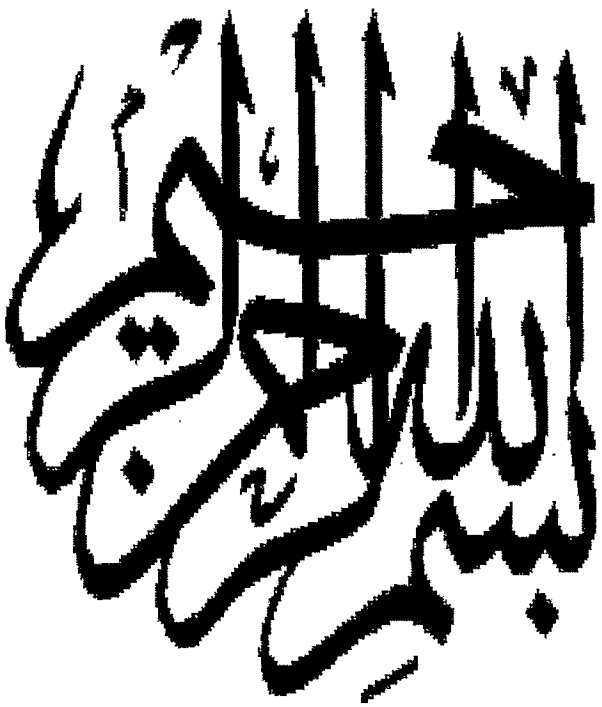

٩٩٨٤٠

۸۷/۱/۱۰۵۱۵۳
۸۷/۱۱/۱۶

دانشگاه رازی

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی گرایش تکوینی

اثر فشار هیدرواستاتیک بر رده سلولی PC12

اساتید راهنما:

دکتر علی امینی

دکتر مهری آزاد بخت

نام دانشجو:

مریم داوری زنجانی

۱۳۸۷ /۷/ ۱۱

مهر ۱۳۸۶

۹۸۴۰

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات ، ابتکارات و
نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه رازی است .

دانشگاه رازی

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته ی علوم جانوری گرایش تکوینی

نام دانشجو مریم داوری زنجانی

تحت عنوان

اثر فشار هیدرواستاتیک بر رده سلولی PC12

در تاریخ ۸۶/۷/۳۰ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای اول	دکتر علی امینی	با مرتبه ی علمی	دانشیار	امضاء
۲- استاد راهنمای دوم	دکتر مهری آزادبخت	با مرتبه ی علمی	استادیار	امضاء
۳- استاد داور داخل گروه	دکتر نصرالله رستگار پویانی	با مرتبه ی علمی	دانشیار	امضاء
۴- استاد داور خارج ازگروه	دکتر رستم قربانی	با مرتبه ی علمی	دانشیار	امضاء

۱۳۸۷ /۷/ ۱۱

با تشکر و سپاس از

اساتید ارجمند و عزیزم جناب آقای دکتر علی امینی و خانم دکتر مهری آزادبخت که در تمامی مراحل تحقیق با تلاش و راهنمایی مستمر خویش همواره مایه امیدواری و دلگرمی من بودند.

جناب آقای دکتر رستم قربانی که به عنوان استاد مدعو از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه زحمت قرائت پایان نامه و حضور در جلسه دفاع را کشیدند.

جناب آقای دکتر رستگار پویانی که به عنوان ممتحن داخلی در جلسه دفاع حضور داشتند.

اساتید محترم گروه زیست‌شناسی آقایان دکتر شریفی، دکتر شمیلی، دکتر رستگار پویانی که در این مدت مطالب فراوانی از آنها آموختم.

سرکار خانم زهرا مختاری مسئول دفتر گروه زیست‌شناسی.

همکار و دوست محترمم جناب آقای سهیل صدری

و با سپاس فراوان از دوستان عزیز و گرامی‌ام در بخش های مختلف به خصوص آزمایشگاه تکوین و بیوسیستماتیک جانوری.

با آرزوی موفقیت برای تمام کسانی که مرا صادقانه در این دوره همراهی کرده و از هیچ کمکی فروگذار نکردند.

تقدیم به

مهربان پدرم

که صداقت را به من آموخت

مادر فداکارم

که صبر وآرامش را پشتوانه ام ساخت

همسر بزرگوارم

که با او زندگی ام معنا یافت

و بردیا ستاره درخشان زندگی ام

چکیده

فشار هیدرواستاتیک یکی از اجزائ حیاتی محیط سلولهاست و در صورت افزایش خارج از حد نرمال میتواند سبب بروز حالات پاتولوژیک گردد. چنانچه فشار مکانیکي ناشي از افزایش فشار هیدرواستاتیک بیش از حد تحمل سلولها گردد، سلول دچار صدمه و مرگ میشود. در مورد برهمکنش افزایش فشار هیدرواستاتیک و تغییرات سلولی که منجر به مرگ سلولی میشود همچنین مکانیسم هاي موثر در بروز مرگ سلولي اطلاعات کمی وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات افزایش فشار هیدرواستاتیک بر رده سلولی PC12 با توجه به وقوع مرگ سلولي است.

در این تحقیق سلولهای PC12 در محیط کشت تحت تاثیر فشار هیدرواستاتیک قرار گرفتند. اعمال فشار توسط اتاقک فشار واقع در انکوباتور انجام شد. محیط کشت سلولها شامل RPMI 1640 حاوی ۲ میلی مولار L- گلوتامین و اسیدهاي آمینه غیر ضروري به میزان ۱%، همراه با FBS به میزان ۱۰% و آنتی بیوتیک ۱% بود. سلولها با تعداد مشخص و در قالب دو گروه کنترل و آزمایش درظروف کشت جداگانه کشت شدند و در گروه آزمایش تحت تاثیر فشار هیدرواستاتیک به میزان ۱۰۰میلیمتر جیوه به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. سپس میزان بقاي سلولها، میزان آپوپتوز در سلولها، مورفولوژی، توانایی چسبندگی، گسترش سلولی و مهاجرت سلولها بررسي شد و نتایج از لحاظ آماری بررسی گردید.

درصد بقاي سلولها بین دو گروه آزمایش و کنترل مقایسه گردید و از این نظر تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد. رنگ آمیزی سلولها با کیت TUNEL به منظور بررسي وقوع آپوپتوز نشان داد که اعمال فشار هیدرواستاتیک باعث افزایش معنی دار شاخص آپوپتوز از ۴ در گروه کنترل به ۱۳ در گروه آزمایش گردیده بود($P<0.05$).

نتایج بررسي مورفولوژي سلولها در ساعات ۰، ۶، ۱۲ و ۲۴ بین دو گروه نشان داد که با اعمال فشار هیدرواستاتیک کاهش مساحت معني داري به ترتیب از۱۰۵۰، ۸۳۹، ۸۰۵، ۸۰۵ میکرومتر مربع در گروه کنترل به ۸۱۷، ۶۵۴، ۷۰۸، ۶۸۵ میکرومتر مربع در گروه آزمایش مشاهده شد($P<0.05$).

نتایج بررسي میزان چسبندگی سلولها نشان داد که در زمانهاي ۵، ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰و ۲۴۰ میانگین تعداد سلول های چسبیده به بستر به ترتیب از ۵۹، ۹۴، ۸۹، ۱۱۶، ۱۲۴ و ۱۴۸ سلول در گروه کنترل به ۳۴، ۶۴، ۶۴، ۹۶، ۱۲۳ و ۱۱۶ سلول چسبیده در گروه آزمایش کاهش یافته بود($P<0.05$).

نتايج بررسي گسترش سلولها نشان داد كه در ۵ زمان مورد مطالعه ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ساعت درصد سلولهای گسترش يافته به ترتيب از ۴۴، ۴۳، ۵۱، ۳۹، ۴۵ در گروه كنترل به ۲۸، ۳۲، ۲۸، ۲۲، ۲۳ در گروه آزمايش كاهش يافته بود($P<0.05$).
بررسي ميزان مهاجرت سلولها نشان داد كه اعمال فشار هيدرواستاتيك باعث كاهش ميانگين تعداد سلول های مهاجرت يافته از ۷۵ در گروه كنترل به ۳۵ درگروه آزمايش شده است($P<0.05$).

بطور كلي نتايج نشان داد فشار هيدرواستاتيك اعمال شده بر سلولهاي PC12 باعث افزايش ميزان آپوپتوز گرديد و با تاثير بر مورفولوژي و همچنين توانايي اتصال وگسترش و مهاجرت سلولها فرضيه مرگ سلولي از نوع آنويكيز را قوت بخشيد.
كلمات كليدي: فشار هيدرواستاتيك، اتاقك فشار، رده سلولي PC12، آپوپتوز، مورفولوژي، چسبندگي، گسترش، مهاجرت، آنويكيز

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فهرست مطالب	أ
فهرست اشکال	ث
فهرست جداول و نمودارها	ح
اختصارات	خ
فصل اول- مقدمه	۱
۱-۱- فشار هیدرواستاتیک در سیستمهای بیولوژیکی	۲
۱-۲- مکانیسمهای سلولی میانجی گر هدایت مکانیکی	۴
۱-۲-۱-کانالهای یونی دریچه دار مکانیکی	۴
۱-۲-۲- انتقال نیروها بین اسکلت سلولی و ماتریکس خارج سلولی	۶
۱-۳- هدایت نیروهای مکانیکی و تعمیر غشائ پلاسمایی	۷
۱-۴- زندگی و مرگ بعد از استرس مکانیکی	۷
۱-۵- پاسخ های سلولی به محرک واسترس‌ها	۸
۱-۶- انواع مرگ سلولی	۹
۱-۶-۱- Autophagy	۱۰
۱-۶-۲- Mitotic Catastrophe	۱۰
۱-۶-۳- Excitotoxicity	۱۱
۱-۶-۴- Cornifaction	۱۲
۱-۶-۵- Wallerian Degeneration	۱۲
۱-۶-۶- Necrosis	۱۳
۱-۶-۷- آپوپتوز، مرگ سلولی برنامه ریزی شدهٔ (PCD)	۱۳
۱-۶-۷-۱- تفاوتهای آپوپتوز ونکروز	۱۵
۱-۶-۸- Anokis	۱۶
۱-۷- سازوکارهای آپوپتوز	۲۰
۱-۷-۱- شروع آپوپتوز	۲۱
۱-۷-۱-۱- مسیر خارجی(گیرنده های مرگ سلولی)	۲۱
۱-۷-۱-۲- مسیز داخلی (مسیر میتوکندریای آپوپتوز)	۲۳
۱-۷-۲- مرحلهٔاجرایی	۲۴
۱- ۸ - ژن‌ها تنظیم کنندهٔ آپوپتوز	۲۶
۱-۸-۱- P 53	۲۷
۱-۸-۲- رتینوبلاستوما	۲۸
۱-۸-۳- پروتئین های خانوادهٔ Bcl-2	۲۹

۱-۹- روشهای تشخیص آپوپتوز ۳۰
۱-۹-۱- تشخیص تغییرات مورفولوژیکی سلول آپوپتوتیک توسط میکروسکوپ‌های نوری و فلورسنس ۳۲
۱-۹-۲- ژل الکتروفورز ۳۳
۱-۹-۳- تشخیص تغییرات بیوشیمیایی سلول آپوپتوتیک توسط رنگ آمیزی به روش TUNEL ۳۳
۱-۹-۴- RT-PCR ۳۴
۱-۱۰- دستگاه عصبی ۳۵
۱-۱۰-۱- مرگ سلولی در دستگاه عصبی ۳۵
۱-۱۰-۲- مرگ سلولی در تکوین دستگاه عصبی ۳۵
۱-۱۰-۳- نروتروفین ها ۳۷
۱-۱۰-۴- مرگ سلولی در بیماری‌های دستگاه عصبی ۳۹
۱-۱۱- ایجاد رده های سلولی ادامه دار ۴۰
۱-۱۱-۱- ایجاد خودبخودی ۴۰
۱-۱۱-۲- تغییرات شیمیایی ۴۰
۱-۱۱-۳- تغییر ویروسی ۴۱
۱-۱۲- خصوصیات رده های سلولی ادامه دار ۴۱
۱-۱۳-تشکیل یک رده کلونال نورآدرنرژیک از سلولهای فئوکروموسیتوما آدرنال رت (PC12) ۴۲
۱-۱۴- فرضیات تحقیق ۴۴
فصل دوم- مواد و روش ها ۴۵
۲-۱- مواد و محلول های آزمایش ۴۶
۲-۱-۱- محیط کشت ۴۶
۲-۱-۲- سرم(FBS) Fetal Bovine Serum ۴۷
۲-۱-۳- محلول Trypsin/EDTA ۴۷
۲-۱-۴- محلول پنی سیلین- استرپتومایسین ۴۷
۲-۱-۵- محلول Non- Essential Amino Acid ۴۷
۲-۱-۶- L-Glutamin ۴۷
۲-۱-۷- محلول Dimethyle sulfoxide (DMSO) ۴۸
۲-۱-۸- تریتون X-100 ۴۸
۲-۱-۹- PI ۴۸
۲-۱-۱۰-محلول بافر فسفات فاقد کلسیم و منیزیم ۴۸
۲-۱-۱۱- محلول تریپان بلو 0.4% ۴۹
۲-۱-۱۲- محلول کریستال ویولت 2% ۴۹

۲-۱-۱۳- محلول پارافرمالدهید۴٪ (w/v) ۴۹
۲-۱-۱۴- مواد و محلولهای مورداستفاده جهت انجام تکنیک TUNEL ۵۰
۲-۱-۱۴-۱-کیت TUNEL ۵۰
۲-۱-۱۴-۲- محلول نفوذ پذیر کننده ۵۰
۲-۲- تجهیزات و وسایل بنیادی ۵۰
۲ -۲-۱- تجهیزات بنیادی ۵۰
۲-۲-۲- وسایل اولیه مورد نیاز ۵۰
۲-۳- مراحل تحقیق ۵۱
۲-۳-۱- سیستم فشار هیدرواستاتیک ۵۱
۲-۳-۲- مشخصات شناسنامه ای رده سلولی PC12 ۵۲
۲-۳-۳- تهیه رده سلولی PC12 ۵۳
۲-۴- حفظ ذخیره سلولی ۵۳
۲-۴-۱- مراقبت روزمره و تعویض محیط کشتپ ۵۳
۲-۴-۲- پاساژ سلولی و ازدیاد فلاسکها ۵۳
۲-۴-۳- ذخیره سلولها به صورت انجماد سلول ۵۴
۲-۵-روشهای بررسی سلولها ۵۴
۲-۵-۱- شمارش سلولی ۵۴
۲-۵-۲- میزان زنده ماندن سلولها ۵۵
۲-۵-۳- مراحل تکنیک TUNEL و بررسی آپوپتوز سلولی تحت القا فشار هیدرواستاتیک ۵۶
۲-۵-۴- بررسی مورفومتریک سلولها ۵۷
۲-۵-۵- بررسی توانایی سلولها برای چسبندگی به بستر ۵۸
۲-۵-۶- بررسی توانایی گسترش سلولها بر روی بستر ۵۹
۲-۵-۷- بررسی توانایی مهاجرت سلولها ۵۹
۲-۶- ارزیابی آماری داده ها ۶۰
فصل سوم- نتایج ۶۱
۳-۱-اثر فشار هیدرواستاتیک برمیزان بقای سلولهای PC12 ۶۲
۳-۲- اثر فشار هیدرواستاتیک در القای آپوپتوز در سلولهای PC12 ۶۲
۳-۳- اثر فشار هیدرواستاتیک بر مورفولوژی سلولهای PC12 ۶۲
۳-۴- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توان چسبندگی سلول های PC12 به بستر (سوبسترا) ۶۳
۳-۵- اثر فشار هیدرواستاتیک بر میزان گسترش سلولهای PC12 ۶۴
۳-۶- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی مهاجرت سلولهای PC12 ۶۴
فصل چهارم- بحث ۷۷
منابع ۸۳

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- ایجاد میکرونولئی و چند هسته ای شدن در جریان Mitotic Catastrophe	۱۱
شکل ۱ -۲ - افزایش کلسیم داخل سلولی در تحریک گلوتامات و در نهایت Excitotoxicity	۱۱
شکل ۱-۳- وقوع دژنرسانس والریان در اثر قطع ارتباط قطعه انتهایی آکسون با جسم سلولی	۱۳
شکل ۱-۴- تفاوتهای آپوپتوز ونکروز	۱۶
شکل ۱-۵ – کمپلکس ارتباطی سلول- ماتریکس خارجی سلولی (ECM) در محل پلاک های اتصالی	۱۷
شکل ۱-۶- شکل شماتیک از نقش اتصالات نقطه ای در راه اندازی سریع حیات و مرگ سلول	۱۹
شکل۱- ۷ - حفظ تنظیم فرایند آپوپتوز بین گونه های مختلف از نماتود تا انسان	۲۰
شکل ۱-۸ - آپوپتوز القاء شده توسط گیرنده‌های مرگ (مسیر خارجی).	۲۲
شکل۱- ۹- مسیر میتوکندریای آپوپتوز	۲۴
شکل ۱-۱۰- مرحلهٔاجرایی آپوپتوز و نقش کاسپازها در آن	۲۵
شکل ۱- ۱۱- نقش محوری p53 در آپوپتوز	۲۸
شکل ۱ –۱۲- نقش Rb در مهار عبور سلول از G_1 به S	۲۹
شکل ۱-۱۳- انواع ژن های مهار کنندهٔ وتشدید کنندهٔ آپوپتوزاز خانوادهٔ Bcl-2	۲۹
شکل۱- ۱۴- تغییر در موروفولوژی سلول حین آپوپتوز	۳۱
شکل ۱- ۱۵- جابجایی فسفاتیدیل سرین از غشاء داخل سلولی به خارج سلولی در حین آپوپتوز	۳۱
شکل ۱-۱۶- قطعه قطعه شدن DNA به قطعات منظم در جریان آپوپتوز	۳۲
شکل ۱- ۱۷- تکنیک TUNEL قطعه قطعه شدن DNA را در جریان آپوپتوز نشان میدهد	۳۴
شکل ۱-۱۸ - مرگ سلولی وابسته به هدف در اثر دسترسی محدود به نروتروفین	۳۷
شکل ۱-۱۹- ایجاد آبشار سیگنالی آپوپتوتیک در عدم دریافت NGF در نرون ها	۳۹
شکل ۲-۱- سیستم اعمال فشار هیدرواستاتیک	۵۲
شکل ۲-۲- روش شمارش سلولی بر روی لام نئوبار	۵۵
شکل ۳- ۱- اندازه گیری مورفومتریک سلولهای PC12	۷۱
شکل ۳- ۲- گسترش سلولها بر روی بستر بعد از کنده شدن و پلیت شدن مجدد	۷۱

شکل ۳-۳- بررسی چسبندگی سلولهای PC12 ۷۲
شکل ۳-۴- مهاجرت سلولهای PC-12 ۷۳
شکل ۳-۵- آنالیز مورفولوژیکی سلولهای PC12 به وسیله تکنیک TUNEL ۷۴
شکل ۳-۶- بررسی مورفولوژیکی سلولهای PC12 بعد از اعمال فشار هیدرواستاتیک ۷۵
شکل۳-۷. رده سلولی PC12 در بزرگنمایی های مختلف ۷۶

فهرست نمودار و جداول

نمودار ۳-۱- اثر فشار هیدرواستاتیک بر میزان بقای سلولهای PC12 پس از گذشت فواصل زمانی مختلف ۶۵

نمودار۳-۲- درصد سلولهای آپوپتوتیک در دو گروه کنترل و آزمایش ۶۶

نمودار ۳-۳- اثر فشار هیدرواستاتیک بر مساحت سلولهایPC12 ۶۷

نمودار۳-۴- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی چسبیدن سلول های PC12 به بستر ۶۸

نمودار ۳-۵- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی گسترش سلول های PC12 بر روی بستر ۶۹

نمودار ۳-۶ - اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی مهاجرت سلول هایPC12 ۷۰

جدول ۱-۱ – سوبستراهای کاسپازها ۲۵

جدول ۱-۲- ژن های تنظیم کننده مثبت و منفی آپوپتوز ۲۶

جدول ۳-۱- اثر فشار هیدرواستاتیک بر میزان بقای سلولهای PC12 پس از گذشت فواصل زمانی مختلف ۶۵

جدول ۳-۲- اثر فشار هیدرواستاتیک در ایجاد آپوپتوز در سلولهای PC12 ۶۶

جدول ۳-۳- اثر فشار هیدرواستاتیک بر مساحت سلولهای PC12 ۶۷

جدول ۳-۴- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی چسبیدن سلول ها به بستر ۶۸

جدول ۳-۵- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی گسترش سلول ها بر روی بستر ۶۹

جدول ۳-۶- اثر فشار هیدرواستاتیک بر توانایی مهاجرت سلول هایPC12 ۷۰

ABBREVIATIONS

ECM	Extra Cellular Matrix
NCCD	Nomenclature Committee of Cell Death
NMDA	N-Metyl Diaspartate
PCD	Programmed Cell Death
GFR	Growth Factor Receptor
ERK	Extracellular signal-regulated kinases
PFAK	Phosphorilated Focal Adhesion Kinase
TNF	Tumor Necrosis Factor
FADD	Fas-associated death domain
DED	Death Effectors Domain
DISK	Death inducing signaling complex
AIF	Apoptotic Inducing Factor
MPT	Mitochondria Permeability Transition
PARP	Poly ADP Ribose Polymer
Rb	Retinoblastoma
MDM-2	Murine double minute2
ARF	Alternative Reading Frame
TUNEL	Terminal Uridine deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labeling
TdT	Terminal deaxy uncleotidyl transferase
CNS	Central Nervous System
PNS	Peripheral Nervous System
CDK	Cyclyn Dependent Kinase
cdc	cell division control
NGF	Nerve Growth Factor
MAP	Microtubule-Associated Proteins
NOCD	Natural occurring cell death
BDNF	Brain Derived Neurotrophin Factor
NTR	Neurotrophin receptor
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
FBS	Fetal Bovine Serum
NEAA	Non- Essential Amino Acid
DMSO	Dimethyl sulfoxid
PI	Propidium Iodide
PBS	Phosphate Buffer Salin
NCBI	National Cell Bank of Iran

فصل اول

مقدمه

۱-۱- فشار هیدرواستاتیک در سیستمهای بیولوژیکی

مطالعات اولیه آزمایشگاهی از نتایج بیولوژیکی فشار هیدرواستاتیک بالا به وسیله کاوش در اعماق دریا بوده است. اصلی ترین این مطالعات در قرن ۱۹ انجام گرفت که با نمونه برداری از کف دریا منجر به کشف ارگانیسم هایی در عمق بیش از ۶۰۰۰ متری تحت فشاری بیش از ۶۰۰ اتمسفر گردید. تخمین زده شده که بیش از نیمی از مساحت زمین در زیر حداقل ۱کیلومتر آب و فشاری بیش از ۱۰۰ اتمسفر است. گودال ماریاناس[1] که عمیقترین بخش اقیانوسهاست بیش از ۱۱۰۰۰ متر عمق دارد و در کف آن ۱۱۰۰ اتمسفر فشار وجود دارد با این حال اکوسیستم های کاملی در این مناطق وجود دارد و ارگانیسم هایی که دراین مناطق زندگی میکنند باید توانایی زنده ماندن در این فشار را داشته باشند(Ashcroft ., 2000).

سلولها چه به صورت منفرد و چه در بافت تحت تأثیر نیروهای مکانیکی مانند فشار هیدرواستاتیک ، فشردگی ، پیچش ، لرزش و کشش هستند که باید خود را با این نیروها سازگار کنند . با دریافت این نیروها سلول اطلاعات حیاتی از جهان فیزیکی اطرافش را بدست می آورد. یکی از این نیروهای مکانیکی فشار هیدرواستاتیک است که از اجزاء مکانیکی حیاتی در محیط سلولی می باشد. درحالت طبیعی فشار هیدرواستاتیک در قسمت های مختلف بدن متفاوت است. برای مثال سلولهای اندوتلیال آئورت فشاری بین ۱۲۰ ـ ۸۰ میلیمترجیوه را تحمل می کنند، سلولهای عصبی در معرض فشاری در حدود ۱۰ میلمترجیوه هستند که از طرف مایع مغزی ـ نخاعی به آنها وارد می شود و شبکیه چشم که یک بافت عصبی است درحالت طبیعی فشاری حدود ۱۵ میلیمترجیوه را از طریق مایع زلالیه موجود در اتاقک چشم دریافت میکند (Tan et al., 2006)

1- Marianas

در حالت طبیعی سلولهای بدن خود را با فشار محیط بیرونی خود تطبیق می دهند و هر گونه افزایش فشار وارد بر سلولها با افزایش فشار مایعات محیط پیرامونی سلولها می تواند باعث ایجاد حالت های آسیب رسان (پاتولوژیک) شود. این افزایش فشار تغییراتی را در سلولها به وجود می آورند که در واقع پاسخ های سلول به تغییر در محیط بیرونی اش است .مثلاً در بیماری افزایش فشار خون به دلیل افزایش فشار وارد شده بر سلولهای اندوتلیال, عروق دچار آترواسکلروز[1] (تصلب شرایین) می شوند و یا در بیماری هیدروسفالوس[2] که به دلیل افزایش فشار مایع مغزی نخاعی(حدود ۳۰ میلیمترجیوه) رخ می دهد سلولهای مغزی دچار آسیب های جدی می شود و یا در بیماری گلوکوما[3](آب سیاه) افزایش فشار داخل کره چشم از ۳۰ تا ۷۰ میلیمترجیوه می تواند ظرف مدتی باعث نابینایی فرد شود (Guyton,1991).

مکانیسم های پایه ای وجود دارند که در سلولها و ارگانهای مختلف حساسیت به نیروهای مکانیکی را تعدیل میکند. برای اینکه یک سلول به نیروهای مکانیکی حساس باشد باید توانایی پاسخ دادن به نیروهایی که در همان لحظه در نزدیکی آن وجود دارند را داشته باشد. احساس این نیروها و تبدیل آن به سیگنالهایی که یک پاسخ را پیش میبرد اصطلاحا هدایت مکانیکی[4] گفته میشود. سلولهای اندوتلیال آئورت دراز میشوند و محور بلندشان و میکروتوبولهایشان به صورت عمود براسترس برشی القا شده توسط جریان خون قرار میگیرند. ماهیچه های صاف آئورت (Ives,1986)، میوسیتهای قلبی (Darisch,1986) پوست و فیبروبلاست های زخم به صورت عمود بر جهت استرس قرار میگیرند. ماهیچه های صاف سرخرگی در زمانی که کشیده میشوند رشته های اکتین ایجاد میکنند و پروتئوگلیکان های ماتریکس خارج سلولی را مشخص میکنند (Leung., 1976). ماهیچه های اسکلتی که به طور متناوب کشیده میشوند، سنتز کلاژن و پروتئین و پروستاگلندین F را افزایش میدهند. تشکیل استخوان جدید بعد از یک دوره فشار اتفاق می افتد و استئوبلاستها PGE2 و CAMP بیشتری تولید میکنند(Somjen.,1988). سلولهای نوع II ریه در زمانی که کشیده میشوند سورفکتانت و فسفاتیدیل کولین بیشتری ترشح میکنند (Wirtz., 1990). اجزائ اصلی

1. Aterosclrosis
2. Hydrocephalus
3. Glaucoma
4. Mechanotransduction

سورفکتانت، توده ماهیچه ای و قلبی به وسیله فشارهای خارجی تحت تاثیر قرار میگیرند. در سندرم تونل کارپال زمانی که عصب مدین تحت تاثیر فشار ۳۰ میلیمتر جیوه یا بالاتر قرار میگیرد، اجسام سلولی عصبی و انتقال آکسونی اش تغییر میکند(Dahlin., 1987). سلولهای شبکه ترابکولار در اتاقک قدامی چشم پروتئین میوسیلین[1] را در پاسخ به کشش و افزایش فشار هیدرواستاتیک بیان میکنند. بعضی سلولهای میانجی گر حساسیت، برای هدایت مکانیکی اختصاصی شده اند برای مثال خمیدگی بسیار کم سلولهای موئی شنوایی باعث انتقال سیگنالهایی میشوند که به ما اجازه شنیدن میدهند و یا رسپتورهای پاچینی در پوست فشار را به صورت سیگنالهای الکتریکی انتقال میدهند. دیگر سلولهای خاص بارورسپتور در میوکارد، سرخرگها و کلیه ها یک نقش فیدبک در میزان ضربان قلب، اسمولاریته سرم و فشار خون دارند و به این ترتیب تنظیم فیزیولوژیکی انجام میدهند(Tamm., 1999).

۱-۲- مکانیسمهای سلولی میانجی گر هدایت مکانیکی

تحقیقات زیادی در زمینه شناسایی مکانیسمهای سلولی میانجی گر هدایت مکانیکی انجام شده است، چنین مکانیسمهایی شامل کانالهای دریچه دار مکانیکی هستند که در پاسخ دهی پر سرعت عمل میکنند و به جریانهای یونی عظیم و سیگنالهای تقویت شده اجازه عبور میدهند. همچنین کمپلکسهایی از اسکلت سلولی- ماتریکس خارج سلولی[2] در ارسال سیگنال داخل سلولی نقش حیاتی دارند (Geiger., 2002).

۱-۲-۱- کانالهای یونی دریچه دار مکانیکی

کانالهای یونی دریچه دار مکانیکی زمانی باز میشوند که غشا سلولی، تحریکی مانند کشش، برش یا جابجایی را دریافت کند. بعضی کانالها به آنیونها اجازه عبور میدهند(مثل Cl^-)و بعضی دیگر کاتیونها را عبور

1- myocilin
2- Extra cellular matrix(ECM)

میدهند(مثل Ca^{2+} و K^+)(Morris., 1990). این کانالها اولین بار در مطالعات سلولی در ماهیچه اسکلتی جوجه و همزمان در ماهیچه جنینی زنوپوس کشف شدند(Brehm., 1984).

باکتریها اغلب دیواره سلولی سختی دارند که آنها را از متورم شدن و تغییر شکل محافظت میکند. همچنین این دیواره سبب میشود آنها به محرکهای مکانیکی نیز کمتر حساس باشند. نوعی از رسپتورها در باکتری اشرشیاکلی به نام MscI وجود دارد که بوسیله باز شدن درست قبل از آسیب رساندن فشار به غشای سلول باکتری آن را در مقابل تخریب اسموتیک محافظت می کند(Sukharev.,1994).

کانالهای دریچه دار مکانیکی در پروکاریوتها عموما به وسیله کشش بالا فعال میشود. این کانالها هدایت یونی بالایی دارند و در مقایسه با یوکاریوتها حالت اختصاصی کمتری نسبت به یک یون خاص دارند و اگر یک کانال یونی در پروکاریوتها دچار جهش شود و فقط یونهای خاصی را عبور دهد از لحاظ خصوصیات شبیه به یوکاریوتها میشود(Le dain et al.,1998).

سلولهای یوکاریوت دیواره سلولی سخت ندارند ولی غشا پلاسمایی آنها از داخل بوسیله یک اسکلت سلولی هدایت میشود. اسکلت سلولی از تغییر شکل غشا جلوگیری میکند و یک داربست داخلی ایجاد میکند که انواع پروتئینها از قبیل مولکولهای سیگنالی و کانالهای حساس به نیروهای مکانیکی به آن اتصال می یابند. . اسکلت سلولی یک ساختار دینامیک دارد و به طور ثابتی خود را تنظیم میکند و با ECM و اسکلت سلولی سلولهای همسایه به وسیله پروتئینهای اتصالی غشا اتصال دارد. هر تغییری در سیتواسکلت، غشا سلولی و ECM میتواند بر کانالهای دریچه دار مکانیکی تاثیر بگذارد(Wan., 1999).

کانالهای دریچه دار در بسیاری از سلولها شناسایی شده است(Sachs., 1988). چندین رده از این نوع کانالها به کاتیونها نفوذپذیرند..به طور مثال در گوش داخلی خم شدن سلولهای شنوایی مویی سبب باز شدن کانال کاتیونی دریچه دار مکانیکی میگردد که در نتیجه آن سلول دپلاریزه شده و کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ فعال میگردد و در انتها سبب اگزوسیتوز وزیکولهای سیناپسی می شود(Marquis., 1997). یک خانواده از کانالها شامل TREK-1 و TRAAK شناسایی شده که بطور گسترده ای در مغز و طناب نخاعی یافت شده است و نقش جبرانی ضعیفی در هدایت K^+ دارد (Patel., 1998). مطالعات in vitro،