View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۴، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۱/ ۸۹-۸۲

مقاله پژوهشی

اثرات دوزهای مختلف آتورواستاتین بر رگ زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه

دکتر جواد بهارآرا*، دکتر سعیده ظفربالانژاد، دکتر خدیجه نژاد شاهرخ آبادی، زهرا حسامی
گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/٦/٤ اصلاح نهایی:۹۰/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/٦

چکیده:

زمینه و هدف: استاتین‌ها ترکیباتی هستند که در تکثیر، مهاجرت، تمایز سلول های اندوتلیال و اشتقاق آنژیوبلاست ها از مغز استخوان نقش مهمی دارند. آنژیوژنز یا تشکیل رگهای خونی جدید، پدیده ای فعال و پیچیده است که برای تکوین جنین و سایر وقایع فیزیولوژیکی مورد نیاز است. در شرایط پاتولوژیک نظیر رشد تومورها نیز پیشرفت بیماری با رگ زایی ارتباط دارد. در پژوهش حاضر شناسایی تاثیر غلظت‌های مختلف ۰/۱ و ۱۰µm آتورواستاتین بر رگ‌زایی پرده کوریو آلانتوئیک جوجه مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این پژوهش تجربی تعداد ٤۲ عدد تخم مرغ نطفه دار نژاد Ross به طور تصادفی در سه گروه مساوی (شاهد، گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲) قرار گرفتند. در روز دوم انکوباسیون، روی تخم‌مرغ‌ها پنجره باز شد و در روز هشتم یک اسفنج ژلاتینی روی پرده کوریوآلانتوئیک قرار گرفت. گروه های تجربی با ۱۰ مایکرولیتر محلول آتورواستاتین ۰/۱ و ۱۰µm تیمار گردیدند. در روز دوازدهم انکوباسیون با کمک فوتواسترئو میکروسکوپ تحقیقاتی عکس تهیه گردید و تعداد و طول انشعابات عروقی در اطراف اسفنج ژلاتینی در تمام نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید. نتایج به کمک آزمون آماری ANOVA و توکی تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی در نمونه تیمار با آتورواستاتین ۰/۱µm در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی در نمونه تیمار با آتورواستاتین ۱۰µm در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: در این پژوهش نشان داده شد که داروی آتورواستاتین دارای تاثیرات وابسته به دوز دوگانه‌ای بر آنژیوژنز پرده کوریوآلانتونیک جوجه می‌باشد. لذا پیشنهاد می شود که استفاده از استاتین ها به عنوان داروی جدیدی برای تعدیل‌رگزایی می تواند جهت درمان بیماری های وابسته به آنژیوژنز مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: آتورواستاتین، پرده کوریوآلانتوئیک، جنین جوجه مرغ، عامل آنژیوژنز.

مقدمه:

اولین رگ‌های خونی طی پدیده واسکولوژنز به شکل نو پدید از سلول‌های پیش‌ساز آندوتلیال با آرایش خاص بوجود می‌آیند و به تدریج شروع به انتشار، توسعه و تشکیل شاخه‌های جدید می‌کنند که به آن آنژیوژنزمی‌گویند (۱). آنژیوژنز یا رگزایی، به معنی تشکیل مویرگ های جدید از عروق اولیه است که در حالات مختلف پاتولوژیک از قبیل رشد تومور، متاستاز، آرتریت روماتوئید و همچنین در فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد و نمو ارگان، ترمیم زخم و تولید مثل دخالت دارد، می توان آنژیوژنزرا یک فرآیند

*نویسنده مسئول: مشهد- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد- گروه زیست شناسی-تلفن: ۰۵۱۱-٦۲۲۳۱۳۷،
E-mail:baharara@yahoo.com*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017

ضروری در فیزیولوژی طبیعی دانست که در صورت عدم تعادل بین فاکتورهای القاءکننده و مهارکننده آنژیوژنز به هم خورده و شرایط برای بروز برخی بیماری ها به وجود می آید (۳،۲). در بافت‌های طبیعی عوامل آنتی آنژیوژنیک بیشتر از عوامل آنژیوژنیک می باشد بنابراین آنژیوژنز رخ نمی دهد، عواملی مانند هیپوکسی و موتاسیون در انکوژن‌ها و سرکوب‌کننده‌های تومور که باعث افزایش غلظت فاکتورهای آنژیوژنیک و یا کاهش آنتی آنژیوژنیک شوند در این تعادل اختلال ایجاد نموده و آنژیوژنز انجام می‌گیرد. یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های اختصاصی رگ‌زایی Vascular endothelial growth factor (VEGF) است و VEGF-A فاکتور اصلی در رگ‌زایی است که اثر خود را از طریق فعال کردن دو گیرنده VEGFR-1 و VEGFR-2 به انجام می‌رساند (۴). افزایش برخی شاخص های آنژیوژنیک مانند VEGF نه تنها تشکیل عروق خونی جدید بلکه عروق لنفاوی درون تومور را نیز افزایش می دهد (۵). VEGF-A برای سلول های اندوتلیال عروق مشتق شده از سرخرگ ها، سیاه رگها و عروق لنفاوی به عنوان میتوژن عمل کرده و باعث افزایش آنژیوژنز می شود (۶). تحقیقات فعلی بیانگر آن است که استاتین‌ها علاوه بر اثرات کاهش‌دهنده سطح چربی خون دارای تاثیرات وسیعی بر فرایند التهاب و رگ زایی می‌باشند (۷). Vincent و همکاران بیان کردند استاتین ها قادر به کاهش تکثیر سلول‌های اندوتلیال و مهاجرت آن‌ها می‌باشند (۸). استاتین ها به صورت مستقیم با مهار بیان ژن های التهابی عملکرد ضد التهابی دارند به گونه ای که پس از درمان استاتینی بیان ژن های التهابی تغییر می کند (۹). از جمله ترکیبات دارویی که تاثیرات آن‌ها بر فرآیند رگ زایی مورد بررسی قرار گرفته است، استاتین‌ها می‌باشند. دسته دارویی 3--Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A (HMG-Co-A) مهار کننده آنزیم ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلوکوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز که به استاتین‌ها معروف هستند به طور وسیعی جهت درمان افزایش کلسترول خون مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰). این داروها مسیر تبدیل موالونات را مهار کرده و در نتیجه تولید کلسترول را کاهش می‌دهند (۱۱). استاتین ها به طور معمول در بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر استفاده می‌شود و عملکرد اندوتلیال را می‌توانند بهبود بخشند. شواهد آزمایشگاهی نشان می‌دهد استاتین‌ها دارای اثر پیش رگ زایی بوده که مرتبط با فعال شدن اکسید نیتریک سنتاز اندوتلیایی است (۱۲). Walter و Zeiher بیان کردند که استاتین‌ها باعث حرکت و تمایز سلول‌های اجدادی اندوتلیال مشتق شده از مغز استخوان می‌شود که رگ‌زایی و ایجاد پوشش اندوتلیالی مجدد را سبب می‌شود (۱۳). آتورواستاتین از دیگر ترکیبات خانواده استاتین‌ها می‌باشد که نسبت به سایر اعضای این خانواده دارای عوارض جانبی کمتر و اثربخشی بیشتری می‌باشد (۱۴). این دارو از طریق تنظیم VEGF بواسطه Transforming growth factor α (TGFα) و Transforming Growth Factor β (TGFβ) می‌تواند باعث مهار التهاب عروق در موش‌ها شود (۱۵). آتورواستاتین از طریق فعال کردن AMP-activated protein kinase (AMPK) و افزایش سنتز نیتریک اکساید اندوتلیالی مانع ازآسیب سلول های بنیادی مزانشیمی و بقا آنهادرشرایط بدون سرم و هایپوکسی می شود (۱۶). نیتریک اکساید به عنوان عامل تغییر قطر رگ های خونی معرفی شده است (۱۷). آتورواستاتین سلول های پیش ساز اندوتلیالی Endothelial Progenitor Cells (EPCs) را از آپوپتوز حفظ می کند. مطالعات اخیر نشان می دهد آتورواستاتین با مهارعملکرد هوموسیستئین مانع از استرس اکسیداتیو وآپوپتوز (EPCs) می شود (۱۸). در پژوهش حاضر اثر داروی آتورواستاتین با دوز ۰/۱ و ۱۰μm بر آنژیوژنز پرده ی کوریوآلانتوئیک جوجه

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017

برای پاسخ به این سوال که آیا داروی آتورواستاتین با غلظت پایین (۰/۱µm) و غلظت بالا (۱۰µm) دارای کدام نوع اثر (مهاری یا تحریکی) بر رگ زایی در پرده ی کوریوآلانتوئیک جوجه می باشد بررسی شده است.

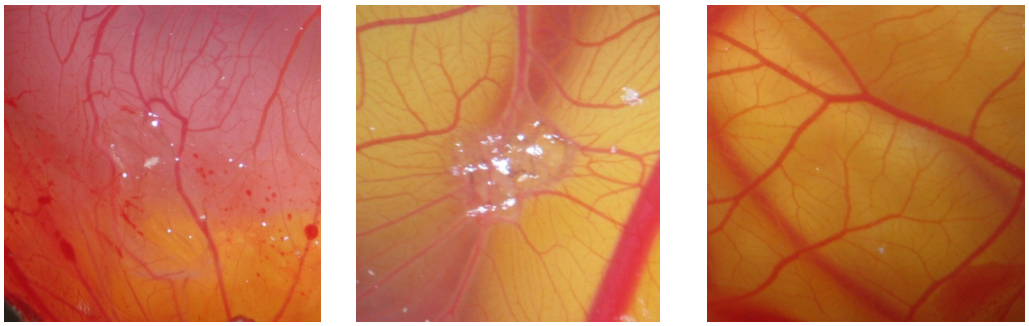
روش بررسی:

این پژوهش تجربی در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوین جانوری گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال ۹۰-۸۹ انجام شد. جهت انجام پژوهش از تخم‌مرغ‌های نطفه دار نژاد Ross که از شرکت مرغداران طوس مشهد تهیه شده بود به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد. تعداد ۴۲ عدد تخم مرغ نطفه‌دار در ۳ گروه مساوی به صورت تصادفی توزیع شدند. این گروه‌ها شامل گروه شاهد، گروه تیمار با آتورواستاتین (شرکت تهران-شیمی) با غلظت ۰/۱µm (گروه تجربی ۱) و گروه تیمار با آتورواستاتین با غلظت ۱۰µm (گروه تجربی ۲) بود. تخم مرغ‌ها در دستگاه جوجه کشی در دمای ۳۸/۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۶۵-۵۵ درصد (دستگاه جوجه کشی تحقیقاتی ۵۸ خانه ساخت هلند) قرار گرفتند. در روز دوم انکوباسیون در شرایط کاملاً استریل ایجاد شده توسط هود لامینار (TelstarA v-100, Spain) بخشی از پوسته تخم‌مرغ‌ها برداشته شده و توسط لامل و پارافین استریل پنجره‌ای روی یک طرف تخم‌مرغ‌ها ایجاد گردید. سپس تخم‌مرغ‌ها به انکوباتور برگردانده شدند و در روز هشتم انکوباسیون پنجره‌ها در شرایط استریل برداشته شده و روی پرده کوریوآلانتوئیک جوجه‌ها یک اسفنج ژلاتینی (مرکب از آلبومین سفیده تخم مرغ و محلول آگار در نرمال سالین به نسبت مساوی که به صورت تازه در شرایط استریل تهیه می‌شد) به ابعاد ۱×۴×۴ میلی متر قرار داده شد. در نمونه های تیمار گروه تجربی ۱، مقدار ۱۰ مایکرولیتر آتورواستاتین ۰/۱µm و نمونه های گروه تجربی ۲ مقدار ۱۰ مایکرولیتر محلول آتورواستاتین ۱۰µmبه اسفنج ژلاتینی گروه های تیمارشده افزوده شد. سپس محل پنجره‌ها مجدداً پوشانیده و تخم‌مرغ‌ها به انکوباتور برگردانده شدند. از آن‌جا که پرده کوریوآلانتوئیک از روز پنجم انکوباسیون شروع به تشکیل کرده و در روز هشتم بیش از نیمی از وسعت درون تخم‌مرغ‌ها را اشغال می کند و هم چنین در این روز قلب کاملاً تشکیل شده و جدایی خون سیاهرگی و سرخرگی اتفاق افتاده است. لذا تیمار شبکه عروقی در روز هشتم انکوباسیون می‌تواند قابل توجه قرار گیرد. با توجه به گزارش Ruggiero و همکاران روزهای هشتم برای تیمار با آتورواستاتین (۰/۱µm) و (۱۰µm) و روز دوازدهم برای تهیه عکس و اندازه‌گیری انتخاب شدند (۱۹). در روز دوازدهم انکوباسیون در تمام نمونه‌های شاهد و تیمارهای ۲ گانه از محدوده محل قرارگیری اسفنج ژلاتینی به کمک فوتواسترئومیکروسکوپ تحقیقاتی (Ziess, Germany) تصاویری با درشت نمایی ۶۴ برابر تهیه شد. تصاویر با نرم افزار Image J در یک مونیتور ۱۵ اینچ مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های مورد بررسی عبارت بودند از تعداد و طول انشعابات عروقی که در سطح مقطع یکسانی در ۴ طرف اضلاع اسفنج ژلاتینی برای تمام نمونه ها اندازه گیری شد. پس از بررسی نرمال بودن (تست نرمالیته) داده ها با استفاده از نرم افزار Spss توسط آزمون آماری ANOVA و توکی در سطح P<۰/۰۵ تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها:

میانگین تعداد انشعابات عروقی (۹/۲۵۷±۹۴/۰۷) و طول انشعابات عروقی (۰/۱۶۹mm±۲/۹۱) در گروه تیمار با آتورواستاتین ۰/۱µm در مقایسه با میانگین تعداد انشعابات عروقی (۵/۴۹۴±۵۰/۷۱) و طول انشعابات عروقی (۰/۸۴۰mm±۲/۲۳) گروه شاهد افزایش معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵) در حالی که میانگین تعداد انشعابات عروق (۱/۶۳۶±۱۶/۳۶) و طول انشعابات عروق (۰/۰۵۵mm±۱/۶۸) در گروه تیمار با آتورواستاتین ۱۰µm

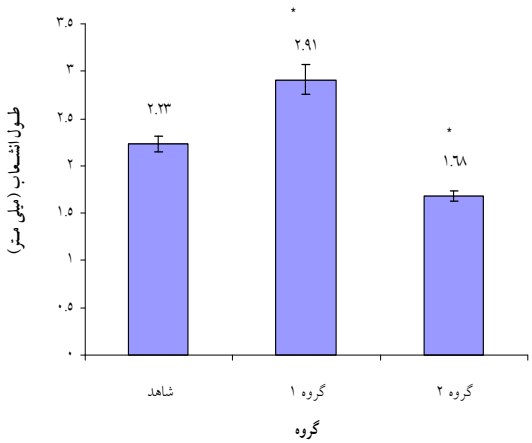
Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017



الف ب ج

تصویر شماره ۱: تعداد و طول انشعابات عروقی در اطراف اسفنج ژلاتینی در گروه های مختلف

الف: نمونه شاهد. ب: نمونه ی تیمار شده با غلظت ۰/۱µm آتورواستاتین (افزایش تعداد و طول انشعابات عروقی) ج: نمونه ی تیمار شده با غلظت ۱۰ µm آتورواستاتین (کاهش تعداد و طول انشعابات عروقی)

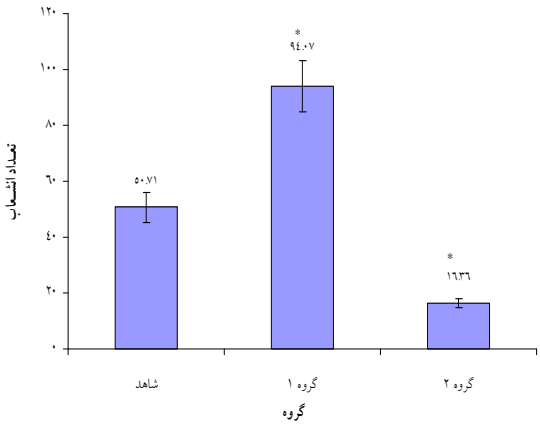


نمودار شماره ۱: میانگین طول انشعابات عروقی در گروه های مختلف

**P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد*

گروه تجربی ۱: تیمار شده با غلظت ۰/۱µm آتورواستاتین

گروه تجربی ۲: تیمار شده با غلظت ۱۰µm آتورواستاتین



نمودار شماره ۱: میانگین تعداد انشعابات عروقی در گروه های مختلف

**P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد*

گروه تجربی ۱: تیمار شده با غلظت ۰/۱µm آتورواستاتین

گروه تجربی ۲: تیمار شده با غلظت ۱۰µm آتورواستاتین

در مقایسه با شاهد کاهش معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵) (تصویر شماره ۱)(نمودار شماره ۱ و ۲).

بحث:

نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که داروی آتورواستاتین با غلظت ۰/۱µm تحریک کننده ی رگ زایی و با غلظت ۱۰µm مهار کننده ی رگ زایی در پرده ی کوریوآلانتوئیک جوجه است که این نتیجه به صورت افزایش معنی‌داری در تعداد و طول انشعابات عروقی اطراف محل تیمار با آتورواستاتین ۰/۱µm و کاهش معنی‌دار در تعداد و طول انشعابات عروقی اطراف محل تیمار با آتورواستاتین ۱۰µm است مشاهده شد. مطالعات نشان داده است که آنژیوژنز در افراد بالغ غیر از مواردی مثل ترمیم زخم و سیکل ماهانه

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017

(خانم‌ها) به ندرت رخ می‌دهد. محققان بر این عقیده‌اند که برای القای آنژیوژنز در شرایط فیزیولوژیک یا پاتولوژیک که مشتمل بر مراحل متعددی است کاهش فشار اکسیژن (Hypoxia) در بافت از اهمیت زیادی برخوردار است (۲۰). در چنین شرایطی بافت دچار هایپوکسی، اقدام به سنتز و رهاسازی فاکتورهای آنژیوژنیک همچون فاکتور رشد سلول‌های اندوتلیال (VEGF) می‌کند. این فاکتورها پس از اتصال به گیرنده‌های خود بر روی سلول های اندوتلیال منجر به فعال‌شدن آن‌ها می‌شود. با شروع فعالیت سلول‌های اندوتلیال، انواع خاصی از متالوپروتئازها از سلول فوق ترشح می‌شود و غشای پایه را در منطقه مذکور تجزیه می‌کند. با هضم غشای پایه، سلول‌های اندوتلیال اقدام به مهاجرت و تکثیر می‌نماید. علاوه بر این سلول‌های اتصالی از قبیل اینتگرین a۷β۵ و a۳β۷ نیز به فرایند کشیدن و جلو رفتن جوانه‌های رگ‌های خونی در حال رشد کمک می‌نماید. در مراحل بعدی فرایند آنژیوژنز متالوپروتئینازهای ماتریکس (matrix metalloproteinasesi= MMP) جهت تجزیه ماتریکس خارج سلولی و آغاز بازسازی مجدد آن تولید می‌شوند. سپس با بر هم کنش آنژیویوتین ـ Tie2 فرایند تشکیل لوله آغاز می گردد و در مرحله ی بعد سیستم (EphB- ephrin B) نیز تنظیم فرآیند تشکیل لوله‌ها را بر عهده گرفته و در نهایت پری سیت‌ها و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف برای پایدار شدن رگ خونی تازه تشکیل شده به این ساختار اضافه می‌شوند (۲۱). تحقیقات نشان می دهد که فاکتورهای موثر بر رشد موجود در سرم جنینی گاو باعث افزایش آنژیوژنز می شود که این نتیجه اهمیت فاکتورهای رشد در پیشبرد آنژیوژنز را نشان می دهد (۱۷). در گزارشی محققین بیان کردند که اثرات وابسته به دوز استاتین‌ها مستقل از تاثیر این ترکیبات بر میزان چربی خون است این محققین بیان کردند تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول‌های اندوتلیال در غلظت های پایین (۰/۰۱μm- ۰/۰۰۵) استاتین‌ها افزایش یافته امّا به طور مشخصی در غلظت های بالا (۰/۰۱-۱μm) کاهش می یابد هم چنین این محققین بیان کردند که اثرات ضد رگ‌زایی استاتین‌ها در غلظت‌های بالادر ارتباط با کاهش ترشح VEGF از سلول‌های اندوتلیال و هم‌چنین افزایش آپوپتوز در این سلول‌ها می‌باشد نتیجه به دست آمده از مطالعه ی این محققین با نتیجه ی مطالعه ی ما مشابه است و لازم به ذکر است که در مطالعه ی این پژوهشگران اثرات استاتین ها بر سلول های اندوتلیال بررسی شده است که احتمالاً همین امراختلاف دوز دارویی به کار رفته می باشد (۲۲). در مطالعه ی دیگری مشاهده شد که استاتین‌ها دارای اثرات پیش رگزایی بوده که منجر به تحریک رشد عروق جدید می‌شوند و هم چنین تولید اکسیدنیتریک (No) توسط سلول‌های اندوتلیال را افزایش می‌دهند (۲۳). نتایج پژوهش حاضر مبنی بر دوگانه بودن اثرات آتورواستاتین بر آنژیوژنز با مطالعه ی Montaseri و همکاران سازگار است. بر اساس گزارش Montaseri و همکاران آتورواستاتین دارای اثرات دوگانه ای بر آنژیوژنز و رشد بافت اندومتر می باشد طوری که این دارو در دوز پایین ۰/۱μm منجر به افزایش آنژیوژنز و رشد بافت در مقایسه با گروه کنترل می شود. اما دوزهای بالاتر آتورواستاتین (۱μm و ۱۰ μm) آنژیوژنز و رشد بافت را نسبت به گروه کنترل کاهش می دهند که این کاهش رشد شامل کاهش تکثیر سلولی و کاهش میزان رگ زایی می باشد، لازم به ذکر است که یافته های منتصری از تاثیر آتورواستاتین بر بافت آندومتر انسان در زمینه ی سه بعدی فیبرینی و به شکل in vitro صورت پذیرفته است در حالی که مطالعه ی ما به صورت in vivo، بر پرده ی کوریوآلانتوئیک جوجه انجام شده است (۱۰). در پژوهش حاضر مکانیسم احتمالی افزایش و کاهش آنژیوژنز تحت اثر دوز پایین و بالای آتورواستاتین را می توان بر اساس پژوهش Laufs پیشنهاد نمود، چنان که Laufs گزارش کرد که

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017

دوزهای پایین استاتین از طریق افزایش تولید اکسید نیتریک (NO) منجر به تحریک رگ زایی می شوند، در حالی که این ترکیبات در دوزهای بالا پرنیله شدن پروتئین ها را کاهش داده و باعث مهار رشد سلول می شود (۲۴). پژوهشگران در طی مطالعه ای اثر غلظت های ۱μm، ۵μm و ۱۰ μm داروی لوواستاتین را بر کشت بافت اندومتر انسانی نشان دادند. آن ها بیان کردند که داروی لوواستاتین در غلظت های ۵μm و ۱۰ μm دارای اثرات مهار کننده ی رشد بافت اندومتر می باشد و هیچگونه اثر دوگانه ای را گزارش نکردند (۲۵). در مطالعه ی دیگری مشاهده شد که داروی سیمواستاتین محرک پدیده ی رگزایی می باشد که احتمالاً از طریق فعال سازی فاکتور پروتئین کیناز Akt/PkB سلول های اندوتلیال این اثر را اعمال می کنند (۲۶). بر اساس این پژوهش انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که آتورواستاتین با دوز کم می‌تواند آنژیوژنز را افزایش دهد در حالی که آتورواستاتین با دوز بالا اثر کاهشی بر آنژیوژنز دارد.

نتیجه گیری:

در این پژوهش نشان داده شد که داروی آتورواستاتین دارای تاثیرات وابسته به دوز دوگانه‌ای بر آنژیوژنز پرده کوریو آلانتونیک جوجه می‌باشد. لذا پیشنهاد می شود که استفاده از استاتین ها به عنوان داروی جدیدی برای تعدیل رگزایی می تواند جهت درمان بیماری های وابسته به آنژیوژنز مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

از کلیه همکاران محترمی که در انجام این پروهش همکاری نموده اند به ویژه مدیر گروه محترم زیست شناسی دانشکده ی علوم پایه سرکارخانم دکتر خیاط زاده، شرکت داروسازی تهران- شیمی، سرکارخانم آزاده منتصری، جناب آقای محمد شورورزی کارشناس ارشد آمار و جناب آقای محمد علی بهمن یار مدیر بازرگانی شرکت مرغداران طوس و همکاران آزمایشگاه تحقیقات تکوین جانوری تشکر و قدردانی می شود.

منابع:

1. Zafar-Balanezhad S, Parivar K, Baharara J, Mohseni-Koochesfahani H, Ashraf A. [The synergic effects of rapamycin and extremely lowfrequency electromagnetic field on angiogenesis. J Shahrekord Univ Med Sci. 2009 Aug; 12(2): 7-14.]Persian

2. Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process. Curr Mol Med. 2003; 3(7): 51-643.

3. Heidenreich R, Rcken M, Ghoreschi K. Angiogenesis: the new potential target for the therapy of psoriasis? Drug News Perspect. 2008; 21(2): 97-105.

4. Otrock ZK, Mahfouz RA, Makarem JA, Shamseddine AI. Understanding the biology of angiogenesis: Review of the most important molecular mechanisms. Blood Cells Mol Dis. 2007 Sep-Oct; 39(2): 212-20.

5. Marneros AG. Tumor angiogenesis in melanoma. Hematol Oncol Clin North Am. 2009 Jun; 23(3): 431-46.

6. Mansouri K, Mostafaie A, Mohammadi-Motlagh H. [Angiogenesis and Tumor Biology. J Improve, Kermanshah Univ Med Sci. 2010 Winter; 14(4): 305-15.]Persian

7. Ruiz-Velasco. Statins upregulate CD 36 expressin in human monocytes an affect strengthened when combined with PPAR-gamma ligand putative contribution of Rho GTPase in statin-induced CD36 expression. Biochem Pharmacol. 2004; 67(2): 303-13.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017

8. Vincent L, Chen W, Hong L. Inhibition of endothelial cell migration by cerivastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor: contribution to its anti-angiogenic effect. FEBS Lett. 2001 Apr; 495(3): 159-66.

9. Yan-Wang A, HeChang A, JunZou BC, XinJin B, Zhongquan QI. The effect of atorvastatin on m-RNA levels of inflammatorygenes expressionin human peripheral blood lymphocytes by DNA microarray. Biomed Pharmacother. 2011 Mar; 65(2): 118-22.

10. Montaseri A, Khazaei M, Ghorbani R, Rezaei M. Evaluating the effect of Atorvastatin on culture human endometrial tissue in a three-dimensional. J Reproduct Infertil. 2007; 7(6): 358-66.

11. Graaf MR. The risk of cancer in users of statins. J Clin Oncol. 2004; 22(12): 2388-94.

12. Boodhwani M, Shigetoshi M, Feng J, Neel R, Sodha Richard T. Clements Atorvastatin impairs the myocardial angiogenic response to chronic ischemia innormocholesterolemic. J Thorac Cardiovasc Surg. 2008 Jan; 135(1): 117-22.

13. Walter DH, Zeiher AM, Dimmeler S. Affects of statins on endothelium and their contribution to neovascularization by mobilization of endothelial progenitor cells. Coron Artery Dis. 2004; 15(5): 235-42.

14. Wierzbicki AS. Atorvastatin. Expert Opin Pharmacother. 2001; 2(5): 819-30.

15. Arau´jo FA, Rocha MA, Mendes JB, Andrade SP. Atorvastatin inhibits inflammatory angiogenesis in mice through down regulation of VEGF, TNF-α and TGF-β. Biomed Pharmacother. 2010 Jan; 64(1): 29-34.

16. Xiao-Mei B, Chun-Fang W, Guo-Ping L. Atorvastatin inhibits homocysteine-induced oxidative stress and apoptosis in endothelial progenitor cells involving Nox4 and p38 MAPK. Atherosclerosis. 2010; 210: 114-21.

17. Baharara J, Ashraf A, Balanejad S, Samareh-Mosavi S. [The inhibitory effect of low frequency electromagnetic field (50Hz) on angiogenesis in chorioalantoic membrane of chick. Zahedan J Res Med Sci. 2009; 12(2): 18-27.]Persian

18. Qiuting D, Yuejin Y, Lei S, Haiyan Q, Zhimin X. Atorvastatin prevents mesenchymal stem cells from hypoxia and serum-free injury through activating amp-activated protein kinase. Int J Cardiol. 2011 Dec; 153(3): 306-11.

19. Ruggiero M, Bottaro DP, Liguri G, Gulisano M, Peruzzi B, Pacini S. 0.2 T magnetic field inhibits angiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane. Bioelectromagnetics. 2004 Jul; 25(5): 390-6.

20. Martinez A. A new family of angiogenic factors. Cancer Lett. 2006 May; 236(2): 157-63.

21. Mostafaie A, Mohammadi Motlagh H, Mansouri K. Angiogenesis and the models to study angiogenesis. Med J Cell. 2009 Sep; 11(4): 374-81.

22. Weis M, Heeschen C, Glassford A, Cooke J. Statins have biphasic effects on angiogenesis. Circulation. 2002 Feb; 105(6): 739-45.

23. Rorowski A, Walsh K. Statin therapy and angiogenesis. Curr Opin Lipidol. 2003; 14(6): 599-603.

24. Laufs U. Beyond lipid-lowering: effects of statins on endothelial nitric oxide. Eur J Clin Pharmacol. 2003; 58(11): 719-31.

25. Esfandiari N, Khazaei M, Ai J, Bielecki R, Gotlieb L, Ryan E, Casper R. Effect of statin on an in vitro model of endometriosis. Fertil Steril. 2006; 87(2): 257-62.

26. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. Nat Med. 2000 Sep; 6(9): 1004-10.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2012 May, June; 14(2):82-89.

Original article

The effects of different doses of atorvastatin on angiogenesis of chorioallantoic membrane of chick embryo

Baharara J (PhD) *, Zafar-Balanezhad S (PhD), Nejad-Shahrokhabadi Kh (PhD), Hesami Z (MSc)
Biology Dept., Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran.
Received:25/Aug/2011 Revised: 15/Feb/2012 Accepted: 24/Feb/2012

Background and aims: Statins promote the proliferation, migration and survival of endothelial cells and bone marrow -derived endothelial progenitor cells (Angioblasts). Angiogenesis, the formation of new blood vessels, is a dynamic and complex activity which is needed for embryogenesis and other physiological processes. However, in many pathological conditions such as solid tumor progression, the disease appears to be associated with persistent up-regulated angiogenesis. In this research we used atorvastatin (0.1µm) and (10 µm) on angiogenesis of chick embryo.

Methods: In this experimental study 42 Ross fertilized eggs were randomly divided into 3groups as follows: 1) control group, 2) group treated with atorvastatin (0.1µm), 3) group treated with atorvastatin (10µm). In day 2 a window was opened on eggs in sterile condition and In day 8 gelatin sponge was placed on chorioallantic membrane (CAM) and was soaked with 10 microliters atorvastatin (0.1µm) and (10 µm) in group 2 and group 3. In day12 CAMs were examined and photographed by research photo–stereomicroscope in all cases. Data were analyzed statistically by ANOVA and Tukey tests.

Results: The average number and length of vessels in control and the group treated with atorvastatin (0.1µm) showed a significant increase ($P<0.05$) and the average number and lenghth of vessels in the group treated with atorvastatin (10 µm) showed a significant decrease compare to control group ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that atorvastatin has a stimulatory effect on angiogenesis in CAM and atorvastatin (10 µm) has an inhibitory effect on angiogenesis in CAM. It is suggested that astatine can be used as a new medicine for angiogenesis balancing in treat ment of diseases related to angiogenesis.

Keywords: **Angiogenesis factor, Atorvastatin, Chorioallantoic membrane, Chick embryo.**

Cite this article as:. Baharara J, Zafar-Balanezhad S, Nejad-Shahrokhabadi Kh, Hesami Z. [The effects of different doses of atorvastatin on angiogenesis of chorioallantoic membrane of chick embryo. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 May, June; 14(2): 12-19.]Persian

* **Corresponding author:**
Biology Dept., Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran. Tel: 00985116223137, E-mali:baharara@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:53 +0430 on Tuesday August 29th 2017