JSST
Journal of Space Science & Technology

Vol. 6, No.4, 2013

The Study of Hypergravity and Flight Stress on Different Cell Lines Function in Sounding Rocket

Z. Hajebrahimi[1*], L. Alidoust[2], M. Arabian[3], E. Alavi[4], M. Ebrahimi[5] and M. Bahrami[6]

1-5. Astronautics Research Institute, Iranian Space Research Center

6. Department of Mechanical Engineering, Amirkabir University of Technology

[*]Postal Code: 1645774111, Tehran. IRAN

hajebrahimi@ari.ac.ir

Stress environment of space flights including hypergravity and microgravity effect cell functions and processes. We studied effect of hypergravity and flight stress on function, death, growth and cellular damage of five cell lines including human vascular endothelial cells, rat bone marrow stromal cells, mouse embryonic fibroblast cells, PC12 cells and pancreas islands in Biological payload of 3th sounding rocket by NO, LDH, MTT and insulin assay kits. Our results indicated that effect of hypergravity increase significantly cellular death and NO secretion but we found no changes in insulin secretion and pancreas function.

Keywords: Stress, Sounding rocket, Lactate dehydrogenase, Nitric oxide, Hypergravitye

1. Assistant Professor (Corresponding Athour)
2. PhD Candidate
3. PhD
4. M.Sc.
5. Specialist and Surgeon
6. Professor

Recived: 2013.08.20 , Accepted: 2014.03.03

JSST
فصلنامهٔ علمی - پژوهشی علوم و فناوری فضایی

جلد ۶ / شمارهٔ ۴/ زمستان ۱۳۹۲
ص. ص ۴۲- ۳۷

بررسی اثرات ناشی از هایپرگراویتی و استرس پرتاب بر عملکرد رده‌های سلولی مختلف در کاوشگر

زهرا حاج‌ابراهیمی[۱*]، لیلا علیدوست[۲]، مائده عربیان[۳]، احسان علوی[۴]، محمد ابراهیمی[۵] و محسن بهرامی[۶]

۱-۵- پژوهشکده سامانه‌های فضانوردی، پژوهشگاه فضایی ایران

۶- دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

[*]تهران، کدپستی ۱۴۶۵۷۷۴۱۱۱

hajebrahimi@ari.ac.ir

شرایط استرس‌زای پرتاب با کاوشگرها - هایپرگراویتی و جاذبهٔ ناچیز- منجر به تغییر در فرایندها و عملکردهای سلولی می‌شود. در این مطالعه، اثرات هایپرگراویتی و استرس ناشی از آن بر روی میزان فعالیت، رشد، مرگ و میر و آسیب سلولی در ۵ ردهٔ سلولی اندوتلیال عروق انسان، سلول‌های بنیادی مغز استخوان موش صحرایی، فیبروبلاست جنینی موش، PC12 و جزایر لانگرهانس موش صحرایی از طریق سنجش میزان NO، LDH، MTT و انسولین توسط ماژول کپسول زیستی کاوشگر ۳ انجام شد. نتایج نشان داد که هایپرگراویتی موجب افزایش معنی‌دار در ترشح NO و مرگ و میر سلولی می‌شود اما تغییری در عملکرد پانکراس در تولید انسولین مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: استرس، کاوشگر، لاکتات دهیدروژناز، نیتریک اکسید، هایپرگراویتی

مقدمه

از ویژگی‌های متمایزکنندهٔ محیط فضا از زمین، می‌توان به جاذبهٔ ناچیز و وجود پرتوهای کیهانی اشاره کرد. هدف از مطالعات زیست فضایی، تعیین اثرات محیط فضا بر رشد، شکل و عملکرد سیستم‌های زیستی، اصلاح کیفیت زندگی بر روی زمین و همچنین افزایش دانش زیست‌شناسی است. این مطالعات شامل تحقیقات بر روی زمین و تحقیقات در فضاست. به علت کم‌بودن موقعیت‌های تحقیقاتی در فضا، بخش عمده‌ای از این تحقیقات بر روی زمین و با شبیه‌سازی شرایط زیستی موجود درفضا انجام می‌گیرد که نیازمند هزینهٔ کمتری است و پیامدهای منفی کمتری دارد. از طرفی ایجاد شرایط کامل محیط فضا را نمی‌توان به‌طور کامل بر روی زمین شبیه‌سازی کرد. مطالعهٔ کامل تأثیر این شرایط بر روی ارگانیسم‌های زنده را تنها می‌توان در فضا انجام داد [۱].

از مهم‌ترین برنامه‌های تحقیقاتی استفاده از کاوشگرها در تحقیقات زیست فضایی است [۲]. کاوشگرها وسایل زیرمداری با هزینه‌های کمتر و ملزومات ساده‌تری هستند که در مدت زمان کوتاهی محموله‌های علمی را تا ارتفاع مشخصی حمل کرده و در نهایت به‌طور کامل بازیابی می‌شود [۳]. مطالعات سلولی در کاوشگرها نشان داده است که حتی زمان‌های کوتاه بی‌وزنی در کاوشگرها (در حدود ۶ دقیقه) می‌توانند تغییرات بارزی در سلول از جمله تغییر در شکل اسکلت سلولی و فرایندهای وابسته به آن مانند اندوسیتوز، اگزوسیتوز و تقسیم سلولی ایجاد نماید [۴، ۲].

استفاده از ارگانیسم‌های کوچک و سلول‌ها در مقایسه با انسان به علت رشد سریع، سادگی ساختار و قابلیت دستکاری در تحقیقات فضایی دارای مزایای بسیاری است. مطالعات مختلف نشان داده است که در شرایط استرس‌زای پرتاب‌های فضایی

---

۱. استادیار (نویسنده مخاطب)
۲. دانشجوی دکتری
۳. دانشجوی دکتری
۴. متخصص و جراح مغز و اعصاب
۵. استادیار
۶. استاد

دریافت مقاله: ۹۲/۰۵/۲۹ ، تأیید مقاله: ۹۲/۱۲/۱۲

(هایپرگراویتی و جاذبهٔ ناچیز) تکثیر سلول، مهاجرت، تمایز و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوز) تغییر می‌کند. مکانسیم‌های مؤثر در این تغییرات هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است [۱].

هدف از این پروژه فرستادن کپسول زیستی به فضا به کمک یک کاوشگر (کاوشگر ۳) به عنوان گام آغازین تحقیقات زیست فضایی در کشور بوده است. از آنجا که مدت زمان بی‌وزنی در کاوشگر ۳ ایران کمتر از ۱ دقیقه بود اصلی‌ترین متغیر مورد بررسی در این مطالعه هایپرگراویتی (شتاب بالا) و استرس ناشی از آن است. در این مطالعه ۵ ردهٔ سلولی مختلف شامل سلول‌های سوماتیک و سلول‌های بنیادی، سلول‌های سرطانی و غیرسرطانی و همچنین سلول‌های ترشحی انتخاب شد و اثر متغیر پرتاب و همچنین استرس‌های پرتاب، بر روی آنها بررسی شد. ماژول آزمایش اثرات استرس پرتاب بر روی رده‌های سلولی فوق قسمتی از کپسول زیستی کاوشگر ۳ بود که در بهمن ۱۳۸۸ توسط پژوهشگران پژوهشکده سامانه‌های فضانوردی (پژوهشگاه هوافضای سابق) از سایت پرتاب سمنان پرتاب شد.

مواد و روش‌ها

در ادامه مواد و روش‌های به‌کارگرفته شده بیان شده است:

رده‌های سلولی مورد مطالعه در کاوشگر ۳

رده‌های سلولی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت؛ شامل سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسان[۷]، سلول‌های استرومایی مغز استخوان انسان[۸]، سلول‌های فیبروبلاست جنین موش[۹]، سلول‌های PC12 و بافت پانکراس و سلول‌های جزایر لانگرهانس بود.

چهار رده سلولی اول از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران تهیه شد. محیط کشت سلول‌های اندوتلیالی، استرومایی مغز استخوان، فیبروبلاست جنین موش و PC12 به ترتیب DMEM High Glucose به اضافهٔ Ham's F12 به نسبت ۱ به ۱، DMEM low Glucose به همراه ۱۵٪ سرم، DMEM Low Glucose به همراه ۲۰٪ سرم و RPMI 1640 همراه با ۱۰ درصد سرم بود. محیط کشت هر ۴ رده سلولی حاوی ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و پنی‌سیلین بود. سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس موش صحرایی (Rat) نژاد ویستار (Wistar) مطابق با پروتکل‌های استاندارد موجود، استخراج شد. بافت پانکراس کامل نیز از موش جدا شد.

به‌طور خلاصه پس از بیهوش کردن با کلروفرم، قسمت شکم ضدعفونی و با استفاده از قیچی جراحی استریل، باز شد و مجرای پانکراس کانوله[۱۰] گردید؛ سپس پانکراس از دئودنوم و روده به دقت جدا و به یک فالکن ۵۰ میلی‌لیتر حاوی مقداری HBSS منتقل گردید و با حرکات دورانی، پانکراس در HBSS شستشو داده و با سرعت ۱۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ شد. برای هضم پانکراس، به بافت پانکراس ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلاژناز P با غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در HBSS همراه با ۱۰ میلی‌مولار Hepes اضافه شد. برای کنترل هضم آنزیمی و تأیید جدا شدن جزایر پانکراس از بافت اگزوکرین[۱۱] و مجرا، نمونه‌هایی با استفاده از دیتیزون[۱۲] رنگ‌آمیزی گردید. برای تخلیص جزایر پانکراس از دو روش تخلیص با دست‌چین کردن و تخلیص با گرادیان فایکل[۱۳] استفاده شد. پس از جداسازی، جزایر با روش‌های استاندارد رنگ‌آمیزی و سپس شمارش شدند. کلیه مواد کشت سلولی، از شرکت (Gibco,UK) تهیه شد [۶ و ۵].

آزمایش‌های سلولی در کاوشگر ۳ (ارزیابی تکثیر سلولی)

در مطالعات سلولی کاوشگر ۳، میزان رشد سلولی، مرگ و میر سلولی، آسیب‌های وارده بر سلول و استرس‌های ناشی از پرتاب بر روی ۵ ردهٔ سلولی مختلف بالا بررسی شد. به منظور بررسی میزان استرس وارده بر سلول‌ها از آزمایش نیتریک اکساید (NO) (کیت آزمون رنگ‌سنجی BioVision) بر روی سلول‌های رده اندوتلیال عروق، بررسی آسیب‌های وارده بر سلول از آزمایش لاکتات دهیدروژناز (LDH) (کیت آنزیمی شرکت سیگما) و به منظور بررسی میزان مرگ‌ومیر و سیتوتوکسیسیتی سلولی از آزمایش MTT[۱۴] (کیت تعیین رشد سلولی با شماره تجاری CGD-1-7H294؛ شرکت سیگما) استفاده شد.

به منظور اندازه گیری میزان نیتریک اکساید تولید شده توسط سلول‌های اندوتلیال عروق در شرایط استرس، طبق واکنش گریس، نیترات موجود در نمونه‌ها با استفاده از کلرید وانادیوم (VCl3) (III) به نیتریت تبدیل شد، سپس از دی آزوتاسیون سولفانیل آمید به کمک نیتریت در محیط اسیدی و کونژوگاسیون آن با آمین دوحلقه‌ای NEDD، ماده رنگی تولید و جذب نوری آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد به‌دست آمده غلظت نمونه‌ها محاسبه گردید [۷].

7. Human Umbilical Vein Endothelial Cells=HUVEC
8. Bone Marrow Stromal Cell
9. Mouse Embryonic fibroblast=MEF
10. Cannula
11. Exocrine
12.Dithizone
13. Ficoll
14. (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5 diphenyl tetrazolium bromide)

برای تعیین فعالیت LDH به علت فعالیت زیاد آنزیم در داخل سلول ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط انکوباسیون به محیط سنجش آنزیم اضافه شد [۸].

در آزمایش MTT بعد از تمام شدن زمان انکوباسیون کشت سلول‌ها، رنگ MTT به میزان ۱۰٪ حجم محیط کشت به پلیت‌ها اضافه شد و برای ۴ ساعت در دمای ۳۷ انکوبه شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. بعد از آن محلول حلال حاوی SDS ۱۰٪ در ۰/۰۱ مولار HCL به پلیت‌ها اضافه شد. بعد از یک ساعت جذب نمونه‌ها در ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا خوانده شد.

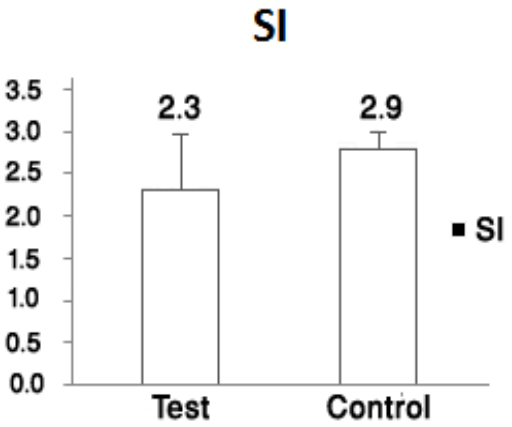
به‌منظور بررسی فعالیت بافت پانکراس از کیت الیزا انسولین به شمارهٔ EZRMI 13K برای تشخیص کمی غیر رادیواکتیو انسولین بر اساس غلظت گلوکز تولید شده در پانکراس موش صحرایی استفاده شد. بافت‌های جدا شده به دو گروه بافت پانکراس کامل و جزایر لانگرهانس جدا شده از بافت پانکراس تقسیم شدند و درون کرایوویال‌های ۵ میلی‌لیتری تقسیم شدند. برای به‌دست آوردن ایندکس تحریکی، نسبت میزان ترشح انسولین در حضور محلول غلیظ گلوکز به میزان ترشح انسولین در حضور محلول رقیق گلوکز محاسبه شد و مقدار به‌دست آمده به عنوان SI (ایندکس تحریکی[15]) درنظر گرفته شد.

کلیه نمونه‌ها در سه گروه مورد مطالعه قرار گرفتند: گروه کنترل آزمایشگاه که در همان مدت زمان در آزمایشگاه نگهداری شد. گروه کنترل سایت پرتاب[16] که در سایت پرتاب نگهداری شد و گروه تست که درون ماژول کپسول زیستی کاوشگر ۳ جاسازی شد. نتایج به‌دست آمده با تست آماری Mann-Whitney آنالیز شد. مقادیر $p\leq0.05$ معنی‌دار درنظر گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها ۳ بار تکرار و از آنها میانگین گرفته شد [۱۱-۸].

نتایج

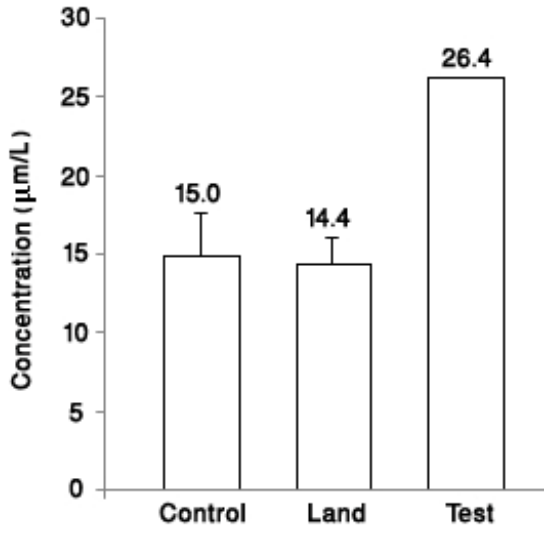
به‌منظور بررسی اثر استرس پرتاب بر پاسخ ترشحی بافت پانکراس، پاسخ ترشحی جزایر پانکراس به غلظت‌های مختلف گلوکز توسط کیت انسولین اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از این بود که میزان ایندکس تحریکی در گروه تست ۲/۳ بود که در مقایسه با گروه کنترل (۲/۹) به میزان ناچیزی کاهش یافته است (نمودار ۱). نتایج آماری حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار بین دو گروه تست و کنترل بود.

15. Stimulation Index=SI
16. Landing control



نمودار ۱- پاسخ ترشحی جزایر پانکراس به گلوکز در شرایط استرس پرتاب

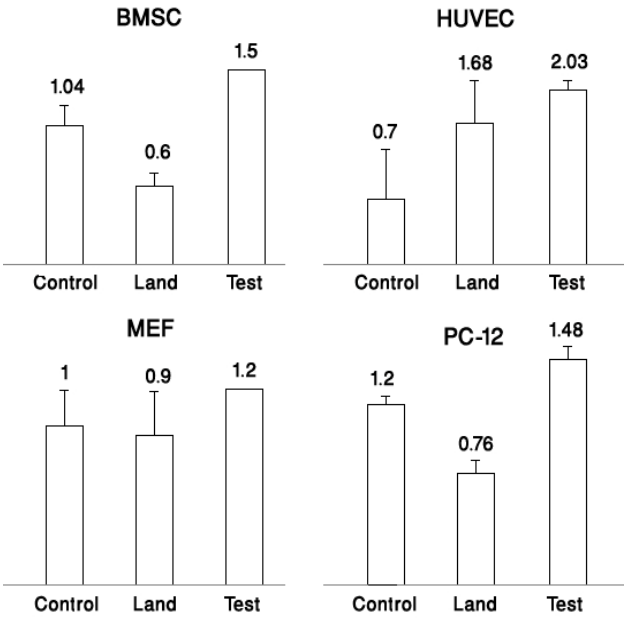
برای بررسی اثر استرس پرتاب بر پاسخ ترشحی سلول‌های اندوتلیال عروقی میزان ترشح نیتریک اکساید از سلول‌های اندوتلیال عروق بررسی شد که در گروه کنترل آزمایشگاه، کنترل سایت پرتاب[17] و تست به ترتیب ۱۵، ۱۴/۴ و ۲۶/۴ بود. آنالیز آماری حاکی از اختلاف معنی‌دار بین گروه تست با گروه کنترل بود. همان گونه که نمودار (۲) نشان می‌دهد، میزان ترشح NO در نمونه‌های تست تقریباً به میزان ۸۰٪ در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است.



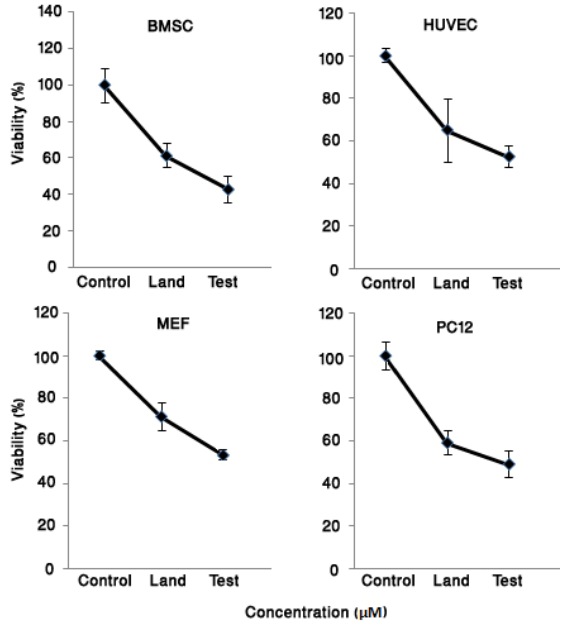
نمودار ۲- میزان آزادسازی نیتریک اکساید از سلول‌های اندوتلیال عروقی

در این مطالعه میزان آسیب وارد بر چهار رده سلولی در شرایط پرتاب با کاوشگر در گروه‌های کنترل و تست با یکدیگر مقایسه شدند. نمودارهای زیر میزان آزاد شدن آنزیم لاکتات دهیدروژناز را در چهار رده سلولی نشان می‌دهد.

17. Land



نمودار ۳- میزان آزاد شدن آنزیم لاکتات دهیدروژناز در ۴ رده سلولی (U/L)



نمودار ۴- میزان رنگ اندازه‌گیری شده در ۴ رده سلولی

مطابق نتایج (نمودار ۳) میزان آزاد شدن آنزیم لاکتات دهیدروژناز را بر حسب واحد در لیتر در سه گروه کنترل آزمایشگاه، کنترل سایت پرتاب و تست به ترتیب در سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان ۱/۰۴، ۰/۶، ۱/۵؛ در سلول‌های اندوتلیال عروقی ۰/۷، ۱/۶۸، ۲/۰۳؛ در سلول‌های فیبروبلاست جنینی ۱، ۰/۹، ۱/۲ و در سلول‌های PC12 این مقادیر به ترتیب ۱/۲، ۰/۷۶ و ۱/۴۸ بود. میزان تغییرات این آنزیم بین گروه تست و کنترل در سلول‌های اندوتلیالی عروق و سلول‌های فیبروبلاست جنینی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی میزان آزاد شدن آنزیم در گروه تست در مقایسه با گروه کنترل سایت در سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان و PC12 بیش از دو برابر افزایش را نشان داد. آنالیز آماری حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه تست و کنترل سایت در دو رده سلولی PC12 و سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان است.

برای اندازه‌گیری میزان رشد و مرگ و میر سلولی در شرایط پرتاب از تست MTT استفاده شد. اساس تست MTT بر پایهٔ اندازه‌گیری ماده‌ای به نام فورمازان است. مادهٔ فورمازان، یک مادهٔ رنگی است بنابراین می‌توان میزان تولید این ماده را با روش اسپکتروفتومتری رنگی اندازه‌گیری کرد. نمودار (۴) میزان رنگ اندازه‌گیری شده در چهار رده سلولی را نشان می‌دهد.

همان‌طورکه در این نمودارها مشخص است، میزان رشد سلولی در دو گروه تست و کنترل سایت پرتاب در مقایسه با گروه کنترل آزمایشگاه در سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان ۴۲٪ و ۶۱٪ ؛ در سلول‌های PC12 ۴۹٪ و ۵۹٪؛ در سلول‌های اندوتلیال عروقی انسان ۵۲٪ و ۶۵٪ و در سلول‌های فیبروبلاست جنینی موش ۵۳٪ و ۷۱٪ است که نشان‌دهندهٔ میزان رشد سلولی در گروه تست در مقایسه با دو گروه کنترل سایت پرتاب و کنترل آزمایشگاه در چهار رده‌سلولی مزانشیمی مغز استخوان، PC12، اندوتلیال عروقی انسان و فیبروبلاست جنینی موش به ترتیب ۱۹٪، ۱۰٪، ۱۳٪ و ۱۸٪ کاهش یافته است این نتایج در رده سلولی اول و آخر معنی‌دار بود.

بحث

استفاده از این ۵ رده سلولی در این مطالعه، به عنوان مدلی مفید برای بررسی اثرات استرس پرتاب به فضا بر روی سلول و تکثیر آن است. عوامل مختلفی می‌تواند موجب استرس سلولی شود که در این میان می‌توان از ارتعاش، صوت و هایپرگراویتی نام برد.

در این مطالعه سلول‌های اندوتلیال عروقی برای بررسی فاکتور ترشحی استرس (NO)، بافت پانکراس برای ارزیابی اثر استرس بر روی فعالیت سلولی ترشح انسولین، سلول‌های فیبروبلاست پوستی و سلول‌های استرومایی مغز استخوان و سلول‌های PC12 به ترتیب به‌عنوان مدل سلولی سوماتیک، مدل سلولی بنیادی و مدل سلولی سرطانی به‌منظور مقایسهٔ اثرات استرس بررسی شد.

نیتریک اکساید فاکتور ترشحی مهمی در شرایط استرس‌زاست که در شرایط استرس به میزان زیادی از سلول‌های اندوتلیال عروق تولید و ترشح می‌شود. بنابراین اندازه‌گیری میزان آن می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی برای تخمین میزان استرس وارده بر بافت یا سلول‌های زنده باشد. لایهٔ اندوتلیال در کنترل قطر رگ‌ها نقش دارد؛ بر اثر افزایش فشار و وارد شدن استرس، NO در این سلول‌ها ساخته شده و ترشح آن موجب شل شدن عضلات صاف عروق و در نتیجه کاهش فشارخون می‌شود [۱۱، ۸]. همانگونه که نمودار (۱) نشان می‌دهد میزان ترشح NO در نمونه‌های تست تقریباً به میزان ۸۰٪ در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است این مسئله بیانگر واردشدن استرس بر این سلول‌ها در شرایط پرتاب با کاوشگرها است. از آنجا که عملکرد سیستم قلبی عروقی در فضانوردان اهمیت بالایی دارد و مطالعات پیشین بیانگر افت فشارخون در فضانوردان است و با توجه به نتایج فوق، این احتمال وجود دارد که یکی از دلایل این موضوع، افزایش میزان ترشح NO از سلول‌های عروقی باشد [۱۲ و ۱۰].

آنالیز آماری نتایج حاصل از بررسی اثرات پرتاب بر روی جزایر پانکراس، اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد. این امر حاکی از این است که جزایر پانکراس تحت شرایط پرتاب کاوشگر ۳ عملکرد طبیعی خود را داشتند. مطالعات پیشین [۱۳] حاکی از تغییر عملکرد بافت پانکراس و ترشح انسولین طی سفرهای فضایی و نیز در شرایط شبیه‌سازی بی‌وزنی است. عدم تغییر فعالیت بافت پانکراس در مطالعهٔ حاضر می‌تواند به دلیل مدت زمان کوتاه مواجهه با شرایط بی‌وزنی باشد. به‌نظر می‌رسد سایر شرایط پرتاب چون هایپرگراویتی و ارتعاش تأثیر چشمگیری بر روی فعالیت این بافت نداشته است.

آسیب سلولی با اندازه‌گیری میزان آسیب غشای سلولی از طریق اندازه‌گیری آنزیم لاکتات دهیدروژناز بررسی می‌شود. این آنزیم زمانی که غشای سیتوپلاسمی دچار آسیب می‌شود در محیط کشت سلول آزاد می‌شود [۵]. وضعیت نمودارهای حاصل از آزمون لاکتات دهیدروژناز مؤید این است که مرگ و میر و آسیب وارده بر سلول‌ها ناشی از استرس حاصل از پرتاب راکت است که منجر به افزایش معنی‌دار میزان آزاد شدن آنزیم در نمونه‌های تست در دو رده سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان و PC12 شده است. در سلول‌های اندوتلیال عروقی و فیبروبلاست جنینی موش این افزایش معنی‌دار نبود. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که شرایط پرتاب می‌تواند منجر به وارد شدن آسیب جدی به سلول‌ها شود ولی با توجه به نتایج به‌دست آمده، به‌نظر می‌رسد که رده سلول‌های اندوتلیال عروقی و سپس فیبروبلاست جنینی موش، مقاوم‌تر از دو ردهٔ دیگر است. فرضیهٔ پژوهش بر این است که میزان آسیب وارد بر سلول‌های گروه کنترل کمتر از سلول‌های کنترل سایت پرتاب باشد (انتقال سلول‌ها به سایت پرتاب می‌تواند موجب بروز آسیب سلولی شود)، بنابراین انتظار می‌رود میزان آزاد شدن آنزیم در گروه کنترل آزمایشگاه کمتر از گروه کنترل سایت باشد. نتایج به‌دست آمده از مطالعهٔ سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان، سلول‌های فیبروبلاست جنینی و سلول‌های PC12 است که عکس این فرضیه بود. احتمال داده می‌شود که این تناقض ناشی از این موضوع باشد که گروه کنترل سایت، برای مدت زمان طولانی (تقریباً ۱۲ ساعت) خارج از محیط آزمایشگاه نگهداری شده است و احتمال می‌رود که مقدار زیادی از آنزیم تحت تأثیر شرایط نامناسب محیطی، غیرفعال شده باشد به‌طوری‌که نتوان آن را با کیت LDH اندازه‌گیری کرد.

برای اندازه‌گیری میزان رشد و مرگ و میر سلولی در شرایط پرتاب از تست MTT استفاده شد. اساس تست MTT بر پایهٔ اندازه‌گیری ماده‌ای به نام فورمازان است. مادهٔ MTT توسط زنجیرهٔ سیتوکرومی درون غشای میتوکندری سلول اکسید شده و تولید کریستال‌های فورمازان می‌کند. هرچه میزان متابولیسم سلول بالاتر باشد میزان اکسیداسیون MTT بیشتر و متعاقباً تولید فورمازان نیز بیشتر است. بنابراین میزان فورمازان تولیدی به‌عنوان شاخص سلامت و رشد سلولی است. مادهٔ فورمازان، یک ماده رنگی است و می‌توان میزان تولید این ماده را با روش اسپکتروفتومتری رنگی اندازه‌گیری کرد. همان‌طورکه در نمودار (۴) مشخص است، میزان رشد سلولی در گروه تست در مقایسه با دو گروه کنترل سایت پرتاب و کنترل آزمایشگاه در دو رده سلولی مزانشیمی مغز استخوان و فیبروبلاست جنینی موش به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. این مسئله بیانگر این مطلب است که پرتاب موجب مرگ و میر درصدی از سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل شده است.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی فضا و شرایط آن موجب بروز تغییرات مختلف فیزیولوژیکی در ارگانیسم‌های زنده می‌شود. تحقیقات در این زمینه در سطوح مختلف ـ از تحقیقات مولکولی گرفته تا مطالعهٔ سلول، بافت، موجود زنده، اکولوژی، تکوین و تکامل ـ ادامه دارد. به‌طور اختصاصی‌تر، زیست‌شناسی سلولی و مولکولی در فضا، مطالعهٔ اثرات فیزیکی فضا در سطح سلول و در سطوح مولکولی، مطالعهٔ بیان ژن‌ها و محصولات آنها و پاسخ و تنظیم بیان ژن‌ها در فضاست. این مطالعه به عنوان شروع مطالعات سلولی مولکولی در زمینهٔ هوافضا در کشور ایران اسلامی است و گامی برای توسعهٔ این مطالعات در آینده است.

مراجع

[1] Clement, G. and Slenzka, K., *Fundamentals of Space Biology Research on Cells, Animals, and Plant in Space*, Springer, 2006.

[2] Takaoki, M., et al., "Development and Operation of Cultured Cell Experiment with TR-IA Sounding Rocket," *Biological Science Space*, Vol. 12, No. 3, 1998, pp. 320-321.

[3] Gurkin, L. W., "The NASA Sounding Rocket Program and Space Sciences," *ASGSB Bulletin*, Vol. 6, No. 1, 1992, pp. 113-120.

[4] Jongkind, J. F., Visser, P. and Verkerk, A., Somatic Cell Fusion During Sounding Rocket Flight. *Life Sciences Experiments Performed on Sounding Rockets (1985-1994): European Space Agency,* ESA SP-1206, ISBN: 92-9092-423-3, 1997, p. 99.

[5] Freshney, R. I., *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 5th Edition, Wilely, 2005.

[6] Hansen, W. A. and et al., "Supravital Dithizone Staining in the Isolation of Human and Rat Pancreatic Islets," *Diabetes Res.,* Vol. 10, No. 2, 1989, pp.53-7.

[7] Mirand, K. M., Espey, M. G. and Wink, D. A., "A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite," *Nitric Oxide*, Vol. 5, No.1, 2001, pp. 62-71.

[8] Legrand, C., et. Al., "Lactate Dehydrogenase (LDH) Activity of the Number of Dead Cells in the Medium of Cultured Eukaryotic Cells as Marker," *Journal of Biotechnology*, Vol. 25, No. 3, 1992, pp. 231–243.

[9] Matsuoka, M., "Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay. Biochem," *Pharmacol*, Vol. 59, 2000, p. 1573.

[10] Space Studies Board, National Reaserch Council, *A Strategy for Research in Space Biology and Medicine in the New Century*, National Academy Press, Washington, D. C., 1998.

[11] Sun, J., Zhang, X., Broderick, M. and Fein, H., "Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay," *Sensors*, Vol. 3, No. 8, 2003, pp. 276-84.

[13] Blaber, A. P., Goswami, N., Bondar, R. L., Kassam, M. S., "Impairment of Cerebral Blood Flow Regulation in Astronauts with Orthostatic Intolerance after Flight," *Stroke*. Vol. 42, No. 7, 2011, pp. 1844-50.

[14] Strollo, F., "Hormonal Changes in Humans During Spaceflight," *Advances Space Biology and Medicine,* Vol.7, 1999, pp. 99-129.