

اثر مهاری میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر آنژیوزنز در پرده کوریوالانتونیک جوجه

مقاله پژوهشی

جواد بهارآرا^۱، علیرضا اشرف^۲، سعیده ظفربالانژاد^۳، سعیده ثمره موسوی^۳

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۲/۴

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

۲. استادیار گروه فیزیک پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

۳. مربی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

چکیده

زمینه و هدف: مهار آنژیوزنز از اهداف اصلی درمان سرطان و برخی بیماری‌ها محسوب می‌گردد. اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر جنبه‌های مختلف رشد و نموسلولی، نظیر تقسیم سلولی مورد مطالعه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر نقش میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر مهار آنژیوزنز در پرده کوریوالانتونیک جوجه بررسی گردید.

مواد و روش کار: در این پژوهش تجربی تعداد ۶۰ عدد تخم مرغ نطفه دار Ross به طور تصادفی به چهار گروه مساوی شاهد، گروه آزمون یک (۱۰۰ گاؤس)، گروه آزمون دو (۲۰۰ گاؤس) و گروه آزمون سه (۳۰۰ گاؤس)، تقسیم شدند. در روز دوم انکوباسیون روی تخم مرغ‌ها پنجره‌ای ایجاد و در روز هشتم، یک اسفنج ژلانی (حاوی آلومین و محلول آگار در نرمال سالین و سرم جنینی گاو) به آن اضافه شد. در روز دهم انکوباسیون تخم مرغ‌های گروه‌های آزمون به دستگاه جوجه کشی متصل به سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز (شدت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ گاؤس) منتقل شدند. روز دوازدهم از تمام نمونه‌ها به کمک فتواسترئومیکروسکوپ تحقیقاتی عکس تهیه و تعداد و طول انشعابات عروقی روی پرده کوریوالانتونیک به کمک نرم افزار Image J اندازه گیری شد. داده‌های کمی حاصل به کمک نرم افزار SPSS-15 و آزمون‌های آماری t و ANOVA در سطح $p < 0.05$ تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین تعداد و طول انشعابات عروقی در گروه‌های آزمون یک و سه نسبت به شاهد تفاوتی نشان نداد ($p > 0.05$). در حالی که میانگین تعداد ($29 \pm 6/14$) و طول انشعابات عروقی ($42/22 \pm 5/96$ سانتی متر) در گروه آزمون دو نسبت به میانگین تعداد ($39/62 \pm 7/75$) و طول انشعابات عروقی ($51/93 \pm 7/75$ سانتی متر) در گروه شاهد کاهش معنی داری نشان داد ($p = 0/01$).

نتیجه گیری: میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و شدت ۲۰۰ گاؤس دارای اثر مهاری بر آنژیوزنز در پرده کوریوالانتونیک جوجه است و تعداد و طول انشعابات عروقی را کاهش می‌دهد؛ لذا کاربری توأم آن با روش‌های شیمی درمانی جهت درمان بیماری‌های مرتبط با آنژیوزن می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. [م ت ع پ ز، ۱۲ (۲): ۱۲-۸]

کلید واژه‌ها: آنژیوزنز، میدان الکترومغناطیسی، جوجه

مقدمه

مورد توجه محققین و متخصصان می‌باشد، یکی از این روش‌ها استفاده از میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم می‌باشد.^۵ برخی تجربیات انجام شده، بیانگر کاهش آنژیوزنز در سیاهرگ‌ها و تومورهای سینه‌ای و یا افزایش آنژیوزنز در ناحیه زیر پوست موش‌های صحرانی و سیاهرگ‌های شکمی انسان تحت تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی می‌باشند.^{۷-۹}

تغییر در بیان ژن، کنش متقابل و ارتباطات سلولی از جمله مواردی هستند که تحت تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی قرار گرفته و باعث اختلال در آنژیوزنز می‌شوند.^{۱۰-۱۲} انتشار گزارش‌های متعدد ضد و نقیض در مورد اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی بر آنژیوزنز، به علت تعدد پارامترهای تاثیرگذار نظیر شدت، فرکانس و نوع میدان الکترومغناطیسی می‌باشد لذا هرگونه نتیجه‌گیری دقیق در مورد اثرات امواج الکترومغناطیسی بر آنژیوزنز نیاز به بررسی کافی در مورد شاخص‌های فوق الذکر دارد. با توجه به محدودیت مطالعات انجام شده در مورد نقش تغییرات شدت میدان الکترومغناطیسی بر آنژیوزنز، در مطالعه حاضر به بررسی اثر شدت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گاؤس میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر آنژیوزنز پرده کوریوالانتونیک جوجه پرداخته شده است.

واسکولوزنز فرایند بیولوژیکی است که در طی تمایز جنین رخ می‌دهد و رگ‌های خونی جدید از سلول‌های آندوتلیال منشاء می‌گیرند، این فرآیند با آنژیوزنز که در آن رگ‌های خونی جدید از رگ‌های خونی قبلی به وجود می‌آیند متفاوت است؛ آنژیوزنز طبیعی برای تمایز موفق جنین ضروری است.^{۱۳} تکثیر و مهاجرت سلولی که از اولین وقایع آنژیوزنز می‌باشند منجر به بازآرایی مجدد فیبرهای اکتیینی (فیلامان‌های طولی که منجر به کشیده شدن سلول شده و توسط عوامل چسبندگی سلولی، سلول را به ماتریکس خارجی آن متصل می‌نمایند) می‌شوند.^{۳،۴} در بسیاری از بیماری‌های پاتولوژیک نظیر (تومورهای پیشرفته، متاستاز، ورم مفاصل، تصلب شرائین) و بسیاری از بیماری‌های دیگر آنژیوزنز به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد. لذا استفاده از داروهایی که بتواند رگ‌زایی را تحت کنترل قرار دهد روش شایعی جهت درمان این بیماری‌ها محسوب می‌شود.^{۵،۶} روش‌های معمول درمان در این گونه بیماری‌ها، تزریق دارو به دیواره خارجی رگ‌های خونی می‌باشد که این امر نه تنها منجر به انقباض رگ‌های خونی سالم می‌گردد، بلکه دردناک نیز هست و تاثیر کافی بر روی مهار آنژیوزنز ندارد. امروزه ابداع و استفاده از روش‌های درمانی مؤثرتر

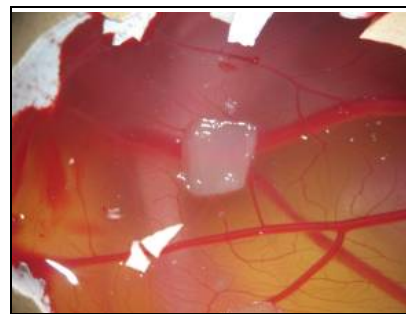
روش کار

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد به مدت ۱۲ ماه طی سال‌های ۸۸-۸۷ انجام شده است. در این مطالعه از تخم مرغ‌های نطفه‌دار نژاد Ross، تهیه شده از شرکت مرغداران طوس مشهد به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد. از آن‌جا که پرده کوریوآلانتوییک از روز پنجم انکوباسیون شروع به تشکیل نموده و در روز هشتم بیش از نیمی از وسعت درون تخم مرغ را اشغال می‌کند و هم‌چنین در این روز قلب کاملاً تشکیل و جدایی خون سیاهرگی و سرخرگی اتفاق می‌افتد، لذا بررسی شبکه عروقی در روز هشتم انکوباسیون مورد توجه قرار گرفت، روز دهم انکوباسیون برای تیمار با میدان الکترومغناطیسی و دوازدهم برای عکس‌برداری و اندازه‌گیری انتخاب شد.^{۱۳} تعداد ۶۰ عدد تخم مرغ نطفه‌دار در چهار گروه مساوی به صورت تصادفی تقسیم شدند. تخم مرغ‌های گروه شاهد تا روز دوازدهم جنینی بدون تیمار در دستگاه جوجه کشی قرار داده شدند؛ تخم مرغ‌های گروه‌های آزمون یک، دو و سه در روز دهم انکوباسیون به مدت سه ساعت به ترتیب در میدان الکترومغناطیسی با شدت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گاؤس قرار داده شدند. تخم مرغ‌های نطفه‌دار در دستگاه جوجه کشی (دامدشت، ایران) با دمای 38°C و رطوبت نسبی ۷۰-۶۵ درصد قرار داده شدند. در روز دوم انکوباسیون در شرایط کاملاً استریل ایجاد شده توسط هود لامینار (Telsrar AV-100, Spain) بخشی از پوسته تخم برداشته شد و توسط لامل و پارافین استریل (فارا، ایران) پنجره‌ای روی یک طرف تخم مرغ‌ها ایجاد گردید. سپس تخم مرغ‌ها به انکوباتور منتقل و در روز هشتم انکوباسیون پنجره‌ها در شرایط استریل برداشته شد و روی پرده کوریوآلانتوییک جوجه‌ها یک اسفنجه ژلاتینی (ترکیبی از آلبومین سفیده

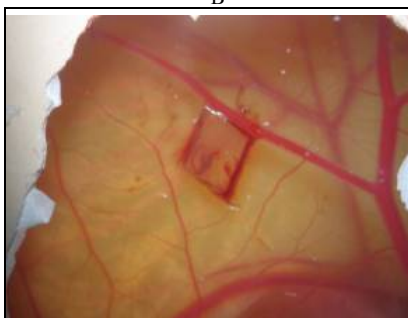
تخم مرغ و محلول آگار در نرمال سالین به نسبت مساوی که به صورت تازه در شرایط استریل تهیه می‌شد) به ابعاد $4 \times 4 \times 1$ میلی‌متر قرار داده شد. هم‌چنین به هر اسفنجه مقدار پنج میکرولیتر محلول سرم جنین گاوی (Germany, Sigma) اضافه شد. سپس محل پنجره مجدداً پوشانده و تخم مرغ‌ها به انکوباتور برگردانده شدند. در روز دهم انکوباسیون تخم مرغ‌های گروه‌های آزمون یک، دو و سه به دستگاه جوجه کشی متصل به سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز با شدت مورد نظر منتقل گردیدند. دستگاه مذکور در آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد طراحی، ساخته و توسط گاؤس متر کالیبره گردید که قادر به ایجاد میدان الکترومغناطیسی با شدت‌های ۲۵ تا ۴۰۰ گاؤس است. تخم مرغ‌ها به مدت سه ساعت در این سیستم قرار گرفتند. در روز دوازدهم انکوباسیون در تمامی گروه‌ها از محدوده محل قرارگیری اسفنجه ژلاتینی به کمک استرنوئوفتومیکروسکوپ (Ziess, Germany) تصویری با درشتنمایی $4 \times 10 \times 65$ تهیه شد. تصاویر با برنامه فتوشاپ در یک مانیتور ۱۵ اینچ (BenQ, Iran) مورد بررسی قرار گرفتند. متغیرهای مورد بررسی عبارت بودند از تعداد و طول انشعابات عروقی که در سطح مقطع یکسان (چهارمربع به ابعاد سه سانتی‌متر در چهار طرف اسفنجه ژلاتینی) روی تصویر مانیتور برای تمام نمونه‌ها به کمک نرم افزار Image J اندازه‌گیری شد (شکل ۱). با توجه به اینکه پرده کوریوآلانتوییک یک ساختار آناتومیکی قرص مانند و پهن با ضخامت ۴۰۰ میکرومتر است، تمام عروق موجود در مربع‌های ذکر شده قابل شمارش بوده و در اندازه‌گیری‌ها منظور گردیدند. به جهت جلوگیری از خطا در تمام مربع‌ها سه بار اندازه‌گیری انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری t مستقل و ANOVA در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل شد.



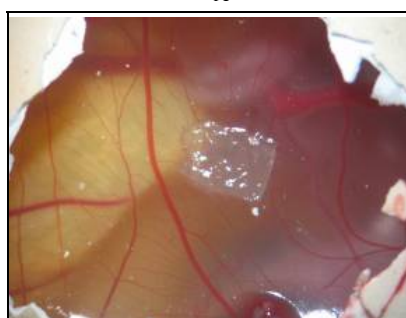
B



A



D

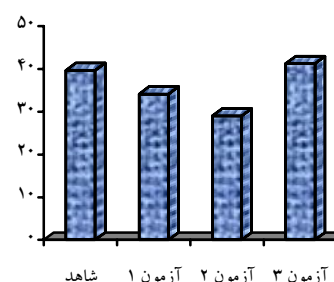


C

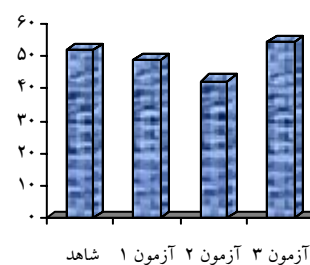
شکل ۱: A: نمونه شاهد که فقط با سرم جنینی گاوی (FCS) تیمار شده است. افزایش تعداد رگ‌های فونی تازه تشکیل شده در اطراف اسفنجه ژلاتینی مشاهده می‌شود. B: FCS+EMF (100). C: FCS+EMF (300) میدان الکترومغناطیس با شدت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ گاؤس قادر به کاهش آنژیوزنز نبوده اند. D: FCS+EMF (200) کاهش آنژیوزنز در پاسخ به شدت میدان ۲۰۰ گاؤس.

یافته‌ها

مقایسه میانگین تعداد (۳۴/۱۳±۴/۵۵) و طول انشعابات عروقی (۴۸/۶۵±۶/۳۲) در گروه آزمون یک (۱۰۰ گاؤس) نسبت به میانگین تعداد (۳۹/۶۲±۷/۷۵) و طول انشعابات عروقی (۵۱/۹۳±۷/۷۵) در گروه شاهد تفاوتی نشان نداد ($p>0.05$). در حالی که میانگین تعداد (۲۹/۶±۱/۴) و طول انشعابات عروقی (۴۲/۲۲±۵/۹۶) در گروه آزمون دو (۲۰۰ گاؤس) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار نشان داد ($p=0.01$). میانگین تعداد (۴۱/۲۵±۷/۱۹) و طول انشعابات عروقی (۵۴/۱۴±۴/۸۱) نیز در گروه آزمون سه (۳۰۰ گاؤس) نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی دار نشان نداد ($p>0.05$) (نمودار ۱).



میانگین تعداد انشعابات عروقی



میانگین مجموع طول انشعابات عروقی

نمودار ۱: میانگین تعداد و طول انشعابات (برماسب میلی-متر) در گروه‌های آزمون ۱، ۲، ۳ و شاهد.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میدان الکترومغناطیسی با شدت ۱۰۰ و ۳۰۰ گاؤس اثری بر تعداد و طول انشعابات عروقی در پرده کوریوآلاتوئیک جوجه ندارد در حالی که میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلاتوئیک جوجه اثر مهاری دارد. به‌طور کلی آنژیوژنز نقش مؤثری در فرآیندهایی مانند تمایز جنینی، پاتولوژی و فیزیولوژی زخم، دارد و از طرفی نقش سرم جنین گاوی به‌عنوان یک ماده مغذی حاوی فاکتورهای رشد موش در آنژیوژنز به اثبات رسیده است.^۳ بررسی میزان آنژیوژنز در نمونه‌های شاهد که فقط تحت تأثیر سرم جنین گاو قرار گرفتند بیان گر آن است که این ترکیب باعث پاسخ شدید

رگ‌زایی در پرده کوریوآلاتوئیک جوجه می‌شود. این یافته، همسو با تجربیات قبلی است که سرم جنین گاوی را به‌عنوان ترکیب حاوی فاکتورهای رشد مؤثر در آنژیوژنز می‌دانند.^۳ البته تحقیقات دیگر نیز در زمینه فاکتورهای رشد سرم جنین گاو نشان داده است که این ترکیب حاوی موادی نظیر آراشیدونیک اسید است که می‌تواند به‌عنوان یک پیامبر ثانویه در آبشار وقایع آنژیوژنز دخالت داشته باشد.^{۱۳} اثر امواج الکترومغناطیسی بر آنژیوژنز قبلاً شناسایی شده است. Ruggerio به مهار معنی‌دار آنژیوژنز توسط میدان الکترومغناطیسی با شدت ۰/۲ تسلا اشاره نموده است.^{۱۴} Tepper نیز افزایش هفت برابری رگ‌زایی در سلول‌های سیاهرگ بندناف را گزارش نموده است.^{۱۵،۱۶} هم‌چنین Okano نشان داد که میدان‌های الکترومغناطیسی استاتیک در محدوده ۱-۱۰۰۰ میلی تسلا تشکیل عروق خونی را تشدید می‌نماید.^۶ نتایج تحقیق حاضر نشان‌داد، شدت میدان الکترومغناطیسی یک فاکتور بسیار مهم در تأثیرگذاری بر آنژیوژنز می‌باشد چراکه شدت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ گاؤس اثری بر این فرآیند ندارد لیکن شدت ۲۰۰ گاؤس دارای اثر مهاری بر آنژیوژنز می‌باشد. در مقایسه این پژوهش با تحقیقاتی که در گذشته انجام شده‌اند، توجه به این مطلب ضروری است که شکل موج مورد استفاده در این مطالعه سینوسی بوده است و به علاوه این تحقیق بر روی آنژیوژنز در پرده کوریوآلاتوئیک جوجه انجام شده است. در بسیاری موارد اثرات بیولوژیک امواج الکترومغناطیسی را به نیتریک اکساید (NO) مربوط می‌دانند. نیتریک اکساید به‌عنوان عامل تغییر قطر رگ‌های خونی معرفی شده است،^{۱۴} در عین حال غشاء سلولی، DNA هسته‌ای و میکروتوبول‌ها نیز تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی قرار می‌گیرند.^{۱۷}

تغییر بیان ژن، جهت‌یابی سلولی و واکنش سلول-سلول عواملی هستند که احتمالاً منجر به ایجاد اختلال در توازن سیگنال‌های مؤثر بر آنژیوژنز می‌شوند بدون آنکه تأثیری بر روند تمایز جنینی داشته باشند.^{۸،۱۰} جنین‌های گروه‌های آزمون که تحت تأثیر امواج قرار داشتند در تمامی مراحل تمایز جنینی مشابه جنین‌هایی بودند که فقط توسط سرم جنین گاوی تیمار شده بودند. این نتیجه همسو با نتایج حاصل از برخی تحقیقات قبلی است، در این گزارش‌ها هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در میزان مرگ و میر و یا مراحل تمایز جنینی به علت قرارگیری جنین‌های جوجه تحت میدان‌های الکترومغناطیسی با شدت‌های بیشتر از ۴ تسلا مشاهده نشد.^{۱۸} تجربیات قبلی نشان داده است که رگ‌زایی جنینی (واسکولوژنز) در طی مراحل رشد و نمو جنینی تحت تأثیر امواج مغناطیسی قرار نمی‌گیرد، لیکن می‌تواند جهت درمان افزایش رگ‌زایی پس از تولد (آنژیوژنز) در نتیجه کم‌خونی‌های بافتی و هم‌چنین مهار اثرات نامطلوب ناشی از تحریک کننده‌های رگ‌زایی مورد توجه قرار گیرد.^{۱۹-۲۱} میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاؤس دارای اثر مهاری بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلاتوئیک جوجه است و تعداد و طول انشعابات عروقی را کاهش می‌دهد لیکن شدت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ گاؤس تأثیری بر آنژیوژنز ندارند. از آن‌جا که استفاده از میدان‌های الکترومغناطیسی به‌دلیل عدم نیاز به جراحی و امکان گردآوری در یک مکان نه چندان بزرگ آسان است و هم‌چنین شواهدی نیز دال بر اثرات تخریبی بر DNA توسط این میدان‌ها وجود ندارد،^{۲۲} لذا کاربری توأم میدان‌های الکترومغناطیسی با شدت

۲۰۰ گاؤس و روش‌های شیمی درمانی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که هزینه‌های

اجرای این طرح پژوهشی با شماره ۲۴۰۷۷/۱ را متقبل شدند و نیز همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست‌شناسی تقدیر و تشکر می‌شود.

References

- 1- Yancopoulos GD, Klagsbrun M, Folkman J. Vasculogenesis & angiogenesis and growth factors: Ephrins enter the fray at the border cell. *Cell* 1998; 93(5): 661-664.
- 2- Flamme I, Frolich T, Risau W. Molecular mechanisms of Vasculogenesis and embryonic angiogenesis. *J Cell Physiol* 1997; 173(2): 206-210.
- 3- Ridely AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992; 70(3): 389-399.
- 4- Lauffenburger DA, Horwitz AF. Cell migration: A physically integrated molecular process. *Cell* 1996; 84(3): 359-369.
- 5- Quesada AR, Munoz-Chapuli R, Medina. Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. *Med Res Rev* 2006; 26(4): 483-530.
- 6- Balanejad S, Parivar K, Baharara J and Koochesfahani H. [The effect of rapamycin on angiogenesis in chick chorioalantoic membrane] Persian. *J Arak Univ Med Sci* 2009; 12(1): 73-80.
- 7- Williams CD, Markov MS, Hardman WE and Cameron IL. Therapeutic electromagnetic field effects on angiogenesis and tumor growth. *Anticancer Res* 2001; 21(6A): 3887-3892.
- 8- Ribatti D, Vacca A, Roncali L and Dammacco F. The chick embryo chorioalantoic membrane as a model for in vivo research on angiogenesis. *Int J Dev Biol* 1996; 40(6): 1189-1197.
- 9- Higashi T, Yamagishi A, Takeuchi T. Orientation of erythrocytes in a strong static magnetic field. *Blood* 1993; 82(4): 1328-34.
- 10- Pacini S, Vannelli GB, Barni T, et al. Effect of 0.2 T static magnetic field on human neurons: Remodeling and inhibition of signal transduction without genome instability. *Neurosci Lett* 1999; 267(3): 185-188.
- 11- McKay JC, Prato FS, Thomas AW. A literature review: the effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bioelectromagnetics* 2007; 28(2): 81-98.
- 12- Lin H, Blank M, Rossol-Haseroth K and Goodman R. Regulating genes with electromagnetic response elements. *J Cell Biochem* 2001; 81(1): 143-148.
- 13- Ruggiero M, Bottaro DP, Liguri G, et al. 0.2T Magnetic field inhibits angiogenesis in chick embryo chorioalantoic membrane. *Bioelectromagnetics* 2004; 25(6): 390-396.
- 14- Yokoyama M, Miwa H, Maeda S, et al. Influence of fetal calf serum on differentiation of mesenchymal stem cells to chondrocytes during expansion. *J Biosci Bioeng* 2008; 106(1): 46-50.
- 15- Tepper OM, Callaghan MJ, Chang EI. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2. *FASEB J* 2004; 18(11): 1231-1233.
- 16- Okano H, Tomita N, Ikada Y. Effects of 120 mT static magnetic field on TGF-B1-inhibited endothelial tubular formation in vitro. *Bioelectromagnetics* 2007; 28(6): 497-499.
- 17- Kavaliers M, Choleris E, Prato F and Ossenkopp K. Evidence for the involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase in the modulation of opioid-induced antinociception and the inhibitory effects of exposure to 60-Hz magnetic fields in the land snail. *Brain Res* 1998; 809(1): 50-57.
- 18- Emura R, Ashida N, Higashi T and Takeuchi T. Orientation of bull sperms in static magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2001; 22(1): 60-65.
- 19- Callaghan MJ, Chang EI, Seiser N. Pulsed electromagnetic fields accelerate normal and diabetic wound healing by increasing endogenous FGF-2 release. *Plast Reconstr Surg* 2008; 121(1): 130-141.
- 20- Haddad JB, Obolensky AG, Shinnick P. The biological effects and therapeutic mechanism of action of electric and electromagnetic field stimulation on bone and cartilage: New findings and a review of earlier work. *Altern Complement Med* 2007; 13(5): 485-490.
- 21- Carlo AL, Mullins JM, Litovitz TA. Thresholds for electromagnetic field-induced hypoxia protection: evidence for a primary electric field effect. *Bioelectrochem* 2000; 52(1): 9-6.

The inhibitory effect of low frequency electromagnetic field (50Hz) on angiogenesis in chorioalantoic membrane of chick

Javad Baharara¹, Ali R Ashraf², Saideh Balanejad³, Saideh Samareh-Mosavi³

Received: 13/Oct/2009

Accepted: 23/Feb/2010

Background: Inhibition of angiogenesis is a major target in the fight against cancer and other diseases. The effects of electromagnetic fields on cell development and growth have been investigated. In this research we investigated the effects of electromagnetic fields with 100, 200 & 300 gauss on angiogenesis in chorioalantoic membrane of chick embryos.

Materials and Methods: Ross fertilized eggs were used that divided in 4 random groups: 1)control, 2)experimental 1, treated with 100G electromagnetic field 3)experimental 2, treated with 200G electromagnetic field and 4)experimental 3, treated with 300G electromagnetic field. In day 2 of incubation a window was opened on eggs in sterile condition, then in day 8 a gelatin sponge was occurred on chorioalantoic membrane and was soaked with 5 μ l FCS. Members of groups 2 were transferred into electromagnetic field (100G), group 3(200G) and group 4(300G) in day 10. In 12th day all cases were photographed by photo-stereomicroscope. The numbers and lengths of vessels around the sponges were measured and compared with each other by *t*-test & ANOVA ($p<0.05$).

Results: In this study we reported that, no significant vascular reaction was detectable; 3 hr exposure to 100,300G electro magnetic fields did not affect on angiogenesis but 200G electromagnetic field inhibited angiogenesis in chorioalantoic membrane.

Conclusion: For this reasons absence of adverse effects on embryo development and absence of mutagenic effects, exposure to 200G electromagnetic field could be proposed as a safe and cost-effective treatment of human diseases involving excessive angiogenesis. [ZJRMS, 12(2):8-12]

Keywords: Angiogenesis, electromagnetic field, chick

1. Assistant Professor, Dept. of Biology, School of Sciences, Islamic Azad University Mashhad branch, Mashhad, Iran.

2. Assistant Professor, Dept. of Physics, School of Sciences, Islamic Azad University Mashhad branch, Mashhad, Iran.

3. Instructor, Dept. of Biology, School of Sciences, Islamic Azad University Mashhad branch, Mashhad, Iran.