنیک در رشد و گسترش تومورها نقش بسیار مهمی بر عهده‌دارند. در بررسی ایمونوهیستوشیمی، خانواده VEGF و رسپتورهای آن‌ها تقریباً در نیمی از سرطان‌های بررسی‌شده دخیل بودند (۱۱، ۱۲).

VEGF یک پلی پپتید آنژیوژنیک است که در رشد سرطان مؤثر است. VEGF در سرطان لوزالمعده انسان با افزایش نئوواسکولاریزاسیون یا تغییرات خصوصیات کلینیکوپاتولوژیکی مرتبط است. ایکاکورا و همکاران نتیجه گرفتند که VEGF معمولاً در سرطان لوزالمعده انسان بیش‌ازحد بیان می‌شود و همبستگی مثبتی با عود کردن موضعی، پتانسیل متاستازی و بقای کلی دارد؛ بنابراین VEGF یا گیرنده‌های آن به‌عنوان اهداف درمانی در سرطان لوزالمعده مطرح شدند. بازدارنده‌های COX-2 موجب بازدارندگی رشد تومور سرطان لوزالمعده به‌وسیله بازدارندگی عمل COX-2 می‌شوند که عمل آن شامل تشکیل رگ‌های خونی است که از رشد سلولی تومور پشتیبانی می‌کنند. در پژوهشی، نشان داده شد که شیف بازهای جدید از نیمسولاید، قادر به بازدارندگی فعالیت VEGF هستند. دیگر یافته این پژوهش این است که بخشی از بازدارندگی VEGF می‌تواند به سمیت این ترکیبات، صرف‌نظر از وضعیت سلول‌های COX-2 نسبت داده شود (۱۳).

در پژوهشی مقادیر بسیار زیاد ویتامین B_6 برای سرکوب رشد تومور و متاستاز در جوندگان گزارش گردید. برای بررسی این‌که آیا اثر ضد سرطانی این ویتامین ناشی از مهار آنژیوژنز است یا خیر، مطالعه‌ای به‌منظور بررسی اثرات ضد آنژیوژنز پیریدوکسال-۵-فسفات (PLP)، پیریدوکسین، پیریدوکسال و پیریدوکسامین به‌صورت ex vivo با استفاده از حلقه آئورت موش صحرایی انجام شد. حلقه‌های آئورت موش با غلظت‌های مختلف ترکیبات فوق تیمار شدند. یافته‌های حاصل از پژوهش نشان داد که غلظت‌های بالای PLP و پیریدوکسین باعث مهار کامل آنژیوژنز می‌شود. پیریدوکسال نیز مشابه PLP مؤثر واقع شد ولی پیریدوکسامین غیرفعال گزارش گردید که اشاره به نقش گروه آلدهیدی در اثر ضد رگ زایی دارد. این نتایج نشان‌دهنده اثر ضد رگ زایی PLP و پیریدوکسال بوده و حاکی از آن است که اثر ضد توموری مقادیر بالای ویتامین B_6 ممکن است به‌واسطه مهار آنژیوژنز باشد (۱۴). در مطالعه ما نیز اثرات ضد رگ زایی کمپلکس اکسوانادیم (IV) از شیف باز N و'N-دی پیریدوکسیل (سیکلوهگزان دی آمین) که ازجمله شیف بازهای پیریدوکسال است موردبررسی قرار گرفت و این کمپلکس اثرات ضد رگ زایی چشمگیری را طی بررسی‌های In vitro و In vivo نشان داد. به‌علاوه ترکیبات وانادیم نیز اثرات پیشگیرانه را در برابر سرطان‌زایی، با تغییر عمده آنزیم‌های مختلف زنوبیوتیک، نشان داده‌اند. مطالعات بر روی سلول‌های مختلف نشان می‌دهد که وانادیم اثرات ضد توموری خود را از طریق مهار تیروزین فسفاتاز سلولی و یا فعال شدن تیروزین فسفوریلازها اعمال می‌کند. هر دو اثر، مسیرهای انتقال سیگنال را فعال می‌کنند که منجر به فعال شدن ژن‌های سرکوب‌کننده تومور می‌شود. وانادیم همچنین ممکن است اثرات مهاری بر پتانسیل متاستاتیک سلول سرطانی را از طریق مدولاسیون مولکول‌های چسبنده سلولی اعمال کند. وانادیم دارای سمیت کم است که در ترکیب و سنتز کمپلکس‌های جدید، قوی‌تر و پایدارتر ممکن است به‌عنوان عامل ضد تومور فلزی اثرات بسیار خوبی ایجاد نماید (۱۵). دلایل فوق ما را بر آن داشت که اثرات ضد توموری و ضد رگ زایی کمپلکس VO-CYC را موردبررسی قرار دهیم و این کمپلکس در این خصوص عملکرد بسیار خوبی را نشان داد.

در مطالعه دیگری اثر کمپلکس فلزی Mn(II) تولیدشده از شیف بازی مشتق شده از پیریدوکسال بر رگ زایی تومور بررسی گردید. مقایسه بافت‌های تیمار شده توسط کمپلکس مذکور با گروه کنترل تفاوت چشمگیری را نشان داد. طی این بررسی مشخص گردید که سرعت رشد تومور و تعداد عروق خونی در تیمار با کمپلکس به‌خوبی کاهش‌یافته است (۷).

در تحقیقی اثرات ضد رگ زایی دسته‌ای از شیف بازهای والپروئیک اسید هیدرازید موردمطالعه قرار گرفت. یکی از این شیف بازها با عنوان N-والپروگلایسین هیدرازید دارای پتانسیل بسیار خوبی در مهار آنژیوژنز و تشکیل عروق خونی در غلظت پایین بود درحالی‌که مشتقات شیف باز دیگر تحت عنوان N-والپروئیل-۴-آمینو بنزوئیل هیدرازید دارای اثرات پرو آنژیوژنیک

بودند که نشان‌دهنده تأثیر آن‌ها بر مسیرهای سیگنالینگی است که تشکیل رگ‌های خونی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۸). در مطالعه ما هیچ‌گونه اثر پرو آنژیوژنیکی مشاهده نگردید.

در مطالعه‌ای اثرات ضد رگ زایی دو کمپلکس دو هسته‌ای مس (Cu-1 و Cu-2) با استفاده از تست CAM موردبررسی قرار گرفت. جنین‌های جوجه با PBS (شاهد)، Cu-1، Cu-2 تیمار شدند. Cu-2 اثرات ضد رگ زایی مفیدتری از Cu-1 را در مهار کردن CAMهای جوجه بر اساس دوز مصرفی نشان داد و عملکرد آن وابسته به دوز نیز بود. این مطالعه نشان داد که Cu-2 سبب متوقف ساختن رگ زایی با بازدارندگی مهاجرت سلولی اندوتلیال مشتق شده از سرطان و تشکیل مجرا می‌گردد. این یافته‌ها نشان داد که تغییرات ساختمانی ظریف ناشی از لیگاندهای مختلف بین Cu-1 و Cu-2 بر وظیفه ضد سرطانی آن‌ها اثر گذاشته است (۱۶).

همان‌طور که مطالعات بالا نشان می‌دهد، ترکیبات شیف باز و کمپلکس‌های فلزی آن‌ها می‌توانند بر رگ زایی تأثیر بگذارند. همانند اکثر مطالعات ذکرشده، مطالعه ما نیز تأثیر کمپلکس VO-CYC بر رگ زایی و مهار آن را نشان داد.

نتیجه‌گیری

در تحقیقی که انجام گرفت، کمپلکس اکسووانادیم (IV) از شیف باز N و′N-دی پیریدوکسیل (سیکلوهگزان دی آمین) دارای اثرات ضد رگ زایی بود که این ویژگی به‌کارگیری این کمپلکس را در درمان سرطان ممکن می‌سازد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه دانشجویی خانم پریسا قربانی جهت اخذ درجه دکتری رشته زیست‌شناسی گرایش بیوشیمی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران است. بدین‌وسیله از زحمات بی‌دریغ اساتید ارجمند گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. تمامی مراحل تست در این پژوهش با رعایت موازین اخلاقی و طبق تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات با شناسه مصوبه IR.IAU.SRB.REC.1397.123 انجام گرفت.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Herbertz S, Sawyer JS, Stauber AJ, Gueorguieva I, Driscoll KE, Estrem ST, et al. Clinical development of galunisertib (LY2157299 monohydrate), a small molecule inhibitor of transforming growth factor-beta signaling pathway. Drug design, development and therapy. 2015;9:4479.
2. Yadav L, Puri N, Rastogi V, Satpute P, Sharma V. Tumour angiogenesis and angiogenic inhibitors: a review. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 2015;9(6):XE01.
3. Nishida N, Yano H, Nishida T, Kamura T, Kojiro M. Angiogenesis in cancer. Vascular health and risk management. 2006;2(3):213.
4. Temirak A, Shaker YM, Ragab FA, Ali MM, Soliman SM, Mortier J, et al. Synthesis, Biological Evaluation, and Docking Studies of New 2-Furylbenzimidazoles as Anti-Angiogenic Agents :Part II. Archiv der Pharmazie. 2014;347(4):291-304.
5. Yusoff H, Hassan N, Bulat KK, editors. Theoretical and Experimental Approach Towards P-Cyano Stilbene Schiff Base as a Potential Linker in E-DNA Sensor. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 2018; 374(2018):1-6.
6. Chaudhary A, Singh A. Schiff bases: An emerging potent class of pharmaceuticals. International Journal of Current Research in Medical Sciences. 2017;3(5):60-74.
7. Yadamani S, Neamati A, Homayouni-Tabrizi M, Beyramabadi SA, Yadamani S, Gharib A, et al. Treatment of the breast cancer by using low frequency electromagnetic fields and Mn (II) complex of a Schiff base derived from the pyridoxal. The Breast. 2018;41:107-12.
8. El-Faham A, Farooq M, Khattab SN, Elkayal AM, Ibrahim MF, Abutaha N, et al. Synthesis and biological activity of Schiff base series of valproyl, N-valproyl glycinyl, and N-valproyl-4-aminobenzoyl hydrazide derivatives. Chemical & pharmaceutical bulletin. 2014;62(6):591-9.
9. Wu H-C, Huang C-T, Chang D-K. Anti-angiogenic therapeutic drugs for treatment of human cancer. Journal of Molecular Cancer. 2008;4(2):37-45.
10. Soltani M, Parivar K, Baharara J, Kerachian MA, Asili J. Transcriptional analysis of VEGF-D and TGFβ genes in MCF7 cells exposed to saponin isolated from Holothuria leucospilota (sea cucumber). Reports of biochemistry & molecular biology. 2015;4(1):25-31.

11. Salven P, Lymboussaki A, Heikkilä P, Jääskela-Saari H, Enholm B, Aase K, et al. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. The American journal of pathology. 1998;153(1):103-8.
12. Su J-L, Yen C, Chen P, Chuang S, Hong C, Kuo I, et al. The role of the VEGF-C/VEGFR-3 axis in cancer progression. British journal of cancer. 2007;96(4):541.
13. Ambike V, Adsule S, Ahmed F, Wang Z, Afrasiabi Z, Sinn E ,et al. Copper conjugates of nimesulide Schiff bases targeting VEGF, COX and Bcl-2 in pancreatic cancer cells. Journal of inorganic biochemistry. 2007;101(10):1517-24.
14. Matsubara K, Mori M, Matsuura Y, Kato N. Pyridoxal 5'-phosphate and pyridoxal inhibit angiogenesis in serum-free rat aortic ring assay. International journal of molecular medicine. 2001;8(5):505-8.
15. Evangelou AM. Vanadium in cancer treatment. Critical Reviews in Oncology/Hematology. 2002;42(3):249-65.
16. Qin XY, Yang LC, Le FL, Yu QQ, Sun DD, Liu YN, et al. Structures and anti-cancer properties of two binuclear copper complexes. Dalton Transactions. 2013;42(41):14681-4.

Original Article

The Study of Antiangiogenic Effects of Oxovanadium(IV) Complex of N,N′-Dipyridoxyl(1,2-cyclopropanediamine) Schiff Base on the Chorioallantoic Membrane of Chick Embryos Cells

Ghorbani P [1], Beyramabadi S.A [2]*, Homayouni Tabrizi M[3]*, Yaghmaei P[1]

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
3. Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: 15 Jan 2019 Accepted: 28 May 2019

Abstract

Background & Objective: Schiff bases are considered as an important group of compounds in the development of new drugs. The current approach to finding more effective treatment for cancer is to set up different stages of the angiogenesis process using angiogenesis suppressors, such as metal complexes synthesized from the Schiff bases. Therefore, the aim of this research was to investigate the antiangiogenic effects of oxovanadium(IV) complex of N,N′-dipyridoxyl(1,2-cyclopropanediamine) Schiff base on the chorioallantoic membrane of chick embryos cells.

Materials & Methods: Anti-angiogenic activity of oxovanadium(IV) complex of N,N′-dipyridoxyl(1,2-cyclopropanediamine) Schiff base was evaluated using Real-time PCR technique to evaluate the expression changes in angiogenesis-related genes in MCF-7 breast cancer cells and CAM test.

Results: The study of alterations in the expression of genes showed that oxovanadium(IV) complex of N,N′-dipyridoxyl(1,2-cyclopropanediamine) Schiff base had a significant inhibitory effect on the expression of both genes involved in angiogenesis. The findings of the CAM test showed that there was a significant decrease in the number and length of the vessels treated with different doses of the complex (100, 200, 400 and 800 µg/mL) ($P < 0.01$ and $P < 0.001$). Also, there was a significant decrease in weight and height of embryos treated with complex compared to control group at $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$.

Conclusion: In this study, the oxovanadium(IV) complex of N,N′-dipyridoxyl(1,2-cyclopropanediamine) Schiff base has antiangiogenesis effects that make the use of this complex possible for cancer treatment.

Keywords: Oxovanadium(IV) complex, N,N′-dipyridoxyl Schiff base, Antiangiogenesis, Chorioallantoic membrane

***Corresponding Author: Beyramabadi S.Ali,** Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
Email: beiramabadi6285@mshdiau.ac.ir
https://orcid.org/0000-0001-5123-9524