مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۴، شماره ۴، تیر ۱۳۹۵
صفحه: ۳۲۸-۳۱۷

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 24, No.4, Jul 2016
Pages: 317-328

اثرات کاربرد توأم نانوذرات نقره و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین بر رگ‌زایی در پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه

مهرنوش مطیع[۱]، جواد بهار آرا *[۲]، علیرضا ایرانبخش[۳]، طیبه رمضانی[۴]

چکیده

مقدمه: رگ‌زایی در بسیاری از فرایندهای حیاتی نقش دارد، همچنین بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی قرار می‌گیرند. در مطالعه حاضر تأثیر کاربرد توأم نانو ذرات نقره زیستی و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه بررسی شد.

روش بررسی: در این پژوهش تجربی آزمایشگاهی تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار در روز هشتم انکوباسیون، با غلظت‌های ۵۰ , ۱۰۰و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانو ذرات نقره تیمار شدند سپس در روز دهم، تخم‌مرغ‌ها به مدت ۳ ساعت در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار گرفتند. روز دوازدهم از نمونه‌ها عکس‌برداری شد و تعداد، طول انشعابات عروقی، وزن، طول فرق سری- نشیمن‌گاهی به کمک نرم‌افزار Image j و محتوی هموگلوبین با استفاده از تست درابکین بررسی شد. همچنین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات نقره بررسی گردید. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶و آزمون‌های آماری ANOVA تحلیل شدند.

نتایج: میانگین تعداد، طول عروق و محتوی هموگلوبین در گروه‌های تیمار با نانو ذرات نقره و میدان کاهش یافت. استفاده توأم از نانو ذرات نقره و میدان الکترو مغناطیس باعث کاهش معنی‌دار میانگین تعداد، طول عروق و محتوی هموگلوبین نسبت کاربرد هر یک به تنهایی گردید. آزمون آنتی‌اکسیدانی نشان داد نانو ذرات منجر به مهار رادیکال آزاد می‌شود.

نتیجه‌گیری: کاربرد توأم نانو ذرات نقره زیستی با میدان الکترومغناطیسی باعث کاهش معنی‌دار رگ‌زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه نسبت به کاربرد هر یک به تنهایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: رگ‌زایی، نانو ذرات نقره، میدان الکترومغناطیسی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد
۲- استاد، مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد
۳- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران ،ایران
۴- دانشجوی دکترا، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران
* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۳۸۴۳۷۰۹۲ -۰۵۱، پست الکترونیکی: baharara@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۲۳

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

مقدمه

آنژیوژنز یا رگ‌زایی به فرایند، تشکیل عروق خونی جدید از عروق موجود گفته می‌شود که در رشد و نمو طبیعی بدن اهمیت فراوانی دارد (۱،۲). از سوی دیگر رگ‌زایی در حالت مختلف پاتولوژیک از قبیل رشد و متاستاز تومور و آرتریت روماتوئید نیز نقش دارد (۳). ایجاد یک رگ خونی جدید عامل ضروری برای متاستاز سلول‌های سرطانی است، در بسیاری از تومورها تراکم عروقی می‌تواند نشانه‌ای از پتانسیل متاستازی تومور باشد، به عبارتی تومور با رگ‌های خونی فراوان، فعالیت متاستازی بیشتری نسبت به تومور با رگ‌های خونی کمتر دارد (۴). فاکتورهای رشد اندوتلیال و فاکتور رشد جفتی مولکول‌های کلیدی در فرآیند رگ‌زایی هستند (۵). از جمله ترکیباتی که اثرات آن بر فرآیند رگ‌زایی مورد بررسی قرار گرفته است ، نانو ذرات نقره است (۶). نانوذرات نقره که امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، خواص غیر معمول فیزیکو شیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکی از خود نشان می‌دهند، ویژگی‌های ضد میکروبی نانوذرات نقره این ذرات را به یک نانو مواد پرکاربرد تبدیل کرده است (۷). سنتز نانو ذرات نقره با روش فیزیکی- شیمیایی و بیولوژیکی امکان‌پذیر است، روش‌های فیزیکی- شیمیایی معمولاً پرهزینه و همراه با تولید مواد مضر هست (۸). در روش بیولوژیکی با استفاده از باکتری‌ها و قارچ‌ها نانو ذرات نقره را سنتز می‌کنند (۹). این روش آسان و سازگار با محیط زیست است (۱۰). تا کنون سنتز سبز نانوذرات نقره، با استفاده از عصاره برگ گیاهان از جمله عصاره دانه‌ها، لاتکس گیاهان، میکروارگانیسم‌ها و بعضی پلیمرها گزارش شده است (۱۱). همچنین در سال‌های اخیر ویژگی‌های ضد رگ‌زای و ضدتوموری نانو ذرات نقره مورد توجه قرار گرفته است (۱۲،۱۳). در مطالعات قبلی اثرات ضد رگ‌زایی نانوذره نقره سنتز شده با عصاره گیاه مریم گلی بر روی پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه بررسی شده است که نتایج نشان داده است این نانو ذرات اثر مهاری بر رگ‌زایی دارند (۱۴). همچنین تجربیات انجام شده به کمک نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از بومادران نشان داده است که این نانو ذرات باعث کاهش رگ‌زایی می‌شوند (۱۵). از سوی دیگر پژوهش‌های انجام گرفته طی چند سال اخیر مشخص کرد که استفاده از میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم دارای اثرات عمیقی بر پدیده رگ‌زایی می‌باشند (۱۶،۱۷). نتایج برخی پژوهش‌ها در خصوص اثر مهاری میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر آنژیوژنز در پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه نیز نشان داده است که استفاده از میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاؤس دارای اثر مهاری بر آنژیوژنز در پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه است و لذا کاربرد توأم آن با روش‌های شیمی درمانی جهت درمان بیماری‌های مرتبط با آنژیوژنز پیشنهاد شده است (۱۸). ازاین‌رو در راستای استفاده از منابع طبیعی بومی در تحقیق حاضر از عصاره برگ گیاه دارویی و بومی آویشن برای سنتز نانو ذرات نقره و پوشش‌دهی آن‌ها استفاده گردید. سپس اثرات ضد رگ‌زایی این نانو ذرات به صورت توأم میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز در مدل پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این پژوهش تجربی آزمایشگاهی در مرکز تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال ۹۴-۹۳ انجام شد.

کلیه مراحل انجام آزمایش‌ها بر روی تخم‌مرغ‌ها با تأیید کمیته اخلاق زیستی انجام شد.

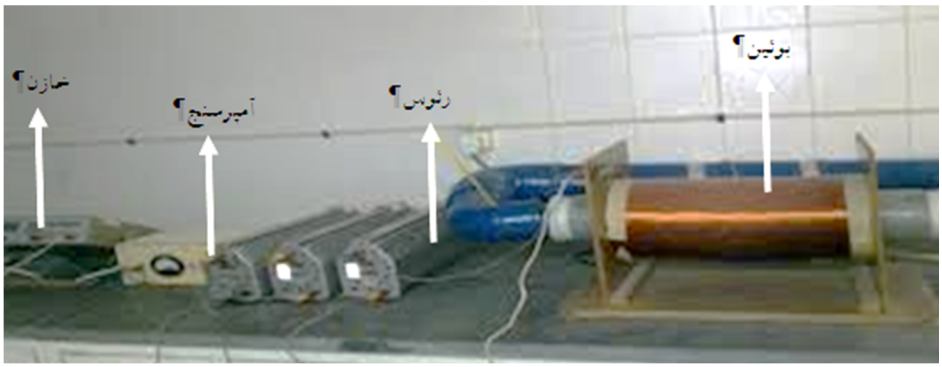
جهت انجام تحقیق، نانوذرات نقره پوشش دار شده با آویشن از مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد تهیه گردید، هم چنین از تخم‌مرغ‌های نطفه دار نژاد Ross، تهیه شده از شرکت مرغداران طوس مشهد به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد.

تخم مرغ‌های نطفه دار در دستگاه جوجه کشی (در دمای ۳۸/۵ -۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی (۷۰-۵۵ درصد) در دستگاه جوجه‌کشی (Cocks, Netherland) قرار گرفتند. در روز سوم انکوباسیون در شرایط استریل و در زیر هودلامینار (Besat, Iran) بخشی از پوسته تخم مرغ‌ها برداشته

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

شد و پنجره‌ای در یک طرف تخم مرغ‌ها ایجاد و توسط چسب و پارافین بسته شد. سپس تخم مرغ‌ها به انکوباتور انتقال یافت، در روز هشتم انکوباسیون پنجره‌ها در شرایط استریل برداشته شد و روی پرده کوریو آلانتوئیک یک اسفنج ژلاتینی که شامل (آلبومین، سفیده تخم‌مرغ و محلول آگار در نرمال سالین به نسبت مساوی همراه ۲۰۰ میکرولیتر پنی سیلیین استرپتو مایسین) در ابعاد ۴×۴ میلی متر قرار داده شد در نمونه‌های تحت تیمار با نانو ذرات نقره (گروه تجربی ۱: تیمار با نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ماکرولیتر، گروه ۲: تیمار با نانو ذرات نقره با غلظت ۱۰۰ ماکرو لیتر ، گروه ۳: تیمار با نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰۰ ماکرو لیتر) و نیز نمونه‌های تیمار توأم (گروه تجربی ۴: تیمار توأم نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ماکرو لیتر و میدان الکترو مغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس، گروه تجربی ۵: تیمار توأم نانو ذرات نقره با غلظت ۱۰۰ ماکرو لیتر و میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس، گروه تجربی ۶: تیمار توأم نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰۰ ماکرو لیتر و میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس) به اسفنج ژلاتینی، مقدار ۱۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره اضافه گردید. سپس محل پنجره مجدداً پوشانده شد و تخم مرغ‌ها به دستگاه برگردانده شدند (۱۸).

در روز دهم انکوباسیون تخم مرغ‌های گروه‌های تجربی۴،۵،۶ به دستگاه جوجه‌کشی متصل به سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز با شدت ۲۰۰ گاؤس منتقل گردیدند دستگاه مذکور توسط بهار آرا و اشرف در تجربیات قبلی طراحی و ساخته شده و توسط گاؤس متر کالیبره گردیده است (شکل ۱). این دستگاه شامل بوئین، سه رئوستا،خازن و آمپرسنج است و با توجه به محاسبه شدت میدان الکترومغناطیسی مورد نیاز از رابطه $B=\mu nI$ به دست می‌آید (B= شدت میدان الکترومغناطیسی برحسب تسلا، $\mu=۴\pi\times۱۰$ ، n= تعداد دور در واحد طول ،I=شدت جریان (۱۹).



شکل ۱: سیستم انکوباسیون جوجه همراه با دستگاه مولد میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم (طراحی شده در مرکز تحقیقاتی بیولوژی کاربردی تکوین جانوری)

تخم مرغ‌ها به مدت سه ساعت در سیستم مذکور قرار داده شدند. در روز دوازدهم انکوباسیون در تمام نمونه‌ها به کمک فوتو استرئو میکروسکوپ تحقیقاتی Ziess, Germany تصاویری تهیه شد، اندازه های طول فرق سری – نشیمن گاهی توسط کولیس و وزن با ترازوی دیجیتال (Satrius, Germany) ثبت شد و تعداد و طول رگ‌های خونی با کمک نرم افزار J Image بررسی شدند.

بررسی محتوی هموگلوبین با کمک آزمون درابکین: برای سنجش غلظت هموگلوبین از روش استاندارد درابکین (Zist Chem, Iran) استفاده گردید. بدین منظور در ابتدا پرده کوریوآلانتوئیک جوجه به همراه رگ‌های خونی با دقت جدا شد، سپس کیسه زرده و پرده کوریوآلانتوئیک کاملاً هموژنایز شدند، به محلول حاصل ۱ میلی‌لیتر از محلول درابکین اضافه گردید و ۱۵ دقیقه زمان داده شد. در مرحله نهایی مخلوط در دوره RPM ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۴۶ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری (Epoch, Usa) قرائت گردید (۲۰).

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات نقره با پوشش آویشن

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

سنجش میزان فعالیت نانو ذرات نقره سنتز شده از آویشن در حذف رادیکال‌های DPPH

برای انجام این تست ابتدا ۵ میلی لیتر از نانو ذرات نقره در غلظت‌های ۵۰ ،۱۰۰ ،۵۰۰ ،۱۰۰۰ با ۵ میلی‌لیتر از DPPH ۱میلی مولار که در اتانول ۹۵ ٪ حل شده بود مخلوط شدند. این محلول به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شده و سپس برای ۳۰ دقیقه به تاریکی منتقل شد و جذب آن در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش از BHA به عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد به منظور مقایسه با فعالیت نانو ذرات نقره استفاده شد و هر آزمایش سه بار تکرار شد و از فرمول ذیل میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان ارزیابی شد.

درصد رادیکال حذف شده نانو ذرات نقره = (control-Asample)/(Acontrol×100)

در رابطه فوق A control جذب محلول در غیاب نانو ذرات نقره که در اینجا از اتانول ۹۵٪ استفاده شد و A sample جذب نمونه‌ی نانو ذرات نقره است(۲۱).

سنجش میزان فعالیت حذف رادیکال‌های کاتیونی ABTS

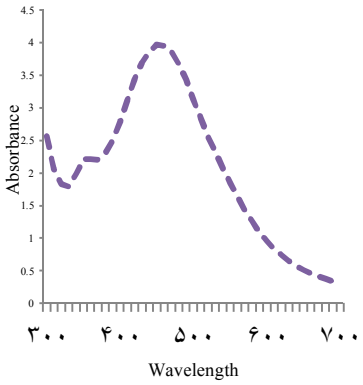
برای انجام این آزمایش از روش لی و همکاران استفاده شد، به منظور تهیه محلول رادیکال ABTS ، میلی لیتر ABTS ۵ میلی مولار و ۵ میلی‌لیتر پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار با یکدیگر مخلوط کردید و به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد ، محلول حاصل با افزودن آب تا رسیدن به جذب ۰/۷۵۶ در طول موج ۷۴۳ نانومتر رقیق شد، غلظت محلول رقیق شده حدود ۰/۵۱۴ میلی‌مولار بود، سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده رادیکال ABTS با ۱ میلی‌لیتر از محلول نانو ذرات نقره در غلظت های متفاوت مخلوط شد و پس از انکوباسیون به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد جذب محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر ارزیابی گردید (۲۲).

محاسبات آماری: داده‌ها در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و به کمک آزمون آماری ANOVA و تست تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

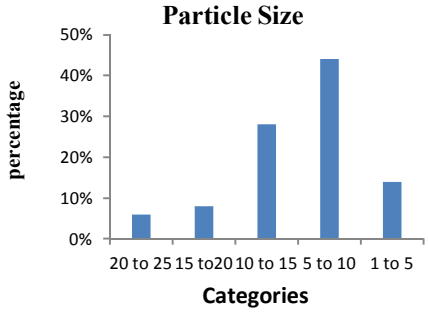
نتایج

به کمک روش های متداول شناسایی نانو ذرات ، ویژگی های نانو ذرات نقره با پوشش عصاره آویشن در پژوهش حاضر مطابق ذیل تعیین گردید:

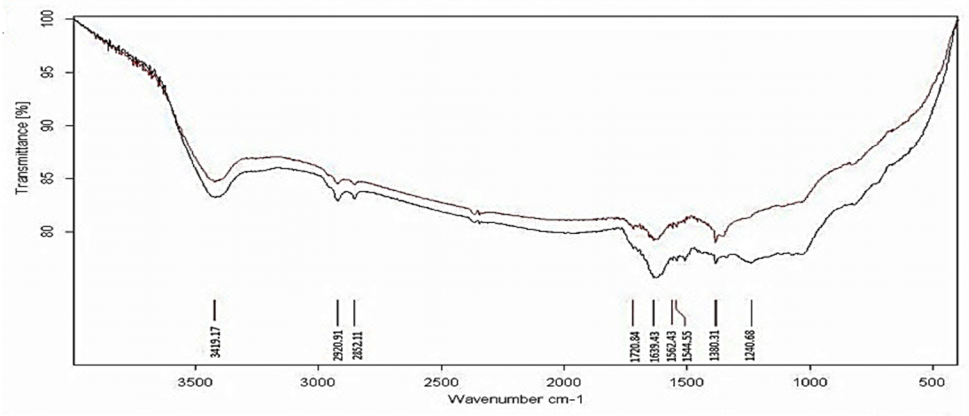
الف



ب

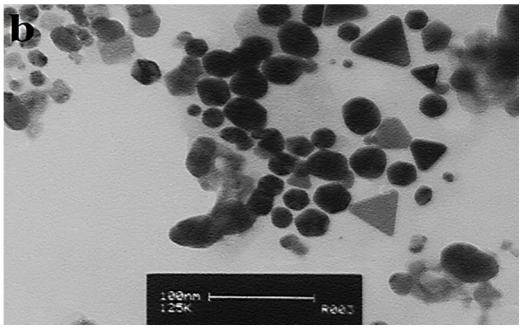


ج



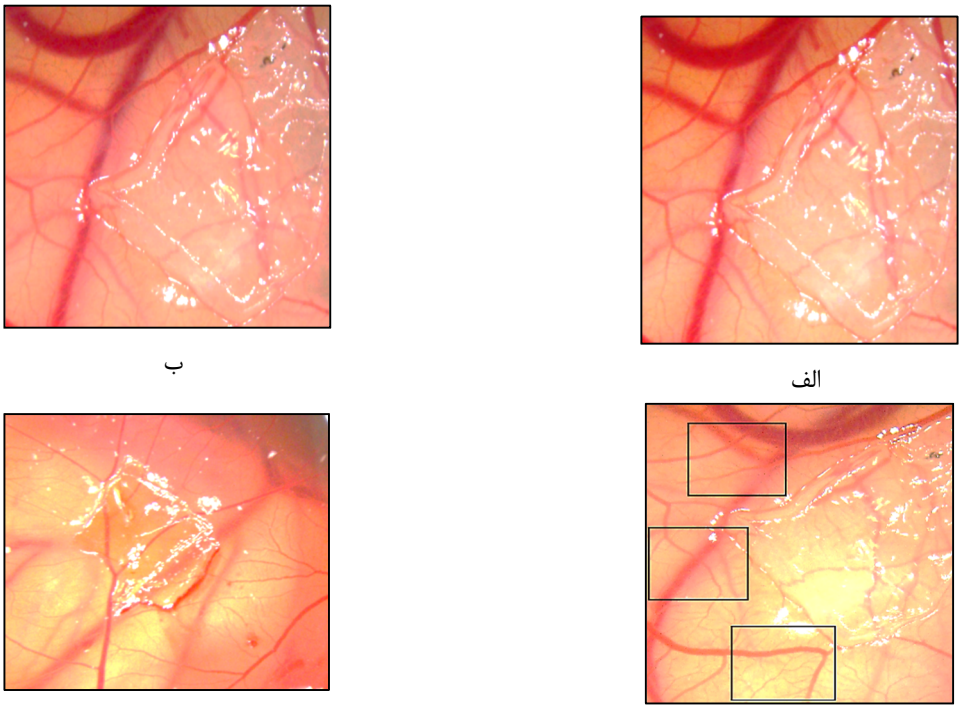
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

د



شکل ۲: (الف) نمودار جذب در محدود نور مریی- فرابنفش. نانو ذرات نقره، این نانو ذرات ماکسیمم جذب در طول موج ۴۶۰ نانومتر را نشان دادند ، (ب) نمودار اندازه‌گیری سایز نانو ذرات نقره. اندازه این نانو ذرات بین ۱ تا ۲۵ نانومتر بوده است. (ج) ، نمودار حاصل از طیف سنجی مادون قرمز نانو ذرات نقره (نمودار سیاه رنگ) و عصاره گیاه آویشن (قرمز) طیف ها شبیه هم است بنابراین نشان می‌دهد گیاه روی نانو ذرات را پوشش داده است. (د) تصاویر نانو ذرات تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی گذاره.

بررسی نتایج کاربرد نانوذرات نقره با پوشش عصاره آویشن و میـدان الکترومغناطیـس با فـرکانس کم بر رگ زایی در پرده کوریوالانتوییک جنین جوجه بیانگر اثرات مهاری ان بر رگ‌زایی می باشد که نتایج در شکل شماره ۳ نمایش داده شده است:



الف ب ج د

شکل ۳: نمایش پرده کوریو آلانتوئیک گروه‌های مورد آزمایش در روز دوازدهم انکوباسیون

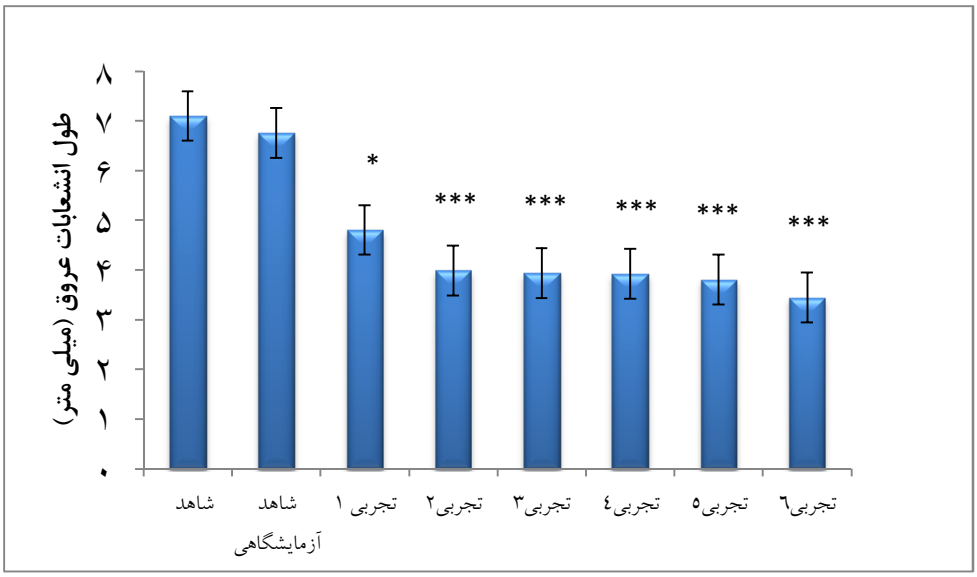
الف) گروه شاهد ب) گروه شاهد آزمایشگاهی ج) گروه تجربی ۱ د) گروه تجربی ۴

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

اندازه گیری طول و تعداد عروق خونی در نمونه‌ها

مقایسه میانگین تعداد و طول (۷۰/۹±۱۷ mm)انشعابات عروقی در نمونه شاهد با تعداد (۱۷/۶±۲/۸) و طول انشعابات عروقی (۶۷/۵±۴/۱ mm) در نمونه شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی‌دار نشان نداد(P>۰/۰۵). لذا در بررسی‌های بعدی نمونه‌های تجربی با شاهد مقایسه شدند. مقایسه میانگین تعداد و طول عروق در گروه شاهد با تعداد (۹/۶±۶/۷) و طول (۴۸±۲۱ mm) انشعابات عروقی در گروه تجربی ۱ اختلاف معنی‌داری را در تعداد عروق (p<0/01) نشان داد و هم‌چنین اختلاف معنی‌داری را در طول عروق (p<0/05) نیز نشان داد.

تعداد (۶/۶±۲/۴) و طول انشعابات عروقی(۳۹/۹±۵/۵mm) در نمونه تجربی ۲ در مقایسه با نمونه شاهد دارای کاهش معنی‌داری بود (p<۰/۰۰۱). مقایسه میانگین تعداد (۵/۷±۱/۲) و طول انشعابات (۳۹/۳±۶/۸ mm) در نمونه تجربی ۳ و تعداد (۵/۳±۱/۳) و طول انشعابات عروقی (۳۹/۱±۷/۱mm) در گروه تجربی ۴ و تعداد (۵/۳±۱/۱) و طول انشعابات عروقی (۳۸±۶/۹ mm) در گروه تجربی ۵ و تعداد (۵/۱±۱/۳) و طول انشعابات عروقی (۳۴/۴±۸/۹ mm) در گروه تجربی ۶ کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند (p<۰/۰۰۱). (نمودارهای ۱و۲).

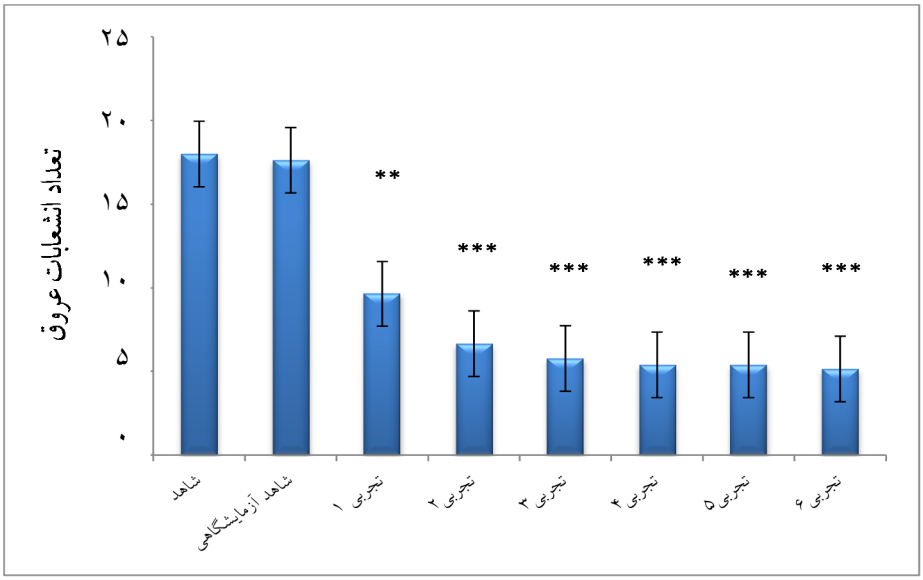


نمودار ۱: میانگین طول انشعابات عروق خونی در نمونه‌های تحت تیمار توأم نانو ذرات نقره و میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده ای که تحت تأثیر میدان قرار نگرفتند mean ± SD,*** P<۰/۰۰۱,** P<۰/۰۵

گروه تجربی ۳،۲،۱ به ترتیب تیمار با نانو ذرات نقره با غلظت‌های ۲۰۰،۱۰۰،۵۰ ماکرو لیتر

گروه تجربی۶،۵،۴ به ترتیب تیمار توأم نانو ذرات نقره با میدان الکترومغناطیسی (شدت ۲۰۰ گاؤس).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]



نمودار ۲: میانگین تعداد انشعابات عروق خونی در نمونه‌های تحت تیمار توأم نانو ذرات نقره و میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده ای که تحت تأثیر میدان قرار نگرفتند. mean ± SD,*** P< ۰/۰۰۱,** P<۰/۰۱

مقایسه میانگین وزن جنین‌های جوجه در گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه‌های تجربی اختلاف معنی‌دار نشان نداد (p>۰/۰۵) و مقایسه میانگین طول فرق سری- نشیمن گاهی در گروه شاهد تنها با گروه تجربی ۴ اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). (جداول ۱و۲).

جدول ۱: میانگین وزن جنین‌ها در نمونه‌های تحت تیمار توأم نانو ذرات نقره و میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده‌ای که تحت تأثیر میدان قرار نگرفتند.

گروه‌های تجربی	میانگین وزن جنین جوجه‌ها gr
شاهد	۵/۱±۰/۵
گروه تجربی ۱ (۵۰ µg/ml)	۴/۷±۱/۲
گروه تجربی ۲(۱۰۰ µg/ml)	۴/۷±۲/۲
گروه تجربی ۳(۲۰۰ µg/ml)	۴/۶±۱/۵
گروه تجربی ۴	۴/۷±۱
گروه تجربی ۵	۴/۷±۱/۹
گروه تجربی ۶	۴/۶±۱/۲

جدول ۲: میانگین طول فرق سری تا نشیمن گاهی جنین‌ها در نمونه‌های تحت تیمار توأم نانو ذرات نقره و میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده‌ای که تحت تأثیر میدان قرار نگرفتند.

گروه‌های تجربی	میانگین طول فرق سری تا نشیمنگاه (cm) X±SD
شاهد	۴/۳±۰/ ۳
گروه تجربی ۱ (۵۰ µg/ml)	۳/۸±۰/۸
گروه تجربی ۲(۱۰۰ µg/ml)	۳/۷±۰/۸
گروه تجربی ۳(۲۰۰ µg/ml)	۳/۷±۰/۹
گروه تجربی ۴	۳/۷±۰/۴
گروه تجربی ۵	۳/۷±۰/۹
گروه تجربی ۶	۳/۷±۰/۸

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

نتایج اندازه‌گیری محتوی هموگلوبین با کمک آزمون داربکین: نتایج حاصل از آزمون درابکین نشان داد که سنجش محتوی هموگلوبین در نمونه‌های تجربی نسبت به شاهد کاهش یافته است. مقایسه میانگین حاصل از محتوی هموگلوبین در گروه شاهد در مقایسه گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p>۰/۰۵$). ولی در مورد گروه تجربی ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۱$). همچنین در گروه‌های تجربی ۴، گروه تجربی ۵ و گروه تجربی ۶ با میانگین اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۳).

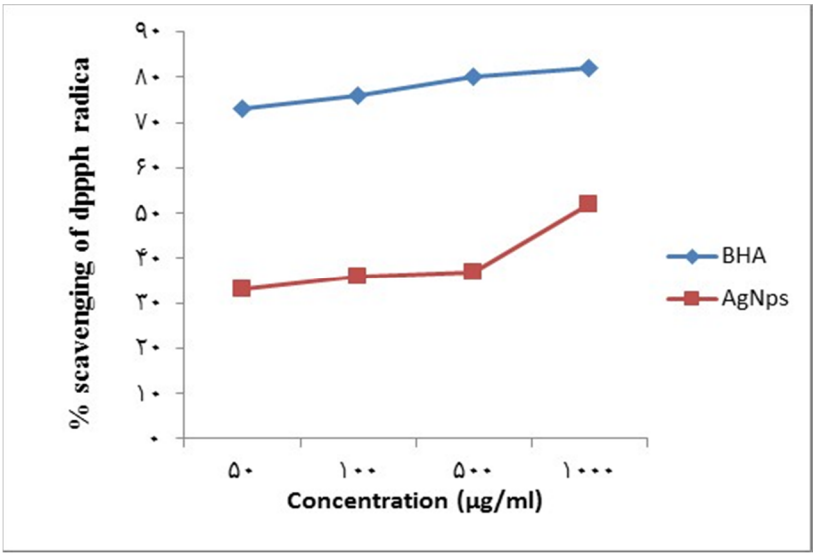
جدول ۳: سنجش مقدار هموگلوبین در عروق خونی پرده کوریو آلانتوئیک با استفاده از تست درابکین

گروه‌های تجربی	میانگین غلظت هموگلوبین (gr/dl) خون	p-Value
شاهد	۳/۱±۰/۵	P>۰/۰۵
گروه تجربی ۱(۵۰ µg/ml)	۲/۵±۰/۴	P>۰/۰۵
گروه تجربی ۲(۱۰۰ µg/ml)	۲/۰۶±۰/۸	P>۰/۰۵
گروه تجربی ۳(۲۰۰ µg/ml)	۱/۸±۰/۶	P<۰/۰۱
گروه تجربی ۴	۱/۷±۰/۲	P<۰/۰۰۱
گروه تجربی ۵	۱/۴±۰/۵	P<۰/۰۰۱
گروه تجربی ۶	۱/۳±۰/۴	P<۰/۰۰۱

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

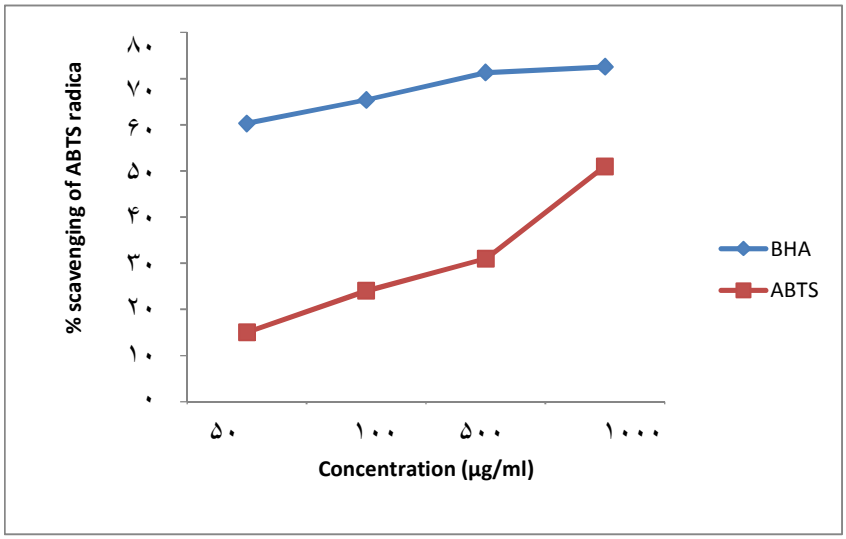
به منظور ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات نقره سنتز شده از آویشن فعالیت مهار رادیکال آزاد با روش ABTS و DPPH مورد بررسی قرار گرفت.

نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه آویشن در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قادر به مهار رادیکال آزاد که در مقایسه با BHA است، با افزایش غلظت نانو ذرات نقره میزان مهار رادیکال آزاد نیز بیشتر می‌شود که در غلظت ۱۰۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین مهار رادیکال آزاد صورت گرفته است و هم‌چنین فعالیت ABTS نیز وابسته به غلظت است (نمودار ۳و ۴).



نمودار ۳: فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات نقره سنتز شده از آویشن با استفاده از تست DPPHدر این آزمون BHA به عنوان استاندارد مورداستفاده قرار گرفت.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]



نمودار ۴: فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات نقره سنتز شده از آویشن با استفاده از تست ABTS در این آزمون BHA به عنوان استاندارد مورداستفاده قرار گرفت.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که این نانو ذرات به صورت وابسته به دوز قادر به مهار تعداد و طول عروق خونی و همچنین کاهش محتوای هموگلوبین است. همچنین نتایج تحقیق نشان داد است که شدت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ گاؤس اثری بر فرایند آنژیوژنز ندارد لیکن شدت ۲۰۰ گاؤس دارای اثر مهاری بر آنژیوژنز است (۲۳). ازاین‌رو این شدت از میدان الکترومغناطیسی برای بررسی هم‌افزایی استفاده گردید. نتایج نشان داد که میدان الکترومغناطیسی با شدت ۲۰۰ گاؤس با شرایط ویژه (در معرض قرارگیری در روز دهم به مدت ۳ ساعت و فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاؤس) نه تنها قادر است اثر مهاری بر آنژیوژنز در پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه داشته باشد بلکه قادر است اثرمهاری نانو ذرات نقره بر آنژیوژنز را تشدید کند.

بهارآرا و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثرات ضد رگ‌زایی نانو ذرات نقره سنتز شده از گیاه مریم گلی بر روی پرده کوریو آلانتوئیک جنین جوجه را بررسی نمودند و نتایج این مطالعه نشان داده است که در مدل CAM، نانو ذرات اثرات سمی وابسته به دوز روی سلول‌های اندوتلیال دارد و تشکیل رگ خونی را متوقف می‌کند و همچنین در این تحقیق نشان دادند که نانو ذرات نقره اثر مهاری بر رگ‌زایی دارند که همسو با تحقیق حاضر است (۱۴). در تحقیقی دیگر نیز نانو ذرات نقره سنتز شده از بومادران در مدل حلقه آئورت موش نیز بررسی شده که نتایج نشان داده است که نانو ذرات نقره باعث کاهش رگ‌زایی می‌شود که هم‌راستا با پژوهش حاضر است (۱۵). در پژوهش حاضر نیز ما دیدیم که نانو ذرات نقره باعث کاهش رگ‌زایی می‌شود که با استفاده از این خاصیت می‌توان امیدوار بود که در درمان بسیاری از بیماری‌ها مثل سرطان و در شیمی درمانی کمک کننده باشد. در تحقیقی دیگر نشان داده شده است که می‌توان از نانو ذرات نقره به عنوان حامل دارو و ژن اشاره نمود زیرا نانو ذرات نقره علاوه بر افزایش ورود این ترکیبات به بدن، اثرات هم‌افزایی علیه میگروارگانیسم را ایجاد می‌کنند و سبب بالا رفتن کارایی می‌شوند (۲۴)؛ که در پژوهش ما نیز به علت کاهش رگ‌زایی نانو ذرات نقره شاید بتوان در درمان بیماری‌هایی همچون سرطان، از نانو ذرات نقره به عنوان دارو استفاده کرد، در ضمن از میدان‌های الکترو مغناطیسی با فرکانس پایین در برخی شرایط پاتولوژیکی خاص، نظیر شکستگی استخوان، زخم‌های پوستی، میگرن و تحلیل اعصاب به عنوان درمان استفاده می‌شود (۲۵). همچنین در برخی مطالعات به اثر امواج الکترو مغناطیسی بر آنژیوژنز اشاره شده است که Ruggerio به مهار آنژیوژنز توسط میدان الکترومغناطیسی با شدت ۰/۲ تسلا اشاره نموده است (۲۶). لذا

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

در این تحقیق نیز با فرض به‌کارگیری میدان‌های الکترومغناطیسی به عنوان درمان‌های مکمل، اثر آن‌ها بر رگ‌زایی به طور مستقیم و همراه با نانو ذرات نقره بررسی گردید. از آن جا که استفاده از میدان‌های الکترو مغناطیسی به دلیل عدم نیاز به جراحی و امکان گردآوری در یک مکان نه چندان بزرگ آسان است و هم چنین شواهدی نیز دال بر اثرات تخریبی بر DNA توسط این میدان‌ها وجود ندارد و از آن‌جا که همراه شیمی‌درمانی روش‌های تکمیلی نظیر رادیوتراپی نیز از روش‌های معمول در کنترل رشد تومورها می‌باشند و آنژیوژنز از ملزومات رشد توموری است، احتمالاً جز الکتریکی میدان الکترومغناطیسی باعث افزایش نفوذپذیری سلول‌ها به نانو ذرات نقره می‌شوند بنابراین کاربرد نانو ذرات نقره و میدان الکترومغناطیس باعث تأثیرگذاری بیشتر می‌شوند، هم‌چنین نانو ذرات نقره دارای پلاسمون سطحی هستند که در حضور میدان الکترومغناطیس این خاصیت تقویت می‌شوند در واقع هنگام برگشت الکترون به مدار اصلی خود باعث گرما می‌شوند که می‌تواند باعث افزایش تأثیرپذیری نقره بر مرگ سلول‌ها شوند.

نتیجه‌گیری

یافته‌ها نشان می‌دهد که کاربرد توأم نانو ذرات نقره و میدان الکترومغناطیسی (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاؤس) باعث کاهش معنی‌دار رگ‌زایی در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه نسبت به کاربرد هر یک به تنهایی می‌شود. لذا پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات بالینی مرتبط با رگ‌زایی این موضوع می‌تواند مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

سپاسگزاری

از کلیه همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در اجرای این طرح همکاری داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

References:

1- Vinoth prabhu V, Chidambavathanand N . ***A Historical Review current Medication and Therapies for Inducing and Inhibiting Angiogenesis*** 2011; 3(2): 526-533.

2- Folkman J. ***Angiogenesis.*** Ann Rev Med 2006; 57: 1-18.

3- Mansori K, Mostafayi A. ***Angiogenesis and the Models to study Angiogenesis.*** J Yakhteh Med 2010; 4: 11-5. [Persian]

4- Himadri R. ***Vascular Endothelia Growth Factors (VEGFs)-Role in perivascular Therapeutic Angiogenesis and Diabetic Macrovascular Diesease.*** J Kouple Univ Public 2006; 2: 81-8.

5- Zetter B. ***Angiogenesis and tumor metastasis .*** J Anun Rev Med 1998; 49: 407-24.

6- Wong K. ***Nanotechnology.*** J Biolo Med 2012;8(6): 935-40.

Baharara J. Namvar F, Mousavi M, Ramezani T, Rosfarizan M. ***Anti-Angiogenesis Effect of Biogenic silver Nanoparticles synthesized using saliva officinalis on chick chorioalantoic Membrane (CAM).*** J molecules 2014; 19(13): 498-508.

7- Graff R, Rumpker R , Richter M , Hoyland J,etc . ***Exposure to silver nanoparticles induces size and does – dependent oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells.*** J hom page Elsiver 2014; 1280-89.

8- Martiro S, Bazes A,Schaneider Y. Nanotoxicology 2014; 85: 573-82.

9- Lee K, Dnallathamby P, Xu X. ACS Nano 2007; 2: 133-43.

10- Mittal A, Bhaumik J, Kumar S, Banerjee U. ***Biosynthesis of silve nanoparticle .*** J of colloid and interface 2014; 415: 39-47.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

11- Miethling-Graff R, Rumpker R, Madeleine R, Thiago V, Braga etc. ***Exposure to silver nanoparticles induces size- and dose-dependent oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells .*** J elseviev 2014; 28: 1280-89.

12- Zafar Balanejad S , Parivar K , Baharara J , Koochesfahani H. ***The effect of rapamycin on angiogenesis in chick chorioalantoic membrane .*** J Arak Univ Med Sci 2009; 12(1): 73-80. [Persian]

13- Chandarakant K , Sreekantha R, Rohini A, sungha P. ***Green synthesis of silver nanoparticles and their application on for the development of optical fiber based hydrogen peroxide sensor .*** J homepage 2013; 183: 144-49 .

14- Baharara J, Namvar F, Mousavi M, Ramezani T, Rosfarizan M. ***Anti-Angiogenesis Effect of Biogenic silver Nanoparticles synthesized using saliva officinalis on chick chorioalantoic Membrane (CAM).*** J molecules 2014; 19(13): 498-508.

15- Baharara J, Namvar F, Ramezani T, Hosseini N, Rosfarizan M. ***Green synthesis of silver Nanoparticle using Achilla biebersteinii Flower Extract and its Anti-Angiogenic properties in the Rat Aortic Ring Model .*** J molecules 2014; 19(10): 624-34.

16- Breier G ,Weinheim K, Kriegistein K. ***Vasculogenesis :cell signaling and growth factors in development.*** J ohio: willey&wang 2006.

17- Quesada AR, Munoz-chapuli R, Medina MA. ***Antiangiogenic druge:from bench to clinical trials.*** Med Res Rev 2006; 26(4): 483-530.

18- Baharara J, Ashraf A, Balanejad S, Samareh Mosavi S. ***The inhibitory effect of low frequency field (50HZ) on Angiogenesis in chorioall antoic memberane of chick.*** J Zahedan Univ Med Sci 2010; 12(2): 8-11. [Persian]

19- Baharara J, Parivar K, Oryan Sh, Ashraf AR. ***Effects of low frequency electromagnetic field on gonads and fertilility of female Balb/c mouse .*** J Arak Univ Med Sci 2006; 9(2): 1-11. [Persian]

20- Kohestanian K, Baharara j, Ramezani T, Mousavi M. ***Antiangiogenic Effect of Eugenol in chorioallantoic Membrane of chick Embryo.*** J of shahid sadoghi Univ Med Sci 2015; 23(4): 2109-17. [Persian]

21- Rajamanikan S, Durgapriy D, Ragavendran P, Gopalakrish V. ***Radical scavenging and ntioxidant activity of ethanolic extract of Mollya nudicaulis by In Vitro assays.Indian.*** J pharmaceutical Educ Res 2011; 45: 310-16.

22- Li P, Huo L, Su W, Lu R, Deng C, Liu L. ***Free phenolic radical scavenging capacity ,antioxidant activity and phnolic content of pouzolzia zylanica.*** J Serbian chemical Soci 2011; 76: 709-11.

23- Baharara J, Ashraf A, Balanejad S, Samareh-Mosavi S. ***The inhibitory effect of low frequency electromagnetic field (50HZ) on angiogenesis in chorioallantoic membrane of chick.*** J Zahedan Res Med Sci 2010; 12(2): 12-8. [Persian]

24- Nagel R. ***Nanotechnology.*** J Glibal of pharmaceutical 2013; 3(2): 96-106.

25- Zafar Balanejad S, Parivar K, Baharara J, Mohseni- Koochesfahani H, Ashraf A. ***The synergic effect of rapamycine and extremely low frequency electro magnetic field on angiogenesis.*** J shahrekord Univ Med Sci 2009; 11(3): 70-7. [Persian]

26- Ruggiero M, Bottaro Dp, Liguri G, Gulisano M, Peruzzi B, Pacini S. ***0/02 T Magnetic field inhibits agiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane .*** J Bio electromagnetics 2004; 25(5): 390-96.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]

Synergic Application Effects of Silver Nanoparticles and Low-Frequency Electromagnetic Field on the Chick Embryo Chorioallantoic Membrane on Angiogenesis

Mehrnoosh Motie (MSc) [1], Javad Baharara (PhD)[2]
Alireza Iranbakhsh[3], Tayebe Ramezani (PhD Student) [4]

[1] *Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.*
[2] *Research Center for Animal Development Applied Biology & Biology Dept., Mashhad Branch, Islamic Azad, University, Mashhad, Iran.*
[3] *Department of Biology, Science Research Branch, Islamic university, Tehran, Iran.*
[4] *Department of Biology, Biological Science faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran.*

Received: 7 Feb 2016 ***Accepted:*** 12 May 2016

Abstract

Introductions: Angiogenesis has a role in many vital processes also many developmental processes are influenced by an electromagnetic field. In the present study, the synergic effects of silver nanoparticles and low-frequency electromagnetic field on angiogenesis in the chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) was investigated.

Methods: In this experimental study, (Ross strain) on the eighth day incubation of embryonated chicken eggs were treated with 50, 100 and 200 mg/ml of silver nanoparticles. Then, on the tenth day, the eggs for 3 hours were exposed to the electromagnetic field. On the twelfth day, the samples were photographed and the number, length of vessels, weight and Crown-rump were analyzed with software Image J. hemoglobin content were tested with derabkin assay. Silver nanoparticles antioxidant activity was assessment. Data were analyzed using spss 16 software and ANOVA statistical test.

Results: The average number and length of vessels and hemoglobin content decreased in treated groups with silver nanoparticles and electromagnetic fields. Synergic use of silver nanoparticles and electromagnetic fields reduced the average number and the length of vessels and hemoglobin content than using each one alone. Antioxidant assay showed that silver nanoparticles inhibited free radical production.

Conclusions: Synergic application of biogenic silver nanoparticles with electromagnetic field significantly reduced angiogenesis CAM comparing to use one of them.

Keyworlds: Angiogenesis; Silver nanoparticles; Electromagnetic field

This paper should be cited as:
Mehrnoosh Motie, Javad Baharara, Alireza Iranbakhsh, Tayebe Ramezani. ***Synergic application effects of silver nanoparticles and low-frequency electromagnetic field on the chick embryo chorioallantoic membrane on angiogenesis.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(4): 317-28.

****Corresponding author: Tel: +9851-38437092, Email: baharara@yahoo.com***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-22]