

ارزیابی اثر سولامارژین از ترکیبات اصلی تاجریزی سیاه در مهار رگ‌زایی

سودابه اکبری^۱، فاطمه کلالی‌نیا^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سولامارژین یکی از گلیکوالکالوئیدهای استروئیدی اصلی موجود در تاجریزی سیاه (سولانیوم نیگروم) است که اثرات ضد سرطانی آن به طور گسترده‌ای در رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی نشان داده شده است. از آن جایی که یکی از عوامل مهم در رشد و متاستاز تومور، عامل رگ‌زایی (آنژیوژنز) است، در این مطالعه تلاش شد تا اثرات سولامارژین در مهار رگ‌زایی مورد بررسی قرار گیرد.

روش‌ها: جهت بررسی اثرات مهاری بر رگ‌زایی در مطالعه‌ی *In vivo* از مدل غشای کوریوآلتوتئیک جنین جوجه که یک مدل حیوانی شناخته شده برای این امر است، استفاده شد. در هر بار مطالعه، تخم مرغ‌های نطفه‌دار نژاد Ross به طور تصادفی در ۵ گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی و تیمار با سه غلظت مختلف سولامارژین (۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) تیمار می‌شدند. در انتهای هر دوره تیمار، از تمام نمونه‌ها به کمک فوتواسترومیومیکروسکوپ تحقیقاتی، عکس تهیه شد و تعداد و طول انشعابات عروقی روی پرده‌ی کوریوآلتوتئیک اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: سولامارژین به شکل مؤثر و وابسته به غلظت، می‌تواند طول و تعداد انشعابات عروقی را کاهش دهد؛ به طوری که بیشترین مهار در غلظت ۲۰ میکرومولار سولامارژین با تعداد $1/80 \pm 5/31$ و طول $60/88 \pm 7/31$ میکرومتر در مقایسه با گروه شاهد با تعداد $2/67 \pm 23/88$ و طول $119/39 \pm 8/87$ میکرومتر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: سولامارژین دارای اثر مهاری قابل توجه بر رگ‌زایی می‌باشد.

واژگان کلیدی: رگ‌زایی، پرده‌ی کوریوآلتوتئیک، سولانیوم نیگروم، سولامارژین

ارجاع: اکبری سودابه، کلالی‌نیا فاطمه. ارزیابی اثر سولامارژین از ترکیبات اصلی تاجریزی سیاه در مهار رگ‌زایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۶۴): ۱۹۶۱-۱۹۵۶

یا VEGF) و عامل پایه‌ای رشد فیبروبلاستی (basic fibroblast growth factor یا bFGF) می‌باشند. این عوامل از سلول‌های توموری به محیط بیرون ترشح می‌شوند و آبخارهای مولکولی را فعال می‌کنند که در نهایت منجر به رشد سلول‌های اندوتلیالی می‌شود. همچنین، سلول‌های اندوتلیالی فعال شده، مولکول‌های ماتریکس متالوپروتئیناز (Matrix metalloproteinases یا MMPs) را تولید می‌کنند که زمینه‌ساز مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی هستند. در نهایت، تقسیم سلولی و مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی منجر به شکل‌گیری عروق جدید خواهد شد (۲). تاکنون مهار کنندگان مختلفی برای رگ‌زایی از منابع متفاوت کشف شده‌اند. منشأ برخی همانند آنژیواستاتین، اندوستاتین و توماستاتین که اجزایی از پروتئین‌های کلاژن یا پلاسمینوژن هستند، بدن انسان می‌باشد (۳). منشأ برخی دیگر از مهار

مقدمه

یکی از عوامل مهم در رشد تومور، عامل رگ‌زایی یا آنژیوژن (Angiogenesis) است. ساخت رگ‌های جدید، موجب انتقال مواد غذایی و اکسیژن به سلول‌های تومور و ترشح عوامل رشد سلولی (نظیر عامل رشد سلولی شبه انسولینی) از سلول‌های آندوتلیالی و جوانه‌های عروقی می‌شود. با وجود تمام جهش‌ها و تغییرات ژنی، چنانچه خون‌رسانی به سلول‌های تومور کافی نباشد، نمی‌توانند بیشتر از ۲-۱ میلی‌متر رشد نمایند. از سوی دیگر، سلول‌های تومور بدون دسترسی به عروق خونی نمی‌توانند متاستاز نمایند (۱). رگ‌زایی، یک فرایند پیچیده و بسیار تنظیم شده است که توسط عوامل مختلفی القا یا مهار می‌شود. مهم‌ترین مولکول‌های فعال‌کننده‌ی رگ‌زایی، عبارت از عامل رشد اندوتلیالی عروقی (Vascular endothelial growth factor

۱- گروه علوم زیستی، مؤسسه‌ی آموزش عالی غیر دولتی- غیر انتفاعی ربع رشید تبریز، تبریز، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، پژوهشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

Email: kalaliniaf@mums.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: فاطمه کلالی‌نیا

ضد سرطان به کار گرفته شود. بر اساس بررسی‌های انجام شده توسط پژوهشگران، هیچ مطالعه‌ای جهت بررسی اثر سولامارژین بر روی آنژیوزنز انجام نشده بود. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرات سولامارژین در میزان مهار آنژیوزنز انجام شد.

روش‌ها

مواد: تخم مرغ‌های لقاح یافته از شرکت توس تلقیح (مشهد، ایران) تهیه شدند. (DMSO) Dimethyl sulfoxide از شرکت Merck و نمک‌های مورد نیاز برای تهیه‌ی بافر Phosphate buffered saline (PBS) از شرکت Sigma آلمان خریداری شدند. سولامارژین از شرکت eBioChem Escrow کشور چین خریداری شد. مقدار یک میلی‌گرم سولامارژین در DMSO حل شد و با PBS رقیق شد تا محلول استوک با غلظت ۸۷ میکرومولار تهیه گردد. پس از استریل کردن محلول سولامارژین با استفاده از فیلترهای سرنگی، محلول حاصل تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. غلظت‌های مختلف سولامارژین مورد استفاده در آزمایش (۲۰- میکرومولار) به صورت تازه در روز تلقیح تهیه شد.

انجام آزمایش در مدل پرده‌ی کوریوآنتوتیک جوجه

(*Chorioallantoic Membran یا CAM*): در این پژوهش، جهت بررسی اثر سولامارژین بر رگ‌زایی، از مدل پرده‌ی کوریوآنتوتیک جنین جوجه استفاده شد. بدین منظور، تخم مرغ‌های لقاح یافته‌ی یک روزه با اتانول ۷۰ درصد تمیز شدند و در شرایط ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با رطوبت ۷۰ درصد انکوبه شدند. تا روز هشتم، روزی یک مرتبه تخم مرغ‌ها به صورت دستی چرخانده شد و میزان دما، رطوبت و آب دستگاه کنترل شد. در روز هشتم انکوباسیون، ابتدا سوراخی در جداره‌ی تخم مرغ (قسمت کیسه‌ی هوا) ایجاد شد تا هوای داخل تخم مرغ خالی شود و سفیده‌ی کمی پایین بیاید. سپس، پنجره‌ای حدود ۲-۱/۵ سانتی‌متر روی پوسته‌ی تخم مرغ ایجاد شد تا قسمتی از CAM که حاوی ورید اصلی است، نمایان شود.

تخم مرغ‌هایی که حاوی نطفه‌ی زنده بودند و در آن‌ها شبکه‌ی عروقی تشکیل شده و نطفه‌ی ضربان‌دار قابل مشاهده بود، به صورت تصادفی در ۵ گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی و ۳ گروه تیمار با سولامارژین (با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) دسته‌بندی شدند. سپس، از هر غلظت سولامارژین به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به کمک سرنگ انسولینی به آرامی بین دو رگ بزرگ‌تر تزریق شد. در گروه شاهد، هیچ تلقیحی انجام نشد و به تخم مرغ‌های گروه شاهد آزمایشگاهی به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از بافر PBS تلقیح شد. محل پنجره به کمک پارافیلیم پوشانده شد و با اتانول ۷۰ درصد استریل شد. تخم مرغ‌ها به دستگاه انکوباتور (بهداد، ایران) در شرایط ۳۷ درجه‌ی

کننده‌های رگ‌زایی، گیاهانی همانند چای سبز و دانه‌ی سویا و یا منشأهایی نظیر قارچ‌ها، بافت‌های کوسه و زهرمار می‌باشند (۴). هر چند ترکیبات به طور کامل مصنوعی نیز برای این هدف ساخته شده‌اند. از این رو، در حال حاضر، سعی در کنترل رشد عروقی با استفاده از عوامل ممانعت‌کننده، یکی از امیدهای درمان سرطان را تشکیل می‌دهد (۵).

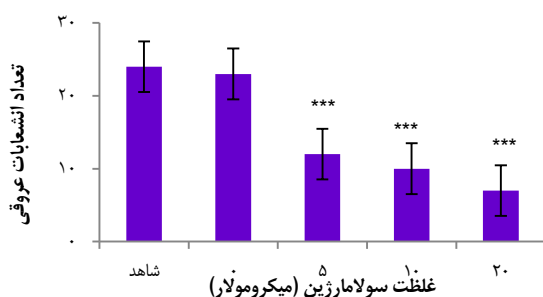
سولانیوم نیگروم (*Solanum nigrum Linn.*) که اغلب با نام تاجریزی سیاه شناخته می‌شود، علف هرز دولپه‌ای از راسته‌ی Solanales، خانواده‌ی Solanaceae و جنس *Solanum* می‌باشد که در بیشتر مناطق ایران، به صورت گیاه وحشی رشد می‌کند. کاربردهای متنوع و زیادی برای تاجریزی سیاه در طب سنتی مناطق مختلف جهان وجود دارد (۶). یکی از اثرات سولانیوم نیگروم که بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است، اثرات ضد سرطانی آن است. مکانیسم‌های مختلفی نیز برای این اثر ضد سرطانی سولانیوم نیگروم پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به توانایی تداخل با ساختمان و عملکرد غشای سلول‌های سرطانی، اختلال در سنتز DNA و RNA، تغییر توزیع سلول‌ها در چرخه‌ی سلولی و هدایت آن‌ها به سمت آپوپتوز اشاره کرد (۷).

سولامارژین (Solamargine)، با فرمول C45H73NO15 و وزن مولکولی ۸۶۸/۰۶ گرم/مول، یکی از گلیکوآلکالوئیدهای استروئیدی اصلی موجود در سولانیوم نیگروم می‌باشد (۸). اثرات ضد سرطانی سولامارژین، به طور گسترده‌ای در رده‌های مختلف سلولی مانند سلول‌های لوکمی، سرطان پوست، سرطان پستان، سرطان ریه، سرطان استخوان و سرطان ریه نشان داده شده است (۹-۱۷).

در مطالعات مختلفی مکانیسم سمیت سلولی سولامارژین ایجاد مرگ سلولی از طریق ایجاد آسیب در غشای سلولی و پارگی سلول و نیز افزایش بیان پروتئین‌های دخیل در مسیر داخل سلولی آپوپتوز (مسیر مرگ سلولی لیزوزومی - میتوکندریایی) بیان شده است (۹، ۱۰، ۱۵). دیده شده است که تجویز همزمان سولامارژین با سایر داروهای ضد سرطان، می‌تواند باعث افزایش اثربخشی آن داروها شود. مجاورت سلول‌های سرطان پستان و سلول‌های سرطان ریه با سیس‌پلاتین و سولامارژین به طور هم‌زمان، باعث کاهش بیان پروتئین‌های مهارکننده‌ی آپوپتوز و افزایش بیان پروتئین‌های القاکننده‌ی آپوپتوز می‌شود و از این رو، به نظر می‌رسد که تجویز سولامارژین همراه با سیس‌پلاتین بتواند درمان مؤثرتری برای سرطان‌های پستان و ریه‌ی مقاوم به سیس‌پلاتین باشد (۱۸، ۱۴).

از سوی دیگر، نشان داده شده است که سولامارژین می‌تواند در کاهش مقاومت به داروهای ضد سرطان نقش داشته باشد (۱۹). بنابراین، با توجه به آن چه تاکنون مطرح شد، سولامارژین می‌تواند به عنوان یک ترکیب ضد سرطان به تنهایی یا همراه با سایر داروهای

میانگین تعداد انشعابات عروقی بین نمونه‌های گروه شاهد (۲۳/۸۸ ± ۲/۶۷) و شاهد آزمایشگاهی (۲۳/۱۹ ± ۲/۹۷) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار با سولامارژین باعث کاهش معنی‌داری در تعداد انشعابات عروقی در مقایسه‌ی میانگین تعداد انشعابات عروقی بین نمونه‌های گروه شاهد (۲۳/۸۸ ± ۲/۶۷) شد. این اثر، به صورت وابسته به غلظت بود؛ به گونه‌ای که سولامارژین با غلظت ۲۰ میکرومولار (۱/۸۰ ± ۵/۳۱) کاهش بیشتری در تعداد انشعابات عروقی در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با سولامارژین با غلظت ۵ میکرومولار (۱/۹۹ ± ۱۳/۲۵) و تیمار شده با سولامارژین با غلظت ۱۰ میکرومولار (۲/۰۱ ± ۱۰/۰۰) ایجاد کرده بود (شکل ۲).



شکل ۲. نمودار مقایسه‌ی میانگین تعداد انشعابات عروقی در نمونه‌های مختلف. تعداد انشعابات عروقی در یک سطح مقطع به شکل مربع با طول و عرض ۳ × ۳ سانتی‌متر مربع با استفاده از نرم‌افزار Image J محاسبه شد. نتایج میانگین داده‌های کمی حاصل از حداقل چهار نمونه‌ی مجزا و شمارش در چهار منطقه از هر عکس است. سطح معنی‌داری $P < 0/001$ نسبت به نمونه‌ی کنترل با *** نشان داده شده است.

نتایج حاصل از شمارش طول انشعابات عروقی: طول انشعابات عروقی در یک سطح مقطع به شکل مربع با طول و عرض ۳ × ۳ سانتی‌متر مربع شمارش و اندازه‌گیری شدند. میانگین طول انشعابات عروقی بین نمونه‌های گروه شاهد (۱۱۷/۵۸ ± ۸/۸۷) میکرومتر) و شاهد آزمایشگاهی (۱۱۹/۳۹ ± ۸/۸۷) میکرومتر) اختلاف معنی‌داری نداشتند. نتایج مقایسه‌ی میانگین طول انشعابات عروقی بین نمونه‌های گروه شاهد (۱۱۹/۳۹ ± ۸/۸۷) میکرومتر) با نمونه‌ی تیمار شده با سولامارژین

سانتی‌گرماد با رطوبت ۷۰ درصد منتقل شدند. در روز دوازدهم، پوشش تمام نمونه‌های مورد مطالعه برداشته شد و از میزان رگ‌زایی در CAM زیر میکروسکوپ استریو (luxeo 4D، آمریکا) با درشت‌نمایی ۴۰ عکس‌برداری شد (۲۰).

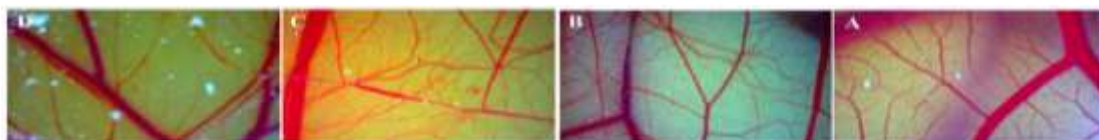
شمارش و اندازه‌گیری طول عروقی: تصاویر توسط نرم‌افزار Image J نسخه ۸ مورد بررسی قرار گرفتند. متغیرهای مورد بررسی عبارت از تعداد و طول انشعابات عروقی بود که در سطح مقطع یکسان (۴ مربع به ابعاد ۳ سانتی‌متر مربع در ۴ ناحیه‌ی مختلف در روی تصویر) برای تمام نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. با توجه به این که پرده‌ی کوریوآلانتوئیک یک ساختار آناتومیکی قرص مانند و پهن با ضخامت ۴۰۰ میکرومتر است، تمام عروق خونی موجود در مربع‌های ذکر شده، قابل شمارش بود و در اندازه‌گیری منظور گردید (۲۱). به جهت جلوگیری از خطا در تمام مربع‌ها ۳ بار اندازه‌گیری تکرار شد.

واکوی داده‌ها: همه‌ی آزمایش‌ها حداقل سه بار تکرار شدند. برای تحلیل داده‌ها از آزمون One way ANOVA به همراه آزمون تکمیلی Tukey استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید و $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از عکس‌برداری با فوتواستریو میکروسکوپ: در روز دوازدهم انکوباسیون، از همه‌ی نمونه‌ها با استفاده از فوتواستریو میکروسکوپ تحقیقاتی، عکس‌هایی با درشت‌نمایی ۴۰ از محدوده‌ی تزریق سولامارژین تهیه شد. نتایج نمونه‌ی شاهد که هیچ تیماری را دریافت نکرده بود، نشان داد شرایط انکوباسیون برای رشد و نمو جنین جوجه و نیز گسترش شبکه‌ی عروقی CAM مناسب بوده است. نتایج حاصل از تصویربرداری با استریو میکروسکوپ از پرده‌ی کوریوآلانتوئیک نشان داد که محلول سولامارژین در غلظت‌های مورد استفاده، بیشتر انشعابات فرعی را تحت تأثیر قرار داد و موجب کاهش محسوس انشعابات عروقی در محل تیمار شد (شکل ۱، A-D).

نتایج حاصل از شمارش تعداد انشعابات عروقی: تعداد انشعابات عروقی در یک سطح مقطع به شکل مربع با طول و عرض ۳ × ۳ سانتی‌متر مربع شمارش و اندازه‌گیری شد. در مقایسه‌ی



شکل ۱. تصویر استریو میکروسکوپ پرده‌ی کوریوآلانتوئیک A: نمونه‌ی شاهد آزمایشگاهی (تیمار با PBS)، B: نمونه‌ی تیمار شده با سولامارژین با غلظت ۵ میکرومولار، C: نمونه‌ی تیمار شده با سولامارژین با غلظت ۱۰ میکرومولار، D: نمونه‌ی تیمار شده با سولامارژین با غلظت ۲۰ میکرومولار در روز دوازدهم انکوباسیون

می‌باشد (۸) که اثرات ضد سرطانی آن به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است (۱۷-۱۳، ۱۱، ۹).

به دنبال مطالعه‌ی Xu و همکاران (۲۳) و از آن جایی بر اساس بررسی‌های پژوهشگران، هیچ مطالعه‌ای در زمینه‌ی بررسی اثر سولامارژین در مهار رگ‌زایی صورت نگرفته بود، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر سولامارژین در مهار رگ‌زایی در غشای کوریوآلتوتیک جنین جوجه انجام شد. نتایج این مطالعه، نشان داد که تیمار با سولامارژین نسبت به شاهد و شاهد آزمایشگاهی، کاهش معنی‌داری در میزان میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی به صورت وابسته به دز ایجاد می‌کند.

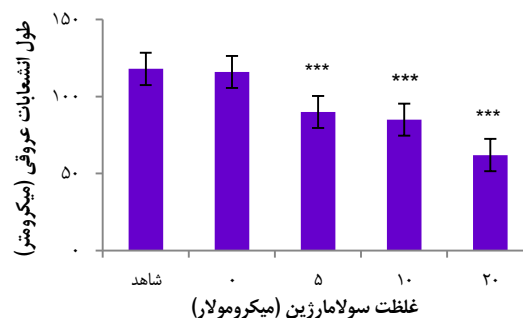
ماتریکس متالوپروتینازها، خانواده‌ی بزرگی از پروتئازهای اصلی آنزیم‌های دخیل در بازآرایی ماتریکس خارج سلولی و واکنش‌های سلول-سلول و سلول-سلول-ماتریکس شناخته شده‌اند. رگ‌زایی پدیده‌ای است که در آن، عروق خونی جدید از عروق موجود قبلی تولید می‌شوند که لازمه‌ی آن تجزیه‌ی دیواره‌ی عروق خونی موجود و بازآرایی ماتریکس خارج سلولی به منظور اجازه به سلول‌های اندوتلیال به مهاجرت به بافت‌های اطراف است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که MMPs به خصوص MMP-2 و MMP-9 به طور مستقیم و غیر مستقیم اثرات مثبتی بر رگ‌زایی دارند (۲۴). در مطالعه‌ی قبلی این گروه، اثرات سولامارژین بر مهار تهاجم و مهاجرت سلول‌های سرطانی و همچنین، مهار بیان و فعالیت‌های آنزیم‌های ژلاتیناز (پروتئین‌های MMP-2 و MMP-9) که در فرایند متاستاز سلول‌های سرطانی بسیار پر اهمیت هستند، به اثبات رسید (۲۵). بر این اساس، به نظر می‌رسد بخشی از اثرات مهار سولامارژین بر رگ‌زایی در مدل CAM به علت مهار MMP-2 و MMP-9 اتفاق افتاده باشد.

نتیجه‌گیری کلی این که سولامارژین به طور بسیار مؤثری می‌تواند رشد عروق را مهار کند. نتایج این تحقیق، در ادامه‌ی تحقیقات انجام شده راجع به اثرات مهار رشد سلول‌های توموری توسط سولامارژین، با مشخص شدن امکان مهار آنژیوژنز با غلظت‌های بسیار کم سولامارژین در این تحقیق، پیش‌بینی می‌شود سولامارژین به زودی به عنوان یک داروی مؤثر ضد سرطان مطرح شود و مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، به خاطر حمایت مالی در اجرای این مطالعه (گرات شماره‌ی ۹۳۱۰۴۹) تشکر می‌کنند. نتایج این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی دانشجویی دوره‌ی کارشناسی ارشد بیوشیمی بوده است.

با غلظت‌های $5 (15/36 \pm 94/83)$ میکرومتر، $10 (14/98 \pm 88/42)$ میکرومتر و $20 (7/31 \pm 60/88)$ میکرومولار، نشان دهنده‌ی کاهش قابل توجه و وابسته به غلظت طول انشعابات عروقی در اثر تیمار با سولامارژین بود (شکل ۳).



شکل ۲. نمودار مقایسه‌ی میانگین طول انشعابات عروقی در نمونه‌های مختلف. طول انشعابات عروقی در یک سطح مقطع به شکل مربع با طول و عرض 3×3 سانتی‌متر مربع با استفاده از نرم‌افزار Image J محاسبه شد. نتایج میانگین داده‌های کمی حاصل از حداقل چهار نمونه‌ی مجزا و شمارش در چهار منطقه از هر عکس است. سطح معنی‌داری $P < 0/001$ نسبت به نمونه‌ی کنترل با *** نشان داده شده است.

بحث

یکی از عوامل اصلی در رشد و پیشرفت تومور، رگ‌زایی است که در تغذیه‌ی سلول‌های تومور و ایجاد راهی جهت متاستاز مورد نیاز می‌باشد. از این رو، به نظر می‌رسد کنترل رشد عروقی با استفاده از عوامل مانع‌کننده، بتواند راه امیدبخشی برای درمان سرطان باشد (۲۲). در این راستا، استفاده از ترکیباتی که دارای خواص ضد سرطانی باشند و به طور هم‌زمان رگ‌زایی را نیز مهار کنند، مورد توجه قرار گرفته است.

Xu و همکاران، به بررسی اثر عصاره‌ی سولانیوم نیگروم بر روی آنژیوژنز به کمک مدل غشایی کوریوآلتوتیک جوجه (CAM) پرداختند. آن‌ها جنین جوجه را با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی آبی سولانیوم نیگروم مجاور کردند. آنالیز پاتولوژیکی نمونه‌ها، نشان داد که میزان آنژیوژنز در نمونه‌هایی که با عصاره‌ی سولانیوم نیگروم مجاور شده‌اند، به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از نمونه‌های کنترل بوده است. علاوه بر آن، تخریب ساختار سرخرگ‌های بزرگ نیز در آن‌ها دیده می‌شد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که سولانیوم نیگروم می‌تواند مهارکننده‌ی آنژیوژنز باشد (۲۳)، اما در آن‌ها بررسی نکردند که اثرات مهار رگ‌زایی مشاهده شده توسط کدام یک از ترکیبات موجود در این عصاره ایجاد شده است. سولامارژین، یکی از گلیکوالکالوئیدهای استروئیدی اصلی موجود در سولانیوم نیگروم

References

- Hunter KW, Crawford NP, Alsarraj J. Mechanisms of metastasis. *Breast Cancer Res* 2008; 10(Suppl 1): S2.
- Samant RS, Shevde LA. Recent advances in anti-angiogenic therapy of cancer. *Oncotarget* 2011; 2(3): 122-34.
- Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cancer Res* 2005; 65(10): 3967-79.
- Madhusudan S, Harris AL. Drug inhibition of angiogenesis. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2(4): 403-14.
- Yance DR, Jr., Sagar SM. Targeting angiogenesis with integrative cancer therapies. *Integr Cancer Ther* 2006; 5(1): 9-29.
- Atanu FO, Ebiloma UG, Ajayi EI. A review of the pharmacological aspects of *Solanum nigrum* Linn. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 2011; 6(1): 001-7.
- An L, Tang JT, Liu XM, Gao NN. Review about mechanisms of anti-cancer of *Solanum nigrum*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2006; 31(15): 1225-6, 1260. [In Chinese].
- Tang Z, Zhang Y, Li N, Xu L, Zhao B, Xiao W, et al. Extraction, purification technology and antineoplastic effects of solamargine. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2011; 36(16): 2192-5. [In Chinese].
- Sun L, Zhao Y, Yuan H, Li X, Cheng A, Lou H. Solamargine, a steroidal alkaloid glycoside, induces oncosis in human K562 leukemia and squamous cell carcinoma KB cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67(4): 813-21.
- Sun L, Zhao Y, Li X, Yuan H, Cheng A, Lou H. A lysosomal-mitochondrial death pathway is induced by solamargine in human K562 leukemia cells. *Toxicol In Vitro* 2010; 24(6): 1504-11.
- Shiu LY, Liang CH, Chang LC, Sheu HM, Tsai EM, Kuo KW. Solamargine induces apoptosis and enhances susceptibility to trastuzumab and epirubicin in breast cancer cells with low or high expression levels of HER2/neu. *Biosci Rep* 2009; 29(1): 35-45.
- Shiu LY, Liang CH, Huang YS, Sheu HM, Kuo KW. Downregulation of HER2/neu receptor by solamargine enhances anticancer drug-mediated cytotoxicity in breast cancer cells with high-expressing HER2/neu. *Cell Biology and Toxicology* 2008; 24(1): 1-10.
- Liang CH, Shiu LY, Chang LC, Sheu HM, Tsai EM, Kuo KW. Solamargine Enhances HER2 Expression and Increases the Susceptibility of Human Lung Cancer H661 and H69 Cells to Trastuzumab and Epirubicin. *Chem Res Toxicol* 2008; 21(2): 393-9.
- Liang CH, Liu LF, Shiu LY, Huang YS, Chang LC, Kuo KW. Action of solamargine on TNFs and cisplatin-resistant human lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322(3): 751-8.
- Li X, Zhao Y, Wu WK, Liu S, Cui M, Lou H. Solamargine induces apoptosis associated with p53 transcription-dependent and transcription-independent pathways in human osteosarcoma U2OS cells. *Life Sci* 2011; 88(7-8): 314-21.
- Kuo KW, Hsu SH, Li YP, Lin WL, Liu LF, Chang LC, et al. Anticancer activity evaluation of the solanum glycoalkaloid solamargine. Triggering apoptosis in human hepatoma cells. *Biochem Pharmacol* 2000; 60(12): 1865-73.
- Ding X, Zhu FS, Li M, Gao SG. Induction of apoptosis in human hepatoma SMMC-7721 cells by solamargine from *Solanum nigrum* L. *J Ethnopharmacol* 2012; 139(2): 599-604.
- Shiu LY, Chang LC, Liang CH, Huang YS, Sheu HM, Kuo KW. Solamargine induces apoptosis and sensitizes breast cancer cells to cisplatin. *Food Chem Toxicol* 2007; 45(11): 2155-64.
- Li X, Zhao Y, Ji M, Liu SS, Cui M, Lou HX. Induction of actin disruption and downregulation of P-glycoprotein expression by solamargine in multidrug-resistant K562/A02 cells. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124(13): 2038-44.
- Sadeghnia HR, Ghorbani Hesari T, Mortazavian SM, Mousavi SH, Tayarani-Najaran Z, Ghorbani A. Viola tricolor induces apoptosis in cancer cells and exhibits antiangiogenic activity on chicken chorioallantoic membrane. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 625792.
- 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; 25(5): 390-6.
- Harris AL. Angiogenesis as a new target for cancer control. *EJC Suppl* 2003; 1(2): 1-12.
- Xu Y, Pan RL, Chang Q, Qin M, Liu Y, Tang JT. Experimental study of *Solanum nigrum* on inhibiting angiogenesis in chick chorioallantoic membrane. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2008; 33(5): 549-52. [In Chinese].
- Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005; 9(2): 267-85.
- Sani IK, Marashi SH, Kalalinia F. Solamargine inhibits migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cells through down-regulation of matrix metalloproteinases 2 and 9 expression and activity. *Toxicol In Vitro* 2015; 29(5): 893-900.

Evaluation of the Effects of Solamargine Extracted from Solanum Nigrum as an Angiogenesis Inhibitor

Sodabeh Akbari¹, Fatemeh Kalalinia²

Original Article

Abstract

Background: Solamargine is one of a steroid-glycoalkaloids existing in Solanum nigrum Linn. Different studies have shown the cytotoxic effects of solamargine on the wide various cancer cell types. Angiogenesis is the factor that helps invasion and metastasis of tumors. Therefore, inhibition of angiogenesis is the target of many clinical treatments. In this study, we evaluated the effects of solamargine on inhibition of angiogenesis.

Methods: The effects of solamargine on the angiogenesis was assessed using chicken chorioallantoic membrane (CAM) model that is a known method for studying angiogenesis in vivo. So, Ross fertilized eggs were divided into five groups including control, sham exposed [treated by phosphate buffered saline (PBS)], and treated with various concentrations of solamargine (5, 10, and 20 μ M). At the end of each experiment, chicken chorioallantoic membranes were photographed by research photostereomicroscope, and the number and length of vessels were measured.

Findings: Solmargine could significantly decrease the number and length of vessels in a dose-dependent manner. As, the most inhibitory was seen by solmargine 20 μ M (number: 5.31 ± 1.80 , length: $60.88 \pm 7.31 \mu$ m) in compare with control group (number: 23.88 ± 2.67 , length: $119.39 \pm 8.87 \mu$ m).

Conclusion: The results proposed that solmrgine has significant inhibitory effects on the angiogenesis.

Keywords: Angiogenesis, Chorioallantoic membrane, Solanum nigrum, Solamargine

Citation: Akbari S, Kalalinia F. Evaluation of the Effects of Solamargine Extracted from Solanum Nigrum as an Angiogenesis Inhibitor. J Isfahan Med Sch 2018; 35(464): 1956-61.

1- Department of Biochemistry, School of Biology Science, Higher Education Institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran

2- Associate Professor, Biotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Sodabeh Akbari, Email: kalaliniaf@mums.ac.ir