اثرات توام میدان الکترو مغناطیسی با فرکانس بسیار پایین (۵۰ هرتز) و ویتامین A بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی جنین موش کوچک آزمایشگاهی

دکتر جواد بهار آرا*[1]، دکتر علیرضا اشرف**، مژگان مددی امامچای***

*استادیار گروه زیست شناسی تکوین جانوری- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، **استادیار گروه فیزیک - دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد،

***کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۱۶ تاریخ تایید: ۸۸/۱۱/۳

چکیده:

زمینه و هدف: **ویتامین A و مشتقات آن برای تکوین طبیعی جنین ضروری بوده و مولکول های پیام دهی مهمی برای تنظیم تمایز، تکثیر سلول ها و ریخت زایی به شمار می روند. همچنین فرآیندهای رشد و نموی بسیاری تحت تاثیر میدان های الکترومغناطیسی قرار می گیرند و در درمان برخی بیماری ها مانند بیماری های عضلانی اسکلتی و غضروفی کاربرد کلینیکی دارند. در پژوهش حاضر اثرات توام میدان الکترومغناطیسی (۵۰ هرتز) و ویتامین A بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی جنین موش بررسی شده است.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی ۱۵ سر موش ماده حامله از نژاد Balb/c به گروه های کنترل، شاهد آزمایشگاهی و تجربی تقسیم شدند. به نمونه های گروه تجربی و شاهد آزمایشگاهی در روز ۱۰/۵ حاملگی IU/kg ۱۵۰۰۰ ویتامین A به صورت درون صفاقی تزریق گردید. نمونه های گروه تجربی علاوه بر ویتامین A در روزهای ۱۲-۱۰ حاملگی، روزانه به مدت ٤ ساعت تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و با شدت ۱۰۰ گاؤس قرار داده شدند. موش های باردار هر سه گروه در روز ۱۵/۵ حاملگی تشریح و جنین های آنها برای انجام مطالعات میکروسکوپی نوری آماده سازی و بررسی شدند. داده ها به کمک آزمون های آماری t، آنالیز واریانس یک طرفه و کروسکال والیس تجزیه و تحلیل گردید.**

یافته ها: **رشد و نمو به موازات محورهای پرو کسیمال- دیستال و قدامی - خلفی اندام های حرکتی جلویی و عقبی در نمونه های تجربی در مقایسه با نمونه های شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین افزایش تراکم سلول های غضروفی اندام های حرکتی در نمونه های تجربی در مقایسه با نمونه های شاهد آزمایشگاهی مشاهده شد (P<۰/۰۵).**

نتیجه گیری: **کاربرد توام میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین و ویتامین A بر تکوین جوانه اندام حرکتی اثر گذاشته و همچنین باعث تاخیر در روند غضروف زایی در اندام های حرکتی موش کوچک آزمایشگاهی می شود.**

واژه‌های کلیدی: میدان الکترومغناطیسی، غضروف زایی، ویتامین A، جوانه اندام حرکتی.

مقدمه:

گسترش و کاربرد وسیع دستگاه های مولد امواج الکترومغناطیس در زندگی روزمره به ویژه تجهیزات آشپزخانه‌های مدرن امروزی، صنعت مخابرات و وجود مشاغل متنوع و متعددی که افراد به اجبار در محیط هایی با دستگاه های مولد امواج الکترومغناطیس به مدت طولانی مواجهه می شوند، باعث جلب توجه پژوهشگران بسیاری بـرای بررسـی اثرات این امواج بر رشد و نمو موجودات زنده شـده است (۲،۱). در جنین‌های ۱۰/۵ روزه‌ی موش صحرایی تحت تاثیر امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و ۷۰ هرتز ناهنجاری هایی در بینایی، وزیکول شنوایی و جوانه اندام حرکتی جلویی، کاهش سومیت ها، عقب ماندگی مغزی گزارش شده است (۳). تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی مقدار موکوپلی ساکاریدها در جوانه

[1] نویسنده مسئول: مشهد- قاسم آباد-امامیه ٤۲- معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی- تلفن: ۶۲۲۳۱۳۷-۰۵۱۱، E-mail:baharara@yahoo.com

اندام حرکتی کشت شده موش (۴) و تعداد سلول های غضروفی در طی تکوین جوانه اندام حرکتی موش در شرایط in vitro افزایش می یابد (۵). همچنین امواج مغناطیسی باعث افزایش آسیب های DNA، اثر روی انتقال یون ها و بیان ژن ها در سلول های کشت شده می شود (۶).

ویتامین A و مشتقات آن نیز چنانچه در دوران بارداری (در زمان های بحرانی رشد و نمو ارگان های رویانی) به صورت ویتامین تکمیلی و یا با مصرف مواد غذایی سرشار از این ماده و یا در درمان آکنه و نئوپلازی و برخی سرطان ها به مقدار زیاد استفاده شود (۷)، با توجه به نقش آن ها در رشد و نمو و تمایز (۹،۸) بر روی ساختارهای متعددی مانند اندام های حرکتی، قلب و رگ ها و سیستم های مهره داران دارای اثرات تراتوژنیک متفاوت می باشند (۱۲،۱۱،۱۰). میزان فراوانی و شدت ناهنجاری ها به مقدار دارو و زمان تجویز آن بستگی دارد (۱۳). با توجه به این که ویتامین A دارای مصارف زیادی مانند درمان آکنه و برخی سرطان ها است و همچنین میدان های الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پایین در درمان برخی بیماری ها مانند بیماری های عضلانی اسکلتی و غضروفی کاربرد کلینیکی دارند (۱۴)، جهت شناسایی عملکرد تداخلی این دو، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات توام میدان های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین (۵۰Hz) و ویتامین A به میزان IU/kg ۱۵۰۰۰ بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی جنین موش کوچک آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی:

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شد. موش ماده باکره بالغ نژاد Balb/c از موسسه رازی مشهد خریداری و استفاده گردید. این موش ها در اتاق پرورش حیوانات، در درجه حرارت ۲±۲۲ سانتی گراد و دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس های پلی کربنه با درپوش سیمی ضد زنگ که هر هفته دو بار شستشو و ضد عفونی می شدند، نگهداری و برای تغذیه آن ها از غذای آماده استاندارد شرکت جوانه خراسان استفاده گردید. آب نیز به مقدار کافی توسط بطری شیشه ای در اختیار آنها قرار داده شد.

برای اطمینان از بلوغ موش ها از حیوانات ۲/۵ تا ۳ ماهه با وزن حدود ۳۰-۲۵ گرم استفاده گردید. آمیزش موش های نر و ماده مونوگامی انجام و روز مشاهده درپوش واژنی به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. ۱۵ سر موش حامله به صورت تصادفی به ۳ گروه مساوی تقسیم بندی شدند: ۱-گروه کنترل: موش های حاملهٔ این گروه در اتاق پرورش حیوانات و در شرایط طبیعی نگهداری شدند.۲- گروه شاهد آزمایشگاهی (گروه ویتامین A): به موش های حاملهٔ این گروه در روز ۱۰/۵ حاملگی به میزان IU/kg ۱۵۰۰۰ ویتامین A (ساخت شرکت اسوه ایران) تزریق درون صفاقی انجام شد و هم چنین در روزهای ۱۲-۱۰ حاملگی هر روز به مدت ۴ ساعت (۱۲-۸) در محیط آزمایشگاهی اما فاقد میدان الکترومغناطیسی قرار گرفتند. ۳-گروه تجربی (گروه ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی): به موش های حاملهٔ این گروه در روز۱۰/۵حاملگی به میزان IU/kg ۱۵۰۰۰ ویتامین A تزریق درون صفاقی انجام شد و هم چنین در روزهای ۱۲-۱۰ حاملگی هر روز به مدت ۴ ساعت (۱۲-۸) تحت تاثیر میدان الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین (۵۰Hz) و با شدت ۱۰۰گاؤس قرار گرفتند.

برای تولید میدان الکترومغناطیس مورد نظر از مدار ویژه مولد میدان الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین (۵۰Hz) و شدت ۱۰۰ گاؤس استفاده گردید (طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد توسط بهارآرا، اشرف) برای اطمینان از صحت شدت میدان مغناطیسی محاسبه شده توسط فرمول فوق الذکر پس از برقراری جریان در مدار، با استفاده از گاؤس

متر، شدت میـــدان کنترل شد. با توجه به اینکه فرکانس های ۳۰ تا ۳۰۰ هرتز بیشترین تاثیر را بر بافت های زنده دارند و بسیاری از دستگاه های متداول در زندگی روزمره نظیر لوازم خانگی، با فرکانس ۶۰-۵۰ هرتز کار می‌کنند در این پژوهش فرکانس بسیار پایین (۵۰ هرتز) مورد استفاده قرار گرفت (۱۵). نظر به این که رشد و نمو جوانه های اندام حرکتی جنین موش از حدود روز ۹/۵ بارداری آغاز می شود در این پژوهش برای مشاهده حداکثر تغیرات احتمالی، روز ۱۰/۵ برای تزریق ویتامین و روزهای ۱۲-۱۰ برای تابش دهی با امواج الکترومغناطیس انتخاب گردید (۱۶). پس از انجام تیمار، موش های گروه های فوق الذکر در روز ۱۵/۵ حاملگی توسط کلروفرم بیهوش و سپس تشریح و جنین آنها همراه با رحم از بدن مادر خارج گردید. ۴۵ جنین حاصل از هر یک از گروه ها ابتدا با استرئوفتومیکروسکپ تحقیقاتی (Ziss, Germany) از نظر ریخت شناسی بررسی شدند و سپس اندازه گیری وزن جنین با استفاده از ترازوی دیجیتال (Sarterius, Germany) و طول فرق سری- نشیمنگاهی (CR) با استفاده از کولیس انجام شد. سپس جنین ها در فرمالین تثبیت و در ادامه آبگیری و قالب گیری انجام شد و بوسیله میکروتوم (Microm, Germany) برش های سهمی سریال ۷ میکرونی تهیه شد و به روش هماتوکسیلین- ائوزین هاریس رنگ آمیزی و لام های دایمی تهیه گردید. مقاطع آماده شده توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از گراتیکول خطی پارامترهایی نظیر طول کل و عرض اندام حرکتی، طول منطقه اول (انگشت وکف)، طول منطقه دوم (مچ)، طول منطقه سوم (بازو و ساعد) در اندام حرکتی جلویی و ران و ساق در اندام حرکتی عقبی و بوسیله گراتیکول مشبک تعداد سلول های غضروفی چهار ناحیه انگشتی، کف، مچ، و ناحیه چهارم (ساق وران در اندام حرکتی عقبی و بازو و ساعد در اندام حرکتی جلویی) در اندام حرکتی جلویی و اندام حرکتی عقبی و نیز ابعاد سلول های غضروفی در چهار ناحیه مذکور با استفاده از گراتیکول خطی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های کمی حاصل با آزمون های آماری t-test، آنالیز واریانس یک طرفه و کروسکال والیس در سطح معنی داری P<۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد. مجریان در کلیه مراحل نگهداری حیوان، انجام تیمار و کشتن حیوان به رعایت اصول اخلاقی متعهد بودند.

یافته ها:

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از بررسی نمونه های کنترل و شاهد آزمایشگاهی تفاوتی نشان نداد (P>۰/۰۵). مقایسه میانگین وزن جنین های گروه تجربی نسبت به کنترل و شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). لیکن میانگین طول فرق سری – نشمینگاهی جنین های گروه تجربی نسبت به نمونه های کنترل و شاهد آزمایشگاهی تفاوتی نشان نداد (P>۰/۰۵). مقایسه میانگین عرض اندام حرکتی جلویی، طول کل اندام حرکتی جلویی، طول منطقه ۱ (انگشت و کف)، طول منطقه ۲ (مچ)، طول منطقه ۳ (بازو و ساعد) اندام حرکتی جلویی و همچنین میانگین عرض اندام حرکتی عقبی، طول کل اندام حرکتی عقبی، طول منطقه ۱ (انگشت و کف)، طول منطقه ۲ (مچ)، طول منطقه ۳ (ران و ساق) اندام حرکتی عقبـــی گروه تجربی نسبت به کنترل و شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد (P<۰/۰۱) (جدول شماره ۱). شمارش کندروسیت ها و کندروبلاست ها در اپی فیز انجام و تحت عنوان سلول‌های غضروفی بررسی شد. تعداد سلول های غضروفی مناطق ران و ساق، مچ، کف، انگشتان اندام عقبی در گروه تجربی نسبت به کنترل و شاهد آزمایشگاهی افزایش نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۲). میـــانگین اندازه قطر بلند و قطر کوتاه سلول های غضروفی مناطق چهارگانه

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین طول و عرض اندام های حرکتی بین گروه های مورد مطالعه

متغیر / گروه ها	تجربی	شاهد آزمایشگاهی	کنترل
عرض اندام حرکتی جلوئی	۰/۹٤۷±۰/۰۱۱۲	۱/۰۱۳±۰/۰۰۷۷	۱/۰۱۳±۰/۰۱۱٤
طول کل اندام حرکتی جلوئی	۵/٤٤±۰/۰۹۵	٦/٦۷±۰/۰۵۲	۵/۹۵±۰/۰٦۷
منطقه ۱ در اندام حرکتی جلوئی	۱/۱۳±۰/۰۳۱	۱/۳٦±۰/۰۲٤	۱/۳۷±۰/۰۱۹
منطقه ۲ در اندام حرکتی جلوئی	۰/۲۷±۰/۰۰۷	۰/۳۳±۰/۰۰٦	۰/۳۱±۰/۰۱
منطقه ۳ در اندام حرکتی جلوئی	٤/۰۳±۰/۰۷۵	٤/۹۷±۰/۰۳۷	٤/۲۸±۰/۰٦۹
عرض اندام حرکتی عقبی*	۰/۹٤±۰/۰۱۲	۰/۹۹±۰/۰۱۵	۰/۹٤±۰/۰۲٤
طول کل اندام حرکتی عقبی	۵/٦۸±۰/۰۹۷	٦/۷٤±۰/۰۸۸	٦/۵۹±۰/۰۹۱
منطقه ۱ در اندام حرکتی عقبی**	۱/۳٦±۰/۰۲٤	۱/٤٦±۰/۰٤۱	۱/۵۰۳±۰/۰۱۸
منطقه ۲ در اندام حرکتی عقبی	۰/۸۸±۰/۰۲۰٦	۱/۰۰۳±۰/۰۱۵	۱/۱۰۷±۰/۰۲٤
منطقه ۳ در اندام حرکتی عقبی	۳/٤٤±۰/۰۸۷	٤/۲۷±۰/۰٤۹	۳/۹۸±۰/۰۸۳

*$P>۰/۰۵$ و **$P<۰/۰۱$ و $P<۰/۰۰۱$ در سایر متغیرها بین گروه تجربی و گروه شاهد و کنترل.

-داده ها به صورت "انحراف معیار±میانگین" می باشد.

اندام حرکتی عقبی در گروه تجربی نسبت به کنترل و شاهد آزمایشگاهی تفاوتی نداشت.

تعداد سلول غضروف مناطق بازو و ساعد، مچ، کف، انگشتان اندام حرکتی جلویی در گروه تجربی نسبت به کنترل و شاهد آزمایشگاهی افزایش نشان داد (P<۰/۰۰۱). همچنین میانگین قطر سلول‌های غضروفی منطقهٔ بازو و ساعد و انگشتی اندام حرکتی جلویی در گروه تجربی نسبت به کنترل و شاهد آزمایشگاهی تفاوتی نشان نداد.

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین تعداد سلول های غضروفی بین گروه های مورد مطالعه

متغیر / گروه ها	تجربی	شاهدآزمایشگاهی	کنترل	p-value
تعداد سلول غضروف منطقهٔ بازو و ساعد اندام جلویی	۲۵۷/٦±۰/۱٤۹	۵/۵٤۵±۰/۱۹٦	۵/۵۷۸±۰/۱۳۱	P<۰/۰۱
تعداد سلول غضروف منطقهٔ مچ اندام جلویی	۸/٦۸۸±۰/۱۹۳	٦/٦±۱۵۸۰	۷/۲۲۲±۰/۳۱٦	P<۰/۰۰۱
تعداد سلول غضروف منطقهٔ کف اندام جلویی	۷/۸۰۸±۰/۱۸٤	٦/۳۰۸±۰/۲۷۱	٦/۹۱۱±۰/۱۸۷	P<۰/۰۰۱
تعداد سلول غضروف منطقهٔ انگشتی اندام جلویی	۸/٦۰۸±۰/۲٤۵	٦/۸۸±۰/۱٤٦	۷/٤۱۱±۰/۱۹۲	P<۰/۰۰۱
تعداد سلول غضروف منطقهٔ ران و ساق اندام عقبی	٦/۹۹٤±۰/۲۰۷	٦/۳±۰/۱۳٤	٦/۷۱۸±۰/۲٤٤	P<۰/۰۵
تعداد سلول غضروف منطقهٔ مچ اندام عقبی	۷/۰٦±۰/۲۷۲	۵/۵۱۷±۰/۱۱٦	۵/۷۵۸±۰/۱٤۸	P<۰/۰۵
تعداد سلول غضروف منطقهٔ کف اندام عقبی	۸/۳۱٤±۰/۲٤٤	۷/۰۵۸±۰/۲۲٤	٦/۵٤٤±۰/۲٦٦	P<۰/۰۰۱
تعداد سلول غضروف منطقهٔ انگشتی اندام عقبی	۸/۰۹۹±۰/۲۸۵	٦/٦۵۸±۰/۱٦٦	۷/۷٤٤±۰/۲	P<۰/۰۰۱

- داده ها به صورت "انحراف معیار±میانگین" می باشد.

بحث:

در پژوهش حاضر اثر توام ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱۰۰ گاؤس بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی موش در شرایط in vivo بررسی شده است. نتایج نشان داد که وزن جنین های گروه تجربی کاهش و تراکم سلولی نیز در بافت غضروفی اندام های حرکتی جلویی و عقبی، افزایش یافته است در حالی که ابعاد سلول های غضروفی تجربی و شاهد تفاوتی با یکدیگر نشان ندادند، با توجه به موارد فوق به نظر می رسد در بافت غضروفی اندام های حرکتی نمونه های تجربی ماتریکس خارج سلولی کاهش یافته است. تحقیقات انجام شده بر روی اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر کشت سلول‌های استخوانی مشخص ساخته است که میزان آدنوزین منو فسفات حلقوی در این سلول ها تا ۸۰ درصد کاهش می یابد و چون این ماده یک مهار کننده تکثیر سلولی است پس کاهش آن موجب افزایش سرعت تکثیر سلولی و ایجاد حالت سرطانی می شود (۱۷،۱۴). در سال های اخیر، بین عمل نقل و انتقال یون ها و کانال های یونی تحت تاثیر امواج الکترومغناطیسی در سلول ها و بافت ها ارتباط مستقیم پیشنهاد شده است (۱۵). Parivar و همکاران، علاوه بر تغییرات معنی دار در تکوین جوانه اندام حرکتی، افزایش تعداد سلول های غضروفی را تحت اثر میدان مغناطیسی در شرایط in vitro، گزارش نمودند (۵). همچنین طبق گزارش Miyakoshi، امواج مغناطیسی باعث افزایش آسیب های DNA، اثر روی انتقال یون ها و بیان ژن ها در سلول های کشت شده می شود (۶). Ivancsits با بکارگیری میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر کشت‌های سلولی، اثرات ژنوتوکسیک این میدان ها را گزارش نموده است (۱۸). احتمالاً کاهش وزن جنین ها در پژوهش حاضر ناشی از کاهش طول اندام های حرکتی و کاهش ماتریکس خارج سلولی در بافت غضروفی اندام های حرکتی، تحت اثرات گرمایی امواج الکترومغناطیسی و یا افزایش نفوذپذیری غشا سلول‌ها باشد که این نفوذپذیری می‌تواند انتقال ویتامین A و یا سایر فاکتورها نظیر یون Ca^{2+} را به سلول تحت تاثیر قرار داده و سبب کاهش وزن جنین‌ها شود (۱۵،۴). در حالی که بررسی تغییرات طول فرق سری – نشمینگاهی (CR) بین جنین های گروه تجربی نسبت به گروه های کنترل و شاهد آزمایشگاهی تفاوتی نشان نداد. این سؤال مطرح است که چرا ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی موجب تغییر وزن و تغییراتی در اندام‌های حرکتی جنین های مورد مطالعه گردیده است اما اثر معنی داری بر طول فرق سری – نشیمنگاهی (CR) آن ها نگذاشته است؟ احتمالاً این موضوع به علت زمان تزریق در تحقیق حاضر (روز ۱۰/۵ بارداری) و نیز تفاوت در حساسیت و زمان بحرانی تکوین بخش های متفاوت جنین می باشد و عدم تغییر در CR شاید به دلیل زمان تزریق باشد و یا ممکن است وابسته به دوز بکار رفته ویتامین A (۱۵۰۰۰ IU/Kg) باشد. Quemelo دوز ۷۰mg/kg را به عنوان دوز مؤثر تراتوژن در روزهای ۸، ۷ و ۹ بارداری به صورت تزریق درون صفاقی در موش نژاد Swiss webster گزارش نموده است (۱۲). تحقیق حاضر نشان داده است که تعداد سلول های غضروفی در گروه تجربی نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داشته است که با گزارش Parivar و همکاران مطابقت دارد وی نیز افزایش سلول های غضروفی را در نمونه های تجربی گزارش نموده است (۵). از دیگر نتایج مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار طول و عرض اندام های حرکتی جلویی و عقبی در گروه تجربی نسبت به شاهد می باشد که با پیشنهاد Zusman و همکاران مبنی بر اینکه اثرات القایی میدان های الکترومغناطیسی موجب کاهش سرعت فعالیت های درون سلولی می شود و بدنبال آن فرآیندهای رشد و نموی نیز کاهش می یابد مطابقت دارد (۳). همچنین برخی مطالعات دیگر نیز پیشنهاد می‌نماید که اثرات حرارتی میدان های الکترومغناطیسی باعث تغییر و بی نظمی در متابولیسم

سلولی و در نتیجه کاهش و اختلال رشد و نمو می شود (۱۹). تلاش‌های زیادی برای یافتن مکانیسم عمل میدان های الکترومغناطیسی انجام و پیشنهاد شده است که اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی بر روی گلیکوپروتئین های غشاء سلول می تواند به عنوان عامل اصلی تغییرات رشد و نمو معرفی شود و این سیگنال‌های الکترومغناطیسی در نهایت باعث ایجاد تغییر در هدایت یون کلسیم، سیستم های آنزیمی داخلی سلول، اسکلت سلولی، هسته و دیگر اندامک های سلولی می گردد در نتیجه چون یون کلسیم در سیکل های سلولی نقش اساسی دارد می توان نتیجه گرفت که تغییر در هدایت یون کلسیم می تواند موجب تغییر در زمان سیکل تقسیم سلولی و باعث افزایش نسخه برداری RNA، افزایش سنتز پروتئین و DNA و در نتیجه سرعت بخشیدن به فرآیند تقسیم سلولی گردد (۱۵). Tenforde و Kaune نیز نشان داده است که غشـــاء سلولی به تابش های امواج الکترومغناطیسی پاسخ می‌دهد، وی پیشنهاد کرده است که این امواج تغییرات الکتروشیمیایی را در ترکیبات سطح سلول باعث می شوند و به این ترتیب تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی را در اعمال سلول ایجاد می کنند. همچنین وی گزارش کرده است که میدان های الکترومغناطیسی می‌توانند در فرآیند انتقال اطلاعات از ژن های هسته به کمپلکس های گلیکوپروتئینی سیتوپلاسمی نقش داشته باشند که این فرآیند در تقسیم میتوز نقش موثری را ایفا می‌کند (۲۰). با این وجود نتـــایج بررسی‌های ما نشـــان دهنده افزایش تعداد سلول های غضروفی و عدم تغییر ابعاد سلول های غضروفی در نواحی مختلف اندام‌های حرکتی جلویی و عقبی نمونه های تجربی نسبت به شاهد بود و مشاهده شد که رشد و نمو به موازات محورهای پروکسیمال – دیستال و قدامی خلفی در اندام های حرکتی جلویی و عقبی در نمونه های تجربی کاهش قابل توجهی دارد. ظاهراً مشاهدات ما در این بخش با آن چه در فوق گفته شده متناقض به نظر می‌رســـد اما باید توجه داشت که میدان‌های الکترومغناطیسی موجب افزایش و یا کاهش فرآیند تقسیم سلولی می‌گردد، اما اثر توام آن با ویتامین A می تواند متفاوت و حتی متضاد باشد، زیرا همانطور که قبلاً بیان شد امواج الکترومغناطیس نفوذپذیری غشا سلولی را به فاکتورهای مختلف از جمله ترکیبات اگزوژن و احتمالاً ویتامین A افزایش می دهند (۱۵) و بنابراین به تعویق افتادن فرآیند رشد و نمو در جوانه اندام حرکتی و برخی از فرآیندهای فیزیولوژیک دیگر می تواند ناشی از این اثرات باشد.

نتیجه گیری:

نتایج تحقیق حاضر بیان گر آن است که بکارگیری توام میدان های الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پایین و ویتامین A بر تکوین جوانه اندام حرکتی موش اثر گذاشته و همچنین باعث تاخیر در روند غضروف زایی در اندام های حرکتی موش کوچک آزمایشگاهی می‌شـود. لذا پیشنهاد می‌شود در تجویز های درمانی ویتامین A به ویژه در مورد زنان باردار شاغل در محیط‌های مولد امواج الکترومغناطیس احتیاط های لازم تا انجام تحقیقات بیشتر به عمل آید. هم چنین به نظر می رسد توجه به اثرات تداخل عمل بین ویتامین A و میدان های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پائین و اثرات تاخیری آن بر رشـــد و نمو بافت ها زمینه مطالعاتی مهمی در بهبود روش های درمانی نظیر مهار برخی بافت های سرطانی و بیماری های عضلانی اسکلتی و غضروفی می باشد

تشکر و قدردانی:

از همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست شناسی بویژه سرکار خانم ها سعیده ظفر بالانژاد، سعیده ثمره موسوی و رویا رستمی تقدیر و سپاسگزاری می شود.

منابع:

1.Saito K, Suzuki H, Suzuki K. Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses. Reprod Toxicol. 2006 Jul; 22(1): 118-24.

2.Brent RL. Reproductive and teratology effects of low-frequency electromagnetic fields: a review of in vivo and in vitro studies using animal models. Teratology. 1999 Apr; 59(4): 261-86.

3.Zusman I, Yaffe P, Pinus H, Ornoy PA. Effects of pulsing electromagnetic fields on the prenatal and postnatal development in mice and rats: in vivo and in vitro studies. Teratology. 1990 Aug; 42(2): 157-70.

4.Rooze MA, Hinsenkamp MG. Histochemical modifications induced in vitro by electromagnetic stimulation of growing bone tissues. Acta Orthop Scand Suppl. 1982; 196: 51-62.

5.Parivar K, Kouchesfehani M, Boojar M, Hayati R. Organ culture studies on the development of mouse embryo limb buds under EMF influence. Int J Radiat Biol. 2006 Jul; 82(7): 455-64.

6.Miyakoshi J. The review of cellular effects of a static magnetic field. Sci Direct. 2006; 7(4): 305-7.

7.Zile MH. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. J Nutr. 2001 Mar; 131(3): 705-8.

8.Garcia-Fernandez RA, Perez Martinez C, AlvarezL JE, Navarreted AJ, Carcia-lalesias MJ. Mouse epidermal development: effects of retinoic acid exposure in utero. Vet Dermatol. 2006; 17(1): 36-44.

9.Niederreither K, Vermot J, Schuhbaur B, Chambon P, Dollé P. Embryonic retinoic acid synthesis is required for forelimb growth and anteroposterior patterning in the mouse. Development, 2002 Aug; 129(15): 3563-74.

10. Mic FA, Molotkov A, Fan X, Cuenca AE, Duester G. Gene expression pattern. Sci Direct. 2000; 97(1-2): 227-30.

11. Mohanty C, Singh G. Teratogenic effects of intra-amniotic vitamin A on rat fetus. J Anat Soc India. 2000; 49(1): 43-5.

12. Quemelo PR, Lourenço CM, Peres LC. Teratogenic effects of retinoic acid in Swiss mice. Acta Cir. Bras. 2007; 22(6): 451-6.

13. Rezaie N, Hashemi M, Khalilian Al, Esmaielnejad moghaddam A. [Teratogenic effects of Vitamin A on organs development of mouse. J Mazandaran Med Sci Univ. 2001; 31: 16-24.]Persian

14. Ramey DW. Magnetic and electromagnetic therapy. Sci Rev Alt Med. 1998; 2(1): 13-19.

15. Pomerai D, Daniells C, David H, Allan J, Duce I, Mutwakil M. Cell biology: non-thermal heat-shock response to microwaves. Nature. 2000; 405: 417-18.

16. Parivar K, Mohseni Kochesfahanie H. [Emberyology Atlas. Tehran: Jahad-e-Daneshgahi of Tarbiat Moaalem University Pub; 2003.]Persian

17. Funk RH, Monsees TK. Monsees. Effects of electromagnetic fields on cells: physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction. Cells Tissues Organs. 2006; 182(2): 59-78.

18. Ivancsits S, Pilger A, Diem E, Jahn O, Rudiger HW. Cell type-specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. Mutat Res. 2005 Jun; 583(2): 184-8.

19. Rubik B. BEMS symposium explores mechanisms for ELF electromagnetic bioeffects. Front Perspect. 1991; 2(2): 1-24.

20. Tenforde TS, Kaune WT. Interaction of extremely low frequency electric and magnetic fields with humans. Health Phys. 1987 Dec; 53(6): 585-606.

Accepted: 23/Jan/2010 *Received: 7/July/2009*

Synergistic effects of vitamin A and extremely low frequency electromagnetic field (50HZ) on limb bud development in Balb/c mouse

Baharara J (PhD)*[1], Ashraf AR (PhD)*, Madadi-Emamchay M (MSc)**

Assistant professor, Biology Dept., Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran, **Assistant professor, Medical Physics Dept., Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran,*Biology Dept., Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.*

Background and aim: Vitamin A is involved in vertebrate morphogenesis, growth, cellular differentiation, and tissue homeostasis. Vitamin A and its metabolites are essential for adequate embryo development. Electromagnetic fields (EMFs) have been used effectively to treat some diseases, such as certain musculoskeletal and chondrogenic disorders. In the present study, we aimed to investigate the synergistic effects of EMFs and Vitamin A on limb bud development in Balb/C mice in vivo.

Methods: The Balb/C mice were used as experimental model. After mating, the pregnant mice were divided randomly into 3 groups as control, sham and experimental groups. Control and experimental groups received a single dose injection of Vitamin A (15000IU/Kg) on 10.5th gestational day, interaperitonealy. In addition, animals in experimental group were exposed to EMFs (50 Hz /100 gauss, for 4 h during three days). The animals were killed on the 15.5th day of gestation and were submitted to caesarian section. The obtained fetuses were examined externally with an analyzed under a stereoscopic microscope and were photographed. Data were analyzed statistically by t-test and ANOVA and Ktuskal- Wallis.

Results: Morphological and histological examinations showed significant changes in limb buds as compared with sham exposed and control groups. In both fore and hind limb buds significant decrease obtained in proximo-distal (P-D) and anterior posterior (A-P) axes ($P<0.05$). Chondrocytes counts revealed a significant delay in the development of chondrocytes in experimental groups as compared with sham exposed and control groups ($P<0.05$).

Conclusion: Synergistic effects of vitamin A and extremely low frequency electromagnetic field (50Hz) cause delay in development.

Keywords: **Chondrogenesis, Electromagnetic field, Limb bud, Vitamin A.**

[1]***Corresponding author:***
Vice chancellery for research Islamic Azad University, Emameah 42, ghasemabad, Mashhad, Iran.
Tel: 0511-6223137
Email:baharara@yahoo.com