

بررسی آثار میدان الکترومغناطیسی بر رشد جوانه‌های اندام حرکتی فوقانی و تحتانی جنین موش نژاد Balb/C در شرایط *in vitro*

کاظم پریور، هما محسنی کوچصفهانی، مسعود مشهدی اکبربوجار، نسیم حیاتی رودباری:
دانشگاه تربیت معلم تهران

چکیده

در خلال دوده گذشته، میدان‌های الکترومغناطیسی در درمان بیماری‌هایی نظیر بیماری‌های ماهیچه‌ای- اسکلتی و غضروفی کاربرد وسیعی داشته است. به منظور بررسی تأثیر میدان‌های الکترومغناطیسی بر مراحل تکوین جوانه‌های اندام حرکتی ($n=70$)، روش کشت جوانه اندام حرکتی جلویی و عقبی برای اولین بار در ایران، در آزمایشگاه زیست‌شناسی تکوینی گروه زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران راه‌اندازی گردید. با استفاده از روش گرید^۱ در محیط کشت Eagle's MEM^۲، در فاز بین محیط کشت مایع و هوا، و در $37 \pm 0.1^\circ \text{C}$ ، جوانه‌ها انکوبه شدند. بدین منظور، تکوین سه گروه از جوانه‌های اندام حرکتی (کنترل، شم و آزمایشی) مورد بررسی قرار گرفتند. جوانه‌های مربوط به دو گروه آزمایشی و شم، در روز ۱۱/۵ رشد و نمو جنینی، از بدن موش‌ها جدا گشتند و به مدت دو روز در شرایط مذکور انکوبه شدند؛ در این مدت، گروه‌های آزمایشی برای دو ساعت تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ Hz و شدت ۱۳۱ گوس قرار گرفتند، گروه‌های کنترل در روز ۱۳/۵ رشد و نمو جنینی از بدن قطع شدند. مطالعات مورفولوژیکی و هیستولوژیکی نمونه‌ها در قبل و پس از قطع‌گیری و رنگ‌آمیزی بافت‌ها، نشان دهنده تغییرات معنی‌دار ($P<0.001$ ، $P<0.01$ ، $P<0.05$) در تکوین جوانه‌های اندام حرکتی گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل بود، به طوری که رشد و نمو به موازات محورهای دور- نزدیک^۳ و قدامی - خلفی^۴ در اندام حرکتی جلویی و عقبی در گروه‌های آزمایشی معنی‌دار بود ($P<0.001$) و تعداد سلول‌های غضروفی، سلول‌های درحال تقسیم و گلبول‌های قرمز خون نیز افزایش معنی‌داری ($P<0.001$)، $P<0.01$ و $P<0.05$) را در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه‌های کنترل و شم از خود نشان دادند، در حالی که به علت تمایز به سلول‌های غضروفی، تعداد سلول‌های مزانشیمی کاهش معنی‌داری ($P<0.001$ ، $P<0.01$ و $P<0.05$) را در گروه‌های آزمایشی داشتند. ولی، تفاوت معنی‌داری در تعداد سلول‌های دژنره شده در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه‌های کنترل و شم مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان دهنده اثر تمایزی و رشد و نموی میدان الکترومغناطیسی بر رشد جوانه‌های اندام حرکتی در شرایط *in vitro* است.

۱-grid technique

۲- Eagle's minimum essential medium

۳-proximo-distal (P-D)

۴-anterio-posterior (A-P)

مقدمه

از ابتدای حیات، موجودات خود را با میدان‌های الکترومغناطیسی طبیعی وفق داده‌اند. میدان‌های طبیعی با فرکانس پایین از دو منبع اصلی: (۱) فعالیت‌های خورشیدی و (۲) رعد و برق منشأ می‌گیرند. علاوه بر این، کره زمین نیز دارای میدان مغناطیس استاتیکی است، اما در صد سال اخیر، میدان‌های ساخت بشر با شدت‌های بالاتر و دامنه طیف‌های متفاوت، این میدان‌های طبیعی را متغیر ساخته‌اند [۱].

امروزه، میدان‌های الکترومغناطیسی برای ترمیم جراحات بدن (استخوان) مورد استفاده قرار می‌گیرند. لندری^۱ و همکاران (۱۹۹۷) با بررسی اثر تحریکی میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۶۰ Hz و شدت یک گوس (۱ G) بر تمایز و تکثیر ضریع استخوان زند زیرین Rat، ۱۴-۱ روز پس از جراحی تخریبی دریافتند که این میدان باعث تحریک استخوان‌سازی و سرعت بخشیدن به تمایز استئوبلاست‌ها می‌گردد [۲]؛ همچنین، اثر میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس‌های ۱۵، ۷۵، و ۱۵۰ Hz نیز بر رشد و نمو زند زیرین ۳۰ بوقلمون بالغ نر توسط مک لود^۲ و همکاران (۱۹۹۲) مورد بررسی قرار گرفت و اثر این میدان بر حفظ و بقای استخوان در بیماری‌های استخوانی به اثبات رسید [۳]. موارد ذکر شده در *in vivo* انجام پذیرفته اما مواردی وجود دارد که آثار میدان‌های الکترومغناطیسی بر رشد و تکثیر سلول‌های مختلف جانوری در *in vitro* نیز بررسی شده است.

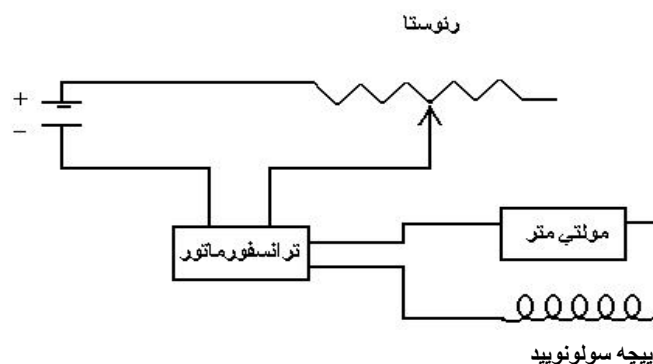
مطالعات بر خرگوش‌ها که در معرض میدان الکترومغناطیسی (۲G, ۱۵/۴Hz) قرار گرفته‌اند، افزایش در میزان هورمون پاراتیروئید نشان می‌دهند، بدون این که افزایشی در رشد سلول‌ها دیده شود [۴]. مطالعه‌ی سلول‌های بلاستمایی جوانه اندام حرکتی جنین ۱۲ روزه Rat نشان داد که میدان الکترومغناطیسی (با فرکانس بالا) اثر آنابولیکی بر سلول‌های غضروف‌ساز در شرایط *in vitro* دارد [۵]. این نتایج نشان می‌دهند که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌توانند اثر تحریکی بر رشد و تمایز استخوان و غضروف داشته باشند، اما اثر مستقیم این میدان بر مراحل ابتدایی رشد و نمو جوانه اندام حرکتی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. به همین منظور، با وجود این که کارهای اندکی با استفاده از سیستم کشت *in vitro* در رابطه با کشت اندام جوانه اندام حرکتی صورت گرفته است، در ایران نیز تا کنون این تکنیک مورد استفاده قرار نگرفته است، لذا برای اولین بار این سیستم راه‌اندازی شد و اثر میدان الکترومغناطیسی بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی جنین موش در شرایط کشت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

دستگاه‌های طراحی شده برای ایجاد میدان الکترومغناطیسی شامل مولتی‌متر، ترانسفورماتور، بوبین (پیچه) سولنویید، رئوستا و سیم‌های رابط بود. طراحی، ساخت و راه‌اندازی دستگاه‌های ذکر شده در آزمایشگاه زیست‌شناسی تکوینی دانشگاه تربیت معلم تهران انجام گرفت. برای برق ورودی نیز از جریان برق شهری

^۱-Landry ^۲-McLeod

(۲۲۰ ولت) استفاده گردید. با استفاده از ترانسفورماتور کاهنده، برق ۲۲۰ ولت شهر و شدت جریان ۱۵ آمپر به ولتاژ ۴۰ ولت و شدت جریان ۲ آمپر تبدیل گردید. همچنین، شکل امواج، سینوسی و فرکانس ۵۰ هرتز بود که میدانی به شدت ۱۳۱ گوس برابر با ۱۳/۱۱۵ میلی تسلا (mT) تولید می‌کرد (شکل ۱).



شکل ۱- دستگاه تولید کننده‌ی میدان الکترومغناطیسی.

محیط کشت مایع (Eagle's MEM)، حاوی ۲۲۰۰ میلی‌گرم برلیتر سدیم بی‌کربنات و ۵۸۴ میلی‌گرم برلیتر آل‌گلوتامین^۱ بوده که برای جلوگیری از ایجاد آلودگی، ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر استرپتومایسین، و به منظور غنی کردن محیط کشت مقدار ۱۵ میلی‌لیتر برلیتر سرم بند ناف انسان (هنگام کشت) اضافه گردید، سپس استریلاسیون توسط فیلتر سرنگی صورت گرفت. pH محیط کشت، با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری و در حد ۷/۴ تثبیت گردید.

در این آزمایش‌ها، از ۴۵ موش بالغ ماده نژاد Balb/C با وزن ۳۰ - ۲۶ گرم استفاده شد که از انستیتو پاستور تهیه شده و سپس در اتاق حیوانات با شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۳° C نگهداری شدند. هنگام شب، چهار موش ماده و یک موش نر در یک قفس قرار داده شده، آمیزش در نیمه شب انجام می‌گرفت. با رؤیت درپوش واژن روز صفر حاملگی مشخص گردید.

در روز ۱۱/۵ حاملگی، موش‌های ماده با اتر بیهوش شدند، سپس، لوله‌های رحمی با دقت از بدن مادر جدا گردیدند و در پتری دیش حاوی محلول نمک بالانس شده هنکس^۲ (HBSS) قرار گرفتند. در مرحله بعد، با استفاده از میکروسکوپ استریو، جنین‌ها از بافت رحمی جدا شدند، سپس، از حفره آمنیونی خارج و جوانه‌های اندام حرکتی جلویی و عقبی جدا گردیده، در داخل پتری دیش دیگری که حاوی HBSS بود، قرار داده شدند (شکل ۲). بلافاصله جوانه‌ها به ظروف کشت منتقل گردیدند [۶]. طی این روش، جوانه‌ها در فاز بین محیط کشت مایع و هوا قرار گرفته، سپس، ظروف کشت در انکوباتور دارای ۵% CO₂ و ۹۵% هوا و دمای ۳۷±۰/۱ درجه سانتی‌گراد، به مدت دو روز انکوبه شدند. سه گروه از جوانه‌های اندام حرکتی برای این تحقیق در نظر گرفته شدند:

^۱-L-glutamine

^۲-Hanks balanced salt solution

(۱) گروه کنترل ($n=70$)، که در روز ۱۳/۵ جنینی از بدن جدا شده، بدون این که در محیط کشت قرار گیرند.
(۲) گروه شم ($n=70$)، که در روز ۱۱/۵ جنینی جدا شده و به مدت دو روز در محیط کشت فاقد میدان قرار گرفتند.

(۳) گروه آزمایشی ($n=70$)، که در روز ۱۱/۵ جنینی از بدن جدا شده و پس از دو ساعت تطبیق با محیط به مدت دو ساعت تحت تأثیر میدان (فرکانس ۵۰ Hz و شدت ۱۳۱ گوس) قرار گرفتند و به مدت دو روز در محیط کشت مذکور، کشت داده شدند.

نمونه‌های هر یک از گروه‌ها به مدت ۵ ساعت در فیکساتور بوئن تثبیت شدند، سپس، مراحل آبگیری (اتانول)، شفاف کردن (تولوئن)، آغشته ساختن با حمام پارافین و قالبگیری با پارافین انجام گرفت. آنگاه از قالب‌های آماده شده برش‌های سهمی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد و با روش هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی صورت گرفت. سپس به طور تصادفی در ۱۰ مقطع از هر لام تهیه شده، طول نواحی مختلف جوانه‌ها با استفاده از گراتیکول خطی اندازه‌گیری و تعداد سلول‌ها توسط گراتیکول مشبک شمارش گردید.
نتایج به دست آمده به صورت اعداد خام به کامپیوتر داده شد، آنگاه تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها، با استفاده از نرم افزار SPSS در $P<0/01$ ، $P<0/001$ و $P<0/05$ و با در نظر گرفتن انحراف معیار (SE) انجام گردید؛ سپس، با کمک نرم افزار excel، هیستوگرام‌های مربوطه ترسیم شد.



b



a

شکل ۲- استریوفتومیکروگراف جوانه اندام حرکتی در روز ۱۱/۵ جنینی (بزرگ‌نمایی $\times 35$)

b : جوانه اندام حرکتی عقبی

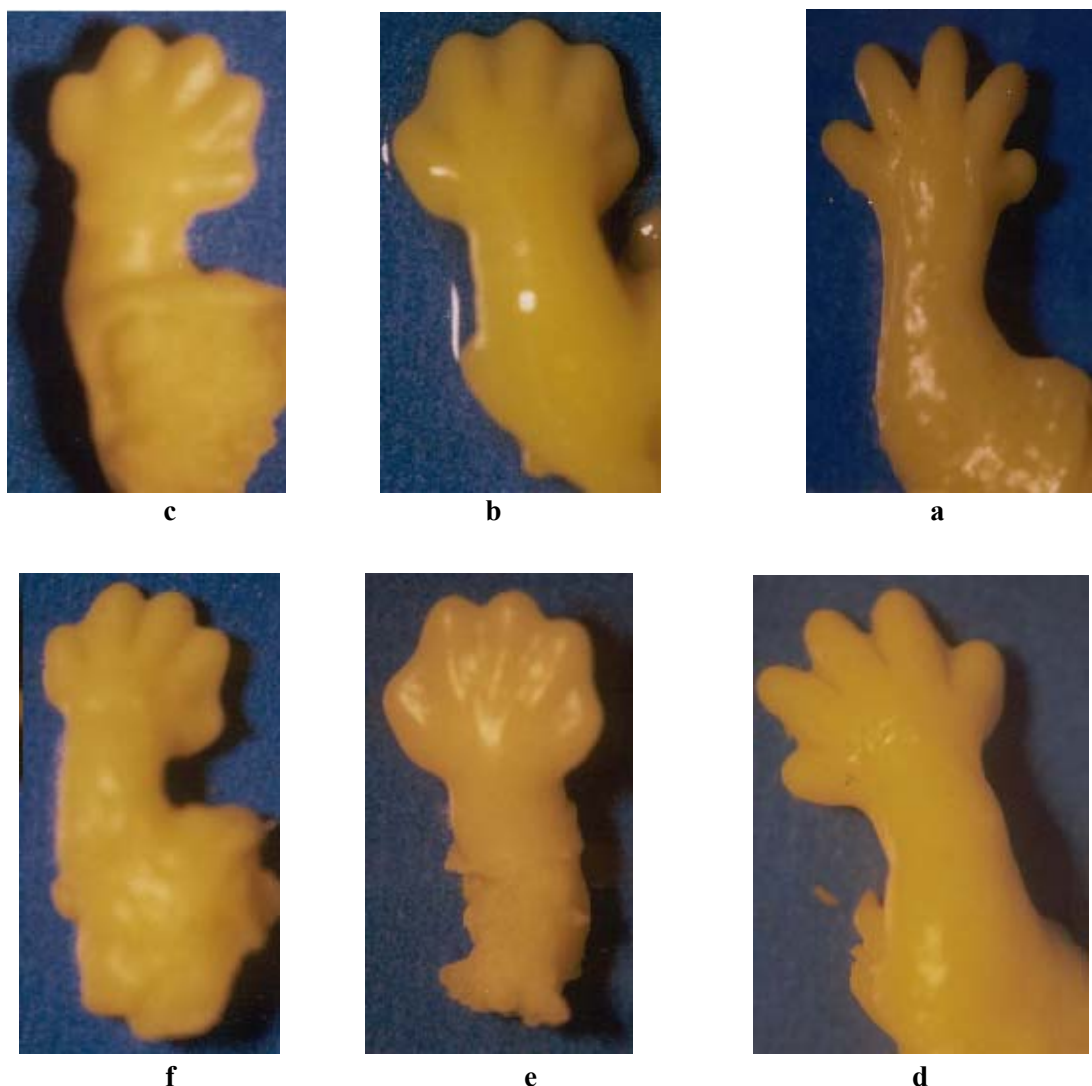
a : جوانه اندام حرکتی جلویی

نتایج

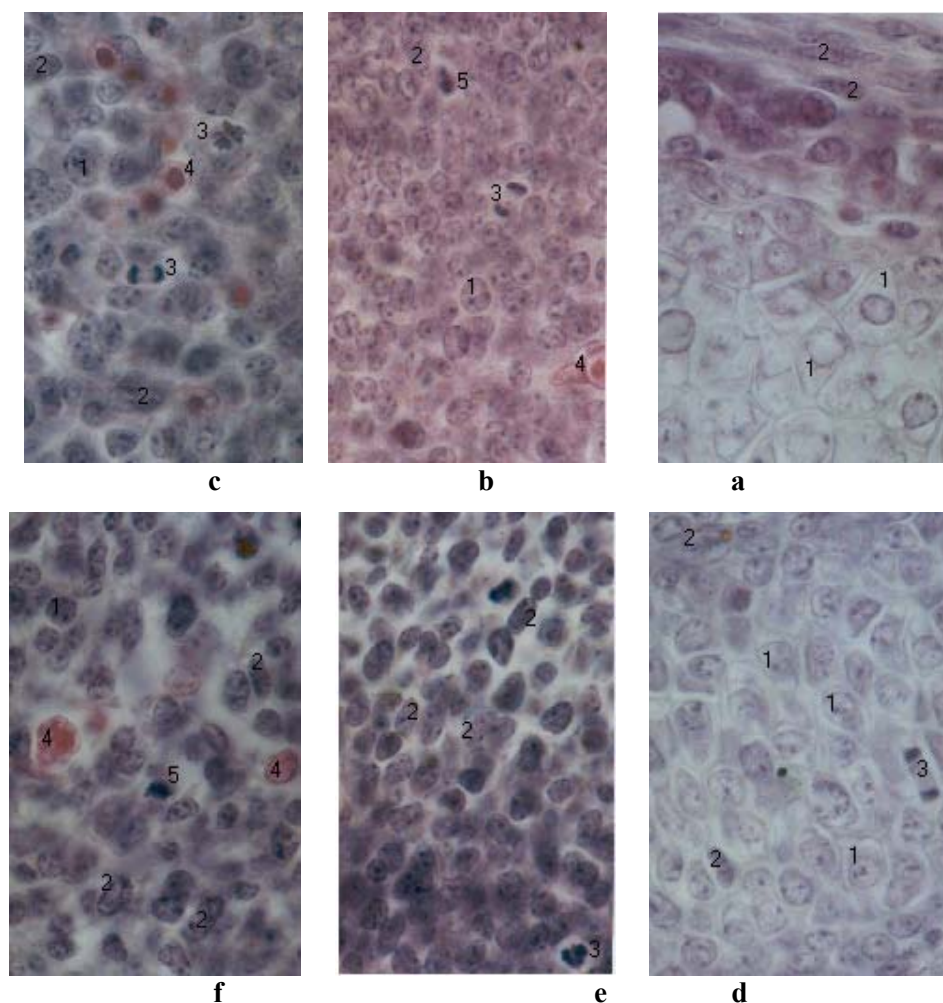
اندام حرکتی جلویی و عقبی هر یک از سه گروه کنترل، شم و آزمایشی به طور جدا گانه تحت بررسی‌های ماکروسکوپی، میکروسکوپی، هیستولوژیکی و آماری قرار گرفتند (شکل ۳). مقایسه گروه آزمایشی با گروه‌های کنترل و شم نشان دهنده رشد جوانه‌ها در طول محورهای P-D و A-P است ولی هیچ‌گونه ناهنجاری ظاهری در جوانه‌ها دیده نشد. با بررسی هیستولوژیکی فتومیکروگراف‌های جوانه‌های اندام حرکتی سه گروه

کنترل، شم و آزمایشی (شکل ۴) فاکتورهایی از قبیل طول کل اندام، عرض کل اندام، طول هریک از انگشتان، طول منطقه اول (انگشت و کف)، طول منطقه دوم (مچ)، طول منطقه سوم (بازو و ساعد در مورد دست یا ساق و ران در مورد پا)، تعداد سلول‌های غضروفی و مزانشیمی، سلول‌های درحال تقسیم و دژنره شدن و گلبول‌های قرمز خون مشخص گردید.

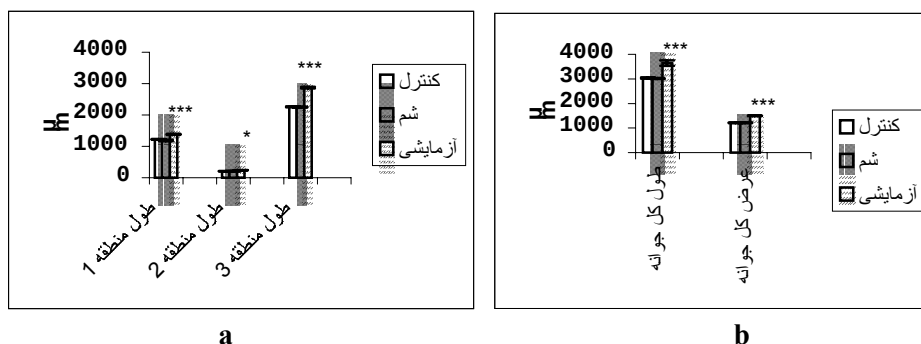
با مقایسه هیستوگرام‌های (اشکال ۵، ۶ و ۷) هریک از این نمونه‌ها با یکدیگر، اختلاف معنی داری بین همه موارد بررسی شده، به جز تعداد سلول‌های دژنره شده مشخص گردید ($P < 0/001$ ، $P < 0/01$ و $P < 0/05$).



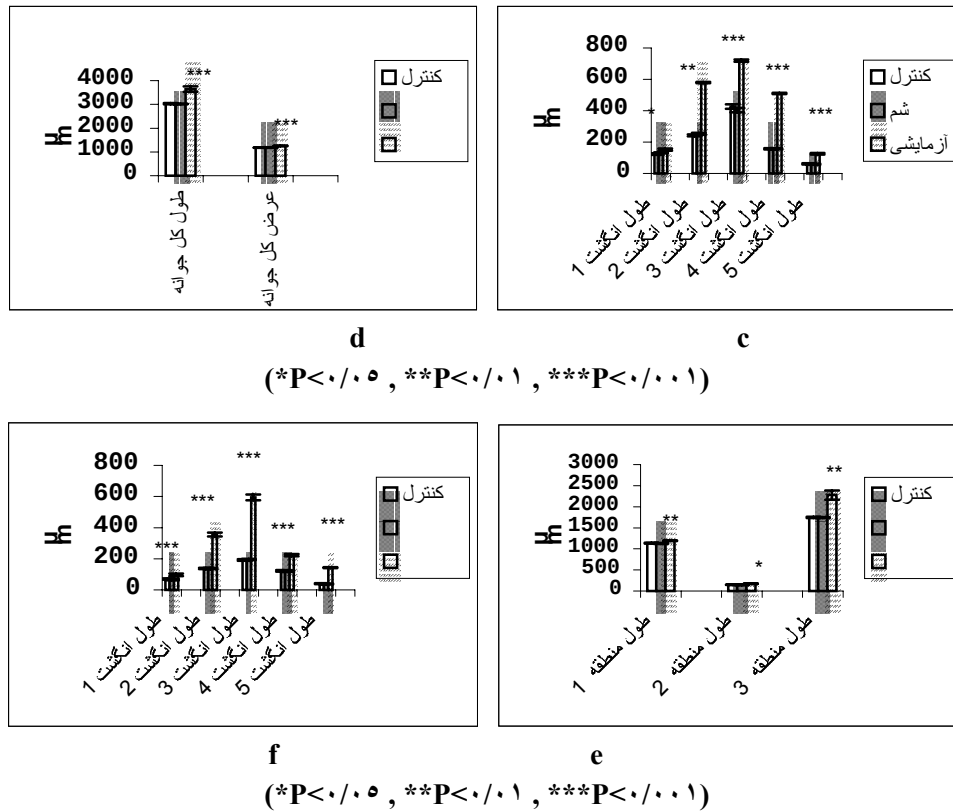
شکل ۳- استریوفتومیکروگراف جوانه‌های اندام حرکتی در گروه‌های آزمایشی، شم و کنترل (بزرگنمایی $\times 35$)
 a: جوانه اندام حرکتی جلویی جنین ۱۳/۵ روزه گروه آزمایشی b: جوانه اندام حرکتی جلویی جنین ۵/۰
 ۱۳ روزه گروه شم c: جوانه اندام حرکتی جلویی جنین ۱۳/۵ روزه گروه کنترل d: جوانه اندام حرکتی
 عقبی جنین ۱۳/۵ روزه گروه آزمایشی e: جوانه اندام حرکتی عقبی جنین ۱۳/۵ روزه گروه شم f:
 جوانه اندام حرکتی عقبی جنین ۱۳/۵ روزه گروه کنترل



شکل ۴- فتومیکروگراف جوانه اندام حرکتی گروه‌های آزمایشی، شم و کنترل (الف- سلول غضروفی، ب- سلول مزانشیمی، پ- سلول در حال تقسیم، ث- گلبول قرمز خون و ج- سلول دژنره شده (بزرگ‌نمایی ۱۱۲۵×))
 ا: جوانه اندام حرکتی جلویی جنین ۱۳/۵ روزه گروه آزمایشی ب: جوانه اندام حرکتی جلویی جنین ۱۳/۵ روزه گروه شم
 ج: جوانه اندام حرکتی جلویی جنین ۱۳/۵ روزه گروه کنترل د: جوانه اندام حرکتی عقبی جنین ۱۳/۵ روزه گروه آزمایشی
 ه: جوانه اندام حرکتی عقبی جنین ۱۳/۵ روزه گروه شم ف: جوانه اندام حرکتی عقبی جنین ۱۳/۵ روزه گروه کنترل

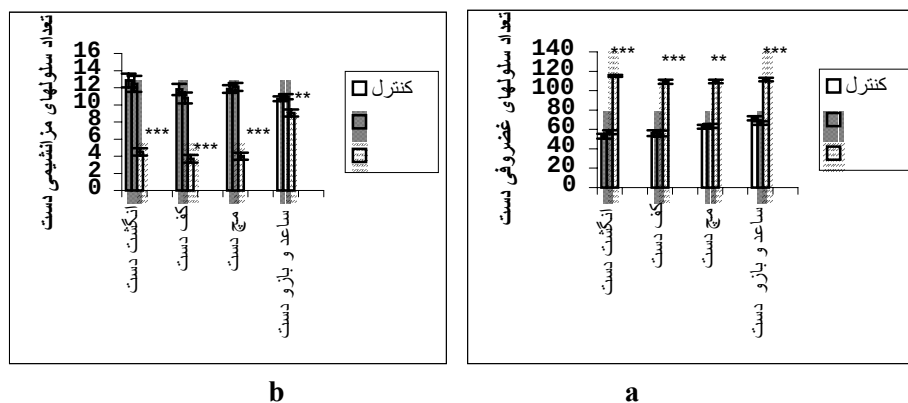


(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)



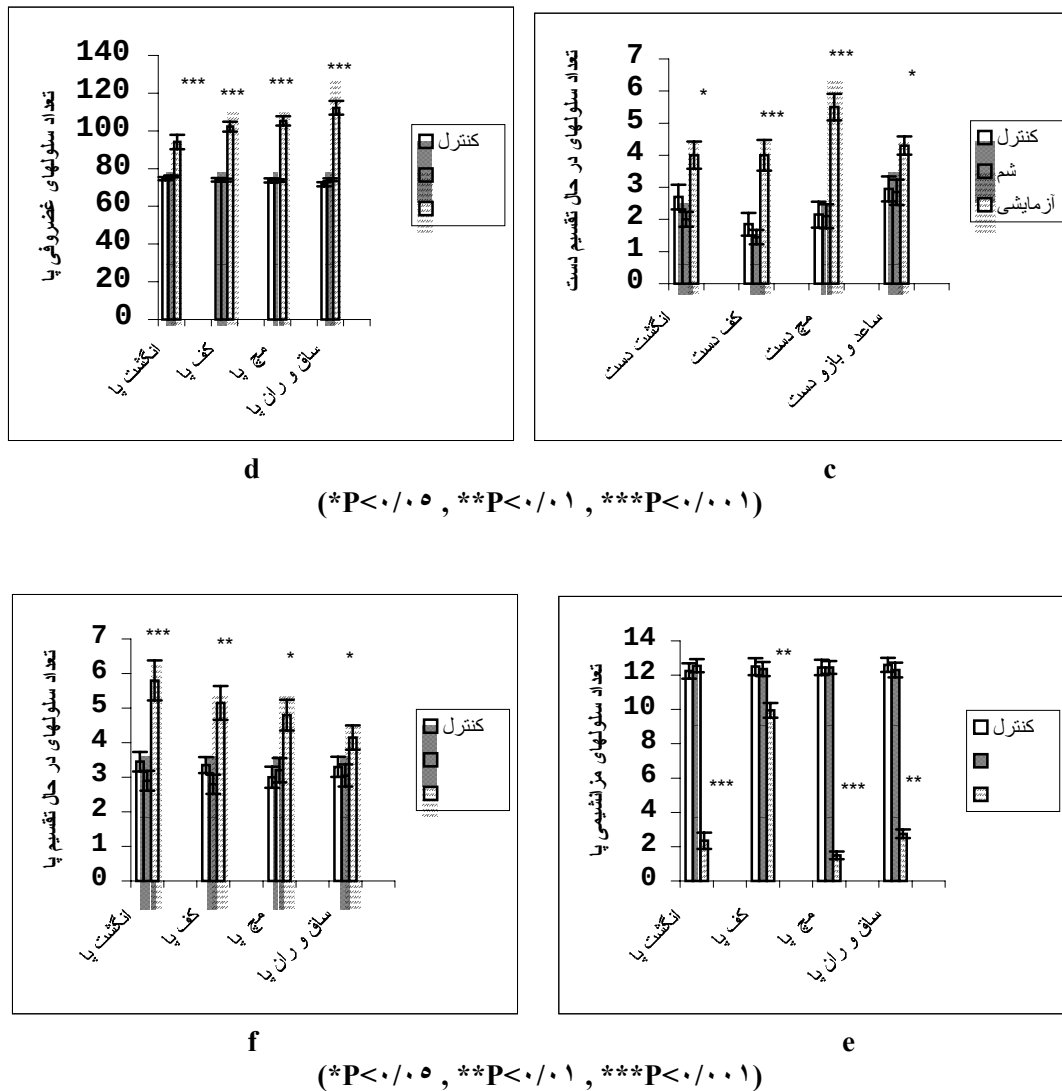
شکل ۵- مقایسه رشد جوانه‌های اندام حرکتی گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی

- a: مقایسه رشد طولی و عرضی کل جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی
- b: مقایسه رشد طولی منطقه ۱ (انگشت و کف دست)، رشد طولی منطقه ۲ (مچ دست) و رشد طولی منطقه ۳ (ساعد و بازو) جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی
- c: مقایسه رشد طولی انگشتان جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی
- d: مقایسه رشد طولی و عرضی کل جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی
- e: مقایسه رشد طولی منطقه ۱ (انگشت و کف پا)، رشد طولی منطقه ۲ (مچ پا) و رشد طولی منطقه ۳ (ساق و ران) جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی
- f: مقایسه رشد طولی انگشتان جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی



شکل ۶- (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001)

(ادامه شکل ۶)



شکل ۶- مقایسه تعداد سلول‌های جوانه‌های اندام حرکتی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی

a: مقایسه تعداد سلول‌های غضروفی جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی

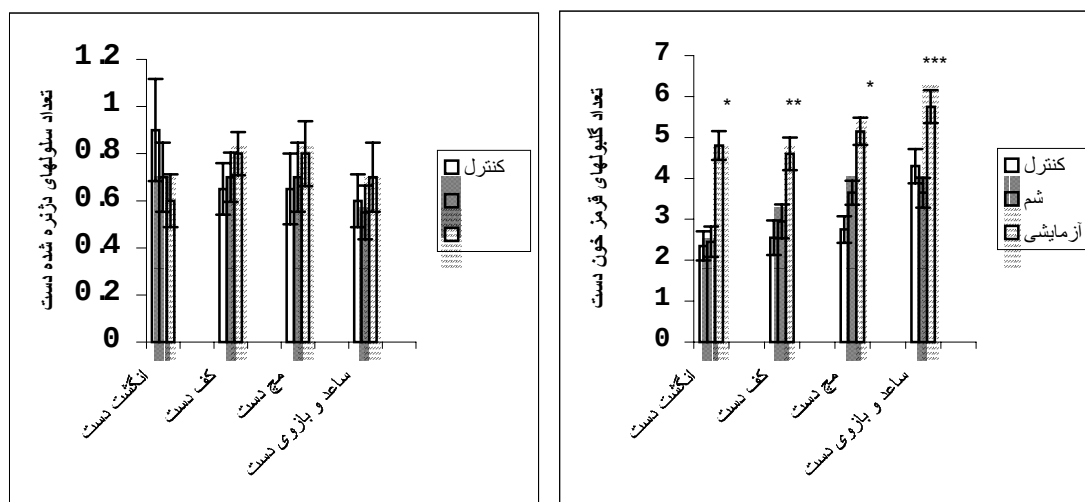
b: مقایسه تعداد سلول‌های مزانشیمی جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی

c: مقایسه تعداد سلول‌های در حال تقسیم جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی

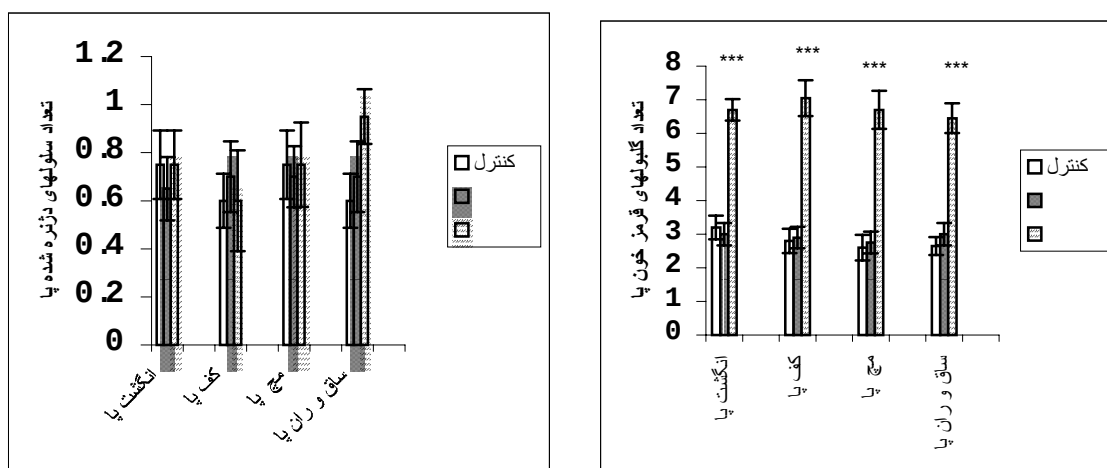
d: مقایسه تعداد سلول‌های غضروفی جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی

e: مقایسه تعداد سلول‌های مزانشیمی جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی

f: مقایسه تعداد سلول‌های در حال تقسیم جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شام و آزمایشی



b a
(*P<0/05, **P<0/01, ***P<0/001)



d c
(*P<0/05, **P<0/01, ***P<0/001)

شکل ۷- مقایسه تعداد سلول‌های جوانه‌های اندام حرکتی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی

a: مقایسه تعداد گلبول‌های قرمز خون جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی

b: مقایسه تعداد سلول‌های دژنره شده جوانه اندام حرکتی جلویی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی

c: مقایسه تعداد گلبول‌های قرمز خون جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی

d: مقایسه تعداد سلول‌های دژنره شده جوانه اندام حرکتی عقبی در گروه‌های کنترل، شم و آزمایشی

بحث

فرایند رشد و نمو بسیاری از اندام‌ها تحت تأثیر میدان‌های الکترومغناطیسی، مثبت و یا منفی است. تحقیقات زیادی در زمینه تأثیر این میدان‌ها بر موجودات زنده انجام گرفته ولی نتایج متفاوت بوده است. با وجود تنوع فاکتورهای مؤثر (فرکانس، شدت میدان، شکل موج، مدت زمان اثردهی میدان و نوع حیوان) اما اعتقاد اکثر پژوهش‌گران براین است که فرکانس میدان‌های الکترومغناطیسی دارای نقش اصلی است و از این میان، فرکانس‌های محدوده ۳۰-۳۰۰ هرتز که اصطلاحاً ELF^۱ نامیده می‌شود، بیش‌ترین تأثیر را بر بافت‌های زنده دارد [۷].

نتایج بررسی‌های اخیر نشان دهنده افزایش سلول‌های در حال تقسیم در نواحی مختلف جوانه اندام حرکتی گروه‌های آزمایشی بوده که بیان‌گر آثار میدان الکترومغناطیسی است [۸].

نتیجه دیگری به دست آمده از مطالعات اخیر، تجمع سلول‌های پیش‌ساز در مناطق غضروف‌ساز گروه‌های آزمایشی است که عامل مهمی برای ایجاد ارتباط بین سلولی و غضروف‌زایی است، به طوری که مقدار cAMP سلولی افزایش یافته، باعث تحریک غضروف‌زایی می‌شود؛ این پدیده در شرایط *in vivo* توسط نیومن^۲ [۹] و در شرایط *in vitro* توسط سولارس^۳ و همکاران به اثبات رسیده است [۱۰]. عامل مهم در این زمینه، تراکم اسید هیالورونیک خارج سلولی است که در شرایط *in vivo* توسط کوشر^۴ و همکاران [۱۱] و در شرایط *in vitro* توسط سولارس و همکاران پیشنهاد گردیده است [۱۲].

کاهش سلول‌های مزانشیمی در گروه‌های آزمایشی نیز به علت تمایز آن‌ها به سلول‌های غضروفی تحت فرایند غضروف‌زایی است [۱۲]. پس از مطالعه ساختار بافتی گروه‌های آزمایشی، سلول‌های غضروفی به خوبی به شکل کروی قابل مشاهده است. این سلول‌ها به صورت سلول‌های در حال تمایز به کندروسیت‌ها در مناطق غضروف‌ساز دیده می‌شوند، سولارس و همکاران نیز نشان دادند که شکل کروی نقش مؤثری در تمایز سلول‌های غضروفی دارد [۱۳]. همچنین نتایج بررسی‌های اخیر نشان داد که تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی تعداد سلول‌های غضروفی افزایش یافته و تکامل بیش‌تری می‌یابند. درحقیقت، می‌توان گفت که میدان الکترومغناطیسی تمایز و تقسیم را در سلول‌های غضروفی به گونه‌ای افزایش داده که «محمدعلی و همکاران، ۱۹۹۴» نیز آثار آنابولیک میدان الکترومغناطیسی (با فرکانس ۱۵۰ MHz) را بر فعالیت‌های آنزیمی سلول‌های غضروفی جوانه‌های اندام حرکتی در *in vitro* مشاهده کردند [۱۴]. به این ترتیب همان طور که نتایج تحقیقات اخیر نشان داد، تأثیر میدان الکترومغناطیسی سبب افزایش طول و بخش‌های مختلف جوانه گردیده و هیچ گونه ناهنجاری مورفولوژیکی در نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود.

^۱-extremely low frequency

^۲-Newman

^۳-Solursh

^۴- Koshier

افزایش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز گروه‌های آزمایشی نشان داد که میدان الکترومغناطیسی بر فرایند خون‌سازی تأثیر می‌گذارد، همانطور که تحقیقات کسلر^۱ و همکاران ثابت کرد که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌توانند برخی از پارامترهای خون را تحریک نموده و افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های خونی (اریتروسیت‌ها، تعداد مقاطع رگ‌های خونی، غلظت هموگلوبین و پروتئین‌های پلاسمایی) موجب گردد [۱۵]. در تعداد سلول‌های دژنره شده در محیط کشت پس از تأثیر میدان هیچ گونه تغییرات معنی‌داری دیده نشد که نشان دهنده عدم تأثیر میدان (با فرکانس ۵۰ Hz و شدت ۱۳۱ گوس) بر مرگ و میر سلولی است. به این ترتیب نتایج به وجود نوعی پتانسیل غضروف‌زایی و خون‌سازی برای میدان‌های الکترومغناطیسی تأکید می‌گذارد که می‌توان از آن در موارد کلینیکی و پزشکی بهره‌های فراوان برد؛ و با به کارگیری میدان الکترومغناطیسی می‌توان گام وسیعی در زمینه تکثیر و ترمیم سلول‌های غضروفی برداشت.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری مسئولان محترم گروه زیست‌شناسی و دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم تهران در تأمین امکانات اجرایی این طرح تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. J. Blaxham, The evolution of the earth's magnetic field, SCI. AM. 12 (1989) 68-75.
2. P. S. Landry, K. K. Sadasivan, A. A. Marino, J. A. Albright, Electromagnetic fields can affect osteogenesis by increasing the rate of differentiation, clinical orthopaedics. 338 (1997) 262-270.
3. K.J. McLeod, C.T. Rubin, The effects of low-frequency fields on osteogenesis, J. Bone. Joint. Surg. Incor. 74(6) (1992) 920-9.
4. Y. Hiraki, N. Endo, M. Takigawa, A. Asada, H. Takahashi, F. Suzuki, Enhanced responsiveness to parathyroid hormone and induction of functional differentiation of cultured rabbit costal chondrocytes by a pulsed electromagnetic field, Biochim. Biophys. Acta. 931(1)(1987) 94-100.
5. H. Mohamed-Ali, M. Scheller, M. Hetscher, S. Kohlsmann, K.D. Kramer, Action of high-frequency magnetic field on the cartilage matrix in vitro, Bioelectrochemistry and Bioenergetics 37 (1995) 25-29.

6. R.I. Freshney, Animal cell culture -a practical approach, Oxford university press publisher , New York. (1992)233-236.
7. I. Zusman, Effect of pulsing electromagnetic fields on the prenatal and postnatal development in mice and rat. In vivo and in vitro, studies. Teratology. 42 (1990) 157-170.
8. F. Pezzetti, M. De Mattei, A. Caruso, R. Cadossi, P. Zucchini, F. Carinci, G.C. Traina, V. Sollazzo, Effects of Pulsed Electromagnetic Fields on Human Chondrocytes: An In Vitro Study. Calcif. Tissue. Int. 65 (1999) 396–401.
9. S.A. Newman, Lineage and pattern in the developing vertebrate limb, Trends. Genet. 4 (1988) 329-332.
10. M. Solursh, R. Reiter, P.B. Ahrens, B.M. Vertel, Stage and position- related changes in chondrogenic response of chick embryonic wing mesenchyme to treatment with dibutyryl cyclic, AMP. Dev. Biol. 83 (1981) 9-19.
11. R.A. Kosher, M.P. Savage, K.H. Walker, A gradation of hyaluronate accumulation along the proximodistal axis of the embryonic chick limb bud . J. Embryol. Exp. Morpol. 63 (1981) 85-98.
12. M. Solursh, R.S. Reiter, Evidence for histogenic interaction during in vitro limb chondrogenesis, Dev. Biol. 78 (1980) 141-150.
13. M. Solursh, T.F. Linsenmaryer, K.L. Jensen, Chondrogenesis from single limb mesenchyme cell, Dev .Biol. 78 (1982) 141- 150.
14. H. Mohamed-Ali, H. Kolkenbrock, N. Ulbrich, H. Sorensen, K.D. Kramer, H.J Merker., Influence of electeromagnetic fields on the enzyme activity of rheumatiod synovial fluid cells in vitro, Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 32(4) (1994) 319-26.
15. G. Cieslar, A. Sieron, B. Turczynski, M. Adamek and F. Jaskolski, The influence of extremely low-frequency variable magnetic fields on rheologic and dielectric properties of blood and the water-electrolyte balance in experimental animals, Bielectrochemistry and Bioenergetics 35(1994)29-32.