Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Investigation of VEGF and FGF gene expression during angiogenesis of chick embryo chorioallantoic membrane treated with doxycycline antibiotic

Mohammadreza Pourmohammad [1], Jina Khayatzadeh [2*], Seyyedeh Hananeh Akbari [3], Sima Afsharanjad [4], Saeedeh Zafar Balanjad [2]

[1] Dept of Medical Parasitology, Faculty of Paramedicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[2] Dept of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
[3] Dept of Biotechnology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran
[4] Dept of Biochemistry, Mashhad Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Apr. 22, 2024
Received in revised form: Jul. 21, 2024
Accepted: Aug. 07, 2024
Published Online: Dec. 05,2024

**** Correspondence to:***
Jina Khayatzadeh
Dept of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Email:
j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Angiogenesis is the biological process of sprouting new vessels from existing vessels in the tissue. The main factors in the molecular guidance of this process are vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF). Given the significance of antibiotics in reducing angiogenesis through the inhibition of collagenase, phospholipase A2, and several matrix metalloproteinases, the objective of this study was to examine the impact of the Doxycycline antibiotic on alterations in the gene expression of VEGF and FGF within the angiogenesis pathway of the chorioallantoic membrane (CAM) in chick embryos.

Materials & Methods: In this research, 50 Ross fertilized eggs were randomly divided into 5 groups, including the control group, laboratory control, and 3 experimental groups. On the eighth day of incubation, the laboratory control group was treated with normal saline, and the experimental groups were treated with doses of 50, 100, and 250 µmol/ml of the Doxycycline antibiotic. On the twelfth day, photographs were taken of the samples. The number and length of blood vessels and then the weight and length of embryos were measured. A real-time PCR technique was used to investigate the expression changes of VEGF and FGF genes on the CAM membrane. The statistical tests included one-way ANOVA, independent t-test, and post hoc tukey, which were analyzed by SPSS V.20 at a level of significance less than 0.05.

Results: The number of vessels and the length of vessels in the treatment groups showed a significant decrease compared to the control group ($P<0.05$). Also, the expression level of VEGF and FGF genes in the treatment groups was significantly lower than the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The doxycycline antibiotic can significantly reduce the expression level of VEGF and FGF genes and the angiogenic process of the chorioallantoic membrane of chick embryos.

Keywords: Doxycycline antibiotic, Chorioallantoic Membrane, Angiogenesis, VEGF, FGF

How to cite this paper: Pourmohammad M, Khayatzadeh J, Akbari SH, Afsharanjad S, Zafar Balanjad S. Investigation of VEGF and FGF gene expression during angiogenesis of chick embryo chorioallantoic membrane treated with doxycycline antibiotic. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(5):80-91.

Introduction

The pharmacological properties of modified tetracyclines, such as doxycycline, extend beyond their antimicrobial capabilities. They include stopping matrix metalloproteinases (MMPs) from doing their job, especially when it comes to breaking down collagen, removing calcium and other cations from cells, having a direct effect on cell growth, and stopping nitric oxide synthases that are caused by inflammation (1, 2). As an anticancer agent, doxycycline has shown potential therapeutic benefits across various disease conditions, including its ability to reduce intimal hyperplasia in rat models (3). The ability of doxycycline to inhibit angiogenesis in vivo has been evidenced by a decrease in vascularization in the rabbit cornea following exposure to VX2 tumor cells, as well as a reduction in vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced vascular growth in the cerebrum of mice (3, 5). Researchers have found that antiangiogenesis plays a big part in stopping the growth of tumors

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

in mice and in a person who has been diagnosed with pulmonary capillary hemangiomatosis (4,5). This idea comes from the discovery that doxycycline, at low levels, can stop the expression of H-ras and restore the downregulation of thrombospondin, a natural angiogenesis inhibitor, in mouse fibroblasts that can become tumors. However, the induction of TSH and the suppression of H-ras by doxycycline do not occur in hypoxic environments. The point of this study was to look into what changes happen when the antibiotic Doxycycline is added to the chorioallantoic membrane (CAM) of chick embryos and how those changes affect the gene expression of VEGF and FGF.

Methods

This experimental study was conducted at the Research Center of Animal Development at Mashhad Islamic Azad University in 2022. Doxycycline was freshly prepared for each experiment, ensuring that the solution was shielded from light exposure. For the assessment of antiangiogenic effects, 50 fertilized eggs were procured from Toos Company in Mashhad and were randomly assigned to five groups: a control group, a sham-exposed group (treated with DMSO solvent), and three experimental groups receiving doxycycline at doses of 50, 100, and 250 µmol/ml. The fertilized eggs were incubated in a digital device that rotated automatically, maintaining a temperature of 38ºC and a relative humidity of 60-65%. On the second day of incubation, under completely sterile conditions established by a laminar flow hood, a portion of the eggshells was removed to create a window on one side of the eggs, which was subsequently sealed with a lamel and sterilized paraffin. Subsequently, the eggs were placed back into the incubator, where manual rotation was conducted twice daily to facilitate the natural development of the chicks. The formation of the chorioallantoic membrane in the embryos begins on the fifth day of incubation, and by the eighth day, it covers more than half of the eggs. Additionally, on this day, significant developments occur, including the division of the heart and the separation of the vein and artery, making the treatment of the vascular network on the eighth day particularly noteworthy. On the eighth day of incubation, the windows of the eggshells were removed under completely sterilized conditions. A gelatin sponge, containing a mixture of albumen and agar solution in normal saline at an equal ratio, was prepared with 200 µL of freshly sterilized streptomycin penicillin and placed on the chorioallantoic membrane, measuring 4×4×1 mm2. For samples treated with shell extract, concentrations of 50, 100, and 250 µmol/ml of the antibiotic were added, while sham-exposed samples received 10 µL of DMSO in the gelatin sponge. The windows were then resealed, and the eggs were returned to the incubator. On the twelfth day of incubation, all samples were photographed using a research photo stereomicroscope to capture relevant images. The variables measured included the number and length of blood vessels surrounding the gelatin sponge, as the chorioallantoic membrane is a disc-like structure with a diameter of 400 µm, allowing for the counting of all blood vessels in the vicinity of the sponge. To assess the expression of the VEGF and FGF genes, specific primers were designed using the NCBI database, followed by a Blast analysis to confirm their accuracy. Additionally, the primer sequence for the GAPDH housekeeping gene was established and utilized as a reference. Ultimately, a real-time PCR reaction was conducted to evaluate the gene expression response to doxycycline antibiotic treatment. The statistical tests included one-way ANOVA, independent t-test, and post hoc tukey, which were analyzed by SPSS V.20 at a level of significance less than 0.05.

Results

The analysis of the average number of vascular vessels, the length of vascular branches, cephalic-caudal length, and the weight of embryos in the control group versus the laboratory control indicated no significant differences between these two groups ($p<0.05$). Consequently, all subsequent investigations involved comparisons with the control group. Compared to the control group, the experimental groups had significant differences in the average number of vascular branches, the length of vascular branches, the cephalic-caudal length, and the weight of embryos. These differences were dose-dependent ($P<0.05$). Furthermore, the comparison of FGF and VEGF gene expression between the control group and the laboratory control also demonstrated no significant differences ($P<0.05$). The evaluation of VEGF and FGF gene expression in the experimental groups

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

showed a notable decrease relative to the control group, again in a dose-dependent manner ($P<0.05$).

Conclusion

Doxycycline stops angiogenesis from happening, which means that the angiogenic process in the chick chorioallantoic membrane slows down. Doxycycline holds potential as an inhibitory agent in the management of diseases associated with angiogenesis.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Formal Analysis, Investigation, Resources, Data Curation, Writing– Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: MP, JK, SHA, SA, SZB.

Ethical Statement

The study was approved by the Ethics Committee of the Mashhad Medical Sciences Islamic Azad University (IR.IAU.MSHD.REC.1402.101). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Funding Acquisition: Mashhad Medical Sciences Islamic Azad University

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research resulted from a research project approved by Mashhad Medical Sciences Islamic Azad University, which was carried out with the financial support of the Mashhad Medical Sciences Islamic Azad University. The funder has no responsibility in the study design, data collection, analysis, and writing of the article.

Acknowledgment

The authors of the article are extremely grateful to the Mashhad Medical Sciences Islamic Azad University for the approval and financial support of this study. Also, authors sincerely thank and appreciate Mashhad Medical Sciences Islamic Azad University for their financial support.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی بیان ژن‌های VEGF و FGF در روند آنژیوژنز پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه تحت اثر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین

محمدرضا پورمحمد[۱]، جینا خیاط‌زاده[۲*]، سیده حنانه اکبری[۳]، سیما افشارنژاد[۴]، سعیده ظفر بالانژاد[۲]

[۱] گروه انگل‌شناسی پزشکی، دانشکدهٔ پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۲] گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

[۳] گروه بیوتکنولوژی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

[۴] گروه بیوشیمی، واحد علوم پزشکی مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۳

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۴/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵

نویسنده مسئول:
جینا خیاط‌زاده
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

Email:
j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

چکیده

مقدمه: آنژیوژنز فرایند زیستی جوانه زدن رگ‌های جدید از رگ‌های موجود در بافت است. عامل‌های رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF) عامل اصلی در هدایت مولکولی این فرایند هستند. با توجه به اهمیت آنتی‌بیوتیک‌ها در کاهش رگ‌زایی از طریق کاهش فعالیت کلاژناز، فسفولیپاز A۲ و چندین ماتریکس متالوپروتئیناز، هدف این پژوهش بررسی اثر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین بر تغییرات بیان ژن‌های VEGF و FGF در مسیر آنژیوژنز پردهٔ کوریوآلانتوئیک (CAM) جنین جوجه بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، تعداد ۵۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد Ross به‌طور تصادفی به ۵ گروه شامل گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی (pbs) و ۳ گروه تجربی تقسیم شدند. در روز هشتم انکوباسیون، گروه شاهد آزمایشگاهی با نرمال سالین و گروه‌های تجربی با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین تیمار گردیدند. روز دوازدهم، از نمونه‌ها عکس تهیه شد. تعداد و طول عروق خونی و سپس وزن و طول جنین‌ها اندازه‌گیری گردید. از فن Real Time PCR در بررسی تغییرات بیان ژن‌های VEGF و FGF روی پرده CAM استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS vol.20 برای انجام آزمون‌های آماری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.

یافته‌های پژوهش: تعداد عروق و طول عروق در گروه‌های تیمار کاهش معناداری را نسبت به گروه شاهد نشان داد؛ همچنین میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF در گروه‌های تیمار به‌طور معناداری کمتر از گروه شاهد بود.

بحث و نتیجه‌گیری: آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین می‌تواند به‌طور معنی‌داری میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF و روند رگ‌زایی پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین، پردهٔ کوریوآلانتوئیک، آنژیوژنز، VEGF، FGF

استناد: پورمحمد محمدرضا، خیاط‌زاده جینا، اکبری سیده حنانه، افشارنژاد سیما، ظفربالانژاد سعیده. بررسی بیان ژن‌های VEGF و FGF در روند آنژیوژنز پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه تحت اثر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، آذر ۱۴۰۳؛ (۵)۳۲: ۹۱-۸۰

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

آنژیوژنز یا فرایند رشد مویرگ‌های جدید از عروق خونی موجود، به‌سبب نقش دوجانبه در سلامتی و بیماری، از پدیدهای جالب و مورد توجه است (۱). این فرایند به تکوین عروق و تمایز اندام‌ها در طول دورهٔ جنینی منجر می‌شود و در دوران بزرگ‌سالی، در ترمیم زخم، کم‌خونی، عملکرد تخمدان، تکثیر آندومتر رحم در طول چرخهٔ تولیدمثلی و تشکیل جفت نقش دارد (۲).

تشکیل رگ‌های فعال مستلزم برهم‌کنش‌های هماهنگ میان سلول‌های اندوتلیال، ماتریکس خارج سلولی و سلول‌های احاطه‌کنندهٔ آن‌ها است (۳). درواقع، این سلول‌ها در بلوغ خاموش هستند؛ اما توانایی فعال شدن در پاسخ به عوامل مناسب را دارند (۴). مهم‌ترین عامل‌های مؤثر بر آنژیوژنز شامل عامل سلول بنیادی (SCF)، عامل رشد اپیتلیال (EGF)، عامل رشد فیبروبلاستی (FGF)، عامل رشد مشتق از پلاکت‌ها (PDGF) و همچنین عامل رشد عروقی اندوتلیالی (VEGF) است (۶، ۵).

آنژیوژنز در بسیاری از بیماری‌های پاتولوژیک نظیر تومورهای پیشرفتهٔ متاستاز به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد؛ ازاین‌رو، مهار رگ‌زایی و متعاقب آن، مهار متاستاز سلول‌ها روش مناسب و کارآمدی برای مقابله با سرطان است و شناخت عوامل درگیر در رگ‌زایی طبیعی و یا غیرطبیعی بسیار مهم و حیاتی به‌نظر می‌رسد (۸ ۷). اخیراً توجه بسیاری از محققان به کشف داروهای طبیعی و سنتزی به‌عنوان ترکیبات ضد آنژیوژنز معطوف شده است تا بتوانند آن‌ها را به‌عنوان درمان سرطان‌های مختلف و یا دست‌کم بخشی از دستورالعمل‌های درمانی تومورها مطرح کنند (۱۰، ۹).

آنتی‌بیوتیک‌ها جزو شایع‌ترین داروهایی هستند که پزشکان تجویز می‌کنند و یا توسط خود بیماران مصرف می شوند (۱۱). خانوادهٔ تتراسیکلین شامل تتراسیکلین، داکسی سیکلین، مینوسیکلین و تایگسیلین، به علت داشتن خواص آنتی‌بیوتیکی و همچنین برخی ویژگی‌های دیگر ازجمله مهار آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز، در علوم پزشکی استفادهٔ گسترده دارند. آنتی‌بیوتیک داکسی سیکلین از اهمیت فراوانی برای محققان زیست‌فناوری و زیست پزشکی برخوردار است. آنتی‌بیوتیک داکسی سیکلین در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها سمیت کمتری دارد و حتی در بعضی موارد، غیر سمی در نظر گرفته می‌شود (۱۵-۱۲).

استفاده از پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه یکی از نمونه‌های آزمایشگاهی برای بررسی آنژیوژنز است. از سویی، استفاده از تخم‌مرغ جنین‌دار روشی ساده و مقرون‌به‌صرفه است و چون پردهٔ کوریوآلانتوئیک سیستمی بسته است، نیمه‌عمر ترکیبات مختلفی که استفاده می‌شوند، نسبت به نمونه‌های حیوانی بیشتر خواهد بود (۱۶). با توجه به آثار آنتی‌بیوتیک‌ها و نظر به اینکه تاکنون مطالعه‌ای دربارهٔ آثار آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین بر آنژیوژنز پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه مشاهده نشده است، هدف از این مطالعه بررسی بیان ژن‌های VEGF و FGF در روند آنژیوژنز پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه تحت اثر آنتی بیوتیک داکسی سایکلین روی تخم‌مرغ جنین‌دار به‌عنوان یک نمونهٔ آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه پژوهشی تجربی بود که در سال ۱۴۰۲ انجام شد. کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد با شناسهٔ IR.IAU.MSHD.REC.1402.101 این مطالعه را تأیید کرد. برای انجام آزمایش‌ها از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار نژاد Ross به‌عنوان نمونهٔ آزمایشگاهی استفاده گردید. نمونه‌های مطالعه‌شده از شرکت مرغداری جهاد کشاورزی مشهد تهیه شد. برای انجام مطالعات، تعداد ۵۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار به‌طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشگاهی تقسیم گردید که شامل گروه شاهد (بدون تیمار)، شاهد آزمایشگاهی (تیمار با نرمال سالین)، گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ (تیمار با آنتی بیوتیک داکسی سایکلین دوز ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۵۰ µmol/ml) بود.

تزریق به تخم‌مرغ جنین‌دار:

پس از ضدعفونی کردن پوستهٔ تخم‌مرغ‌های تهیه‌شده با الکل ۷۰ درصد، تخم‌مرغ‌های جنین‌دار در دستگاه جوجه‌کشی (ایران درنا سیستم پارس) با دمای ۳۸ درجهٔ سانتی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

گراد و رطوبت ۵۵ تا ۶۰ درصد قرار داده شد. دستگاه جوجه‌کشی برای تبدیل اتوماتیک و خودکار تخم‌مرغ نطفه‌دار به جوجهٔ یک‌روزه استفاده می‌شود. روز دوم انکوباسیون، در شرایط استریل و زیر هود لامینار به کمک پنس استریل در سمت پهن تخم‌مرغ سوراخ کوچکی ایجاد و سپس در سمت پهلویی آن پنجره ایجاد گردید و محل نیز به‌وسیله لامل، چسب و پارافین استریل پوشانده و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شد. روز هشتم انکوباسیون، پنجره در زیر هود لامینار باز گردید و روی پردهٔ کوریوآلانتوئیک جوجه یک اسفنج ژلاتینی به ابعاد ۱×۴×۴ میلی‌متر قرار داده شد تا تیمارها در آن ناحیه صورت گیرد. گروه شاهد بدون هرگونه تیمار بود. در نمونهٔ شاهد آزمایشگاهی تیمار با نرمال سالین انجام شد و در نمونه‌های تحت تیمار با آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین، به اسفنج ژلاتینی مقدار ۱۰ میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۵۰ µmol/ml اضافه گردید؛ سپس پنجره‌ها مجدداً بسته و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شدند. در روز دوازدهم انکوباسیون، تصاویر از عروق خونی سطح پردهٔ کوریوآلانتوئیک همهٔ نمونه‌ها با استفاده از فوتو استروئومیکروسکوپ تحقیقاتی تهیه گردید و با کمک نرم‌افزار image J، تعداد و طول انشعابات عروقی در سطح مقطع یکسان برای همهٔ نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان کار، طول سری¬ـ¬دمی وضعیت مورفولوژیکی و وزن جنین‌های هر گروه نیز بررسی و ثبت گردید (۱۷).

دستورالعمل گروه تجربی:

برای استخراج RNA، پردهٔ CAM جدا و به درون هاون چینی استریل انتقال داده شد و با استفاده از ازت مایع کوبیده و پودر گردید. مراحل استخراج RNA با روش ترایزول طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA صورت گرفت؛ سپس RNA استخراج‌شده تغلیظ شد. برای اطمینان از درستی استخراج RNA، کیفیت و کمیت آن توسط ژل الکتروفورز و تکنیک اسپکتروفتومتری نانودراپ بررسی گردید و در مرحلهٔ بعد، طبق دستورالعمل کیت از نمونه‌های استخراج‌شده cDNA سنتز شد و در پایان سنتز، cDNAها به فریزر ۲۰- بازگردانده شدند (۱۸).

بررسی بیان ژن‌های VEGF و FGF با استفاده از تکنیک Real time PCR:

برای بررسی بیان ژن VEGF و FGF پرایمرهای اختصاصی به کمک سایتNCBI طراحی و سپس برای اطمینان از درستی آن BLAST گردید؛ همچنین توالی پرایمر ژن خانه‌دار (housekeeping) GAPDH به‌عنوان ژن رفرنس تعیین و طراحی شد. جدول شمارهٔ ۱ توالی پرایمرهای استفاده‌شده در این تحقیق را نشان می‌دهد. درنهایت، برای دست‌یابی به پاسخ بیان ژن تحت تأثیر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین، واکنش Real Time PCR انجام گردید. بر اساس این، ۱۰ میکرولیترMaster Mix از شرکت Bioneer، 7 میکرولیتر آب مقطر استریل، ۱ میکرولیترDNA استخراج‌شده، ۱ میکرولیتر پرایمر Forward و ۱ میکرولیتر پرایمر Reverse باهم ترکیب شدند.

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای اختصاصی ژن‌های VEGF، GAPDH و FGF

ژن نام	توالی رفت (Forward)	طول (pb)	دما ذوب	درصد CG
VEGF				
Forward	CCTGCCTTGCTGCTCTACC	20	69	63
Reverse	CACACAGGATGGCTTGAAG	20	63	53
GAPDH				
Forward	TGCTGGTGCTGAGTATGTCG	23	67	55
Reverse	GCATGTCAGATCCACAACGG	23	66	55
FGF				
Forward	AAACAGCGTCTTCAGTATCC	22	62	45

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

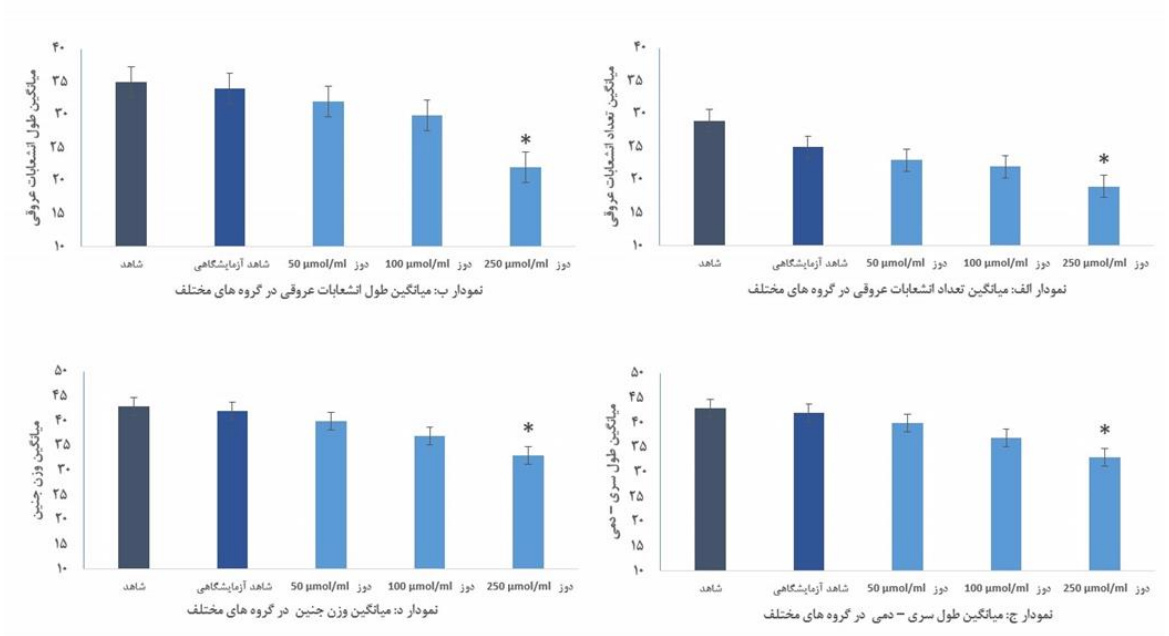
Reverse	ATCCTCTCCACAAACTCACA	22	63	45

برنامهٔ زمان‌بندی PCR برای بیان ژن VEGF و FGF عبارت بود از: یک مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل واسرشت در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. در پایان، محصولات PCR به روی ژل آگاروز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید منتقل شدند و الکتروفورز گردیدند (۱۹).

بیان نسبی ژن‌ها بر اساس فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تعیین شد. داده‌های جمع‌آوری‌شده توسط نرم‌افزار آماری SPSS vol.20 تحلیل گردیدند. روش‌های آماری استفاده‌شده در این پژوهش آزمون تی استیودنت، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی بود؛ همچنین از میانگین، خطای معیار و نمودارهای ستونی برای توصیف اطلاعات استفاده گردید. سطح معناداری آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش

مقایسهٔ میانگین تعداد انشعابات عروقی، طول انشعابات عروقی، طول سری-دمی و وزن جنین‌ها در گروه شاهد با شاهد آزمایشگاهی نشان داد که اختلاف معناداری میان این دو گروه وجود ندارد ($P>0.05$)؛ بنابراین در بررسی های بعدی، همهٔ نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد (نمودار شمارهٔ ۱).



نمودار شماره ۱. مقایسهٔ مؤلفه‌های مورفولوژیکی در گروه‌های مختلف

مقایسهٔ میانگین تعداد انشعابات عروقی میان گروه تجربی ۱ و ۲ (به‌ترتیب تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر میلی لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد ($P>0.05$)؛ اما مقایسهٔ گروه تجربی ۳ (تیمار با ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان‌دهندهٔ تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ بود (نمودار شمارهٔ ۱. الف).

مقایسهٔ میانگین طول انشعابات عروقی میان گروه تجربی ۱ و ۲ (به‌ترتیب تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر میلی لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد ($P>0.05$)؛ اما مقایسهٔ گروه تجربی ۳ (تیمار با ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک

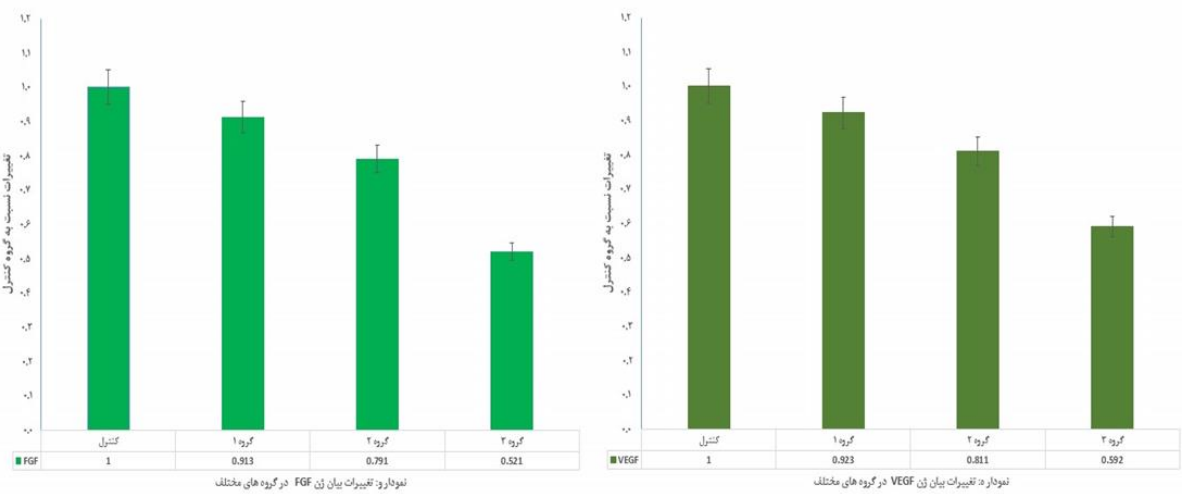
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان‌دهندهٔ تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ بود (نمودار شمارهٔ ۱. ب).

مقایسهٔ میانگین طول سری‌دمی میان گروه تجربی ۱ و ۲ (به‌ترتیب تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد (P>0.05)؛ اما مقایسهٔ گروه تجربی ۳ (تیمار با ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان‌دهندهٔ تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ بود (نمودار شمارهٔ ۱. ج).

مقایسهٔ میانگین وزن جنین‌ها میان گروه تجربی ۱ و ۲ (به‌ترتیب تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد (P>0.05)؛ اما مقایسهٔ گروه تجربی ۳ (تیمار با ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان‌دهندهٔ تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ بود (نمودار شمارهٔ ۱. د).

مقایسهٔ بیان ژن‌های FGF و VEGF در گروه شاهد با شاهد آزمایشگاهی نشان داد که اختلاف معناداری میان این دو گروه وجود ندارد (P>0.05)؛ بنابراین در بررسی‌های بعدی، همهٔ نمونه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد (نمودار شمارهٔ ۲).



نمودار شماره ۳. مقایسهٔ تغییرات بیان ژن‌های مؤثر در آنژیوژنز در گروه‌های مختلف

مقایسهٔ بیان ژنVEGF میان گروه تجربی ۱ و ۲ (به‌ترتیب تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد (P>0.05)؛ اما مقایسهٔ گروه تجربی ۳ (تیمار با ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان‌دهندهٔ تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ بود (نمودار شمارهٔ ۲. ه).

مقایسهٔ بیان ژن FGF میان گروه تجربی ۱ و ۲ (به‌ترتیب تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان داد که تفاوت معناداری وجود ندارد (P>0.05)؛ اما مقایسهٔ گروه تجربی ۳ (تیمار با ۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین) با گروه شاهد نشان‌دهندهٔ تفاوت معناداری در سطح خطای ۰/۰۵ بود (نمودار شمارهٔ ۲. و).

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، اثر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین بر روند آنژیوژنز و میزان تغییرات بیان ژن‌های VEGF و FGF با استفاده از پردهٔ CAM جنین جوجه آزمایش شد. نتایج این بررسی نشان داد، آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین می‌تواند میزان بیان ژن‌های VEGF و FGF و روند آنژیوژنز پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه را کاهش دهد. در سال‌های اخیر، میزان سرطان در جهان روند صعودی داشته است و بنابراین، تلاش برای جستجوی داروهای ضدسرطانی نیز افزایش یافته است. اخیراً توجه محققان به استفاده از ترکیبات ضد آنژیوژنز با منابع مختلف معطوف شده است (۲۰)؛ ازجملهٔ

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

آن‌ها می‌توان پروتئین مهارکنندهٔ تریپسین کونیتز (۲۱)، فراکسیون‌های غضروف کوسه (۲۲)، ترکیبات گیاهی مانند پیاز با نام علمی Allium ascalonicum (۲۳)، مریم‌گلی salvia officinalis (۲۴)، انجیر FicusCarica (۲۵)، کانابینوئیدها (۲۶) و حتی قارچ‌ها (۲۷) یا آنتی‌بادی‌های مونوکلونال مانند Bevacizumab را نام برد (۲۸). اگرچه همهٔ این ترکیبات قادر به مهار آنژیوژنز هستند، به‌نظر می‌رسد آنتی بیوتیک‌ها به علت خواص فارماکولوژیک بسیار ارزشمند می توانند در فرایندهایی مانند ترمیم زخم، سیکل‌های قاعدگی، رشد جفت و تخمک‌گذاری استفاده شوند (۲۹).

داکسی سایکلین آنژیوژنز ایجادشده را در بیماری های خوش‌خیم مانند روزاسه و بیماری‌های بدخیمی مانند سرطان‌ها مهار می‌کنند؛ همچنین نشان داده‌شده است که تتراسایکلین و مینوسیکلین رگ‌زایی را در تومورهای قرنیه در نمونه‌های حیوانی مهار می‌کنند. مهار MMPs توسط داکسی سایکلین، استفاده از آن‌ها را در روزاسه منطقی می‌نماید و به‌طور گسترده در این بیماری استفاده می‌شوند. التهاب مزمن صورت ممکن است موجب قرمزی دائم صورت و ایجاد تلانژکتازی و درنهایت، بدشکلی قابل‌توجه بخش مرکزی صورت گردد. در حال حاضر، توصیه‌های درمانی برای روزاسه شامل مصرف داکسی سیکلین و تتراسیکلین با مدت‌زمان طولانی است (۳۰). داکسی سایکلین خاصیت شلاتوری یون‌های فلزی را دارد و علاوه بر خواص آنتی‌بیوتیکی، دارای خاصیت ضدالتهابی است که به همین علت، در درمان بیماری‌های التهابی مزمن نیز استفاده می‌گردد. این دارو فعالیت کلاژناز، فسفولیپاز A۲ و چندین ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) را کاهش می‌دهد؛ همچنین تولید IL1- α و TNF- α را در طیف وسیعی از بافت‌ها کم می‌کند. مهار عملکرد لنفوسیت‌های B برانگیخته‌شده و مهار تولید (NO نیتروز اکسید) توسط ماکروفاژهایی که به‌وسیلهٔ لیپوپلی ساکارید برانگیخته شده‌اند و مهار سنتز کلاژن توسط کندروسیت‌ها نیز ازجمله خواص جانبی این دارو است (۳۱). نتایج پژوهش حاضر با تحقیقات بالا همسو است. مهار MMPs توسط داکسی سایکلین باعث کاهش روند آنژیوژنز و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه گردید.

داکسی سایکلین باعث مهار آنژیوژنز می‌شود. آنژیوزنز در بیماری‌زایی بسیاری از بیماری‌ها ازجمله رتینوپاتی دیابتی و دژنرسانس ناشی از تباهی لکهٔ زرد چشم و بسیاری از بیماری‌های دیگر مانند سوختگی شیمیایی و تومورها مؤثر است و داکسی سایکلین با مهار آن می‌تواند در درمان کمک‌کننده باشد (۳۲). این خاصیت هم از طریق مهار فعالیت MMPs و هم از مسیر مستقل از MMPs انجام می گیرد. این مسیر مستقل ناشی از تعدیل در مسیر PI3k-Akt/eNOS است. NO مشتق از eNOS واسطه‌ای کلیدی در ازدیاد سلول‌های اندوتلیال و آنژیوژنز است و با مهار این مسیر و مهار MMPs، داکسی سایکلین می‌تواند اندازه و میزان CNV (Corneal Neovascularization) را کاهش دهد (۳۳). نتایج پژوهش حاضر با تحقیقات بالا همسو است. آنتی بیوتیک داکسی سایکلین به علت خواص فارماکولوژیک بسیار ارزشمند و سازوکارهایی همچون کاهش فعالیت کلاژناز، فسفولیپاز A2 و چندین ماتریکس متالوپروتئیناز باعث کاهش روند آنژیوژنز و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه شد.

پژوهش هان و همکاران در سال ۲۰۱۴، دربارهٔ اثر مهاری داکسی سیکلین بر لنفوآنژیوژنزیس در موش کورنه‌آ انجام شد. نتایج آن نشان داد، مهار آنژیوژنز از طریق مهار آنزیم (MMP) که نقش مهمی در رگ‌زایی دارد، اتفاق می افتد (۳۴). لیی و همکاران مطالعهٔ دیگری دربارهٔ اثر داکسی سیکلین بر روند آنژیوژنز در بیماران مبتلا به ناخنک انجام دادند. نتایج این بررسی نشان‌دهندهٔ تأثیر داکسی سیکلین بر آنژیوژنز بیماری ناخنک در قرنیهٔ انسان بود (۳۵). کیو و همکارانش در بخش پاتولوژی و سرطان بیمارستان چین، اثر مهاری داروی اندواستاتین و داکسی سیکلین را باهم بر روی ملانومای B16 بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد، مصرف همزمان این داروها باعث مهار تومورزایی و جلوگیری از روند آنژیوژنز می‌شود (۳۶). نتایج پژوهش حاضر با تحقیقات بالا

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

همسو است. بر اساس پژوهش حاضر، آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین باعث کاهش روند آنژیوژنز و کاهش بیان ژن‌های VEGF و FGF در پردهٔ کوریوآلانتوئیک جنین جوجه گردید. نتایج نشان داد که آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین می تواند با کاهش روند رگ‌زایی، آثار بالقوه‌ای در درمان سرطان داشته باشد که البته نیازمند انجام مطالعات بالینی است.

در این تحقیق با توجه به کمبود زمان، آزمایش‌های مولکولی بیشتر انجام نشد که امید است در آینده، در این زمینه تحقیق‌های مولکولی و فارماکولوژی بیشتری انجام گردد؛ همچنین پیشنهاد می‌شود، تأثیر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین در بیماری‌های متعدد ازجمله سرطان و آثار آن در تأیید یافته‌های این پژوهش بررسی گردد.

مطابق با روش‌های این پژوهش و نتایج آن می‌تواند گفت، آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین آثار ضدرگ‌زایی دارد؛ همچنین آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین دارای آثار فارماکولوژیک گسترده‌ای است. با توجه به خواص فارماکولوژیک بسیار ارزشمند، آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین می‌تواند به‌عنوان دارویی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های متعدد ازجمله سرطان استفاده شود. توصیه می گردد، اثر آنتی بیوتیک داکسی سایکلین که بر مهار رگ‌زایی مؤثر است، در سایر نمونه‌های آزمایشگاهی به‌منظور تأیید یافته‌های این پژوهش بررسی شود.

سپاس گزاری

این مطالعه حاصل طرح پژوهشی با شمارهٔ د/۶۲۳۵۸ مصوب باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان است. این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1402.101 در کمیتهٔ اخلاق پژوهی دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد به تصویب رسیده است و اصول اخلاقی به‌طور کامل در این مقاله رعایت شده است. به‌سبب پیشبرد این طرح لازم است از ریاست محترم باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان خانم دکتر فرحناز مولوی تشکر و قدردانی گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این پژوهش هیچ گونه تعارض منافع در انجام این کار نداشتند.

کد اخلاق

این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1402.101 در کمیتهٔ اخلاق پژوهی دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد به تصویب رسیده است و اصول اخلاقی به‌طور کامل در این مقاله رعایت شده است.

حمایت مالی

این تحقیق حاصل یک طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی مشهد است که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی مشهد انجام شده است. سرمایه گذار هیچ مسئولیتی در طراحی مطالعه، جمع آوری داده ها، تجزیه و تحلیل و نگارش مقاله ندارد.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

References

1. Ramezani T, Baharara J. A review on Angiogenesis in tumor. J Cell Tissue 2014; 5: 89-100. doi:10.52547/JCT.5.1.89 [Persian].
2. Pourmohammad M, Khayatzadeh J, Azarizadeh M, Pouresmaeil V, Zafar Balanjad S. The Effect of the Hydroalcoholic Extract of Ferula Assa- Foetida Resin Root and Shoot on the VEGF and FGF Gene Expression in the Chorioallantoic Membrane of Chick Embryos. Res Med 2024; 48:50-62.
3. Vimalraj S, Renugaa S, Dhanasekaran A. Chick embryo chorioallantoic membrane: a biomaterial testing platform for tissue engineering applications. Process Biochem 2023; 124:81-91. doi: 10.1016/j.procbio.2022.11.007.
4. Gulcu A, Akkaya O. Investigation of the antiangiogenic properties of zoledronic acid by using chorioallantoic membrane model. Dose Response 2022; 20:15593258221093410. doi:10.1177/15593258221093410.
5. Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A, et al. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. Eur J Nutr 2012; 51: 637-63. doi:10.1007/s00394-012-0380-y.
6. Prabhakar P, Mukherjee S, Kumar A, Kumar S, Verma DK, Dhara S, et al. Optimization of microwave-assisted extraction (MAE) of key phenolic compounds from pigeon pea (Cajanus cajan L.), their characterization, and measurement of their anti-diabetic and cytotoxic potential. J Food Meas Charact 2023; 17:5697-720. doi:10.1007/s11694-023-02082-5.
7. Mojzis J, Varinska L, Mojzisova G, Kostova I, Mirossay L. Antiangiogenic effects of flavonoids and chalcones. Pharmacol Res 2008; 57: 259-65. doi: 10.1016/j.phrs.2008.02.005.
8. Pourmohammad M, Jomeh H, khakzad M, Khayatzadeh J, Mokhtari Amirmajdi E. Human papillomavirus and Helicobacter pylori co-infection in gastric cancer patients. Feyz Med Sci J 2023; 27:679-87. doi:10.48307/FMSJ.2023.27.6.679 [Persian].
9. Buhr CR, Wiesmann N, Tanner RC, Brieger J, Eckrich J. The chorioallantoic membrane assay in nanotoxicological research—An alternative for in vivo experimentation. Nanomaterials 2020; 10:2328. doi:10.3390/nano10122328
10. Sarkar A, Roy A, Maity M, Nayak D, Das S. Ultradiluted Eupatorium perfoliatum alleviates DENV-induced fibrosis by regulation of TGFβ1, MMP-9 and interferons. Future Virol 2023; 18:767-82. doi:10.2217/fvl-2023-0121.
11. Karaconji T, Skippen B, Di Girolamo N, Taylor SF, Francis IC, Coroneo MT. Doxycycline for treatment of blepharochalasis via inhibition of matrix metalloproteinases. Ophthalmic Plast Reconstr Surg 2012;28: e76-e8. doi: 10.1097/IOP.0b013e31822ddf6e.
12. Brunton L, Chabner B, Knollmann B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12ed, McGraw-Hill Medical, New York, 2011.
13. Sun C, Li XX, He XJ, Zhang Q, Tao Y. Neuroprotective effect of minocycline in a rat model of branch retinal vein occlusion. Exp Eye Res 2013; 113:105-16. doi: 10.1016/j.exer.2013.05.018.
14. Zamaninan Azodi M, Ardeshiry Lajimi A, Rezaei Tavirani M, Rezaei Tavirani M, Khodarahmi R. Study of Antibiotical Effects of Scrophularia Striata with Tetracyclin Aqueous Extract on E. Coli in Comparison with Tetracyclin. J Ilam Uni Med Sci 2013; 20:127-133.
15. Varghese GM, Dayanand D, Gunasekaran K, Kundu D, Wyawahare M, Sharma N, et al. Intravenous Doxycycline, Azithromycin, or Both for Severe Scrub Typhus. N Engl J Med Overseas Ed 2023; 388:792-803. doi:10.1056/NEJMoa2208449.
16. Hormozi M, Talebi S, Khorshid HRK, Zarnani AH, Kamali K, Jeddi-Tehrani M, et al. The effect of Setarud (IMODTM) on angiogenesis in transplanted human ovarian tissue to nude mice. Iran J Reprod Med 2015; 13:605.
17. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay. Reprod Toxicol 2017; 70:97-101. doi: 10.1016/j.reprotox.2016.11.004
18. Hormozi M, Ahmadvand H, Tavafi M, Baharvand P. Effectiveness of setarud (IMOD™) in attenuating gentamicin-induced nephrotoxicity in male rats. Discov Appl Sci 2024; 6:372. doi: 10.1007/s42452-024-06071-1.
19. Abdullah NK, Shindala MK, Mustafa NG. VEGF Gene Expression and Angiogenesis in the Chorioallantoic Membrane: The Role of Cloprostenol. Egypt J Vet Sci 2023;54):359-68. doi:10.21608/ejvs.2023.183294.1420.
20. Norooznezhad AH, Norooznezhad F,Ahmadi K. Next target of tranilast: inhibition of corneal neovascularization. Med Hypotheses 2014; 82:700-2. doi: 10.1016/j.mehy.2014.03.007
21. Pourmohammad M, Alammar H, Khakzad M, Khayatzadeh J. Relationship of Asthma Severity with Haemophilus influenzae Type an Infection in Patients with Asthma Compared to Healthy People. Res Mol Med

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

2023; 11:129-36. doi:10.32598/rmm.11.2.1312.
22. Hassan ZM, Feyzi R, Sheikhian A, Bargahi A, Mostafaie A, Mansouri K, et al. Low molecular weight fraction of shark cartilage can modulate immune responses and abolish angiogenesis. Int Immunopharmacol 2005; 5:961-70. doi: 10.1016/j.intimp.2005.01.006.
23. Motlagh HRM, Mansouri K, Shakiba Y, Keshavarz M, Khodarahmi R, Siami A, et al. Antiangiogenic effect of aqueous extract of shallot (Allium ascalonicum) bulbs in rat aorta ring model. Yakhteh Med J 2009; 11:190-5.
24. Keshavarz M, Bidmeshkipour A, Mostafaei A, Mansouri K, Mohammadi MH. Anti-tumor activity of Salvia officinalis is due to its anti-angiogenic, antimigratory and anti-proliferative effects. Cell J 2011;12: 477-82.
25. Mostafaei A, Mansouri K, Norouznezhad A, Mohammadi MH. Anti-angiogenic activity of Ficus carica latex extract on human umbilical vein endothelial cells. Cell J 2011; 12:525-8.
26. Keshavarz M, Norouznezhad A, Mansouri K, Mostafaei A. Cannabinoid (JWH-133) therapy could be effective for treatment of corneal neovascularization. Iran J Med Hypoteses Idea 2010;4.
27. Mansouri K, Mahamed-Khosroushahi L, Rasouli H. Anti-angiogenic/inflammatory behavior of mushroom ganoderma lucidum extract could be effective for treatment of corneal neovascularization: A hypothesis. J Rep Pharm Sci 2014; 3:14-8.
28. Nguyen A, Hoang V, Laquer V, Kelly KM. Angiogenesis in cutaneous disease: part I. J Am Acad Dermatol 2009;61:921-42. doi: 10.1016/j.jaad.2009.05.052.
29. Ghandehari S, HomayouniTabrizi M, Ardalan P. Evaluation of Anti-angiogenic Activity of Silver Nanoparticle Synthesis by Rubina tinctorum L (RuAgNPs) Using Chicken Chorioallantoic Membrane (CAM) Assay. J Arak Uni Med Sci 2018; 21:82- 90.
30. Su W, Li Z, Li F, Chen X, Wan Q, Liang D. Doxycycline-mediated inhibition of corneal angiogenesis: an MMP-independent mechanism. Invest Ophthalmol Vis Sci 2013; 54:783-8. doi:10.1167/iovs.12-10323.
31. Cox CA, Amaral J, Salloum R, Guedez L, Reid TW, Jaworski C, et al. Doxycycline's effect on ocular angiogenesis: an in vivo analysis. Ophthalmology 2010; 117:1782-91. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.01.037.
32. Hadjimichael AC, Foukas AF, Savvidou OD, Mavrogenis AF, Psyrri AK, Papagelopoulos PJ. The anti-neoplastic effect of doxycycline in osteosarcoma as a metalloproteinase (MMP) inhibitor: a systematic review. Clin Sarcoma Res 2020; 10:1-10. doi:10.1186/s13569-020-00128-6.
33. Khoshdel AR, Emami Aleagha O, Shahriary A, Aghamollaei H, Najjar Asiabani F. Topical effects of n-acetyl cysteine and doxycycline on inflammatory and angiogenic factors in the rat model of alkali-burned cornea. J Interferon Cytokine Res 2022; 42:82-9. doi:10.1089/jir.2021.0150.
34. Han L, Su W, Huang J, Zhou J, Qiu S, Liang D. Doxycycline inhibits inflammation-induced lymphangiogenesis in mouse cornea by multiple mechanisms. PLoS One 2014;9: e108931. doi: 10.1371/journal.pone.0108931.
35. Lee HH, O'Malley MJ, Friel NA, Chu CR. Effects of doxycycline on mesenchymal stem cell chondrogenesis and cartilage repair. Osteoarthritis Cartilage 2013; 21:385-93. doi: 10.1016/j.joca.2012.11.010.
36. Qi L, Zhang S, Zhang D, Yin X, Wang S, Sun B. The inhibitory effect of endostatin and doxycycline administration on B16 melanoma angiogenesis and cellular proliferation. Chin Clin Oncol 2008; 5:179-82. doi:10.1007/s11805-008-0179-z.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]