



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: سیده حنانه اکبری، ۱۳۹۵

## بررسی بیان ژن VEGF/FGF در آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه (CAM) تحت تاثیر آنتی بیوتیک داکسی سیکلین

چکیده:

رگ زایی، رشد و نمو عروق خونی جدید از طریق جوانه زنی عروق موجود از مهمترین وقایع زیستی است که در شرایط فیزیولوژیک (مانند رشد جنین) یا پاتولوژیک (از جمله رشد تومور) مشاهده می‌شود. آنتی بیوتیک داکسی سیکلین، کاربرد زیست پزشکی گسترده‌ای نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها از جمله مهار آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) و اتصال و شلاته شدن با کاتیون‌های دو ظرفیتی از جمله کلسیم (Ca) دارد. در شرایط آزمایشگاهی مشخص شد این ماده احتمالاً می‌تواند باعث مهار رشد اندوتلیال و کاهش رشد تومور شود. به خصوص در تومورهای سرطانی، داکسی سیکلین به عنوان یک درمان ضد آنژیوژنز نقش مهمی ایجاد نموده است. داکسی سیکلین در درمان عفونت‌های باکتریایی از جمله دستگاه ادراری، آکنه، کلامیدیا، پریدونت لته و دیگر عفونت‌های مزمن انسانی استفاده می‌شود.

در این تحقیق بررسی اثر آنتی بیوتیک داکسی سیکلین بر رگ زایی پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه، بیان ژن VEGF (فاکتور رشد اندوتلیال)، FGF (فاکتور رشد فیروبلاستی) و ناهنجاری‌های مورفولوژیکی جنینی صورت گرفت. تعداد 40 تخم مرغ نطفه دار نژاد Ross به طور تصادفی در 5 گروه تقسیم و وارد انکوباسیون شدند. در روز دوم انکوباسیون، در تمام گروه‌ها پنجره ایجاد گردید. در روز هشتم انکوباسیون، با قراردادن اسفنج ژلاتینی بر روی پرده کوریوآلانتوییک، در گروه شاهد آزمایشگاهی با مقدار 10 میکرولیتر آب مقطر، در گروه تجربی 1: با 10 میکرولیتر از داکسی سیکلین با غلظت 50 mg/ml، در گروه تجربی 2: تا 10 میکرولیتر داکسی سیکلین با غلظت 100 mg/ml و گروه تجربی 3: با 10 میکرولیتر داکسی سیکلین با غلظت 250 mg/ml تیمار شدند. روز دوازدهم از سطح عروق پرده کوریوآلانتوییک در ناحیه تیمار، از تمام نمونه‌ها عکسبرداری شد و سپس تعداد و طول عروق اندازه‌گیری گردید. وزن و قد جنین‌ها نیز بررسی شده و از عروق پرده جهت بررسی بیان ژن VEGF، FGF برداشت شد. استخراج RNA، سنتز CDNA، Real-Time Pcr، انجام شد. نتایج حاصل از بررسی‌های آماری نشان داد که بیان ژن‌های VEGF، FGF، تعداد و طول عروق در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه‌های شاهد به طور معنادار کاهش داشت. وزن، قد و رشد و نمو جنین‌ها، اختلاف معنادار نداشته است. بین گروه‌های تیمار، گروه تیمار سوم با بالاترین غلظت مصرفی آنتی بیوتیک بیشترین کاهش را در بیان ژن‌های VEGF، FGF و میزان آنژیوژنز داشت. مطابق با نتایج تحقیق حاضر، آنتی بیوتیک داکسی سیکلین احتمالاً با اثرات مهارکننده بر بیان ژن VEGF و FGF، رگ‌زایی پرده کوریوآلانتوییک جنین جوجه را کاهش اما بر رشد و نمو جنینی تاثیر چندانی نداشته است. به همین جهت پیشنهاد می‌گردد از این آنتی بیوتیک با احتیاط بیشتری در دام و طیور و احتمالاً انسان جهت مقاصد دارویی بهره‌برد و جهت کاربرد در کنترل رشد تومور و سرطان‌زایی برای مطالعات گسترده‌تر قابل پیشنهاد است.



**کلیدواژه‌ها:** آنتی بیوتیک داکسی سیکلین، رگزایی، ژن FGF , VEGF، جنین جوجه، پرده کوریوآلانتوئیک .

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۶۰۹۴۲۰۱۰

تاریخ دفاع: ۱۳۹۵/۰۷/۰۶

رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی)

دانشکده: علوم پایه

استاد راهنما: دکتر جینا خیاط زاده

استاد مشاور: دکتر سیما افشار نژاد

## ***M.A. Thesis:***

# Evaluation of VEGF-FGF Expression on angiogenesis of CAM affected by doxycycline

### Abstract :

Angiogenesis, the growth of new blood vessels from existing vessels through the germination is one of the most important biological events that terms of physiological (for example, embryonic development) or pathologic (including the growth of tumor) was observed. Doxycycline antibiotic have wide biomedical applications as compared to other antibiotics . The aim of this study was to investigate the effect of doxycycline antibiotic on chorioallantoic membrane angiogenesis of chickens embryo, VEGF and FGF gene expression and morphological abnormalities in the fetus. 40 numbers fertilized eggs (Ross) were randomly divided to 5 groups and incubated. On the second day of incubation, the window was created for all the groups on the surfaces of egg shell. On the eighth day of incubation, by putting gelatin sponge on chorioalantoic, in control group, 10 microlitre distilled water, in xperimental group 1, 10 microliter of doxycycline (50  $\mu$ mol/ml) and experimental group 2 with 10 microliter doxycycline antibiotic with concentration (100  $\mu$ mol/m , and group 3 with 10 mictoliter doxycycline ( 250  $\mu$ mol/m) were treated. In 12th day, chorioalantoic membrane of all samples captured and the number and length vessels were measured. The weight and height of the fetus were investigated and the vessels were removed to examine the expression of VEGF and FGF gene expression. Extracted RNA, cDNA synthesis and Real-Time were performed. Results of statistical analysis showed that the number and length of vessels in the experimental groups Compared with control groups were significantly decreased. The length and weight of the fetuses had no significant differences, however these parameters in the experimental group 3, had significantly decreased. Expression of VEGF and FGF in the experimental groups as compared to control decreased. According to the results of this study, doxycycline antibiotic probably with inhibitory effects on gene expression of VEGF and FGF, decreased chorioallantoic membrane angiogenesis of chicken embryos but had no effect on growth and embryonic development.