اثرات کاربرد توأم ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پائین (۵۰ هرتز) بر تکامل جوانه اندام حرکتی در رویان جوجه

جواد بهارآرا،[۱] معصومه صبوری[۲]

۱. استادیار زیست شناسی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

۲.کارشناس ارشد علوم جانوری گرایش سلولی- تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۲/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: میدان‌های الکترومغناطیسی برحسب شدت و فرکانس، اثرات متنوعی را در موجودات زنده القاء می‌کنند. ویتامین A نیز نقش گسترده‌ای بر رشد و نمو ارگانیسم‌های زنده دارد. درتحقیق حاضر اثرات کاربرد توأم ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی جنین جوجه بررسی شده است.

مواد و روش کار: این مطالعه به‌روش آزمایشگاهی تجربی روی ۳۰ تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد Gallus gallus انجام شد. تخم‌مرغ‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی شاهد، شاهد آزمایشگاهی و تجربی تقسیم شدند. نمونه‌های گروه تجربی، با یک واحد ویتامین A در ساعت ۵۶ انکوباسیون، تیمار و به‌مدت سه ساعت در دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس قرار داده شدند. در روز ۱۲ انکوباسیون، جنین‌های هر سه گروه خارج، وزن جنین و طول اندام حرکتی تحتانی اندازه‌گیری گردید. سپس از جنین‌ها مقاطع بافتی جهت مطالعات میکروسکوپی نوری تهیه و میانگین طول استخوان و طول منطقه استخوان سازی هر دو ساق با استفاده از نرم‌افزار Imag J اندازه‌گیری و هم‌چنین شمارش سلول‌های غضروفی در مناطق اپی‌فیز و دیافیز ساق انجام شد. اطلاعات حاصله با نرم‌افزار SPSS-15 آنالیز شد.

یافته‌ها: میانگین درصدی وزن جنین، طول اندام حرکتی تحتانی، طول استخوان ساق، طول منطقه استخوان‌سازی ساق و سلول‌های غضروفی در مناطق اپی‌فیز و دیافیز ساق گروه تجربی نسبت به شاهد آزمایشگاهی کاهش یافته بود (p=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: استفاده توأم ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم بر رشد و نمو اثر تاخیری داشته و باعث کاهش وزن جنین، طول اندام حرکتی و تراکم سلول‌های غضروفی جنین جوجه می‌شود. [م ت ع پ ز ، ۱۳(۲): ۱۲-۷]

کلیدواژه‌ها: میدان الکترومغناطیسی، جوانه اندام حرکتی، رویان جوجه، ویتامین A، تکامل

مقدمه

مکانیزم‌های رشد و نمو اندام حرکتی در بیشتر مهره‌داران با انسان مشترک است و اطلاعات در این زمینه، از دست‌کاری‌های (manipulating) تجربی جنین‌های جوجه و موش، حاصل شده است.[۱،۲] Tickle و Davey گزارش نموده‌اند که جوجه مدل آزمایشگاهی مناسبی برای مطالعه رشد و نمو اندام حرکتی مهره‌داران است و به سهولت در شرایط درون تنی، قابل دست‌کاری می‌باشد.[۳،۴] مطالعات آزمایشگاهی فراوانی در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی، نشان داده‌اند که مواجهه با میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم، پاسخ‌های متنوعی را در موجودات زنده القاء می‌کنند، اثرات این مواجهه، روی تکثیر و تمایز سلولی، تکرار چرخه سلولی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، ارتباط بین سلولی، رونویسی دزوکسی ریبونوکلئیک اسید، بیان ژن و تومورزایی گزارش شده است.[۵-۷] میدان‌های الکترو مغناطیسی بر رشد و نمو جنین جوجه نیز مؤثر هستند.[۸] تاثیرمیدان‌های الکترومغناطیسی در شرایط برون‌تنی برروی سلول‌های اجدادی استخوان‌ساز و پیش‌سازهای استئوبلاست، جهت ترمیم شکستگی استخوان هم مطالعه شده است.[۹] نتایج برخی تحقیقات نیز بیان‌گر آن است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم باعث القای آسیب‌های کروموزومی در اریتروسیت‌های پلی‌کروماتیک مغز استخوان موش نر می‌شود.[۱۰]

هم‌چنین مطالعات نشان داده است که افزایش شدت میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز باعث ایجاد خصوصیات غیر طبیعی در جنین جوجه می‌شود.[۱۱] کاهش باروری نیز تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی برغدد تناسلی موش ماده گزارش شده است.[۱۲] متابولیت‌های ویتامین A نظیر اسید رتینوئیک، از جمله مولکول‌های مهم و موثر در تکوین و هوموستاز می‌باشند و بر رشد و نمو اندام حرکتی پستانداران و تمایز بیشتر نسل‌های سلولی از جمله دودمان سلول‌های غضروف‌زا اثر گذار هستند. علاوه بر این اسید رتینوئیک در مواردی تراتوژن بوده و باعث ایجاد نقص‌های اسکلتی می‌شود که وسعت ناهنجاری‌ها بستگی به مرحله جنینی و میزان مصرف آن دارد.[۱۳،۱۴]

اسید رتینوئیک به‌عنوان تنظیم‌کننده فنوتیپ سلول‌های غضروفی هم معرفی شده و باعث تغییر در شکل طبیعی این سلول‌ها می‌شود، علاوه بر این تمایز سلول‌های مزانشیمی به غضروفی را مهار می‌کند.[۱۵،۱۶] مطالعات زیادی نشان داده‌اند که کنترل کمی اسید رتینوئیک درمسیر صحیح رشد و نمو جنین‌های مهره‌داران لازم است و مکانیزم‌های مختلفی، ثابت بودن میزان رتینوئید را در برجستگی اکتودرم رأسی و مزانشیم، در طی جوانه زدن اندام حرکتی تنظیم می‌کنند، هم‌چنین ویتامین A یک پیام رسان ریخت‌زا بوده و به عنوان کلید روشن و خاموش کنترل دیگر سیستم‌های پیام رسانی جنینی معرفی شده است.[۱۷،۱۸] با توجه به این‌که بسیاری از دستگاه‌های اطراف انسان چه در منزل و

آدرس نویسنده مسئول: سازمان مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، معاونت پژوهشی

email: baharara@yahoo.com

Archive

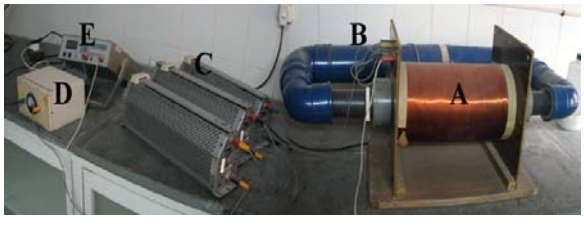
www.SID.ir

چه در محیط کار، مولد میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم هستند و ما به صورت مستمر در مواجهه با این امواج می‌باشیم و از طرفی ویتامین A هم در درمان‌های کلینیکی و هم در دوران بارداری به‌عنوان مکمل غذایی استفاده فراوانی دارد، در پژوهش حاضر اثرات کاربرد توأم این دو عامل مهم بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی تحتانی جنین جوجه بررسی شده است.

روش‌کار

این پژوهش از نوع کارآزمایی بالینی است و در سال تحصیلی ۸۸-۸۷ درآزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌شناسی تکوینی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شده است. برای انجام تجربیات، تعداد ۳۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد Gallus gallus تازه (حداکثر ۴ روزانبار شدگی) و سالم، از شرکت مرغداران توس تهیه و استفاده شد. تخم‌مرغ‌های مذکور به صورت تصادفی به سه گروه مساوی ذیل تقسیم بندی و بعد از توزین با ترازوی دیجیتالی(Sartorius, Germany) و ثبت وزن تخم‌مرغ‌ها و ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد در دستگاه جوجه‌کشی (شرکت دام دشت، مشهد) با دمای ۳۸°C و رطوبت ۶۰ درصد قرارداده شدند.

گروه شاهد: تخم‌مرغ‌های این گروه در شرایط معمول در ماشین جوجه‌کشی قرار داده شدند. گروه شاهد آزمایشگاهی (sham–exposed): در سطح افقی برای تخم‌مرغ‌های این گروه در ساعت ۴۸-۲۴ انکوباسیون در محیط استریل و زیر هود لامینار (Telstar, Spain) پنجره گذاشته شد و در ساعت ۵۶ انکوباسیون پنجره را باز نموده، حلال ویتامین، دی متیل سولفوکسید (DMSO) را به میزان یک میکرولیتر، با استفاده از سمپلر برسطح جوانه اندام چکانده و مجدداً محل ایجاد پنجره بسته شد. سپس تخم‌مرغ‌های مذکور به مدت سه ساعت در دستگاه مولد امواج الکترومغناطیسی مجهز به سیستم انکوباسیون که در مطالعات قبلی توسط بهارآرا و اشرف در آزمایشگاه فیزیک دانشگاه فردوسی مشهد طراحی و ساخته شده است در حالت خاموش قرار گرفته ومجدداً انکوبه شدند (تصویر۱).



تصویر ۱: انکوباسیون متصل به دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی A: بوبین، B: سیستم انکوباسیون، C: رئوستا، D: خازن، E: ولت‌سنج

گروه تجربی: برای تخم‌مرغ‌های این گروه در سطح افقی و در ساعت ۴۸-۲۴ انکوباسیون در محیط استریل، پنجره گذاشته شد و در ساعت ۵۶ انکوباسیون، با ویتامین A به میزان یک واحد (IU) (معادل ۰/۳۴۴ میکروگرم) که در یک میکرولیتر DMSO حل شده بود، تیمار انجام گرفت. سپس تخم‌مرغ‌های مذکور به دستگاه مولد امواج الکترومغناطیسی مجهز به سیستم انکوباسیون در حالت روشن منتقل گردیده و تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس به مدت سه ساعت قرار داده شد ومجدداً انکوبه شدند. در تمام مدت انکوباسیون، میزان رطوبت و دمای دستگاه جوجه‌کشی و چرخش تخم‌مرغ‌ها کنترل می‌گردید.

تخم‌مرغ‌های هر سه گروه را در روز ۱۲ انکوباسیون باز و جنین‌ها را خارج و با سرم فیزیولوژی شستشو، سپس با ترازوی دیجیتال توزین نمودیم. در ادامه نمونه‌ها در فرمالین ده درصد قرارداده شدند. از جنین‌ها با فتواسترئومیکروسکوپ تحقیقاتی (Ziess, Germany) عکس تهیه شد، هم‌چنین با کولیس طول اندام حرکتی تحتانی اندازه‌گیری و ثبت گردید و تصاویر توسط کامپیوتر و با استفاده از نرم‌افزار Imag J (نسخه۱/۳۸) اندازه‌گیری شدند. سپس با تیغ، سر نمونه‌های تثبیت شده، جدا گردید و پس از آب‌گیری به کمک درجات صعودی اتانول، قالب‌گیری توسط پارافین انجام شد، در ادامه برش‌های سهمی پی درپی ۷ میکرونی توسط میکروتوم (Microm, Germany) تهیه و به‌روش هماتوکسیلین- ائوزین هاریس رنگ‌آمیزی و مقاطع بافتی جهت مطالعه با میکروسکوپ آماده گردید.

در مقاطع بافتی آماده شده، طول استخوان ساق (Tibia) و طول منطقه استخوان‌سازی در دیافیز اندازه‌گیری شد و سلول‌های غضروفی استخوان ساق در سه منطقه اپی‌فیز بالایی (محل اتصال به مچ پا)، اپی‌فیز پائینی (محل اتصال به استخوان ران) و سلول‌های استخوان ساز دیافیز (سلول‌های غضروفی هایپرتروفی شده) در درشت نمایی ×۱۰۰۰ با استفاده از گراتیکول مشبک در سه ناحیه (نزدیک به ضریع) ازمیدان دید شمارش شد. جهت مقایسه وزن جنین‌های گروه تجربی با گروه شاهد آزمایشگاهی از رابطه نسبت میانگین وزن جنین به وزن تخم‌مرغ درصد استفاده شد:

$$\text{درصد وزن} = \left(\frac{\text{وزن جنین 12 روز}}{\text{وزن تخم مرغ}}\right)\times 100$$

داده‌های کمی حاصل با استفاده از آزمون آماری t (به‌صورت مقایسه دو به دو گروه‌ها) به کمک نرم‌افزار SPSS-15 تحلیل شد. محققین در مراحل مختلف تحقیق متعهد به رعایت اصول اخلاقی مربوط به پژوهش بودند.

یافته‌ها

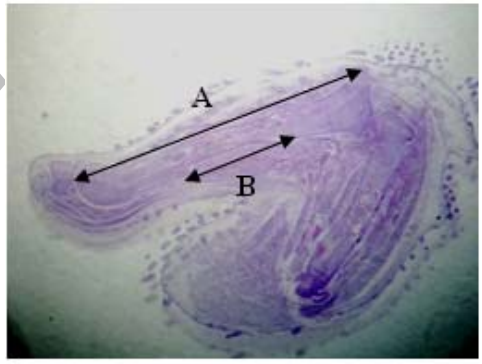
گروه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی از نظر میانگین شاخص‌های مورد نظر شامل: وزن اولیه تخم‌مرغ (قبل از گذاشتن در انکوباتور)، وزن جنین ۱۲ روزه (بعد از خارج کردن از تخم‌مرغ)، طول کل اندام حرکتی تحتانی، هم‌چنین تعداد سلول‌های غضروفی در سه منطقه اپی‌فیز بالایی، پائینی و دیافیز، طول استخوان ساق و طول منطقه استخوان‌سازی باهم مقایسه شده و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. لذا در مراحل بعدی داده‌های کمی حاصل از نمونه‌های گروه تجربی با گروه شاهد آزمایشگاهی مقایسه گردید. میانگین تعداد سلول‌های غضروفی درسه منطقه اپی‌فیز بالایی (۳۰/۶±۰/۳)، پایینی (۳۳±۰/۸) و دیافیز (۵/۶±۰/۲)، میانگین درصدی وزن جنین (۶/۳±۰/۳)، میانگین طول اندام (۳۵/۷±۰/۴ mm)، میانگین طول استخوان ساق (۸/۶±۰/۲mm) و میانگین طول منطقه استخوان سازی (۱/۶±۰/۱ mm)

Archive of SID
www.SID.ir

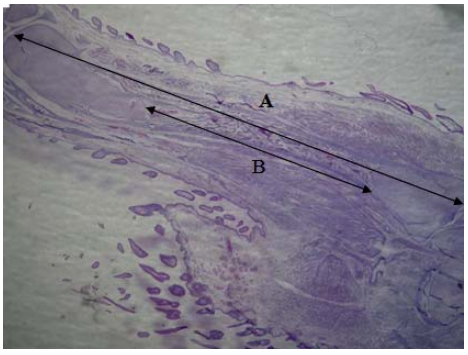
گروه تجربی نسبت به میانگین تعداد سلول‌های غضروفی در سه منطقه اپی فیز بالایی (۰/۸±۳۵/۸)، پایینی (۱/۳±۴۰/۲) و دیافیز (۰/۲±۶/۸)، میانگین درصدی وزن جنین (۰/۳±۷/۷)، میانگین طول اندام (mm ۰/۲±۳۷/۹)، میانگین طول استخوان ساق (۰/۲mm±۹/۵) و میانگین طول منطقه استخوان‌سازی (mm ۰/۱±۲/۴) گروه شاهد آزمایشگاهی کاهش معنی‌دار مشاهده شد (p=۰/۰۰۱) (جدول ۱) (تصاویر۲تا ۵) .

جدول ۱: مقایسه آماری داده‌های کمی حاصل از نمونه های گروه تجربی با گروه شاهد

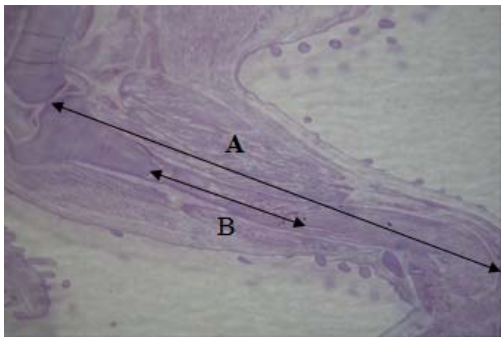
متغیرها / گروه‌ها	شاهد Mean±SD	تجربی Mean±SD	p
درصدی وزن جنین (گرم)	۷/۷±۰/۲	۶/۳±۰/۳	۰/۰۰۲
طول اندام (میلی‌متر)	۳۷/۹±۰/۲	۳۵/۷±۰/۴	۰/۰۰۱
طول استخوان ساق (میلی‌متر)	۹/۵±۰/۲	۸/۶±۰/۲	۰/۰۰۵
طول منطقه استخوان‌سازی	۲/۴±۰/۱	۱/۶±۰/۱	۰/۰۰۱
تعداد سلول‌های غضروفی اپی فیز پائینی	۴۰/۲±۱/۳	۳۳±۰/۸	۰/۰۰۱
تعداد سلول‌های غضروفی اپی فیز بالایی	۳۵/۸±۰/۸	۳۰/۶±۰/۳	۰/۰۰۱
تعداد سلول‌های استخوان ساز دیافیز	۶/۸±۰/۲	۵/۶±۰/۲	۰/۰۰۱



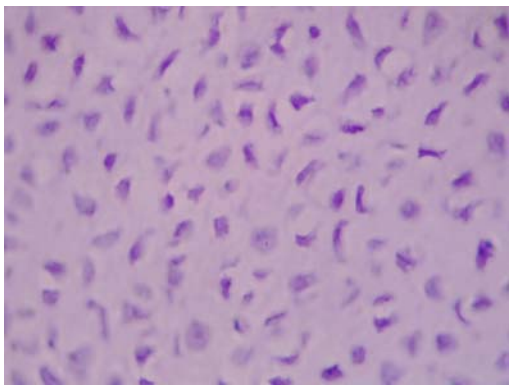
تصویر ۲: فتواسترئو میکروگراف از مقطع بافتی استخوان ساق و منطقه استخوان‌سازی نمونه تجربی (A: طول استخوان ساق B: طول منطقه استخوان سازی) (بزرگنمایی×۴، رنگ‌آمیزی H&E)



تصویر ۳: فتواسترئومیکروگراف از مقطع بافتی استخوان ساق و منطقه استخوان سازی نمونه شاهد (A: طول استخوان ساق B: طول منطقه استخوان-سازی) (بزرگنمائی×۶/۴، رنگ‌آمیزی H&E)



تصویر ۴: فتواسترئومیکروگراف از مقطع بافتی استخوان ساق و منطقه استخوان سازی نمونه های شاهد آزمایشگاهی(A: طول استخوان ساق B: طول منطقه استخوان‌سازی) (بزرگنمائی×۶/۴، رنگ‌آمیزی H&E)



تصویر ۵ : فتومیکروگراف از سلول‌های غضروفی اپی‌فیز استخوان ساق نمونه تجربی (بزرگنمایی×۴۰۰، رنگ‌آمیزی H&E)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه بیان‌گر آن است که به‌کارگیری توأم ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس باعث کاهش تعداد سلول‌های غضروفی در مناطق اپی فیز بالایی، اپی فیز پایینی و دیافیز می‌شود. هم‌چنین میانگین درصدی وزن جنین‌ها، طول اندام حرکتی، طول منطقه استخوان سازی در نمونه‌های گروه تجربی نسبت به شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد.

طبق جدول هامیلتون که در سال ۲۰۰۶ نیز توسط دکتر مارک هیل مورد بازبینی قرار گرفت، زمان جوانه زدن اندام حرکتی عقبی در جوجه مرحله ۱۷ مقارن با ساعت ۶۴-۵۲ انکوباسیون می‌باشد.[19] در تجربه حاضر زمان تیمار تخم‌مرغ‌ها و قرار دادن آن‌ها در دستگاه میدان الکترومغناطیسی هم زمان با این مرحله انتخاب شد. نتایج بیان‌گر کاهش در میانگین طول کل اندام، طول استخوان ساق، طول منطقه استخوان سازی و وزن جنین‌های گروه تجربی نسبت به گروه شاهد آزمایشگاهی است. مطالعات پژوهشگران گذشته بیان گر آن است که مصرف زیاد ویتامین A و مشتقاتش نظیر اسید رتینوئیک در دوران بارداری به عنوان تراتوژن عمل می‌کنند. هم‌چنین رتینوئیدها در بیان ژن‌های تأثیرگذار ۱۴ در تنظیم پدیده‌هایی مثل مورفوژنز،[20] تعیین سرنوشت سلولی و غضروف‌زایی دخالت دارند و با حضوردر بیشتر فرآیندهای تنظیم

Archive of SID
www.SID.ir

بیان ژن باعث اختلال در سطوح مختلف رشد و نمو می‌شوند.[۶،۱۳] از طرفی اسید رتینوئیک در فرآیندهای مربوط به غضروف‌زایی از شکل‌گیری سلول‌های پیش غضروفی تا تمایز کندروبلاست‌ها، جهت توازن در رشد و نمواسکلتی بسیار مهم است و کمبود یا افزایش آن اثرات منفی روی استخوان‌سازی دارد.[۱۴،۲۱،۲۲] مطالعات جدیدتر نیز نشان داده‌اند که اسید رتینوئیک تولید سلول‌های غضروفی از سلول‌های مزانشیمی را با تنظیم کاهشی در بیان سیگنال TGF-β/Smad، مهار می‌کند و باعث ایجاد شکاف کامی در جنین موش می‌شود.[۲۳] حتی رسپتور گامای اسید رتینوئیک باعث القاء بد تنظیمی در غضروف‌زایی جوانه اندام حرکتی موش در شرایط برون تنی می‌شود.[۲۴] در پژوهش حاضر میانگین تعداد سلول‌های غضروفی در سه منطقه اپی‌فیز بالایی، پایینی و دیافیز گروه تجربی کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد آزمایشگاهی نشان داد، لذا می‌توان گفت که این نتایج احتمالاً در نتیجه تأثیر ویتامین A بر رشد ونمو جوانه اندام حرکتی می‌باشد و دوز به‌کار برده شده همراه با میدان الکترومغناطیسی با شدت ۵۰ گاؤس دارای اثرات تراتوژنیک می‌باشد. حال آن‌که تحقیقات 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 هیچ ناهنجاری مورفولوژیکی در نمونه‌ها ایجاد نمی‌کند هم‌چنین این گزارش بر وجود نوعی پتانسیل غضروف‌زایی میدان الکترومغناطیسی تأکید می‌کند.[۲۵] برخی مطالعات نیز نشان داده است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم، باعث تسریع در تشکیل سلول‌های استخوانی شده و انتشار فاکتور رشد انسولینی II را در محیط کشت القاء می‌کند.[۲۶]

مواجهه با میدان‌های الکترومغناطیسی فرکانس بسیار پایین در جنین‌های جوجه و بلدرچین هم نشان می‌دهد که به‌طور کلی رشد غضروفی افزایش می‌یابد و فرآیندهای استخوان سازی تسریع شده و پیدایش مراکز اولیه استخوان سازی تحریک می‌شود.[۲۷] میدان‌های الکترومغناطیسی باعث جابجایی یون‌های آزاد در سطح غشاء پلاسمایی می‌شوند و این موجب تغییر در بار الکتریکی غشاء شده و منجر به باز شدن غیر طبیعی کانال‌های یونی وابسته به ولتاژ می‌شود[۲۸] که یکی از پی‌آمدهای آن ایجاد تغییر در هدایت یون کلسیم است، چون یون کلسیم در چرخه‌های سلولی نقش اساسی دارد می‌تواند موجب تغییر در زمان چرخه تقسیم سلولی و باعث افزایش نسخه برداری RNA، افزایش سنتز پروتئین و DNA و در نتیجه سرعت بخشیدن به فرآیند تقسیم سلولی شود.[۲۹]

کاربرد توأم ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پایین بر رشد و نمو جنین جوجه اثر تاخیری داشته و موجب کاهش وزن جنین، طول اندام حرکتی و تراکم سلول‌های غضروفی می‌شود. بنابراین با توجه به این‌که انسان در زندگی روزمره به‌علت کاربرد وسیع دستگاه‌های مولد امواج الکترومغناطیس در مواجهه مداوم با این امواج می‌باشد باید در مصرف ویتامین A احتیاط لازم را بنمایند به‌خصوص مادران باردار باید در این زمینه مراقبت‌های شدید داشته باشند و استفاده دارویی و یا مکملی از این ویتامین با تجویز پزشک صورت پذیرد. از طرفی لازم است مطالعات تکمیلی بر روی مکانیسم اثرات توأم میدان های الکترومغناطیسی و ویتامین A بر جوانه اندام حرکتی به‌ویژه در زمینه شناسایی مکانیسم‌های سلولی مولکولی انجام پذیرد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در اجرای این طرح پژوهشی با کد ۱۴۸۸/ت مورخه ۱۳۸۷/۹/۶ همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

References

1. Catala M. Control of the positioning of the vertebrate limb axes during development. Morphology 2000; 84(265): 17-23.
2. Tickle C. Molecular basis of vertebrate limb patterning. Am J Med Genet 2002; 112(3): 250-5.
3. Tickle C. The contribution of chicken embryology to the understanding of vertebrate limb development. Mech Dev 2004; 121(9): 1019-29.
4. Davey MG, Tickle C. The chicken as a model for embryonic development. Cytogenet Genome Res 2007; 117(1-4): 231-9.
5. Levin M. Bioelectromagnetics in morphogenesis. Bioelectromagnetics 2003; 24(5): 295-315.
6. Ali-Khan SE, Hales BF. Novel retinoid targets in the mouse limb during organogenesis. Toxicol Sci 2006; 94(1): 139-52.
7. Goodman R, Blank M. Insights into electromagnetic interaction mechanisms. J Cell Physiol 2002; 192(1): 16-22.
8. Juutilainen J. Developmental effects of electromagnetic fields. Bioelectromagnetics 2005; Suppl7: S107-15.
9. 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(2): 180-8.
10. 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] Persian. J Arak Univ Med Sci 2008; 11(2): 19-26.
11. Lahijani MS, Ghafoori M. Teratogenic effects of sinusoidal extremely low frequency electromagnetic fields on morphology of 24 hr chick embryos. Indian J Exp Biol 2000; 38(7): 692-9.
12. Baharara J, Parivar K, Oryan S and Ashraf AR. [Effects of low frequency electromagnetic fields on gonads and fertility of female Balb/C mouse] Persian. J Arak Univ Med Sci 2006; 9(2): 1-11.
13. Ross SA, McCaffery PJ, Drager UC and De Luca LM. Retinoids in embryonal development. Physiol Rev 2000; 80(3): 1021-54.
14. Underhill TM, Sampaio AV, Weston AD. Retinoid

Archive of SID
www.SID.ir

signaling and skeletal development. Novartis Found Symp 2001; 232: 171-85.
15. Cho SH, Oh CD, Kim SJ, et al. Retinoic acid inhibits chondrogenesis of mesenchymal cells by sustaining expression of N-cadherin and its associated proteins. J Cell Biochem 2003; 89(4): 837-47.
16. Rousche KT, Knudson CB. Temporal expression of CD44 during embryonic chick limb development and modulation of its expression with retinoic acid. Matrix Biol 2002; 21(1): 53-62.
17. Martinez-Ceballos E, Burdsal CA. Differential expression of chicken CYP26 in anterior versus posterior limb bud in response to retinoic acid. J Exp Zool 2001; 290 (2): 136-47.
18. Reijntjes S, Blentic A, Gale E and Maden M. The control of morphogen signaling: regulation of the synthesis and catabolism of retinoic acid in the developing embryo. Dev Biol 2005; 285(1): 224-37.
19. Hill M. [homepage on the Internet]. Acknowledgements, UNSW Embryology. Chicken development stages 2008. Available from: http://embryology.med.unsw.edu.au/OtherEmb/chick2.htm.
20. Zile MH. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. J Nutr 2001; 131(3): 705-8.
21. Hoffman LM, Weston AD, Underhill TM. Molecular mechanisms regulating chondroblast differentiation. J Bone Joint Surg Am 2003; 85(Suppl 2): 124-32.
22. Ruhl R, Sass JO, Nau H and Klug S. Effects of all-trans-retinoic acid and all-trans-retinoyl glucuronide in two in vitro systems of distinct biological complexity. Arch Toxicol 2001; 75(8): 497-504.
23. Yu Z, Xing Y. All-trans retinoic acid inhibited chondrogenesis of mouse embryonic palate mesenchymal cells by down-regulation of TGF-beta/Smad signaling. Biochem Biophys Res Commun 2006; 340(3): 929-34.
24. Galdones E, Hales BF. Retinoic acid receptor gamma-induced misregulation of chondrogenesis in the murine limb bud in vitro. Toxicol Sci 2008; 106(1): 223-32.
25. 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(7): 455-464.
26. Stavroulakis P. Biological effects of electromagnetic fields. New York: Springer Verlag; 2003: 477-478.
27. Barnes F, Greenebaum B. Biological and medical aspects of electromagnetic fields. 3rd ed. New York: CRC press; 2007: 24-26.
28. Panagopoulos DJ, Karabarbounis A, Margaritis LH. Mechanism for action of electromagnetic fields on cells. Biochem Biophys Res Commune 2002; 298(1): 95-102.
29. Pomerai D, Daniels C, David H, et al. Cell biology: non-thermal heat-shock response to microwaves. Nature 2000; 405: 417-418.

Archive of SID

www.SID.ir

The effects of concurrent use of vitamin A and very low frequency electromagnetic field (50Hz) on limb bud development in chick embryo

Javad Baharara [1], Masomeh Saboori[2]

Received: 11/May/2010
Accepted: 15/Jun/2010

***Background*:** Electromagnetic fields depending on the intensity and frequency have variety effects on living organisms. Vitamin A has an important role on the growth of living organisms. In this study, the effects of concurrent use of vitamin A and very low frequency electromagnetic field on the growth of limb bud of chick embryo have been investigated.

***Materials and Method*:** This experimental laboratory study was performed on 30 eggs with Gallus gallus fertilized race. The eggs were randomly divided into three equal groups including control, laboratory control and experimental. The samples of experimental group were treated with vitamin A 56 hours after incubation (1 IU). Then eggs were placed in active electromagnetic waves generator machine with 50 HZ frequency and 50 G intensity for 3 hours. On the twelfth day of incubation, embryos were removed from their eggs and measured embryo weight and total length of embryo hindlimb. Then embryos were prepared for histological studies with microscope using measurement software "Image J" in microscope sections at length of tibia, length of ontogenesis zone and also counting of chondrocytes of epiphysis and diaphysis. The resulting data were analyzed with SPSS-15.

***Results*:** The results show a significant decrease in the average of embryo weight, total length of embryo limb, length of tibia, average of chondrocyte zones of epiphysis and diaphysis and average length of osteogenesis zone (p=0.001).

***Conclusion*:** Based on this Study we conclude that concurrent use of vitamin A and very low frequency electromagnetic field has a delayed effect on development of chick embryo and it causes decreased embryo weight, limb length and accumulation of chondrocyte. [ZJRMS, 13(2): 7-12]

***Keywords*:** Electromagnetic fields, limb buds, chick embryo, vitamin A, development

1. **Assistant Professor of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University Mashhad branch, Mashhad, Iran.**
2. **Msc of Cell & Developmental Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University Mashhad Branch, Mashhad, Iran.**

Archive of SID

Please cite this article as: Baharara J, Saboori M .The effects of concurrent use of vitamin A and very low frequency electromagnetic field (50Hz) on limb bud development in chick embryo. Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)2011; 13(2): 7-12.

www.SID.ir