Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان- جلد ۱۲، شماره ۱ (پیاپی ۳۷)، پائیز ۱۳۸۹

اثر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر روند غضروف‌زایی و استخوان‌سازی در جوانه اولیه اندام حرکتی جنین جوجه

جواد بهارآرا [*](Ph.D)، معصومه صبوری (M.Sc)
دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی

چکیده

سابقه و هدف: میدان‌های الکترومغناطیسی بسته به شدت میدان، فرکانس، مدت زمان اثرگذاری و مرحله رشد و نموی، طیف متنوعی از پاسخ را در ارگانیسم‌های زنده ایجاد می‌کنند. اندام حرکتی جوجه یک مدل مناسب بررسی روند تمایز و اعمال متقابل سلولی بافت‌های جنینی مهره‌داران می‌باشد. هدف این تحقیق، بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر روند غضروف‌زائی و استخوان‌سازی در جوانه اندام حرکتی بود.

مواد و روش‌ها: بیست عدد تخم مرغ نطفه‌دار نژاد *Gallus gallus* به دو گروه کنترل و آزمایش تقسیم شدند و در ساعت ۵۶ انکوباسیون به مدت سه ساعت در دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس قرار گرفتند. در روز ۱۲ انکوباسیون، جنین های هردو گروه خارج و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس، مقاطع بافت‌شناسی تهیه و طول استخوان و طول منطقه استخوان سازی ساق با استفاده از نرم افزار ImagJ تعیین شد. همچنین، شمارش سلول‌های غضروفی در مناطق اپی‌فیز و دیافیز ساق انجام گرفت.

یافته‌ها: میانگین تعداد سلول‌های غضروفی در منطقه اپی‌فیز بالایی، اپی‌فیز پائینی و دیافیز نمونه‌های تجربی نسبت به شاهد کاهش نشان داد در حالی‌که میانگین طول استخوان ساق و میانگین طول منطقه استخوان‌سازی نمونه‌های تجربی نسبت به شاهد افزایش نشان داد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق بیان‌گر آن است که، میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز موجب کاهش تعداد سلول‌های غضروفی، افزایش طول استخوان ساق و افزایش استخوان سازی در جنین جوجه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: میدان الکترومغناطیسی، جوانه اندام حرکتی، جوجه، کندروسیت‌ها، استخوان‌سازی

مقدمه

مطالعات آزمایشگاهی فراوانی هم در شرایط in vivo و هم in vitro، نشان می‌دهند که مواجهه با میدان‌های الکترومغناطیسی فرکانس بسیار پائین، حوزه وسیعی از پاسخ‌ها را در سیستم‌های زنده القاء می‌کند [۱]. اثراتی از شدت مواجهه بر تکثیر و تمایز سلولی، تکرار چرخه سلولی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، ارتباط بین سلولی، رونویسی DNA، بیان ژن و تومورزایی گزارش شده است [۲]. نشان داده شده که سطح بیان ژن‌های استخوان‌سازی در سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش، بعد از مواجهه با میدان‌های الکترومغناطیسی تغییر می‌کند [۳]. هم‌چنین گزارش شده است که مواجهه با میدان‌های مغناطیسی ثابت، باعث افزایش زیستایی کندروسیت‌های انسانی در شرایط in vitro شده است [۴]. میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پائین روی شکل و تکثیر سلول‌های طبیعی و سرطانی انسان تفاوت معنی‌داری ایجاد نمی‌کنند [۵]. لیکن این میدان‌ها در بیش‌تر جانوران باعث افزایش جزئی در رشد استخوان می‌شوند [۶]. برخی مطالعات نیز نشان داده است که

www.SID.ir

* نویسنده مسئول، تلفن: ۶۲۲۳۱۳۷- ۰۵۱۱ نمابر: ۶۲۲۸۳۱۰- ۰۵۱۱
Email: baharara@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۲/۲۱

Archive of SID

میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پایین باعث القای آسیب‌های کروموزومی در اریتروسیت‌های پلی‌کروماتیک مغز استخوان موش نر نژاد بالب سی می‌شود [۷]. هم‌چنین افزایش شدت میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز باعث ایجاد خصوصیات غیر طبیعی در جنین جوجه می‌گردد [۸]. اثر میدان الکترومغناطیسی بر غدد تناسلی موش ماده نیز باعث کاهش باروری می‌شود [۹]. استنباط کلی از این مطالعات آن است که میدان الکترومغناطیسی در صورتی که شدت آن برای جنین تراتوژنیک و یا مرگ‌آور نباشد، اثرات تحریکی بر رشد و تمایز غضروف و استخوان دارد [۱۰].

جوجه یک مدل آزمایشگاهی مطلوب برای مطالعه رشد و نمو اندام حرکتی مهره‌داران است و به سهولت می‌توان در رشد و نمو آن در شرایط in vivo دستکاری نمود [۱۲،۱۱]. مکانیزم‌های رشد و نمو اندام حرکتی نیز در بیش‌تر مهره‌داران مشترک بوده و اطلاعات موجود در این زمینه اغلب از دست ورزی‌های تجربی جنین جوجه حاصل شده است [۱۳]. هم‌چنین رشد و نمو اندام حرکتی نیز یک مدل مناسب برای مطالعه چگونگی جهت‌گیری تمایز و اعمال متقابل سلولی در بافت‌های جنینی مهره‌داران است [۱۶،۱۵،۱۴].

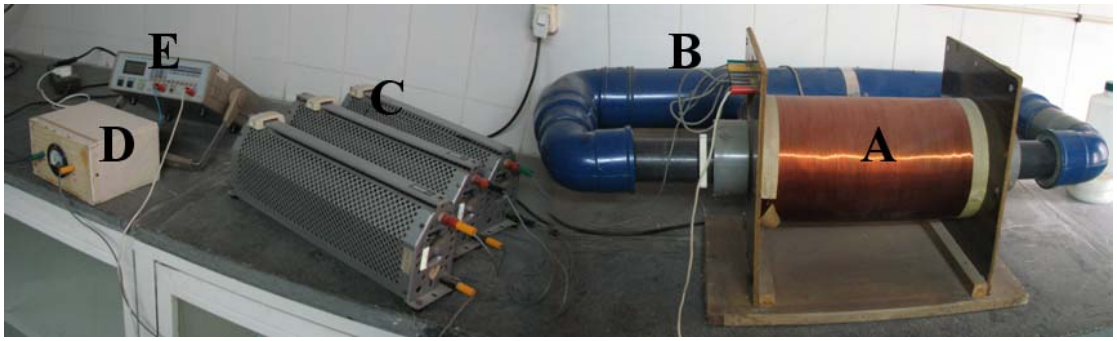
با توجه به نتایج ضد و نقیض حاصل از تجربیات قبلی به نظر می‌رسد شرایط مطالعه نظیر فرکانس و شدت میدان الکترومغناطیسی در نوع و میزان پاسخ بسیار موثر است لذا از آن‌جائی‌که میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های نسبتاً ضعیف این امواج در محیط زندگی روزمره انسان حضور وسیعی دارند در تحقیق حاضر اثر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس بر روند غضروف‌زائی و استخوان‌سازی در جوانه اندام حرکتی جنین جوجه بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰ تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد *Gallus gallus*، تازه (حداکثر ۴ روز انبارشدگی) و سالم، از شرکت مرغ‌داران توس تهیه و استفاده شد. تخم‌مرغ‌های مذکور به صورت تصادفی به دو گروه مساوی ذیل تقسیم‌بندی و بعد از توزین با ترازوی دیجیتالی (Sartorius, Germany)، یادداشت وزن تخم‌مرغ‌ها و تمیز کردن با الکل ۷۰٪ در دستگاه جوجه‌کشی (۳۰ خانه ساخت شرکت دام دشت، مشهد، ایران) با دمای ۳۸°C و رطوبت ۶۰٪ قرارداده شدند.

۱- گروه شاهد: نمونه‌های این گروه در شرایط طبیعی به مدت ۱۲ روز در ماشین جوجه‌کشی قرار داده شدند.

۲- گروه تجربی: نمونه‌های این گروه در ماشین جوجه‌کشی قرار داده شده و در ساعت‌های ۵۶ تا ۵۹ انکوباسیون در دستگاه مولد امواج الکترومغناطیسی مجهز به سیستم انکوباسیون (که در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در مطالعات قبلی توسط بهارآرا و اشرف ساخته شده است) با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس قرارداده شدند (شکل ۱).



شکل ۱. دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و شدت ۵۰ گاؤس متصل به سیستم ویژه انکوباسیون جوجه. A : بوبین، B: سیستم دستگاه جوجه کشی، C: رئوستا، D: خازن و E: ولت سنج

www.SID.ir

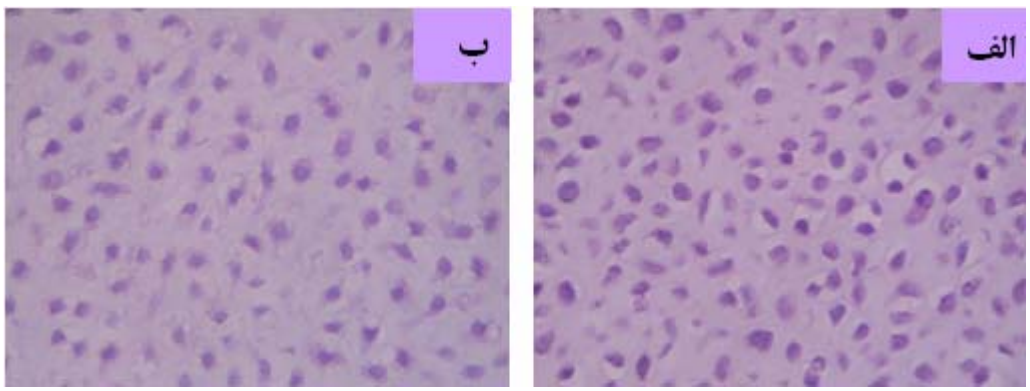
Archive of SID

طبق جدول هامیلتون که در سال ۲۰۰۶ توسط دکتر هیل مورد بازبینی و تائید قرارگرفت، زمان جوانه زدن اندام حرکتی عقبی در جوجه مرحله و مقارن با ساعت ۶۴-۵۲ انکوباسیون می‌باشد [۱۷].

در تمام مدت انکوباسیون، میزان رطوبت و دمای دستگاه جوجه‌کشی و چرخش تخم‌مرغ‌ها کنترل شد. تخم‌مرغ‌های هر دو گروه در روز ۱۲ انکوباسیون باز و جنین‌ها را خارج کرده و با سرم فیزیولوژیک شستشو، سپس با ترازوی دیجیتال توزین شدند. سپس نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ قرارداده شدند. در نمونه‌های تثبیت شده، ابتدا با تیغ سرهایشان را جدا نموده و پس از آب‌گیری به کمک درجات صعودی اتانول، قالب‌گیری توسط پارافین انجام شد، سپس برش‌های سهمی سریالی ۷ میکرونی توسط میکروتوم (Microm, Germany) تهیه و به روش هماتوکسیلین- ائوزین هاریس رنگ‌آمیزی و لام‌های دائمی تهیه شد. در مقاطع بافتی سریال آماده شده ساختار کلی استخوان ساق (Tibia) توسط فتواسترئومیکروسکوپ تحقیقاتی (Ziess, Germany) مطالعه و تعداد سلول‌های غضروفی استخوان ساق در سه منطقه اپی‌فیز بالایی (محل اتصال به مچ پا)، اپی‌فیز پائینی (محل اتصال به استخوان ران) و دیافیز (سلول‌های استخوان‌ساز= سلول‌های غضروفی هایپرتروفی شده) در درشت نمایی ۱۰۰۰X با استفاده از گراتیکول مشبک در سه ناحیه (نزدیک به ضریع) از میدان دید شمارش شد. هم‌چنین در تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ مذکور طول استخوان و طول منطقه استخوان‌سازی در دیافیز به‌وسیله نرم‌افزار اندازه‌گیری ImagJ بررسی شد. داده‌های کمی حاصل با استفاده از آزمون آماری t-test و به کمک نرم‌افزار Spss در سطح P<۰/۰۵ تحلیل شد.

نتایج

گروه‌های کنترل و تجربی از نظر میانگین شاخص‌های مورد نظر شامل: وزن اولیه تخم‌مرغ (قبل از گذاشتن در انکوبه) و وزن جنین ۱۲ روزه (بعد از خارج کردن از تخم‌مرغ) هم‌چنین تعداد سلول‌های غضروفی در سه منطقه اپی‌فیز بالایی، پائینی و دیافیز، طول استخوان ساق و طول منطقه استخوان‌سازی در سطح معنی P<۰/۰۵ باهم مقایسه شدند. کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد سلول‌های غضروفی در منطقه اپی‌فیز بالایی، اپی‌فیز پائینی و دیافیز گروه تجربی نسبت به میانگین تعداد سلول‌های غضروفی در مناطق مشابه در گروه کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل۲). هم‌چنین افزایش معنی‌داری در میانگین طول استخوان ساق و میانگین طول منطقه استخوان‌سازی گروه تجربی نسبت به میانگین طول استخوان ساق و میانگین طول منطقه استخوان‌سازی گروه کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۵). لیکن مقایسه میانگین وزن تخم‌مرغ‌ها و میانگین وزن جنین‌های گروه تجربی با میانگین وزن تخم‌مرغ‌ها و میانگین وزن جنین‌های کنترل تفاوتی نشان نداد (P>۰/۰۵). (جدول ۱).



شکل۲. الف: تصویر میکروسکوپ نوری سلول‌های غضروفی اپی‌فیز استخوان ساق نمونه شاهد (بزرگ‌نمایی × ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E) ب) تصویر میکروسکوپ نوری سلول‌های غضروفی در اپی فیز استخوان ساق نمونه تجربی (بزرگ‌نمایی × ۴۰۰ رنگ آمیزی H&E)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. مقایسه آماری داده‌های کمی گروه تجربی با گروه کنترل

گروه‌ها / پارامترها	کنترل	تجربی	P-value
میانگین وزن تخم مرغ (g)	۶۷/۲۹۸ ± ۱/۹۳	۶۵/۸۷ ± ۰/۸۸	۰/۵۰۸
میانگین وزن جنین (g)	۵/۵۱ ±۰/۳۰	۵/۸۵ ± ۰/۳۲	۰/۴۵۲
میانگین طول اندام (mm)	۳۷/۹۴ ± ۰/۷۸	۳۹/۷۲ ± ۰/۳۶	۰/۰۵۹
میانگین طول استخوان ساق (mm)	۸/۹۶ ± ۰/۲۷	۱۰/۸۷ ± ۰/۲۶	۰/۰۰۱
میانگین طول منطقه استخوان سازی(mm)	۲/۲۳ ± ۰/۱۱	۳/۰۲ ± ۰/۱۵	۰/۰۰۱
میانگین تعداد سلول‌های غضروفی اپی فیز پائینی	۳۸/۵۸ ± ۱/۱۰	۳۲/۱۳ ± ۰/۶۵	۰/۰۰۱
میانگین تعداد سلول‌های غضروفی اپی فیز بالایی	۳۴/۳۹ ± ۰/۶۹	۳۰/۳۹ ± ۰/۳۱	۰/۰۰۱
میانگین تعداد سلول‌های استخوان‌ساز دیافیز	۶/۴۹ ± ۰/۲۳	۵/۷۳ ± ۰/۰۹	۰ /۰۰۷

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و با شدت ۵۰ گاؤس بر روند غضروف‌زائی و استخوان‌سازی در جوانه اندام حرکتی، بیان‌گر کاهش تعداد سلول‌های غضروفی در مناطق اپی‌فیز و دیافیز و نیز افزایش طول استخوان ساق و میانگین طول منطقه استخوان‌سازی در نمونه‌های تجربی می‌باشد لیکن وزن تخم‌مرغ‌ها و وزن جنین‌های گروه تجربی نسبت به شاهد افزایشی نشان نداده است. میدان‌های الکترومغناطیسی باعث جابه‌جایی در یون‌های آزاد سطح غشاء پلاسمایی می‌شوند و این موجب تغییر بار الکتریکی غشاء شده و منجر به باز شدن غیر طبیعی کانال‌های یونی وابسته به ولتاژ می‌شود که یکی از پی‌آمدهای آن ایجاد تغییر در هدایت یون کلسیم است، چون یون کلسیم در چرخه‌های سلولی نقش اساسی دارد پس می‌تواند موجب تغییر در زمان چرخه تقسیم سلولی، افزایش نسخه‌برداری RNA و سنتز پروتئین و DNA و در نتیجه سرعت بخشیدن به فرآیند تقسیم سلولی گردد ایجاد تغییر در هدایت یون کلسیم با تسریع شکل‌گیری استخوان مرتبط است [۱۹،۱۸]. یک مکانیسم مشابه هم برای غضروف مشاهده شده است به نحوی که تحریک الکتریکی کندروسیت‌ها باعث افزایش در ساخته شدن یک ترکیب مهم ماتریکس غضروفی به نام پروتئوگلیکان‌ها می‌شود [۲۰]. تحقیق Diniz نشان داد اثر تحریکی میدان الکترومغناطیسی پالسی (PEMF) روی استئوبلاست‌ها در مراحل اولیه کشت که باعث افزایش تشکیل بافت شبه استخوان می‌شود به احتمال زیاد مربوط به افزایش در تمایز سلولی می‌باشد و در تعداد سلول‌ها تأثیر ندارد [۲۱]. بررسی این مطالعات، نشان می‌دهند که میدان‌های الکترومغناطیسی بسته به شدت میدان در سرعت تمایز سلول‌های اجدادی استخوان‌ساز اثر دارند پس احتمالاً علت کاهش تراکم سلول‌های غضروفی در این تحقیق، افزایش در سرعت تمایز و هایپرتروفی آن‌ها و افزایش در سرعت فرآیندهای استخوان‌سازی بوده است. از طرفی مطالعات اولیه نشان داده است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پائین، سرعت تشکیل سلول‌های استخوانی را افزایش می‌دهد و انتشار فاکتور رشد انسولینی II را در محیط کشت القاء می‌کند [۲۲] به همین دلیل از میدان‌های الکترومغناطیسی برای ترمیم شکستگی استخوان، با اثر دادن بر سلول‌های اجدادی استخوان‌ساز و پیش‌سازهای استئوبلاست استفاده می‌کنند [۲۳]. مواجهه با میدان‌های الکترومغناطیسی فرکانس بسیار پایین بر جنین‌های جوجه و بلدرچین هم نشان می‌دهد که به‌طور کلی رشد غضروفی افزایش می‌یابد و فرآیندهای استخوان‌سازی تسریع شده و پیدایش کانون‌های اولیه استخوان‌سازی تحریک می‌شود [۲۴]. هم‌چنین میدان مغناطیسی ثابت تشکیل استخوان را با افزایش در تمایز و یا

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت استئوبلاست‌ها، تحریک می‌کند [۲۵]. پس با بررسی مطالعات قبلی می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً افزایش طول منطقه استخوان‌سازی در تحقیق حاضر به دلیل تسریع در فرآیندهای استخوان‌سازی و تحریک پیدایش کانون‌های اولیه استخوان‌سازی می‌باشد و افزایش طول استخوان ساق با افزایش در تکثیر سلول‌های مزانشیم می‌باشد. هم‌چنین افزایش در میانگین طول استخوان ساق و میانگین طول منطقه استخوان‌سازی در این تحقیق با نتایج برخی مطالعات مطابقت می‌کند: مطالعات پریور در زمینه اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی بر رشد جوانه اندام حرکتی نشان داده است که میدان الکترومغناطیسی باعث افزایش رشد طولی در بخش‌های مختلف اندام حرکتی شده و لیکن ناهنجاری مورفولوژیکی در نمونه‌ها ایجاد نمی‌کند. هم‌چنین این گزارش بر وجود نوعی پتانسیل غضروف‌زایی میدان الکترومغناطیسی تأکید می‌کند [۲۶]. Sul نیز گزارش کرده است که میدان‌های الکترومغناطیسی سینوسی باعث افزایش رشد استئوبلاست‌های جنینی در انسان می‌شوند و پاسخ سلول بستگی به مدت مواجهه با میدان الکترومغناطیسی دارد و نوع سلول در پاسخ به میدان الکترومغناطیسی اهمیّت دارد [۲۷]. در تحقیق حاضر وزن جنین در گروه تجربی و کنترل اختلاف معنی‌دار نشان نداد، این نتیجه با برخی یافته‌های قبلی تناقض دارد، از جمله Roda-Murillo در سال ۲۰۰۵ نشان داده است که تحت تاثیر میدان مغناطیسی با فرکانس پائین وزن جنین‌های جوجه در گروه تجربی نسبت به شاهد کاهش می‌یابد [۲۸] به نظر می‌رسد احتمالاً این تفاوت در نتایج به علت اختلاف شرایط مطالعه می‌باشد.

نتایج این مطالعه بیان‌گر آن است که کاربرد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پایین بر جنین جوجه موجب کاهش تراکم سلول‌های غضروفی، افزایش طول استخوان ساق و افزایش استخوان‌سازی می‌شود که می‌توان با انجام مطالعات بیش‌تر در کاربردهای کلینیکی به آن توجه نمود.

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد به‌ویژه سرکار خانم دکتر سعیده ظفربالانژاد تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

[1] Levin M. Bioelectromagnetics in Morphogenesis (Review). Bioelectromagnetics 2003; 24: 295-315.

[2] Goodman R. and Blank M. Insights into electromagnetic interaction mechanisms. J Cell Physiol 2002; 192: 16-22.

[3] Zhao D, Wu H, Li F, Li R. and Tao C. Electromagnetic field change the expression of osteogenesis genes in murine bone marrow mesenchymal stem cells. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2008; 28: 152-155.

[4] Stolfa S, Skorvanek M, Stolfa P, Rosocha J, Vasko G. and Sabo J. Effects of static magnetic field and pulsed electromagnetic field on viability of human chondrocytes in vitro. Physiol Res 2007; 56: S45-S49.

[5] Supino R, Bottone MG, Pellicciari C, Caserini C, Bottiroli G, Belleri M. and Veicsteinas A. Sinusoidal 50 Hz magnetic fields do not affect structural morphology and proliferation of human cells in vitro. Histol Histopathol 2001; 16: 719-726.

[6] Juutilainen J. Developmental effects of electromagnetic fields. Bioelectromagnetics 2005; 7: S107- S115.

[7] Baharara J, Haddad F, Ashraf AR. and Khanderoo E. The effect of extremely low frequency electromagnetic field(50Hz)on induction of chromosomal damages on bone marrow erythrocytes of male Balb/C mouse. Journal of Arak University of Medical Sciences 2008; 11: 219-226 (Persian).

[8] Lahijani MS. and Ghafoori M. Teratogenic effects of sinusoidal extremely low frequency electromagnetic fields on morphology of 24 hr chick embryos. Indian J Exp Biol 2000; 38: 692-699.

[9] Baharara J, Parivar K, Oryan Sh. and Ashraf AR. Effects of low frequency electromagnetic fields on gonads and fertility of female Balb/c mouse.Journal of Arak University of Medical Sciences 2006; 9:2, 1-11(Persian).

[10] Capdevila J. and Izpisúa Belmonte JC. Patterning mechanisms controlling vertebrate limb development. Annu Rev Cell Dev Biol 2001; 17: 87-132.

[11] Tickle C. The contribution of chicken embryology to the understanding of vertebrate limb development. Mech Dev 2004; 121: 1019-1029.

[12] Davey MG. and Tickle C. The chicken as a model for embryonic development. Cytogenet Genome Res 200; 117: 231-239.

[13] Catala M. Control of the positioning of the vertebrate limb axes during development. Morphologie 2000; 84: 17-23.

[14] Tickle C. Limb development: an international model for vertebrate pattern formation. Int J Dev Biol 2000; 4: 101-108.

[15] Tickle C. Vertebrate limb development and possible clues to diversity in limb form. J Morphol 2002; 252: 29-37.

[16] Tickle C. Molecular basis of vertebrate limb patterning. Am J Med Genet 2002; 112: 250-255.

[17] Hill M. Chicken Development stages (2008). Available from: http://embryology.med.unsw.edu.au/OtherEmb/chick2.htm.

[18] Panagopoulos DJ, Karabarbounis A. and Margaritis LH. Mechanism for action of electromagnetic fields on cells. Biochem Biophys Res Commun 2002; 298: 95-102.

[19] Pomerai D, Daniells C, David H, Allan J, Duce I, Mutwakil M. and et al. Non-thermal heat-shock response to microwaves. Nature 2000; 405: 417-418.

[20] Hulme J, Robinson V, DeBie R, Wells G, Judd M. and Tugwell P. Electromagnetic fields for the Treatment of Osteoarthritis."(Cochrane Review), Cochrane Library, 3, Oxford, Update Software, 2002.

Archive of SID

[21] Diniz P, Shomura K, Soejima K. and Ito G. Effects of pulsed electromagnetic field (PEMF) stimulation on bone tissue like formation are dependent on the maturation stages of the osteoblasts. Bioelectromagnetics 2002; 23: 398-405.

[22] Stavroulakis P. Biological effects of electromagnetic fields. Springer-verlag Berlin Heidelberg Newyork.2003: Page: 477.

[23] Yamaguchi DT, Huang J, Ma D. and Wang PK. Inhibition of gap junction intercellular communication by extremely low-frequency electromagnetic fields in osteoblast-like models is dependent on cell differentiation. J Cell Physiol 2002; 190: 180-188.

[24] Barnes F. Greenebaum B.Biological and medical aspects of electromagnetic fields. 2007 by Taylor & Francis group LLC. CRC press. Third edition. Chapcher2.page:24-26.

[25] Yamamoto Y, Ohsaki Y, Goto T, Nakasima A. and Iijima T. Effects of static magnetic fields on bone formation in rat osteoblast cultures. J Dent Res 2003; 82: 962-966.

[26] Parivar K, Kouchesfehani MH, Boojar MM. and Hayati RN. Organ culture studies on the development of mouse embryo limb buds under EMF influence. Int J Radiat Biol 2006; 82: 455-464.

[27] Sul AR, Park SN. and Suh H. Effects of sinusoidal electromagnetic field on structure and function of different kinds of cell lines. Yonsei Med J 2006; 47: 852-861.

[28] Roda-Murillo O, Roda-Moreno JA. and Morente-Chiquero MT. Effects of Low-Frequency Magnetic Fields on Different Parameters of Embryo of Gallus Domesticus. Electromagn Biol Med 2005; 24: 55-62.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of low frequency electromagnetic fields on chondrogenesis and osteogenesis of embryonic chick limb bud

Javad Baharara (Ph.D)*, Masomeh Saboori (M.Sc)
Dept. of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University Mashhad Branch, Mashhad, Iran

(Received: 13 Oct 2009 Accepted: 11 May 2010)

Introduction: Depending on mode, intensity and length of application, and stage of development, the low-frequency electromagnetic fields (LFEs) can induce a wide variety of biological effects in organisms. The chick limb bud is a powerful experimental system for study pattern formation in vertebrate embryo. The aim of this study was to examine the effects of an application LFEs (50Hz, 50G) on chondrogenesis and osterogensis of embryonic chick limb bud.

Materials and Methods: Twenty *Gallus gallus* fertilized eggs were randomly divided into two control and experimental groups. Fifty-six hours after incubation, eggs of experimental group were exposed to LFEs for 3h. On 12th day of incubation, the weight of embryos was recorded. Then, microscopic sections were prepared from embryos and length of tibia, length of osteogenesis zone and the number of chondrocytes of epiphysis and diaphysis were measured using the *Image J* software.

Results: In comparison with control group, the number of chondrocytes of epiphysis and diaphysis was significantly decreased, while the length of tibia and osteogenesis zone was significantly increased (both, $P < 0.05$).

Conclusions: Findings of this study demonstrate that an application of LFEs on chick embryo leads to reduced accumulation of chondrocyte and increased length of tibia and osteogenesis zone.

Key words: Electromagnetic fields, Limb bud, Chondrocytes, Osteogenesis

***** Corresponding author: Fax: +98 511 6228310; Tel: +98 511 6223137
baharara@yahoo.com

www.SID.ir