بسم الله الرحمن الرحیم

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم **فاطمه جوانی جونی** دانشجوی مقطع **دکتری** رشته **بیوفیزیک** به شماره دانشجویی ۸۸۵۱۶۷۲۰۰۲ رساله واحدی خود را با عنوان« **تاثیر میدان مغناطیسی ایستا برنرخ تمایز سلول های بنیادی مغز استخوان موش صحرایی در محیط کشت آزمایشگاهی درجهت ایجاد سلول های زایای بدوی** » در تاریخ **۱۳۹۲/۶/۳۰** روز **شنبه** ساعت **۱۳** در اتاق شماره **۵۰۰۹ دانشکده علوم زیستی** ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبهٔ علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	آقای دکتر پرویز عبدالمالکی	دانشیار	
۲-استاد مشاوراول	خانم دکتر منصوره موحدین	استاد	
۳- استاد مشاور دوم	آقای دکتر مهرداد بهمنش	دانشیار	
۴- استاد ناظر داخلی	آقای دکتر سید شهریارعرب	استادیار	
۵- استاد ناظر داخلی	خانم دکتر فائزه قناتی	دانشیار	
۶- استاد ناظر خارجی	آقای دکتر مجید واعظ زاده	دانشیار	
۷- استادناظرخارجی	آقای دکترحمید مباشری	دانشیار	
۷- نماینده تحصیلات تکمیلی	آقای دکترسیدشهریار عرب	استادیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

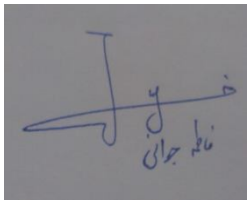
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب فاطمه جوانی جونی دانشجوی رشته بیو فیزیک ورودی سال تحصیلی ۱۳۸۸ مقطع دکتری دانشکده علوم زیستی متعهد می شوم کلِیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»



امضا:

تاریخ:
۱۳۹۲/۸/۲۰

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته بیوفیزیک است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکده‌علوم زیستی‌دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکترپرویز عبدالمالکی ، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکترمحبوبه موحدین و مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکترمهرداد بهمنش از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

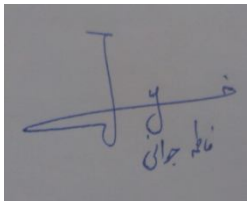
ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب‌فاطمه جوانی جونی‌دانشجوی رشته‌بیوفیزیک‌مقطع‌دکتری

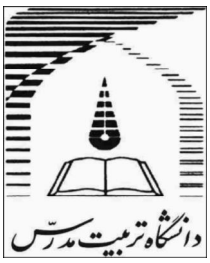
تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: فاطمه جوانی جونی



تاریخ و امضا:

۹۲/۸/۲۰



دانشکده علوم زیستی

رساله دوره دکتری (Ph.D) در رشته بیوفیزیک

عنوان:

تأثیر میدان مغناطیسی ایستا بر نرخ تمایز سلول‌های بنیادی مغز استخوان موش صحرایی در محیط کشت آزمایشگاهی در جهت ایجاد سلول‌های زایای بدوی

نگارنده:

فاطمه جوانی جونی

استاد راهنما:

دکتر پرویز عبدالمالکی

استادان مشاور:

دکتر منصوره موحدین

دکتر مهرداد بهمنش

تابستان ۱۳۹۲

خدایا...!

گاهی تو را بزرگ می‌بینم و گاهی کوچک،

این تو نیستی که بزرگ می‌شوی و کوچک...

این منم که گاهی نزدیک می‌شوم و گاه دور...

تقدیم به:

پدر و مادرم

به بهانه‌ی سپاس از محبتشان

پروردگارا سپاس:

برای تمام لبخندهای محبت بار، دستان یاری رسان و همه آن عشق و محبت و چیزهایشگفت انگیزی که دریافت کردم.

سپاس و تشکر فراوان از اساتید بزرگوارم:

جناب آقای دکترپرویز عبدالمالکی ، دکتر محبوبه موحدین و دکتر مهرداد بهمنش، که با رهنمودها و کمک های بی دریغشان در لحظه لحظه ی این تحقیق راه گشای من بودند و بی یاری ایشان این پایان نامه گرد نمی آمد.

اساتید محترم ناظر داخلی و خارجی سرکار خانم دکتر فائزه قناتی، جناب آقای دکتر شهریار عرب، جناب آقای دکتر حمید مباشری و جناب آقای دکتر مجید واعظ زاده که به ظرافت آنچه به انجام رسیده را کاویدند و به همت خویش آن آراسته را پیراستند.

تشکر فراوان از دوستان مهربانم:

برای همه ی کمک ها و دلگرمی هایشان، برای تمام لحظاتی که در کنارم بودند و به من جرات و شهامت دادند.

هرگز یاد و محبتتان را فراموش نخواهم کرد.

چکیده

به دلیل افزایش نازایی و مشکلات موجود در اهدا گامت، ضرورت ایجاد روشی مطمئن و ایمن جهت تولید منبعی از سلول‌های جنسی به منظور استفاده در انجام تحقیقات و درمان ناباروری بسیار ارزشمند است. به همین منظور محققین با استفاده از سلول‌های بنیادی، به دنبال ایجاد محیط کشت مناسب برای تمایز سلول‌های زایا هستند. هدف اصلی این مطالعه، بررسی تأثیر میدان مغناطیسی ایستا بر نرخ تمایز سلول‌های بنیادی مغز استخوان موش صحرایی به سلول‌های زایای بدوی بود. مسیر تمایزی سلول‌ها به نوع محیط کشت و برخی فاکتورهای خاص همانند مکمل‌ها و محرک‌های القایی بستگی دارد که باعث هدایت تمایز سلول‌ها در جهت خاصی می‌شود؛ بنابراین، با انتخاب یک محیط مناسب (αMEM) و استفاده از محرک‌های تمایز (BMP4) می‌توان سلول‌های بنیادی را به سلول‌های معینی تمایز داد. در این مطالعه از سلول‌های بنیادی مغز استخوان موش صحرایی به عنوان یک هدف زیستی استفاده شد. با اعمال میدان مغناطیسی ایستا (۴ میلی تسلا و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت) تغییر در نرخ تمایز این سلول‌ها بررسی گردید. برای میدان دهی از میدان مغناطیسی ایستا به شکل سلونوئید که مجهز به سیستم کنترل دما، رطوبت، غلظت مناسب co_2 و تنظیم شدت میدان بود، استفاده شد. برای ایجاد تمایز، بیان ژن‌های ویژه‌ای الزامی بوده که به عنوان مارکر تمایز شناخته می‌شوند. برای ردیابی بیان مارکرهای ژنی مسیر تمایز (Fragilis, Mvh , Stella, Oct-4 , Nanog, c-Myc) از روش Real Time –PCR و جهت ردیابی پروتئین‌های مارکر (Oct4 و Mvh) از واکنش ایمنوسیتوشیمی استفاده شد. نتایج نشان‌دهنده این بود که افزایش شدت و زمان میدان مغناطیسی ایستا باعث کاهش نرخ تکثیر و در صد حیات سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان می‌شود. کاهش معنادار ($P\leq ۰/۰۵$) بیان ژن‌های پرتوانی (Oct-4 , Nanog, c-Myc) و پروتئین Oct-4 و افزایش معنادار ($P\leq ۰/۰۵$) بیان ژن‌های اختصاصی سلول‌های زایای بدوی (Fragilis, Mvh , Stella) و پروتئین Mvh نشان‌دهنده‌ی تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های زایای بدوی بود. همچنین بیان ژن c-Myc به عنوان یک ژن انکوژنیک کاهش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) را در انتهای مراحل آزمایش نسبت به مرحله شروع تمایز سلولی نشان داد. نتیجه کلی نشان داد که میدان مغناطیسی ایستا به عنوان یک محرک فیزیکی می‌تواند باعث تغییر بیان ژن‌ها و پروتئین‌ها شده و از این طریق بر روند تمایز سلول‌های بنیادی مغز استخوان تأثیرگذار باشد.

کلمات کلیدی: تمایز، سلول بنیادی مغز استخوان، سلول زایای بدوی، میدان مغناطیسی ایستا

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱. میدان‌های الکتریکی ۵

۱-۲. مفاهیم فیزیکی میدان‌های الکترومغناطیسی ۶

۱-۳. نحوه‌ی به وجود آمدن میدان مغناطیسی ۷

۱-۴. تعریف میدان مغناطیسی ۹

۱-۴-۱. اندازه‌گیری دوز دریافت شده از یک میدان مغناطیسی ۱۰

۱-۴-۲. اثر بر ذرات مغناطیسی بدن ۱۱

۱-۵. مواد مغناطیسی ۱۲

۱-۵-۱. مواد دیامغناطیس ۱۲

۱-۵-۲. مواد پارامغناطیس ۱۳

۱-۵-۳. مواد فرومغناطیس ۱۳

۱-۵-۴. مواد پاد فرو مغناطیس ۱۴

۱-۵-۵. مواد فری مغناطیس ۱۵

۱-۶. میان کنش میدان‌های مغناطیسی با مولکول‌های مغناطیسی ۱۵

۱-۷. آهن‌رباهای زیستی ۱۶

۱-۸. تأثیر میدان مغناطیسی ایستا بر بیان ژن‌ها ۱۸

۱-۹. استفاده از سلول‌های بنیادی به منظور سلول درمانی در درمان ناباروری ۲۰

۱-۱۰. سلول بنیادی و انواع آن ۲۱

۱-۱۰-۱. سلول‌های بنیادی با منشأ جنینی ۲۲

۱-۱۰-۲. سلول‌های بنیادی بالغین ۲۴

۱-۱۰-۲-۱. ویژگی سلول‌های بنیادی بالغین ۲۴

۱-۱۰-۲-۲. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ۲۷

۱-۱۰-۲-۲-۱. مارکرهای اختصاصی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ۲۸

۱-۱۰-۳. استفاده از سلول‌های بنیادی جهت تمایز به سلول‌های زایا ۳۱
۱-۱۱. ضرورت ۳۴
۱-۱۲. سؤالات اصلی تحقیق: ۳۵
۱-۱۳. اهداف تحقیق ۳۵
۱-۱۴. فرضیه‌ها ۳۵
فصل دوم: مواد و روش‌ها. ۳۷
۲-۱. جداسازی سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان ۳۸
۲-۲. کشت سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان ۳۹
۲-۳. پاساژ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان موش صحرایی ۳۹
۲-۴. انجماد سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ۳۹
۲-۵. روش ذوب نمودن سلول ۴۰
۲-۶. تأیید ماهیت مزانشیمی سلول‌ها ۴۱
۲-۶-۱. تأیید ماهیت مزانشیمی سلول‌های کشت داده‌شده با استفاده از مارکرهای سطح سلولی ۴۱
۲-۶-۲. تأیید ماهیت مزانشیمی سلول‌های کشت داده‌شده با تمایز سلول‌ها به رده استئوژنز و ادیپوژنز ۴۲
۲-۶-۲-۱. تمایز سلول‌ها به رده استئوژنز ۴۲
۲-۶-۲-۱-۱. رنگ‌آمیزی آلیزارین رد ۴۲
۲-۶-۲-۲. تمایز سلول‌ها به رده ادیپوژنز ۴۲
۲-۶-۲-۲-۱. رنگ‌آمیزی اویل رد ۴۳
۲-۷. شمارش سلول‌ها ۴۳
۲-۷-۱. روش تهیه محلول تریپان آبی ۴۳
۲-۷-۲. روش شمارش سلول‌های زنده: ۴۳
۲-۸. دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا ۴۵
۲-۹. تهیه استوک BMP4 ..... ۴۶
۲-۱۰. تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به سلول‌های زایای بدوی ۴۷
۲-۱۱. روش‌های ارزیابی مولکولی در سطح ژن و پروتئین، طی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های زایای بدوی ۴۷
۲-۱۱-۱. بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن ۴۷
۲-۱۱-۱-۱. استخراج RNA کل ۴۸

۲-۱۱-۱-۱-۱. روش تهیه آب تیمار شده با DEPC ۴۸
۲-۱۱-۱-۱-۲ روش استخراج RNA با استفاده از کیت شرکت کیاژن ۴۸
۲-۱۱-۱-۲. بررسی RNA استخراج‌شده ۵۰
۲-۱۱-۱-۲-۱. بررسی کیفی RNA توسط الکتروفورز ژل آگارز ۵۰
۲-۱۱-۱-۲-۱-۱. مراحل کار الکتروفورز ژل آگارز ۵۱
۲-۱۱-۱-۲-۲. بررسی کمی RNA توسط دستگاه نانودراپ ۵۳
۲-۱۱-۱-۳. سنتز cDNA از روی RNA استخراج‌شده ۵۳
۲-۱۱-۱-۴ واکنش زنجیری پلی مرازی؛ PCR ۵۵
۲-۱۱-۱-۴-۱. طراحی پرایمر ۵۵
۲-۱۱-۱-۴-۲. بهینه کردن غلظت cDNA و پرایمرها و دمای Annealing ۵۷
۲-۱۱-۱-۴-۳ چگونگی انجام واکنش زنجیری پلی مراز به روش RT ۵۹
۲-۱۱-۱-۵. بررسی کمی بیان ژن با استفاده از تکنیک Real-Time PCR ۶۰
۲-۱۱-۲. مطالعات ایمنوسیتوشیمی جهت بررسی بیان پروتئین ۶۲
۲-۱۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها ۶۴
فصل سوم: نتایج و یافته‌ها ۶۵
۳-۱. جداسازی و کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ۶۶
۳-۲. پاساژ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان موش صحرایی ۶۶
۳-۳. تأیید ماهیت مزانشیمی سلول‌ها ۶۷
۳-۳-۱. تأیید ماهیت مزانشیمی سلول‌های کشت با استفاده از مارکرهای سطح سلولی ۶۷
۳-۳-۲ تأیید ماهیت مزانشیمی سلول‌های کشت داده‌شده با تمایز سلول‌ها به رده استئوژنز و ادیپوژنز ۶۸
۳-۴. تأثیر شدت و زمان میدان مغناطیسی ایستا بر درصد حیات و نرخ تکثیر BMSC ۷۰
۳-۵. بررسی اثرات همزمان BMP-4 و SMF بر درصد حیات و نرخ تکثیر BMSC ۷۲
۳-۶. نتایج بررسی RNA استخراج‌شده ۷۵
۳-۶-۱. نتایج بررسی کیفی RNA توسط الکتروفورز ژل آگارز ۷۵
۳-۶-۲. نتایج بررسی کمی RNA توسط دستگاه نانودراپ ۷۶
۳-۷. نتایج حاصل از بهینه کردن غلظت cDNA و پرایمرها و دمای Annealing ۷۶

۳-۸. بررسی کمی الگوی بیان ژن‌های پرتوانی و اختصاصی سلول‌های زایا در سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان تازه و پاساژ چهارم ۷۷

۳-۹. بررسی کمی الگوی بیان ژن‌های پرتوانی و اختصاصی سلول‌های زایا در سلول‌های تیمار شده با BMP-4 و SMF و گروه کنترل ۸۲

۳-۱۰. بررسی بیان پروتئین Oct4 و Mvh در سلول‌های مغز استخوان ۴ ساعت و ۴ پاساژ بعد از کشت و بعد از تمایز به سلول‌های زایای بدوی..... ۸۴

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها.....۹۰

۴-۱. جداسازی، کشت و بررسی میزان پرتوانی و امکان استفاده از سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان به رده سلول‌های زایا..... ۹۲

۴-۲. بررسی قرابت و توانایی تمایز سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان به رده سلول‌های زایا ۹۵

۴-۲-۱. بررسی قابلیت تومورزائی جمعیت هتروژن از سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان ۹۷

۴-۳. تأثیر شدت و زمان میدان مغناطیسی ایستا و BMP4 بر درصد حیات و نرخ تکثیر BMSC..... ۱۰۰

۴-۴. تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به سلول‌های زایای بدوی ۱۰۵

۴-۵. نتیجه‌گیری نهایی ۱۰۷

۴-۶. پیشنهادها..... ۱۰۸

فهرست منابع و مآخذ ۱۰۹

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول (۲-۱) ویژگی‌های پرایمرهای اختصاصی بکار رفته ۵۶

جدول (۲-۲) بهینه‌سازی پرایمرهای پیشرو و معکوس و cDNA برای انجام واکنش زنجیری پلیمراز ۵۸

جدول (۳-۱) درصد حیات و نرخ تکثیر در زمان‌های متفاوت (۲۴،۴۸و۹۶ ساعت) و شدت ۴میلی تسلا در حضور و عدم حضور BMP4 ..... ۷۳

جدول (۳-۲) دمای ANNEALING پرایمرهای اختصاصی به‌کاررفته ۷۷

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل (۱-۱) دستگاه میدان مغناطیسی سیم‌لوله و اجزای تشکیل‌دهنده‌ی آن ۴۶

شکل (۳-۱) کشت سلول‌های استرومائی مغز استخوان موش صحرایی، بعد از گذشت ۴ ساعت ۶۶

شکل (۳-۲) کشت سلول‌های استرومائی مغز موش صحرایی، بعد از گذشت استخوان ۴ پاساژ ۶۷

شکل (۳-۳) تأیید ماهیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان بعد از پاساژ چهار ۶۸

شکل (۳-۴) تمایز سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان پاساژ چهارم به رده استئوژنز و ادیپوژنز ۶۹

شکل (۳-۵) در صد حیات سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان موش صحرایی در زمان‌ها (۲۴،۴۸،۷۲و۹۶ ساعت) و شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی ایستا (۴ ، ۷ و ۱۵میلی‌تسلا) ۷۱

شکل (۳-۶) نرخ تکثیر سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان موش صحرایی در زمان‌ها (۲۴،۴۸،۷۲و۹۶ ساعت) و شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی ایستا (۴ ، ۷ و ۱۵میلی تسلا) ۷۱

شکل (۳-۷) میانگین درصد بقاء سلول‌ها در حضور BMP-4 با غلظت NG/ML ۲۵ در زمان‌های متفاوت (۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) و میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۴ میلی تسلا و زمان‌های میدان دهی ۲۴ و ۴۸ ساعت..... ۷۴

شکل (۳-۸) میانگین نرخ تکثیر سلول‌ها در حضور BMP-4 با غلظت NG/ML ۲۵ در زمان‌های متفاوت (۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) و میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۴ میلی تسلا و زمان‌های میدان دهی ۲۴ و ۴۸ ساعت..... ۷۴

شکل (۳-۹) الکتروفورز نمونه‌های RNA ۷۵

شکل (۳-۱۰) الکتروفورز محصولات RT-PCR بر روی ژل آگارز ۷۶

شکل (۳-۱۱) منحنی AMPLIFICATION (A)، STANDARD (B) و MELT (C) در گروه کنترل مربوط به ژن GAPDH. ۷۸

شکل (۳-۱۲) منحنی MELT مربوط به ژن‌های پرتوانی و ژن‌های اختصاصی سلول‌های زایا ۷۹

شکل (۳-۱۳) الگوی بیان ژن‌های پرتوانی و اختصاصی سلول‌های زایای تمایزیافته در سلول‌های مزانشیمی تازه و پاساژ چهارم ۸۱

شکل (۳-۱۴) الگوی بیان ژن‌های پرتوانی پس از تیمار با ۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر BMP-4 و ۴ میلی تسلا میدان مغناطیسی ایستا در مقایسه با بیان ژن‌های مورد مطالعه در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ۸۳

شکل (۳-۱۵) الگوی بیان ژن‌های اختصاصی سلول‌های زایای پس از تیمار با ۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر BMP-4 و ۴ میلی تسلا میدان مغناطیسی ایستا در مقایسه با بیان ژن‌های مورد مطالعه در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ۸۴

شکل (۳-۱۶) آزمون ایمنوسیتوشیمی پروتئین OCT4 در سلول‌های مغز استخوان ۴ ساعت و ۴ پاساژ بعد از کشت..... ۸۶

شکل (۳-۱۷) آزمون ایمنوسیتوشیمی پروتئین MVH در سلول‌های مغز استخوان ۴ ساعت و ۴ پاساژ بعد از کشت..... ۸۷

شکل (۳-۱۸) الگوی بیان پروتئین‌های Oct4 و Mvh توسط آزمون ایمنوسیتوشیمی در سلول‌های مزانشیمی تازه و پاساژ چهارم ۸۸

شکل (۳-۱۹) الگوی بیان پروتئین‌های OCT4 و MVH توسط آزمون ایمنوسیتوشیمی در سلول‌های بنیادی مغز استخوان موش صحرایی بعد از تیمار با ۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر BMP-4 و میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۴ میلی تسلا ۸۹

فصل اول

مقدمه و مروری

برمطالعات گذشته

فصل اول: مقدمه

در حال حاضر بشر در عصر اطلاعات بسر مـی‌بـرد و ایـن عصـر تقریبـاً بـه طـور کامـل بـر فیزیـک امـواج الکترومغناطیسی مبتنی است. انسان‌ها در این دهکده‌ی جهانی توسط تلویزیون، تلفن و اینترنـت بـاهم در ارتباط هسـتند و بـه خـاطر وجـود فرسـتنده‌هـای تلویزیـونی، رادیـویی و تلفـن، غـرق در سـیگنال‌هـای الکترومغناطیسی می‌باشـند. از طـرف دیگـر در جوامـع کنـونی میـدان مغناطیسـی و نیـروی مغناطیسـی کاربردهای بی‌شماری دارند و این کاربردها سال به سال در حال تغییر هستند. برای مثال، سال‌ها است کـه در وسایل ارتباط جمعی همچون ضبط‌صوت، تلویزیون، رایانه، تلفن، بلندگو و حتی در خودروهای امـروزی و دستگاه‌های تشخیص پزشکی از آهنرباها و یا میدان‌های مغناطیسی استفاده می‌شود. بنـابراین انسـان‌هـا همواره در معرض میدان‌های مغناطیسی با منشأ طبیعی یا مصنوعی قـرار دارنـد. پـس طبیعـی اسـت کـه پرسش‌هایی در مورد مضرات و فواید میدان‌های مغناطیسی بر سلامت انسان همواره ذهن افراد را بـه خـود مشغول کند. اگر چه سال‌ها است که برهم‌کنش میدان‌های مغناطیسی و الکترومغناطیسی با سیسـتم‌هـای زیستی در حال بررسی است، مکانیسم‌های بیوفیزیکی مشخصی برای توجیه بسیاری از اثرات ضد و نقـیض میدان‌های مغناطیسی به دست نیامده است، در بخش‌های بعدی برخی از مکانیسم‌های پیشـنهادی مطـرح می‌گردند.

پیشرفت‌های اخیر در زمینه ساخت دستگاه‌های پزشکی مانند تصویربرداری رزونانس مغناطیسی[1] (MRI) و تحریک مغناطیسی بین جمجمه‌ای[2] (TMS) پرسش‌هایی را در مورد اثرات میدان‌های مغناطیسی قوی (در حد تسلا[3]) بر سلامت انسان، در ذهن افراد به وجود آورده است. کاربردهای پزشکی میدان‌های مغناطیسی ضعیف (۲۰۰- ۱ میلی تسلا) برای اهدافی نظیر کاهش درد نیز در سال‌های گذشته مورد مطالعه قرارگرفته است. امروزه، همچنین استفاده از آهن‌رباهای دائمی و دیگر وسایل مغناطیسی در درمان بیماری‌هایی مانند سرطان گسترش یافته است (Barnes and Greenebaum, 2006). منابع میدان مغناطیسی را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد:

میدان مغناطیسی طبیعی: شامل دو میدان است، یکی در داخل زمین که زمین را به صورت یک آهن‌ربای دائمی درمی‌آورد و دیگری میدان مغناطیسی خارج از زمین که از طریق عواملی مانند رعد و برق و فعالیت خورشیدی به وجود می‌آید.

میدان مغناطیسی مصنوعی: در همه محیط‌ها و در طیف وسیعی از فرکانس و شدت میدان قرار دارد. با پیشرفت علم و فناوری هر روز بر تعداد این میدان‌ها افزوده می‌شود. وسایل خانگی، صنعتی و دستگاه‌های پزشکی از اصلی‌ترین منابع این نوع میدان می‌باشند (WHO, 1987).

انسان‌ها، حیوانات، گیاهان و تمام موجودات زنده روی کره زمین در این میدان رشد و نمو کرده و از همان ابتدا به آن عادت کرده‌اند. شدت این میدان متفاوت بوده، از ۳۰ تا ۷۰ میکرو تسلا در نوسان است. مطالعات محققان نشان می‌دهد که با حذف این میدان مغناطیسی فعالیت پایه‌ای باکتری اشریشیاکلی کاهش می‌یابد (Alfjorov and Kuznetsova, 1981) و تغییراتی در میتوکندری گیاهانی چون عدس، نخود و برزک ایجاد می‌گردد (Beljavskaja et al., 1992). گورجوف[4] (۱۹۹۵) نشان داد که حذف و یا

[1] Magnetic Resonance Imaging
[2] Transcranal Magnetic Stimulation
[3] Tesla
[4] Grigorjev

کاهش میدان مغناطیسی زمین، موجب کاهش در یادگیری و افزایش کتکول آمین[1] در هیپوکامپوس[2] رت می‌گردد. علاوه بر این شواهدی از سازگاری زیستی سلول‌ها و پاسخ‌های سلولی با میدان مغناطیسی زمین دیده می‌شود (Funk et al., 2009). با پیشرفت علم و فن آوری و گسترش استفاده از میدان مغناطیسی در صنعت استخراج فلزات، حمل‌ونقل، پژوهش، پزشکی و غیره بحث جدیدی ایجاد می‌شود که در آن شدت میدان مغناطیسی قابل اغماض نیست و اثرات آن را نمی‌توان نادیده گرفت. در تصویربرداری به کمک تشدید میدان مغناطیسی[3] از میدان مغناطیسی با شدت ۱/۵ تا ۳ تسلا استفاده می‌شود. شدت این میدان‌های مغناطیسی چند ده هزار برابر میدانی است که انسان زندگی خود را با آن شروع نموده و به آن عادت کرده است (Colbert et al., 2009).

از لحاظ تاریخی مردم چین صدها سال پیش، از این پدیده فیزیکی برای درمان استفاده می‌کردند. در سال ۱۷۷۵ مسمر[4] با انتشار رساله‌ای استفاده از میدان مغناطیسی در درمان دردها را مطرح کرد. هر چند که بعداً این مسئله با مخالفت جدی فرهنگستان علوم سلطنتی فرانسه مواجه گردید و آن را نوعی شیادی و کلاه‌برداری پزشکی دانست (Reeser et al., 2005). با این حال گزارشی از کاهش درد توسط میدان مغناطیسی ایستا در برخی از مقالات علمی و تحقیقی دیده می‌شود (Holcomb et al., 2000, McLean et al., 2001, Nursal et al., 2006).

به عقیده برخی از محققان، میدان‌های مغناطیسی و الکتریکی می‌توانند بر موجودات زنده از جمله انسان اثر ناخوشایندی داشته باشند. ورتیمیر و لیپر[5] اعلام کردند که میزان شیوع سرطان خون و سر در نوزادانی که خانواده آن‌ها در اطراف خطوط انتقال نیرو زندگی می‌کنند، دو تا سه برابر بیشتر از آن‌هایی

[1] Catecholamine
[2] Hippocampus
[3] Magnetic Resonance Imaging - MRI
[4] Franz Anton Mesmer
[5] Wertheimer and Leeper

است که خارج از این نواحی زندگی می‌کنند (Wertheimer and Leeper, 1979). هسیه[1] و همکاران اثر بد و اخلال در روند ترمیم ضایعه غضروفی توسط میدان مغناطیسی را مشاهده کردند (Hsieh et al., 2008).

میدان مغناطیسی به عنوان یک محرک فیزیکی برای القا تمایز مطرح است. هنگ[2] و همکارانش در یک مقاله مروری به انواعی از روش‌ها و راهکارها، برای ایجاد تمایز هدفمند اشاره‌کرده‌اند (Heng et al., 2004). میدان مغناطیسی در مقایسه با مواد شیمیایی القا گر تمایز، اثرات جانبی کمی دارد. ضمن اینکه می‌توان از آن به طور مستمر استفاده نمود. از میدان مغناطیسی به عنوان عامل کمکی در پیوند سلول‌ها به بافت‌های آسیب‌دیده - سلول درمانی- کمک گرفته شده است (Ankeny et al., 2004, Chen et al., 2005). به عنوان مثال، برای درمان ضایعات و آسیب‌های بافت عصبی ناشی از کم اکسیژنی و یا آسیب‌های فیزیکی می‌توان با پیوند سلول‌های پایه‌ای در این نواحی به درمان پرداخت (Amado et al., 2006, Penna et al., 2008). تحقیقات پژوهشگران نشان داده است که با ایجاد محیط مناسب و محرک‌های خاص، سلول‌های بنیادی استخراج‌شده از مغز استخوان قابلیت تبدیل شدن به انواع سلول‌ها را دارند (Lu et al., 2004, Vaccarino et al., 2001).

۱-۱. میدان‌های الکتریکی

جسمی که دارای بار الکتریکی است بر روی تمام اجسام بارداری که در اطراف آن قرار دارند نیرو وارد می‌کند. برای توصیف این واقعیت در فضای اطراف یک جسم باردار، میدانی در نظر گرفته می‌شود که آن را میدان الکتریکی می‌نامند. هر جسم بارداری که در این میدان قرار می‌گیرد بر آن نیرو اعمال می‌شود.

[1] Hsieh
[2] Heng Boon Chin

میدان الکتریکی را با بردار $\vec{E}$ نشان می‌دهند. رابطه بین $\vec{E}$ و نیروی اعمال‌شده $\vec{F}$ بر بار الکتریکی q به صورت زیر است:

$$\vec{F} = \vec{E} \times q$$

واحد اصلی بزرگی میدان الکتریکی نیوتن بر کولن $\frac{N}{C}$ است. در صورتی که یک جسم رسانا یا نیمه‌رسانای دارای جریان الکتریکی، در میدان مغناطیسی قرار گیرد باعث ایجاد اختلاف پتانسیل عمود بر جهت جریان میدان مغناطیسی می‌گردد که اصطلاحاً اثر هال[1] نامیده می‌شود. مقدار اختلاف پتانسیل از رابطه $V = R\frac{BI}{d}$ به دست می‌آید. که در آن B دانسیته فلوی مغناطیسی، I شدت جریان الکتریکی، d ضخامت جسم در جهت میدان، R ضریب هال میدان‌های الکترومغناطیسی که به وسیله طول موج λ (بر حسب متر) و فرکانس F (بر حسب هرتز) مشخص می‌شوند (گودرزی، ۱۳۸۱).

۱-۲. مفاهیم فیزیکی میدان‌های الکترومغناطیسی

بار الکتریکی متحرک، میدان مغناطیسی تولید می‌کند. یعنی در صورت وجود جریان الکتریکی میدان مغناطیسی هم حضور خواهد داشت. اگر جریان الکتریکی مستقیم (DC) باشد و در یک جهت جریان یابد میدان مغناطیسی یکنواخت و استاتیک خواهد بود. اگر جریان الکتریکی متناوب (AC) باشد میدان مغناطیسی تولیدشده نیز نوسان دار یا متناوب خواهد بود.

میدان مغناطیسی با دو کمیت برداری دانسیته فلوی مغناطیسی (B) و شدت میدان مغناطیسی(H) سنجیده می‌شود واحد دانسیته فلو (B) تسلا و واحد شدت میدان مغناطیسی آمپر بر متر است (در سیستم SI). واحد دانسیته فلو در سیستم CGS گوس نامیده می‌شود که معادل ۱۰ هزارم تسلا است.

[1] Hall effect