



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: سیده حنا 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 می شود. آنتی بیوتیک داکسی سیکلین، کاربرد زیست پزشکی گسترده ای نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها از جمله مهار آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) و اتصال و شلاته شدن با کاتیون های دو ظرفیتی از جمله کلسیم (Ca) دارد. در شرایط آزمایشگاهی مشخص شد این ماده احتمالاً می تواند 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 عفونت های باکتریایی از جمله دستگاه ادراری، آکنه، کلامیدیا، پریدونت لثه و دیگر عفونت های مزمن انسانی استفاده می شود.

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 فیبروبلاستی) و ناهنجاری های مورفولوژیکی جنینی صورت گرفت. تعداد 40 عدد 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?mol/ml ، در گروه تجربی 2 : تا 10 میکرولیتر داکسی سیکلین با غلظت 100?mol/ml و گروه تجربی 3 : با 10 میکرولیتر داکسی سیکلین با غلظت 250?mol/ml تیمار شدند. روز دوازدهم از سطح عروق پرده کوریو آلانتوییک در ناحیه تیمار، از تمام نمونه ها عکسبرداری شد و سپس تعداد و طول عروق اندازه گیری گردید. وزن و قد جنین ها نیز بررسی شده و از عروق پرده جهت بررسی بیان ژن VEGF , FGF برداشت شد. استخراج RNA، سنتز Real-Time Pcr, CDNA انجام شد. نتایج حاصل از بررسی های آماری نشان داد که بیان ژن های VEGF ، FGF ، تعداد و طول عروق در گروه های تجربی در مقایسه با گروه های شاهد به طور معنادار کاهش داشت. وزن ، قد و رشد و نمو جنین ها ، اختلاف معنادار نداشته است. بین گروه های تیمار، گروه تیمار سوم با بالاترین غلظت مصرفی آنتی بیوتیک بیشترین کاهش را در بیان ژن های VEGF، FGF و میزان آنژیوژنز داشت. مطابق با نتایج تحقیق حاضر، آنتی بیوتیک داکسی سیکلین احتمالاً با اثرات مهارکننده بر بیان ژن FGF و VEGF ، رگ زایی پرده کوریوآلانتونیک جنین جوجه را کاهش اما بر رشد و نمو جنینی تاثیر چندانی نداشته است. به همین جهت پیشنهاد می گردد از این آنتی بیوتیک با احتیاط بیشتری در دام و طیور و احتمالاً انسان جهت مقاصد دارویی بهره برد و جهت کاربرد در کنترل رشد تومور و سرطانزایی برای مطالعات گسترده تر 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.