



ارائه مدلی هایپروویسکوالاستیک برای سلول بنیادی تحت بارگذاری تناوبی به منظور مدولاسیون مکانیکی در جهت تمایز به سلول های غضروف لیفی

بهمن وحیدی^{1*}، اسماعیل رحیم پور²، زهرا ملاحسینی³

1- استادیار، مهندسی بیومکانیک، دانشگاه تهران، تهران

2- کارشناسی ارشد، مهندسی بیومکانیک، دانشگاه تهران، تهران

3- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی بیومکانیک، دانشگاه تهران، تهران

* تهران، صندوق پستی 1439957131، bahman.vahidi@ut.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 27 اسفند 1395

پذیرش: 15 خرداد 1396

ارائه در سایت: 29 تیر 1396

کلید واژگان:

سلول بنیادی مزنشیمال

بارگذاری تناوبی

هایپروویسکوالاستیسیت

چسبندگی های موضعی

تمایز غضروفی

سلول های بنیادی مزنشیمال به خاطر داشتن توانایی خودنوزایی و تمایز به رده های گوناگون سلولی گزینه های ایده آل مهندسی بافت بازایجادگر هستند. این سلول ها در پاسخ به تحریکات مکانیکی مانند کرنش های تناوبی به سمت تمایز یافتن به سلول هایی که در درون بدن بارگذاری مشابهی را تجربه می کنند، مانند سلول های استخوانی و غضروفی، هدایت می شوند. در این تحقیق هدف بررسی اثر کرنش تناوبی 10 درصد با فرکانس 1 هرتز روی پاسخ مکانیکی یک سلول مزنشیمال کاشته شده درون یک بلوک فیبرینی، به روش اجزای محدود و با در نظر گرفتن نقش اینترگرین ها و به کارگیری مدل هایپروویسکوالاستیک سیمو برای اسکلت سلول است تا زمانی که این بارگذاری تک محوره، از طریق مدولاسیون مکانیکی، سلول را در مسیر تمایز به یک سلول بالغ غضروف لیفی قرار دهد. نتایج مدل ارائه شده نشان می دهد که متوسط تنش های محیطی، شعاعی و برشی به ترتیب تا 240، 260 و 140 پاسکال و نیروهای متناظر تا 24، 45 و 15 پیکونیوتن می رسند که برای انگیزش سلول به پاسخی متفاوت نسبت به شرایطی که در آن بارگذاری وجود ندارد، کافی است. نتایج این پژوهش می تواند در راستای طراحی بهتر آزمایش های زیستی بسیار مؤثر باشد.

A hyper-viscoelastic model for an individual stem cell subjected to cyclic loading for mechanical modulation toward differentiating to Fibrochondrocytes

Bahman Vahidi*, Esmaeel Rahimpour, Zahra Mollahoseini

Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran.

* P.O.B. 1439957131, Tehran, Iran, bahman.vahidi@ut.ac.ir

ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper

Received 17 March 2017

Accepted 05 June 2017

Available Online 20 July 2017

Keywords:

Mesenchymal stem cells

Cyclic loading

Hyper – viscoelasticity

Focal adhesions

Chondrogenic differentiation

ABSTRACT

Stem cells due to their ability for self-renewal and the potential of differentiating to different cell lineages are the ideal choices in regenerative tissue engineering. Under cyclic loading, these cells could differentiate to those kinds of cells that experience similar conditions inside the body, like osteocytes and chondrocytes. In this research, the purpose is to investigate the effect of the 10 percent cyclic strain with the frequency of 1 Hertz on the mechanical response of a single mesenchymal stem cell cultured in a fibrin hydrogel block, using the finite element method and considering the role of integrins and implementing the Simo's hyper-viscoelastic model for the cytoskeleton as long as the uniaxial loading leads the cell to differentiate toward Fibrochondrocytes. The results of presented model show that the averages of the circumferential, radial and shear stresses are 240, 260 and 140 Pascal, respectively and corresponding forces are 24, 45 and 15 Pico-Newton. The results imply that stresses and forces generated inside the cytoskeleton are large enough to elicit a different response from the cell. These research results can be very effective for better design of biological experiments.

1- مقدمه

این سلول ها می توانند بدون اینکه به سلولی دیگر تمایز یابند تکثیر شده که این تکثیر متأثر از تحریکات اعمالی روی آن ها است و از طرفی توانایی تمایز به رده های گوناگون سلولی را دارند [2]. تحریکات بیوشیمیایی [3]، توپوگرافی های در ابعاد میکرو و نانو [5,4]، مورفولوژی³ مقید شده سلولی [6]، سختی بستر قرارگیری سلول [7] و تحریکات نیرویی خارجی [8-10]

مهندسی بافت باز ایجادگر¹ زمینه ای نوین در مهندسی پزشکی است که بر پایه ی تحریک آزمایشگاهی سلول های زنده قصد دارد راهی برای تولید بافت های زنده در محیطی خارج از محیط بدن فراهم کند [1]. در این میان سلول های بنیادی² گزینه های ایده آلی برای تحقق این هدف هستند چرا که

³ Morphology

¹ Regenerative tissue engineering

² Stem cells

Please cite this article using:

B. Vahidi, E. Rahimpour, Z. Mollahoseini, A hyper-viscoelastic model for an individual stem cell subjected to cyclic loading for mechanical modulation toward differentiating to Fibrochondrocytes, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 17, No. 7, pp. 207-216, 2017 (in Persian)

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

هر یک عواملی هستند که تغییر در میزان و ترکیب آن ها با هم منجر به نرخ های تکثیر و تمایز مختلف و جهت گیری های مختلف سلولی برای سلول های بنیادی می شود.

محققان بسیاری به کمک مدل های مادی مختلف سعی در بررسی پاسخ مکانیکی سلول های زنده تحت تحریکات مکانیکی گوناگون داشته اند. کارشر و همکاران [11] از یک مدل سه بعدی اجزای محدود برای بدست آوردن توزیع تنش در تک لایه ای از سلول ها در آزمون سلول سنجی مغناطیسی استفاده کرده اند. آن ها مدل های ویسکوالاستیک مکسول و ویت را برای این منظور به کار برده اند و سازگاری بیشتر مدل مکسول با نتایج آزمایشگاهی را نسبت به مدل ویت گزارش کرده اند. ملاحظات نوین این تحقیق شامل اعمال ویسکوالاستیسیته بر یک مدل توزیع شده ی فضایی سلول برای سلول های چسبیده و بررسی اثر مدل های مختلف ماده بر پاسخ مکانیکی سلول، در نظر گرفتن نقش مکانیکی ترکیبی غشاء و قشر سلول در سلول سنجی مغناطیس در پاسخ سلولی و در نظر گرفتن اثر نرخ بارگذاری بر توزیع تنش می باشد.

بایجنز و همکاران [12] مدل اجزای محدودی را برای بدست آوردن خواص مکانیکی سلول های کندروسایت و مقایسه ی آن با نتایج تحلیلی موجود ایجاد کرده اند. آن ها از مدل های مادی هایپرالاستیک نئوهوکن¹ تراکم پذیر و تراکم ناپذیر برای مدل کردن رفتار الاستیک غیرخطی سلول، مدل دوفازی الاستیکی که تانسور تنش فاز جامد آن به صورت نئوهوکن است و مدل دوفازی ویسکوالاستیکی که تانسور تنش فاز جامد آن با تانسور تنش یک ماده ی ویسکوالاستیک دو مدی بیان می شود، استفاده کرده اند. نتایج بدست آمده به وسیله ی این گروه پیشنهاد می کند که یک مدل دوفازی الاستیک محض نمی تواند پاسخ خزش آزمایشگاهی مشاهده شده در کندروسایت ها را به طور کامل ضبط کند، در حالی که یک مدل ویسکوالاستیک دوفازی به صورت دقیق تری پاسخ سلول را پیش بینی می کند. این یافته پیشنهاد می کند که پدیده ی دوفازی احتمالاً مکانیزم عمده ی مسئول ویسکوالاستیسیته ی سلولی نیست.

وزیری و کاظم پور مفرد [13] یک مدل اجزای محدود را برای شبیه سازی پاسخ مکانیکی هسته در مکش میکروپیچ ایجاد کرده اند. هدف از این مطالعه بررسی نقش های متمایز اجزای مختلف هسته در پاسخ بیومکانیکی هسته ی ایزوله شده است. در مدل محاسباتی ارائه شده به وسیله ی این گروه ناکلتوپلاسم² به صورت یک ماده ی ویسکوالاستیک مکسول مدل شده است.

اخیراً برخی از محققان اثر اینتگرین ها و چسبندگی های موضعی³ ناشی از آن ها در پاسخ مکانیکی سلول زنده به تحریک خارجی را مورد مطالعه قرار داده اند. ووگان و همکارانش [14] مدل اجزای محدودی را برای سلول های آستئوبلاست⁴ و آستئوسایت⁵ تحت شرایط فیزیولوژیک و شرایط آزمایشگاهی ایجاد کردند. در این مدل آن ها اثر حسگرهای مکانیکی سلول یعنی اینتگرین ها و سیلیوم⁶ آن را بر توزیع و میزان تنش برای هر دو نوع سلول بررسی کرده اند. در این مدل که با در نظر گرفتن برهم کنش جامد-سیال⁷، سلول ها تحت اثر جریان پایای فیزیولوژیک و آزمایشگاهی قرار می گیرند، نتایج بدست آمده نشان می دهد که این حسگرهای مکانیکی به اندازه ی کافی برای انگیزش یک پاسخ از سلول تحت اثر جریان سیال تحریک می شوند. بنابراین این حسگرهای مکانیکی احتمالاً نقشی در واسطه بودن تفسیر

مکانیکی⁸ سلول استخوان در شرایط آزمایشگاهی ایفا می کنند.

به طور کلی مورفولوژی سلول ها، به طور خاص سلول های مزنشیمال این امکان را فراهم می کند تا تأثیر هندسه سلول در سرنوشت آن به خصوص تمایز بررسی شود [15]. واعظ قائمی و همکاران [16] با روش رنگ آمیزی فلورسنت⁹ سلول های مزنشیمال، مدلی سه بعدی را توسعه دادند و پاسخ سلولی تحت تنش برشی سیال نوسانی عبوری را با استفاده از آنالیز بر هم کنش سیال-جامد بررسی نمودند. مولن و همکارانش [17] مدل اجزای محدودی از سلول های مزنشیمال با دو مورفولوژی متفاوت پهن شده و شاخه دار ایجاد کردند. در این مدل، آن ها چسبندگی های موضعی را به صورت آزمایشگاهی مشاهده و در مدل ساده شده ی خود وارد کرده اند. هدف از این مطالعه مشاهده ی اثر سختی بستر بر مکانیک داخل سلول است. نتایج بدست آمده نشان می دهد که موقعیت و چگالی چسبندگی های موضعی، تنش های داخل سلولی ناشی از سختی بستر را تحت تأثیر قرار می دهد. در این مدل آن ها سلول را به صورت یک ماده ی الاستیک خطی مدل کرده اند.

تحقیقات بسیاری حاکی از اثر بارگذاری های کششی تناوبی¹⁰ بر تمایز سلول های بنیادی بوده است. پارک و همکاران [18] اثر بارگذاری های تناوبی تک محوره و دو محوره را بر تمایز سلول های بنیادی مزنشیمال بررسی کرده اند. آن ها از محدوده ی کرنش های تناوبی فیزیولوژیک برای اعمال کرنش استفاده کرده اند یعنی کرنش های 10 درصد با فرکانس 1 هرتز. سلول های مورد آزمایش روی بسترهای سیلیکونی که با لایه ای از کلاژن نوع 1 پوشیده شده بودند، کشت شده اند. آن ها ابتدا بیان ژن های نشانگر عضلات صاف را در آزمون کرنش دو محوره اندازه گرفتند. میزان بیان این دو ژن تحت کرنش های تناوبی دو محوره کاهش چشم گیری را نسبت به گروه کنترل بدون کرنش نشان داد. با توجه به این که کرنش مکانیکی عمده در رگ های خونی کرنش محیطی است، آن ها نتیجه گرفته اند که کرنش های تناوبی تک محوره برای افزایش بیان نشانگرهای سلول های عضله ی صاف ضروری اند. بر خلاف کرنش های دو محوره، کرنش تک محوره باعث افزایش بیان نشانگرهای سلول های عضله ی صاف تا دو برابر بعد از یک روز شد. اما بعد از دو روز میزان بیان این ژن ها با میزان بیان آن ها در گروه کنترل برابر شد. این مشاهدات حاکی از این است که کرنش های تناوبی تک محوره به صورت گذرا باعث افزایش بیان نشانگرهای انقباضی سلول های عضله ی صاف می شود.

گرینسون و همکاران [19] سلول های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان را روی یک بستر سیلیکونی کاشته و آن ها را تحت کرنش های 5 درصد با فرکانس 1 هرتز قرار دادند. مطالعه ی آن ها نشان می دهد که کرنش های دارای زمان کوتاه تا 1 ساعت باعث القای پایدار تمایز استئوژنیک¹¹ سلول های بنیادی نمی شوند. بنابراین کرنش های طولانی تر و یا تکراری برای حفظ یک تمایز پیوسته ضروری هستند.

کنلی و همکاران [20] سلول های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان را در درون هیدروژل های فیبرین¹² کاشته و در معرض جابجایی کششی تناوبی 10 درصد با فرکانس 1 هرتز قرار دادند. اعمال این بارگذاری به مدت 24 ساعت باعث سنتز هر دوی پروتئین و پروتئوگلیکن¹³ شد. اعمال یک هفته ای کرنش های کششی قطع و وصل شونده، محتوای کلاژن و گگ سولفات را افزایش داد. در کل این مطالعه بیانگر این است که ترکیب عوامل غضروفزا¹⁴

⁸ Mechanotransduction

⁹ Fluorescent staining

¹⁰ Cyclic tensile loading

¹¹ Osteogenic

¹² Fibrin hydrogel

¹³ Proteoglycan

¹⁴ Chondrogenic

¹ Neo - Hookean

² Nucleoplasm

³ Focal adhesions

⁴ Osteoblast

⁵ Osteocyte

⁶ Cilium

⁷ Fluid - structure interaction

و بارگذاری تناوبی پتانسیل تولید آزمایشگاهی بافت غضروف لیفی¹ را دارد. حقیقی پور و همکاران [21] اثر کرنش های تناوبی را بر تمایز مایوژنیک² سلول های بنیادی مزنشیمال مطالعه کردند. آن ها سلول های بنیادی را روی بستر سیلیکونی³ پوشیده شده با کلاژن کاشته و در معرض کرنش های سیکلیک 10 درصدی با فرکانس 1 هرتز قرار دادند. مشاهدات این گروه حاکی از این است که بارگذاری مکانیکی به تنهایی می تواند آغازگر تمایز مایوژنیک باشد. علاوه بر این، ترکیب عوامل رشد و بارگذاری مکانیکی می تواند باعث افزایش بیش تر بیان نشانگرهای ماهیچه ای شود.

اما آزمایشی که مبنای این پژوهش برای شبیه سازی پاسخ مکانیکی سلول های بنیادی مزنشیمال به کرنش های تناوبی قرار گرفته، آزمایشی است که توسط کنلی و همکاران [20] انجام شده است. در تحقیق انجام شده به وسیله ای این گروه طی 7 روز پیش کاشت در شرایط محیط کاشت، سلول ها ماتریس فیبرین 20 میلی متری را به میزان 30 درصد تا طول متوسط 13.87 میلی متر منقبض کردند. سپس 1.4 میلی متر جابجایی (10 درصد طول روز 7 ام) به گروه سازه های تحت بارگذاری وارد شد. سلول ها در گروه درون محیط کاشت به منقبض کردن سازه های ژلی تا 9.68 و 8.75 میلی متر بعد از به ترتیب 14 و 21 روز ادامه دادند. اثر این انقباض به صورت افزایش مدول یانگ سازه لحاظ شده است.

با مینا قرار دادن این آزمایش، هدف این تحقیق بررسی اثر بارگذاری تناوبی روی یک سلول مزنشیمال است که در درون یک بلوک فیبرینی کاشته شده است تا آن که این بارگذاری تناوبی بتواند سلول را به سمت تمایز به سلول های بالغ غضروف لیفی سوق دهد. اهمیت بررسی این مسأله به پاسخی که اسکلت سلولی به تنش های تناوبی اعمالی می دهد و هم چنین فهم بهتر مکانیزم های تنظیم مکانیکی وابسته به تنش بر می گردد. برای تحقق این اهداف، یک مدل مادی هایپر ویسکوالاستیک⁴ برای مدل کردن اسکلت سلولی به روش اجزای محدود به کار برده شده است. ضمن آن که نقش اینتگرین ها به عنوان پل های ارتباطی سلول و ماتریس خارج سلولی در نظر گرفته شده است. در تحقیق حاضر ابتدا میدان تنش درون بلوک فیبرینی تحت کرنش 10 درصد به دست می آید سپس از تنش به دست آمده در مرکز بلوک به عنوان شرط مرزی در مدل ساخته شده برای سلول برای بررسی اثر بارگذاری بر آن استفاده می شود.

آنچه این تحقیق را از تحقیقات انجام شده در حوزه مکانیک سلولی متمایز می کند از دو جنبه قابل بیان است. اولین وجه تمایز این تحقیق ارائه مدلی هایپر ویسکوالاستیک برای سلول در تغییر شکل های بزرگ است. دومین وجه تمایز این تحقیق به بررسی پاسخ مکانیکی سلول بنیادی تحت کرنش های تناوبی با در نظر گرفتن نقش اینتگرین ها در چسبندگی های موضعی مربوط می شود.

2- مواد و روش ها

2-1- معادلات حاکم

سیمو و همکاران مدلی ساختاری برای ویسکوالاستیک غیرخطی بر مبنای متغیرهای حالت ایجاد کردند. این مدل موادی را شامل می شود که در بارگذاری کوتاه مدت مانند یک ماده هایپر الاستیک رفتار می کنند. در مدل سیمو رفتار ویسکوالاستیک تنها به برش محدود است [22]، بنابراین تجزیه ی

حجمی - برشی ماتریس گرادیان تغییر شکل، تانسور راستگرد کوشی-گرین، تابع انرژی کرنشی و تانسور تنش دوم پیولا-کرکاف ضروری می نماید. در معادله ی (1)، F گرادیان تغییر شکل، $J = \det F$ ، تغییر حجم نسبی برای یک جزء پیوسته و معادل بخش اتساعی گرادیان تغییر شکل و $\bar{F}$ بخش حافظ حجم⁶ ماتریس می باشد.

$$\bar{F} = J^{-\frac{1}{3}} F \quad (1)$$

تانسور راستگرد کوشی-گرین در معادله ی (2) و تجزیه ی حجمی-برشی آن در معادله ی (3) تعریف شده است [22].

$$C = F^T F \quad (2)$$

$$\bar{C} = \bar{J}^{\frac{2}{3}} C \quad (3)$$

رفتار مواد هایپر الاستیک بر حسب تابع چگالی انرژی کرنشی آن ها ψ توصیف می شود. در معادله ی (4) این تابع به دو بخش حجمی (عبارت اول) و حافظ حجم (عبارت دوم) تجزیه شده است [22].

$$\psi(C) = \psi_{vol}(J) + \psi_{iso}(\bar{C}) \quad (4)$$

برای یک ماده ی هایپر الاستیک تانسور تنش مادی متقارن دوم پیولا-کرکاف طبق معادله ی (5) تعریف می شود [22].

$$S = 2 \frac{\partial \psi(C)}{\partial C} \quad (5)$$

در معادله ی (6) S به دو بخش حجمی S_{vol} و برشی S_{iso} تقسیم شده است. S_{vol} در معادله ی (7) و S_{iso} در معادله ی (8) بر حسب تغییرات بخش متناظر از تابع ψ نسبت به C تعریف می شوند. عملگر dev در معادله ی (8) طبق معادله ی (9) اثر می کند [22].

$$S = 2 \frac{\partial \psi(C)}{\partial C} = S_{vol} + S_{iso} \quad (6)$$

$$S_{vol} = 2 \frac{\partial \psi_{vol}(J)}{\partial C} = J \frac{\partial \psi_{vol}(J)}{\partial J} C^{-1} \quad (7)$$

$$S_{iso} = 2 \frac{\partial \psi_{iso}(\bar{C})}{\partial \bar{C}} = J^{-\frac{2}{3}} dev(\bar{S}) \quad (8)$$

$$dev(\bar{S}) = \left(I - \frac{1}{3} C \otimes C^{-1} \right) : \bar{S} \quad (9)$$

در معادله ی (9)، I تانسور واحد مرتبه ی چهار و $\otimes$ بیانگر ضرب تانسوری است. طبق معادلات سیمو تنش های دوم پیولا - کرکاف برای کرنش های محدود از معادله ی (10) بدست می آیند. در این معادله S^0 از معادله ی (6) بدست می آید که در این حالت ψ تابع انرژی کرنشی کل ذخیره شده ی اولیه $\psi^0 = \psi_{vol}^0 + \psi_{iso}^0$ می باشد. عملگر dev طبق معادله ی (11) تعریف می شود. در معادله ی (10)، Q_i را تانسور تنش ساختگی جزء i-ام می نامند [22].

$$S(t) = S^0(t) - J^{-\frac{2}{3}} dev \left[\sum_{i=1}^n Q_i(t) \right] \quad (10)$$

$$dev(.) = \left(I - \frac{1}{3} C \otimes C^{-1} \right) : . \quad (11)$$

Q_i ها پاسخ معادله ی دیفرانسیل مرتبه ی اول (12) هستند. در این معادله T_i ثابت زمانی جزء ویسکوالاستیک i-ام و γ_i نسبت ثابت الاستیک جزء i-ام به مجموع ثوابت الاستیک تمام شاخه هاست [22].

$$\dot{Q}_i(t) + \frac{1}{T_i} Q_i(t) = \frac{\gamma_i}{T_i} dev \left(2 \frac{\partial \psi_{iso}^0(\bar{C})}{\partial \bar{C}} \right) \quad (12)$$

معادله ی (12) پاسخی به شکل معادله ی (13) دارد [22]:

$$Q_i(t) = \frac{\gamma_i}{T_i} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{(t-\tau)}{T_i}} dev \left(2 \frac{\partial \psi_{iso}^0(\bar{C})}{\partial \bar{C}} \right) d\tau \quad (13)$$

⁶ Isochoric

¹ Fibrocartilage

² Myogenic

³ Silicon

⁴ Hyper - viscoelastic

⁵ Integrins

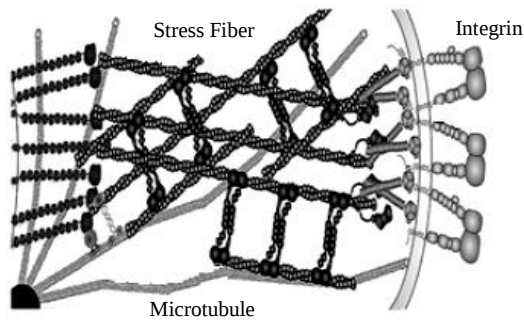


Fig. 2 Cytoskeleton and its components [26]

شکل 2 اسکلت سلولی و اجزای تشکیل دهنده آن [26]

جدول 1 خواص مکانیکی فیبرهای تنشی و میکروتوبول ها

Table 1 Mechanical properties of tensile fibers and microtubules

اجزای سازنده	مدول یانگ	زمان تخفیف
فیبرهای تنشی	15000 پاسکال [27]	6 ثانیه [28]
میکروتوبول ها	0.7 گیگاپاسکال [29]	30 ثانیه [30]

2-2- محاسبه خواص مؤثر کامپوزیت هیدروژل - سلول

فرض می شود که سلول های بنیادی مزانشیمال به صورت کره هایی با قطر 25 میکرومتر [31] درون داربست هیدروژل فیبرین پخش شده اند. این ترکیب باعث تولید کامپوزیتی می شود که برای تخمین تنش در آن باید خواص مکانیکی مؤثر آن را دانست. مدل تحلیلی که از آن برای این مقصود استفاده شده است، مدل مادی کامپوزیت ارائه شده توسط هاشین می باشد (شکل 3). این مدل شامل مجموعه ای از ذرات کروی قرار گرفته درون ورق های هم مرکز یک ماتریس خارجی است [32]. سفتی مؤثر این گونه کامپوزیتی با فرض اتصالات همسانگرد باید در شرط هاشین - شریکمن صدق کند [32].

$$\frac{n+1+c(n-1)}{n+1-c(n-1)} \leq e \leq \frac{2+c(n-1)}{2n-c(n-1)} \quad (19)$$

نمادهای استفاده شده در معادله (19) دارای این معانی اند: نسبت سفتی مدول یانگ $n = \frac{E_p}{E_s}$ ، مدول یانگ نسبی کامپوزیت $e = \frac{E}{E_s}$ ، مدول یانگ فازهای S ، P و کامپوزیت به ترتیب برابر با E_p ، E_s و E می باشند. هر مدول سفتی از این مواد کامپوزیت ایزوتروپ با دانستن تنش در یکی از فازهای سازنده می تواند پیش بینی شود [32].

$$k = \frac{K}{K_s} = \left[1 + c \frac{1 - n_k}{n_k} \frac{\sigma_p}{\sigma} \right]^{-1} \quad (20)$$

$$\frac{\sigma_p}{\sigma} = \frac{n_k(1 + \kappa_s)}{n_k + \kappa_s[1 + (n_k - 1)c]} \quad (21)$$

$$g = \frac{G}{G_s} = \left[1 + c \frac{1 - n_g}{n_g} \frac{s_p}{s} \right]^{-1} \quad (22)$$

در معادلات (20) تا (22) نمادهای مورد استفاده، $k = \frac{K}{K_s}$ و $g = \frac{G}{G_s}$ به ترتیب بیانگر مدول حجمی نسبی و مدول برشی نسبی می باشند. معادله (21) نسبت تنش حجمی را به دست می دهد. نسبت سفتی حجمی $n_k = \frac{K_p}{K_s}$ و نسبت سفتی برشی $n_g = \frac{G_p}{G_s}$ می باشند. در نهایت برای نسبت تنش اعوجاجی می توان نوشت [32]:

$$\frac{s_p}{s} = \frac{n_g(1 + \gamma_s)}{n_g + \gamma_s[1 + (n_g - 1)c]} \quad (23)$$

مدول یانگ و ضریب پواسون در معادله (24)، مدول های حجمی و برشی در معادله (25) و کمیت های مربوط به ضریب پواسون (γ و κ) در

در این جا فرض می شود که تابع چگالی انرژی کرنشی اولیه ذخیره شده برابر با انرژی کرنشی ذخیره شده در یک ماده ی هایپرالاستیک نتوهوگین باشد که در معادله (14) بیان شده است [23].

$$\psi^0 = \psi_{\text{neo-Hookean}} = \frac{\mu}{2} (I_c - 3) - \mu(\ln J) + \frac{\lambda}{2} (\ln J)^2 \quad (14)$$

در معادله فوق μ و λ ثوابت مادی و I_c ناوردای اول تانسور تغییر شکل راستگرد کوشی-گرین است. در این صورت معادلات (15) و (16) به ترتیب بخش های حجمی و حافظ حجم ψ^0 را نمایش می دهند:

$$\psi_{\text{vol}}(J) = -\mu(\ln J) + \frac{\lambda}{2} (\ln J)^2 \quad (15)$$

$$\psi_{\text{iso}}(\bar{C}) = \frac{\mu}{2} (I_{\bar{C}} - 3) \quad (16)$$

معادله (17) عبارت داخل پرانتز سمت راست معادله (12) را به ازای $\psi^0 = \psi_{\text{iso}}^0$ و $I_{\bar{C}} = \bar{C} : I$ محاسبه می کند که منظور از عملگر $(:)$ ضرب دوبله ی دو تانسور است. در نهایت، معادله (18) حاصل عملگر $\text{dev}(\mu I)$ را که لازمه ی حل معادله ی دیفرانسیل (12) است را به دست می دهد [24].

$$2 \frac{\partial \psi_{\text{iso}}^0(\bar{C})}{\partial \bar{C}} = \mu I \quad (17)$$

$$\text{dev}(\mu I) = \left(I - \frac{1}{3} C \otimes C^{-1} \right) : \mu I = \mu \left(I - \frac{1}{3} \text{trace}(C^T I) C^{-1} \right) \quad (18)$$

عبارت های اعوجاجی معادله (18) به زبان برنامه نویسی کامسول نوشته شده و در نتیجه با به دست آمدن تانسور تنش ساختگی Q_i معادله (13)، تانسور تنش پیولا-کرکاف دوم بر اساس معادله (10) حاصل می شود.

در بسط مدل هایپر ویسکوالاستیک استفاده شده برای مدل کردن اسکلت سلولی از مدل کلی مکسول شکل 1 که دارای دو جزء ویسکوالاستیک و یک جزء الاستیک خالص است، استفاده شده است. اجزای ویسکوالاستیک در واقع نماینده ی اجزای سازنده ی اسکلت سلولی یعنی فیبرهای تنشی و میکروتوبول ها می باشند. در شکل 2 شماتیک اسکلت سلولی به همراه اجزای سازنده ی آن نمایش داده شده است.

در جدول 1، خواص مکانیکی فیبرهای تنشی و میکروتوبول ها شامل مدول یانگ و زمان تخفیف ارائه شده است. با توجه به این جدول و تعریف پارامترهای مدل سیمو، مقادیر ثوابت مکانیکی $E_{\infty} = 1000 \text{ Pa}$ ، $E_2 = 0.7 \text{ GPa}$ ، $E_1 = 15000 \text{ Pa}$ ، $\eta_1 = 6 \text{ s}$ و $\eta_2 = 30 \text{ s}$ برای ثوابت شکل 1 بدست می آید. مقدار E_{∞} در واقع بیانگر مدول الاستیک سلول است که با روش میکروسکوپ نیروی اتمی برای سلول چسبیده اندازه گیری شده است [25].

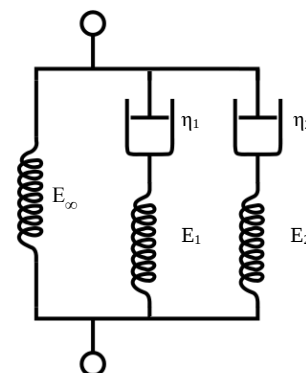


Fig. 1 Chosen Maxwell model to model cytoskeleton

شکل 1 مدل مکسول انتخاب شده برای مدل کردن اسکلت سلولی

معادله‌ی (26) تعریف شده‌اند [32].

$$E = \frac{9KG}{3K + G}; \nu = \frac{3K - 2G}{2(3K + G)} \quad (24)$$

$$G = \frac{E}{2(1 + \nu)}; K = \frac{E}{3(1 - 2\nu)} \quad (25)$$

$$\kappa = \frac{2(1 - 2\nu)}{1 + \nu}; \gamma = \frac{7 - 5\nu}{2(4 - 5\nu)} \quad (26)$$

مقصود از c در معادلات فوق غلظت حجمی فاز P است که با رابطه‌ی (27) تعیین می‌شود [32]:

$$c = \frac{V_P}{V_P + V_S} \quad (27)$$

از روابط (28) و (29) می‌توان برای تعیین مدول الاستیک مؤثر کامپوزیت و ضریب پواسون آن استفاده کرد [32].

$$e = \frac{3kg}{2(1 + \nu_S)k + (1 - 2\nu_S)g} \quad (28)$$

$$\nu = \frac{(1 + \nu_S)k - (1 - 2\nu_S)g}{2(1 + \nu_S)k + (1 - 2\nu_S)g} \quad (29)$$

برای محاسبه‌ی خواص مکانیکی کامپوزیت سلول - فیبرین نیاز به خواص مکانیکی هر یک از اجزای سازنده است. برای سلول مدول یانگ برابر با 1000 پاسکال در نظر گرفته شده است. هم چنین با توجه به این که غلظت فیبرینوژن استفاده شده در ساخت فیبرین 50 میلی گرم بر میلی لیتر بوده و غلظت ترومبین 50 یونیت بر میلی لیتر، لذا با توجه به [33] می‌توان دریافت که مدول یانگ سازه‌ی فیبرینی برابر با 5000 پاسکال می‌باشد. ضریب پواسون سازه و سلول برابر با 0.45 در نظر گرفته شده است. در جدول 2 تمام کمیت‌های تعریف شده در معادلات (19) تا (29) برای مسئله‌ی مورد بررسی محاسبه شده و به دست آمده‌اند. چگالی سلول در بلوک فیبرینی 10^7 سلول در میلی لیتر در نظر گرفته شده است [20].

در آزمایش مبنا [20] کامپوزیت فیبرین-سلول بر اثر انقباض سلول‌های مزانشیمال از طول اولیه‌ی 20 میلی متر به طول 14 میلی متر در روز هفتم و به طول 8.75 میلی متر در پایان روز بیست و یکم می‌رسد. بنابراین در درون سازه‌ی کامپوزیتی یک پیش تنش ناشی از انقباض اسکلت سلولی به وجود آمده است. با فرض یکنواخت بودن توزیع این پیش تنش و به کمک قانون هوک می‌توان مقدار آن را به صورت زیر تخمین زد. کرنش در این حالت برابر است با 0.56 و تنش برابر است با $2850 \times 0.56 = 1600$ پاسکال. با افزودن این مقدار به مدول یانگ به دست آمده در جدول 2، در نهایت مقدار 6083 پاسکال برای مدول یانگ بلوک فیبرینی به دست می‌آید.

3-2- مدل اجزای محدود چند - مقیاسی

در شکل 4، دستگاه اعمال بارگذاری تناوبی کششی استفاده شده توسط کنلی

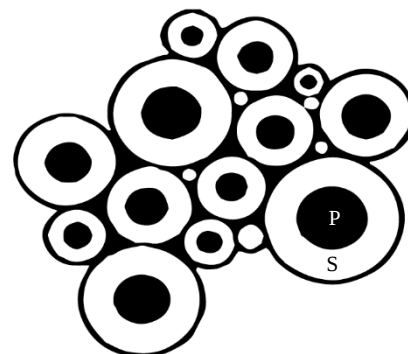


Fig. 3 Schematic expression of the composite spheres assemblage [32]
شکل 3 بیان شماتیکی کامپوزیت مجموعه‌ی کره‌ها ارائه شده توسط هاشین [32]

جدول 2 ثوابت مدل کامپوزیت هاشین برای کامپوزیت سلول - فیبرین

ثابت	مقدار
حجم سلول (m^3)	8.18×10^{-15}
حجم بلوک فیبرین [20] (ml)	600×10^{-9}
کل حجم سلول‌ها (m^3)	4.9×10^{-14}
غلظت حجمی سلول‌ها	0.083
K_P (Pa)	3333.3
K_S (Pa)	16666.7
G_P (Pa)	344.8
G_S (Pa)	1724
n_k	0.2
n_g	0.2
κ	0.138
γ	1.35
$\frac{\sigma_P}{\sigma_S}$	0.69
$\frac{s_P}{s_S}$	0.32
$\frac{g}{k}$	0.81
$\frac{g}{k}$	0.9
K (Pa)	13500
G (Pa)	1551
ν	0.44
e	0.896
E (Pa)	4483

و همکاران نمایش داده شده است. در شکل 5 مدل ساخته شده در نرم افزار کامسول برای بلوک فیبرینی به همراه دو قطعه‌ی پلی اتیلنی انتهایی آن نشان داده شده است. شکل 6 نیز شبکه‌ی تولیدی برای بلوک فیبرینی به منظور تحلیل اجزای محدود تحت بارگذاری کششی در نرم افزار کامسول را ارائه می‌دهد.

خواص هسته به منظور ساده سازی مساله، معادل با خواص مکانیکی کل سلول در نظر گرفته شده است. اینتگرین‌ها به صورت یک لایه‌ی الاستیک با سختی کل 0.001 نیوتن بر متر مدل شده‌اند (تعداد فرضی یکصد اینتگرین هر یک با سختی 0.0001 نیوتن بر متر [34]).

در شکل 7 مدل متقارن محوری که در مقیاس میکرو برای مدل کردن سلول و ماتریس فیبرینی اطراف آن ساخته شده، نمایش داده شده است. این مدل در واقع یک چهارم مدل کامل است چرا که مدل مساله حول خطوط 1 و 2 تقارن دارد. شکل 8، بیانگر شبکه‌ی ایجاد شده برای مدل میکرو می‌باشد. بارگذاری کششی بر وجه سمت راست بخش فیبرینی شکل 7 وارد می‌شود. همگرایی و دقت حل بسیار به گام زمانی وابسته است، لذا گام زمانی برابر با 0.005 ثانیه انتخاب شده است. با توجه به این گام زمانی و کل بازه حل که 20 ثانیه است، 4000 تکرار نیاز است.

به منظور بررسی استقلال از شبکه، میانگین زمانی نیروی برشی روی خطی که با افق زاویه 45 درجه می‌سازد، معیار سنجش قرار گرفت. به دلیل طولانی بودن زمان حل (82 ساعت برای شبکه 1400 المانی)، با هدف کاهش هزینه محاسباتی، 1 ثانیه از بازه حل بررسی شد. مطابق با شکل 9، تعداد 1400 المان نتیجه مشابهی با ریزترین شبکه (3000 المان) دارد. بنابراین با توجه به هزینه محاسباتی، شبکه 1400 المانی برای مدل سازی انتخاب شد. بر اساس اینکه دوره تناوب بارگذاری 1 ثانیه است و در این 1 ثانیه تغییرات قابل توجهی با افزایش تعداد المان‌ها مشاهده نشد، می‌توان نتایج این بررسی را برای بارگذاری 20 ثانیه‌ای نیز معتبر دانست.

به وجه داخلی سوراخ راست بلوک فیبرینی جابجایی تناوبی u_x با دامنه‌ی 1.4 میلی متر طبق معادله‌ی (30) وارد می‌شود:

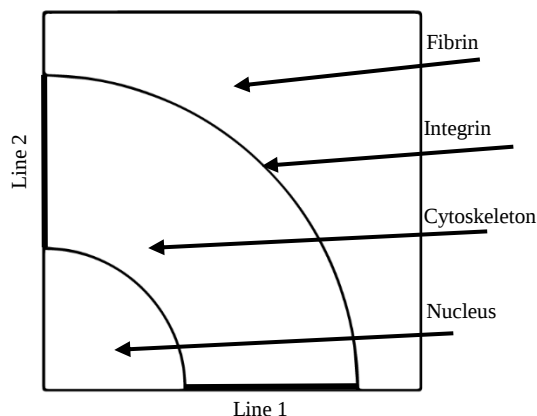


Fig. 7 The model including the cytoplasm, integrins, cell nucleus and a small part of fibrin blocks (dimensions in micrometers).

شکل 7 مدل شامل سیتوپلاسم، اینتگرین‌ها، هسته‌ی سلول و بخش کوچکی از بلوک فیبرینی (ابعاد به میکرومتر)

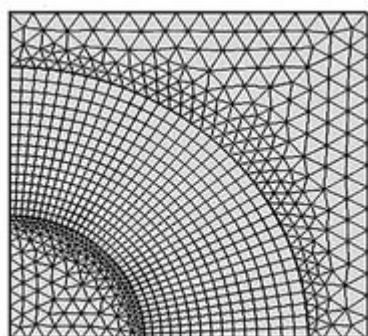


Fig. 8 Created mesh on cellular model in micro-scale

شکل 8 شبکه‌ی تولیدی روی مدل سلولی در ابعاد میکرو

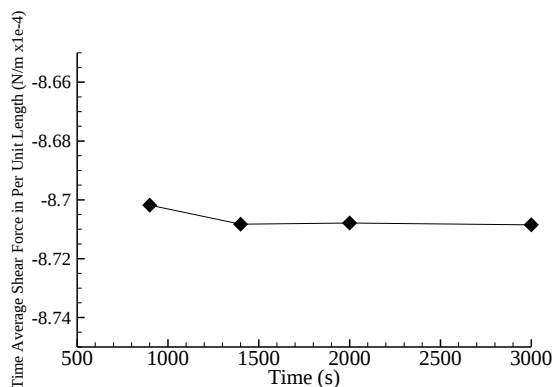


Fig. 9 Mesh independency analysis

شکل 9 بررسی استقلال از شبکه

تنش‌ها و نیروهای ایجاد شده درون اسکلت سلولی و اطمینان از این که مقادیر این تنش‌ها و نیروها با تغییر تنش اعمالی خارجی دچار تغییرات غیرمنطقی و ناگهانی نمی‌شود، تحلیل حساسیت انجام گرفته است. در این تحلیل مقادیر تنش‌ها و نیروهای شعاعی و محیطی به ازای 5 مقدار مختلف برای دامنه تنش اعمالی خارجی (480، 580، 680، 780 و 880 پاسکال) در منحنی‌های شکل‌های 11 و 12 رسم شده‌اند. همان گونه که به روشنی از این منحنی‌ها می‌توان دریافت هیچ‌گونه تغییرات ناگهانی در مقادیر تنش‌ها و نیروهای

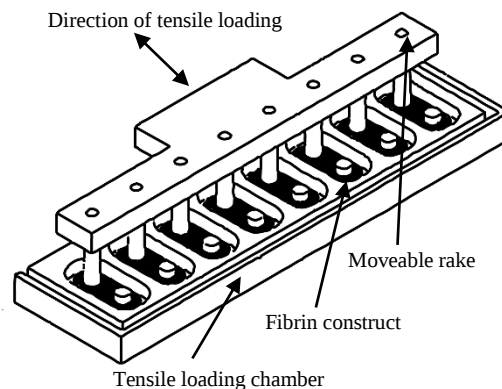


Fig. 4 loading device on the fibrin block [35]

شکل 4 دستگاه اعمال بارگذاری کششی بر بلوک فیبرینی [35]

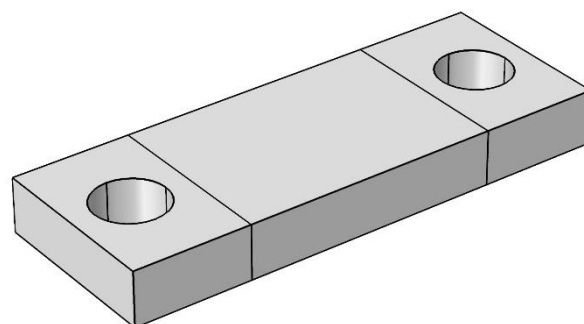


Fig. 5 Fibrin block model in Comsol (fibrin block size 20×10×3 mm, dimensions of each polyethylene piece 6.5×10×3 and diameter of each hole 4mm)

شکل 5 بلوک فیبرینی مدل شده در کامسول (ابعاد بلوک فیبرینی 20×10×3 میلی‌متر، ابعاد هر قطعه‌ی پلی اتیلنی 6.5×10×3 میلی‌متر و قطر هر سوراخ 4 میلی‌متر است).

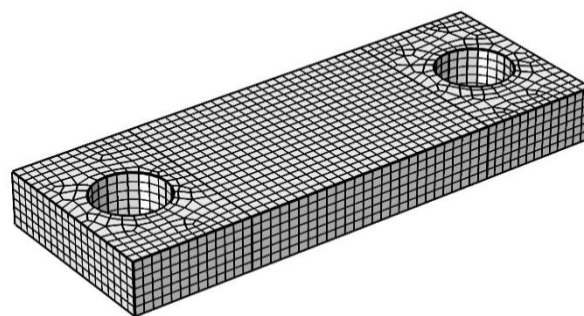


Fig. 6 Created mesh on the fibrin block

شکل 6 شبکه ایجاد شده بر بلوک فیبرینی

$$u_x = 0.0014 \left(0.5 \sin \left(2\pi t - \frac{\pi}{2} \right) + 0.5 \right) \quad (30)$$

وضعیت تنش در مقطع میانی بلوک فیبرینی به عنوان وضعیت تنش حول یک سلول در مرکز بلوک، به نحوی که مرکز سلول و مرکز بلوک بر یکدیگر منطبق باشند، مدنظر است. همچنین تنها تنش در راستای اعمال بارگذاری (σ_{xx}) قابل توجه است. از آن جا که بلوک فیبرینی به صورت ماده‌ای الاستیک مدل شده است، مقدار σ_{xx} همان فرم معادله‌ی (30) را داراست با دامنه‌ای برابر 680 پاسکال (معادله‌ی (31)، شکل 10).

$$\sigma_{xx} = 680 \left(0.5 \sin \left(2\pi t - \frac{\pi}{2} \right) + 0.5 \right) \quad (31)$$

4-2- تحلیل حساسیت

با هدف بررسی اثر تغییرات تنش اعمالی خارجی به مدل، در ابعاد میکرو، بر

بارگذاری فشاری قرار گرفته است و منحنی های تنش فشاری بر حسب کشش در نرخ‌های مختلف بارگذاری رسم شده‌اند. در شکل 13 مدل ساده‌ی دوبعدی برای قطعات پلی‌یورتانی به همراه شرایط مرزی تعریف شده روی آن نمایش داده شده است. در شکل 14 نتایج حاصل از شبیه‌سازی تست شبه - استاتیک انجام شده روی قطعات PU50 با مقادیر حاصل از آزمایش مقایسه شده‌اند. می‌توان اختلاف بین این منحنی‌ها در کرنش‌های بزرگ را به مدل نکردن قطعات به صورت متقارن محوری نسبت داد.

3- نتایج

به منظور داشتن معیاری از هر یک از تنش‌های محیطی، شعاعی و برشی ایجاد شده در داخل اسکلت سلولی منحنی‌های مربوطه در شکل‌های 15 تا 17 نمایش داده شده‌اند. این منحنی‌ها به ترتیب متوسط تنش‌های 240، 260 و 140 پاسکال را برای اسکلت سلولی در لحظات اوج بارگذاری پیش‌بینی می‌کنند. شکل‌های 18 تا 20 میزان نیروی ایجاد شده روی مولکول‌های زیستی، بر حسب نیرو بر واحد طول را نشان می‌دهند. در شکل 18 مقدار نیروی محیطی بر واحد طول روی خط 2 (مشخص شده در شکل 7) به 0.0024 نیوتن بر متر می‌رسد. با توجه به ابعاد مولکول‌های زیستی که در محدوده‌ی چند نانومتر قرار می‌گیرند، لذا حداکثر نیروی پیش‌بینی شده توسط این منحنی‌ها چندین پیکونیوتن روی هر مولکول می‌باشد. در شکل 19 منحنی یکسانی برای نیروی شعاعی بر واحد طول خط 1 (مشخص شده در شکل 7) رسم شده است. برای مولکولی در ابعاد 10 نانومتر این نیرو به 45

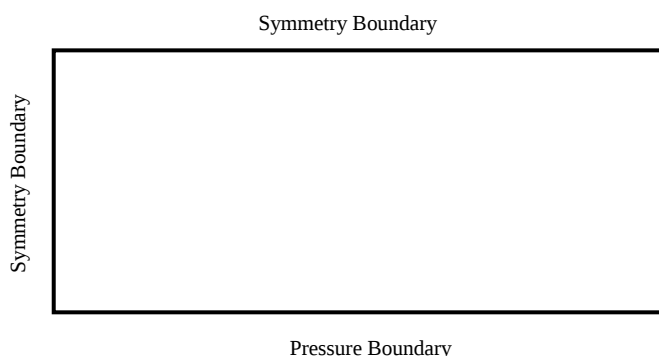


Fig. 13 Polyurethane 2D model with boundary conditions to simulate in Comsol

شکل 13 مدل دو بعدی پلی‌یورتانی به همراه شرایط مرزی برای شبیه‌سازی در کامسول

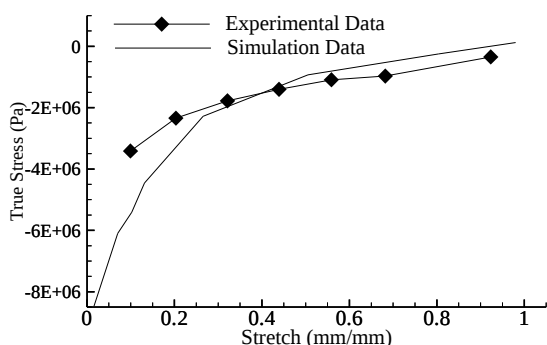


Fig. 14 The comparison between experimental and simulation results for polyurethane components under quasi-static pressure test

شکل 14 مقایسه بین نتایج تجربی و شبیه‌سازی برای قطعات پلی‌یورتانی تحت تست فشاری شبه-استاتیک

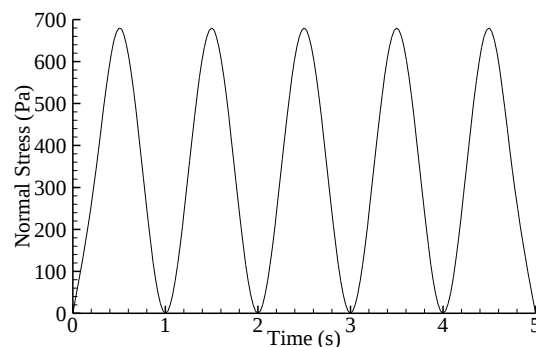


Fig.10 Cyclic tensile stress at the midpoint of fibrin block as a function of time

شکل 10 تنش کششی تناوبی در نقطه‌ی میانی بلوک فیبرینی به صورت تابعی از زمان

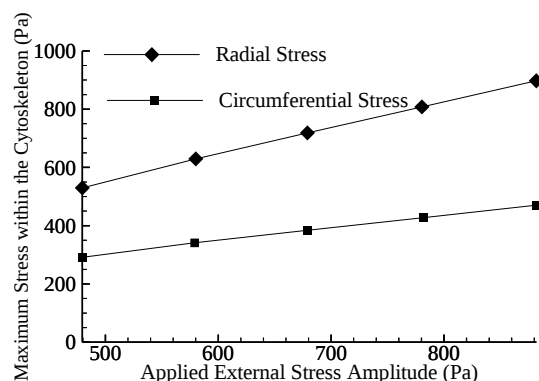


Fig. 11 The Maximum radial and circumferential stresses within the cytoskeleton for 5 different values of applied external stress amplitude

شکل 11 حداکثر تنش‌های شعاعی و محیطی درون اسکلت سلولی به ازای 5 مقدار مختلف برای تنش اعمالی خارجی

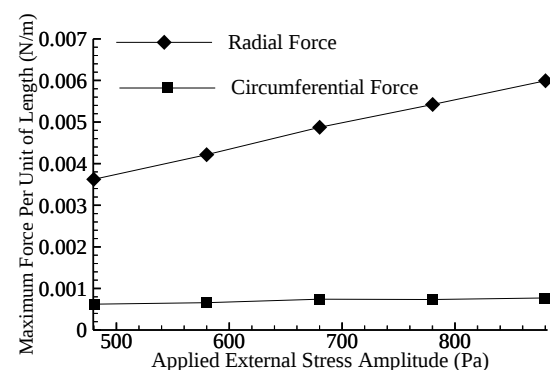


Fig. 12 The Maximum radial and circumferential forces on line 1 within the cytoskeleton for 5 different values of applied external stress amplitude

شکل 12 حداکثر نیروهای شعاعی و محیطی بر واحد طول روی خط 1 درون اسکلت سلولی به ازای 5 مقدار مختلف برای تنش اعمالی خارجی

ایجاد شده درون اسکلت سلولی با تغییر دامنه‌ی تنش خارجی اعمالی رخ نمی‌دهد.

5-2- صحت‌سنجی مدل ارائه شده

به منظور بررسی درستی مدل ارائه شده برای اسکلت سلولی، آزمایش انجام شده در [36] به کمک این مدل شبیه‌سازی شده است. در این آزمایش قطعات استوانه‌ای پلی‌یورتانی¹ با قطر 15 میلی‌متر و طول 6 میلی‌متر تحت

¹ Polyurethane

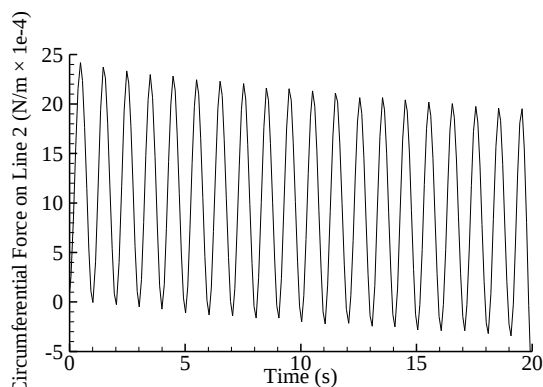


Fig. 18 The circumferential force on line 2 within cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

شکل 18 نیروی محیطی روی خط 2 درون اسکلت سلولی در 20 ثانیه‌ی ابتدایی بارگذاری

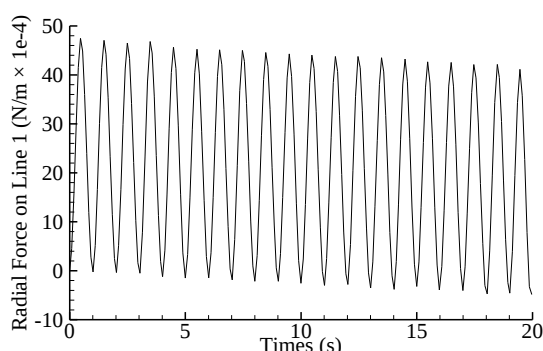


Fig. 19 The radial force on line 1 within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

شکل 19 نیروی شعاعی روی خط 1 درون اسکلت سلولی در 20 ثانیه‌ی ابتدایی بارگذاری

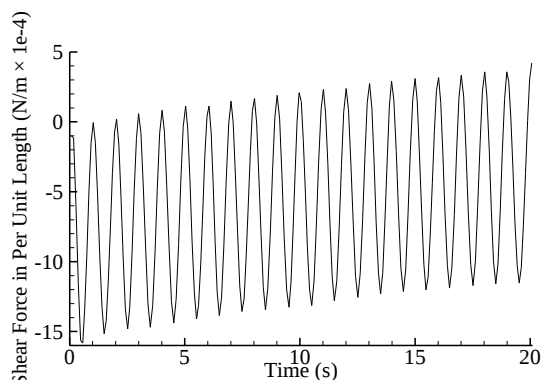


Fig. 20 The shear force on the line which makes a 45 degree angle with the horizon within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

شکل 20 نیروی برشی روی خطی که با افق زاویه 45 درجه می‌سازد درون اسکلت سلولی در 20 ثانیه‌ی ابتدایی بارگذاری

می‌کند، سنجید. همان‌گونه که در آزمایش انجام شده توسط کلنی و همکارانش [20] گزارش شد، افزودن بارگذاری تناوبی باعث انگیزش پاسخی متفاوت از سلول‌های بنیادی نسبت به گروه‌هایی می‌شود که تنها در محیط غضروف قرار داده شده‌اند. لذا سطح تنش‌های ایجاد شده در سیتوپلاسم، که از یک سو به غشاء و از سوی دیگر به هسته متصل است، باید در محدوده تنش‌هایی باشد که باعث انگیزش پاسخی متفاوت از سلول نسبت به یک حالت مرجع می‌شوند. از آنجایی که در شکل‌های 15 تا 17 به ترتیب برای متوسط تنش‌های محیطی، شعاعی و برشی به روشنی مشخص است که

پیکونیوتن می‌رسد. در شکل 20 نیروهای برشی ایجاد شده روی خطی که درون سیتوپلاسم است و با محور افق زاویه‌ی 45 درجه می‌سازد، رسم شده است. این نیروها نیز، هم‌چون دو نیروی محیطی و شعاعی، در ابعاد مولکولی اندازه‌ی چندین پیکونیوتن را دارند.

4- بحث

با توجه به مطالعات انجام شده در تحقیقات گذشته مدلی که اثرات ویسکوالاستیک و هایپرالاستیک را با هم به کار گرفته باشد، ارائه نشده است، لذا نمی‌توان نتایج تحقیق ارائه شده را با مدل‌های مشابه گذشته مقایسه و اعتبارسنجی کرد. اما می‌توان صحت نتایج گرفته شده را با مقایسه‌ی تنش‌های گزارش شده که سلول تحت شرایط بارگذاری مختلف تجربه

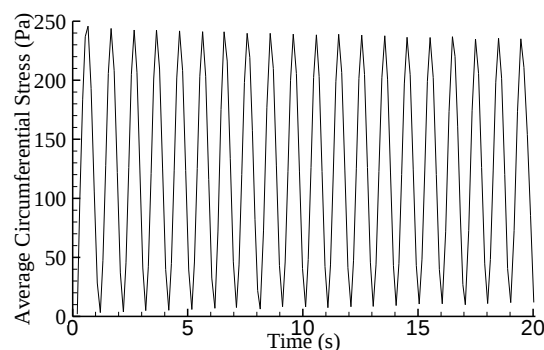


Fig. 15 The average circumferential stress within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading-

شکل 15 متوسط تنش محیطی درون اسکلت سلولی در 20 ثانیه‌ی ابتدایی بارگذاری

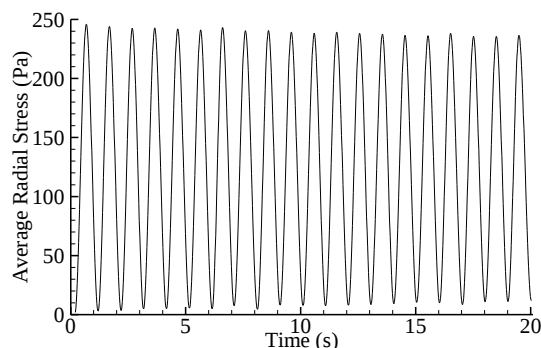


Fig. 16 The average radial stress in the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

شکل 16 متوسط تنش شعاعی درون اسکلت سلولی در 20 ثانیه‌ی ابتدایی بارگذاری

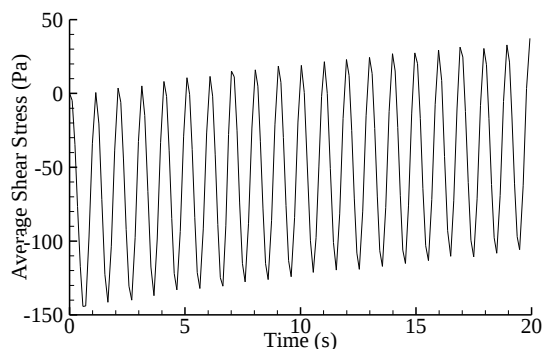


Fig. 17 The average shear stress within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

شکل 17 متوسط تنش برشی درون اسکلت سلولی در 20 ثانیه‌ی ابتدایی بارگذاری

ویسکوالاستیک غیرخطی سیمو است. این مدل بر پایه ی سری های دیرپیشه - پرونی در ریاضیات سعی در تقریب زدن پاسخ یک مجموعه ی ویسکوالاستیک غیرخطی به کمک ترم های نمایی این سری ها دارد. اجزای سلولی که نقش ویسکوالاستیک آن ها لحاظ شده است، شامل فیبرهای تنشی و میکرو توبول ها می باشند. گرچه اجزای حد واسط نیز می توانند نقش چشم گیری در پاسخ سلولی داشته باشند، اما تحقیقی که در بردارنده ی خواص ویسکوالاستیک این جزء خاص باشد یافت نشد.

اولین جنبه ی نوآوری این تحقیق ارائه ی مدلی هایپر ویسکوالاستیک برای سلول زنده به منظور بررسی دقیق تر پاسخ مکانیکی آن می باشد. جنبه دوم به بررسی پاسخ مکانیکی سلول های مزنشیمال درون داربستی از جنس فیبرین بر می گردد که در آن اثر اینتگرین ها به عنوان ارتباط دهنده های اسکلت سلولی به ماتریس خارج سلولی در نظر گرفته شده است. این تحلیل چندمقیاسی بر آن بوده است که به صورت هر چه دقیق تر شرایط مکانیکی (از جنس تنش) اطراف یک سلول بنیادی درون فیبرین را از شرایط ماکروی آن بدست آورده و به عنوان شرایط مرزی مدل میکروی سلول برای بررسی پاسخ مدل هایپر ویسکوالاستیک ارائه شده استفاده کند.

نتایج این تحقیق نشان می دهد که مدل ارائه شده توانسته است سطحی از تنش را برای اسکلت سلولی پیش بینی کند که برای تحریک سلول به پاسخی متفاوت نسبت به حالتی که در آن بارگذاری وجود ندارد، کافی می باشد. این پاسخ متفاوت به صورت افزایش نشانگرهای سلول غضروف لیفی و یا به عبارتی تمایز به سلول های غضروف لیفی نمود یافته است.

6- مراجع

- [1] B. M. Abdallah, H. Saeed, M. Kassem, *Human Mesenchymal Stem Cells: Basic Biology and Clinical Applications for Bone Tissue Regeneration*, pp. 177-190, Humana Press, 2009.
- [2] H. Bethesda, U. S. Department of Health and Human Services, *Stem Cell Basics*, Accessed; <https://stemcells.nih.gov/info/basics.htm>.
- [3] H. W. Wu, C. C. Lin, S. M. Hwang, Y. J. Chang, G. B. Lee, microfluidic device for chemical and mechanical stimulation of mesenchymal stem cells, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol. 11, No. 5, pp. 545-556, 2011.
- [4] E. K. Yim, S.W. Pang, K.W. Leong, Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage, *Experimental Cell Research*, Vol. 313, No. 9, pp. 1820-1829, 2007.
- [5] M. J. Dalby, N. Gadegaard, R. Tare, A. Andar, M.O. Riehl, P. Herzyk, C.D. Wilkinson, R.O. Oreffo, The control of human mesenchymal cell differentiation using nanoscale symmetry and disorder, *Nature Materials*, Vol. 6, No. 12, pp. 997-1003, 2007.
- [6] R. McBeath, D. M. Pirone, C. M. Nelson, K. Bhadriraju, C. S. Chen, Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment, *Developmental Cell*, Vol. 6, No. 4, pp. 483-495, 2004.
- [7] Y. S. Pek, A. C. Wan, J. Y. Ying, The effect of matrix stiffness on mesenchymal stem cell differentiation in a 3D thixotropic gel, *Biomaterials*, Vol. 31, No. 3, pp. 385-391, 2010.
- [8] O. Schätti, S. Grad, J. Goldhahn, G. Salzmann, Z. Li, M. Alini, M. J. Stoddart, A combination of shear and dynamic compression leads to mechanically induced chondrogenesis of human mesenchymal stem cells, *European Cells & Materials*, Vol. 22, pp. 214-225, 2011.
- [9] W. Y. Sim, S. W. Park, S. H. Park, B. H. Min, S. R. Park, S. S. Yang, A pneumatic micro cell chip for the differentiation of human mesenchymal stem cells under mechanical stimulation, *Lab on a Chip*, Vol. 7, No. 12, pp. 1775-1782, 2007.
- [10] F. Zhao, R. Chella, T. Ma, Effects of shear stress on 3-D human mesenchymal stem cell construct development in a perfusion bioreactor system: Experiments and hydrodynamic modeling, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 96, No. 3, pp. 584-595, 2007.
- [11] H. Karcher, J. Lammerding, H. Huang, R. T. Lee, R. D. Kamm, M. R. Kaazempur-Mofrad, A three-dimensional viscoelastic model for cell deformation with experimental verification, *Biophysical Journal*, Vol. 85, No. 5, pp. 3336-3349, 2003.
- [12] F. P. Baaijens, W. R. Trickey, T. A. Laursen, F. Guilak, Large deformation finite element analysis of micropipette aspiration to determine the mechanical properties of the chondrocyte, *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 33, No. 4, pp. 494-501, 2005.
- [13] A. Vaziri, M. R. Mofrad, Mechanics and deformation of the nucleus in micropipette aspiration experiment, *Journal of Biomechanics*, Vol. 40, No. 4, pp. 2053-2062, 2007.

متوسط هر یک از این تنش ها مقادیر حداکثر 240 و 260 و 140 پاسکال را دارند، لذا این تنش ها از مرتبه ی چندین صد پاسکال بوده که برای انگیزش پاسخ از سلول کافی هستند [37].

اگر نیروی خارجی بخواهد قادر به ایجاد یک تغییر چشم گیر در نرخ واکنش های بایوشیمیایی داخل سلولی شود، اثر نیروی ساختار پروتئین باید از آنچه وابسته به نوسانات دمایی است، پیشی گیرد. برای مقدار انرژی حرارتی برابر با 4 پیکونیوتن در نانومتر و در نظر گرفتن تغییرات ساختاری با طول مشخصه ای در مقیاس 1 تا 10 نانومتر، سطوح نیروی متناظر در محدوده ی 0.4 تا 4 پیکونیوتن خواهد افتاد. این مقدار نیرو در تطابق با مقدار نیرویی است که یک مولکول مایوزین، در سازگاری با این نظریه که انقباض فعال سلولی می تواند منجر به القای سیگنال دهی سلولی شود، می باشد [37].

نتایج شکل 18 حاکی از این است که برای مولکول های زیستی با ابعاد 1 تا 10 نانومتر مقدار نیروی محیطی ایجاد شده روی مولکول 2.4 تا 24 پیکونیوتن است. با توجه به شکل 19 برای مولکول های با ابعاد ذکر شده، مقدار نیروی شعاعی ایجاد شده در بازه ی 4.5 تا 45 پیکونیوتن می باشد. همچنین بر اساس شکل 20 نیروی برشی روی مولکول در بازه ی 1.5 تا 15 پیکونیوتن قرار می گیرد. بنابراین هر یک از تنش های محیطی، شعاعی و برشی مستعد فعال سازی مولکول های زیستی و تأثیرگذاری بر نرخ و میزان واکنش های شیمیایی درون سلول می باشند. به عنوان نمونه مولکول زیستی فیلامین را در نظر بگیرید. فیلامین¹ یکی از متصل کننده های عرضی بسیار مهم فیلامان های اکتین است که از طریق تماس مستقیم و غیرمستقیم با اینتگرین ها باعث لنگر انداختن اسکلت سلولی اکتین به غشاء لیپیدی سلول می شود. پیشنهاد شده است که تحت نیروهای برشی، فیلامین ها در سراسر سلول انباشته می شوند که باعث افزایش پایداری و مقاومت مکانیکی سلول می شوند [38]. فیلامین می تواند به شکل های ساختاری مختلفی تحت اعمال نیرو و گشتاور درآید و به موجب این رفتار یک انتقال دهنده ی نیرو در اسکلت سلولی است. با استفاده از مایکروسکوپ نیروی اتمی نشان داده شده است که بازکردن ناحیه ی شبیه ایمنوگلوبین فیلامین ها در محدوده ی نیرویی 50 تا 220 پیکونیوتن رخ می دهد. همچنین نشان داده شده است که این ناحیه از مولکول، تحت بارگذاری های کوچک (25 پیکونیوتن) تغییرات ساختاری چشم گیری پیدا می کند که نشان دهنده ی نقش این مولکول به عنوان یک حسگر مکانیکی است که با نیرو فعال می شود [38].

از محدودیت های این تحقیق می توان به مدل کردن دو بعدی سلول، مدل نکردن چسبندگی های موضعی به صورت متمرکز و مدل کردن سلول به عنوان ماده ای منفعل اشاره کرد. همچنین مدل هاشین که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت، در میکرومکانیک مواد محدودیت هایی دارد که در پژوهش های آتی مورد ملاحظه قرار می گیرد. در تحقیقات آینده می توان به سمت توسعه ی مدل هایی که بازآرایی خاص اسکلت سلولی را تحت بارگذاری های مختلف لحاظ می کنند و ترکیب کردن آن ها با مدل پیشنهاد شده در این جا و همچنین رفع محدودیت های ذکر شده پیش رفت.

5- نتیجه گیری

مطالعات صورت گرفته در مورد بنا نهادن مدلی برای اسکلت سلولی که هم دربردارنده ی اثرات ویسکوالاستیک و هم اثرات هایپر الاستیک باشد مسیر تحقیق را به تئوری های کلاسیک مدل های غیرخطی برای مواد ویسکوالاستیک رهنمون شد. مدلی که در بخش (1-2) مطرح شد مدل

¹ Filamin

- microscopy, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, Vol. 12, No. 2, pp. 537-552, 2007.
- [26] Z. Jahed, H. Shams, M. R. Mofrad, A Disulfide Bond Is Required for the Transmission of Forces through SUN-KASH Complexes, *Biophysical Journal*, Vol. 109, No. 13, pp. 501-509, 2015.
- [27] L. Lu, S. J. Oswald, H. Ngu, F. C. Yin, Mechanical properties of actin stress fibers in living cells, *Biophysical Journal*, Vol. 95, No. 12, pp. 6060-6071, 2008.
- [28] S. Kumar, I. Maxwell, A. Heisterkamp, T. R. Polte, T. P. Lele, M. Salanga, E. Mazur, Viscoelastic retraction of single living stress fibers and its impact on cell shape, cytoskeletal organization, and extracellular matrix mechanics, *Biophysical Journal*, Vol. 90, No. 10, pp. 3762-3773, 2006.
- [29] D. B. Wells, A. Aksimentiev, Mechanical properties of a complete microtubule revealed through molecular dynamics simulation, *Biophysical Journal*, Vol. 99, No. 2, pp. 629-637, 2010.
- [30] Y. C. Lin, G. H. Koenderink, F. C. MacKintosh, D. A. Weitz, Viscoelastic properties of microtubule networks, *Macromolecules*, Vol. 40, No. 21, pp. 7714-7720, 2007.
- [31] G. Jianfeng, G. Ling, S. Wang, Y. Zhang, T. Cai, R. C. Zhao, Y. Wu, The size of mesenchymal stem cells is a significant cause of vascular obstructions and stroke, *Stem Cell Reviews and Reports*, Vol. 10, No. 2, pp. 295-303, 2014.
- [32] L. F. Nielsen, *Composite Materials: Properties as Influenced by Phase Geometry*, Springer Science & Business Media, pp. 126-128, 2005.
- [33] H. Duong, B. Wu, B. Tawil, Modulation of 3D fibrin matrix stiffness by intrinsic fibrinogen-thrombin compositions and by extrinsic cellular activity, *Tissue Engineering Part A*, Vol. 15, No. 7, pp. 1865-1876, 2009.
- [34] X. Peng, J. Huang, C. Xiong, J. Fang, Cell adhesion nucleation regulated by substrate stiffness: A Monte Carlo study, *Journal of Biomechanics*, Vol. 45, No. 1, pp. 116-122, 2012.
- [35] E. J. Vanderploeg, S. M. Imler, K. R. Brodtkin, A. J. Garcia, M. E. Levenston, Oscillatory tension differentially modulates matrix metabolism and cytoskeletal organization in chondrocytes and fibrochondrocytes, *Journal of Biomechanics*, Vol. 37, No. 12, pp. 1941-1952, 2004.
- [36] D. Doman, D. S. Cronin, C. P. Salisbury, Characterization of polyurethane rubber at high deformation rates, *Experimental Mechanics*, Vol. 46, No. 3, pp. 367-376, 2006.
- [37] H. Huang, R. D. Kamm, R. T. Lee, Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, Vol. 287, No. 1, pp. C1-C11, 2004.
- [38] Z. Jahed, H. Shams, M. Mehrbod, M. R. Mofrad, Mechanotransduction pathways linking the extracellular matrix to the nucleus, *International Review of Cell and Molecular Biology*, Vol. 310, No. 171, pp. 220, 2014.
- [14] E. P. Dowling, W. Ronan, J. P. McGarry, Computational investigation of in situ chondrocyte deformation and actin cytoskeleton remodelling under physiological loading, *Acta Biomaterialia*, Vol. 9, No. 4, pp. 5943-5955, 2013.
- [15] Z. Alihemmati, B. Vahidi, N. Haghighipour, M. Salehi, Computational simulation of static/cyclic cell stimulations to investigate mechanical modulation of an individual mesenchymal stem cell using confocal microscop, *Materials Science and Engineering.C, Materials for Biological Applications*, Vol. 70, No. 1, 2017.
- [16] R. Vaez Ghaemi, B. Vahidi, M. H. Sabour, N. Haghighipour, Z. Alihemmati, Fluid-structure interactions analysis of shear-induce modulation of a mesenchymal stem cell: An image-based study, *Artificial Organs*, Vol. 40, No. 3, pp. 278-287, 2016.
- [17] C. A. Mullen, T. J. Vaughan, M. C. Voisin, M. A. Brennan, P. Layrolle, L. M. McNamara, Cell morphology and focal adhesion location alters internal cell stress, *Journal of The Royal Society Interface*, Vol. 11, No. 111, 2014.
- [18] J. S. Park, J. S. Chu, C. Cheng, F. Chen, D. Chen, S. Li, Differential effects of equiaxial and uniaxial strain on mesenchymal stem cells, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 88, No. 3, pp. 359-368, 2004.
- [19] M. van Griensven, S. Diederichs, S. Roeker, S. Boehm, A. Peterbauer, S. Wolbank, D. Riechers, F. Stahl, C. Kasper, Mechanical strain using 2D and 3D bioreactors induces osteogenesis: Implications for bone tissue engineering, *Advanced in Biochemical Engineering/ Biotechnology*, Vol. 112, pp. 95-124, 2009.
- [20] J. T. Connelly, E. J. Vanderploeg, J. K. Mouw, C. G. Wilson, M. E. Levenston, Tensile loading modulates bone marrow stromal cell differentiation and the development of engineered fibrocartilage constructs, *Tissue Engineering Part A*, Vol. 16, No. 6, pp. 1913-1923, 2010.
- [21] N. Haghighipour, S. Heidarian, M. A. Shokrgozar, N. Amirizadeh, Differential effects of cyclic uniaxial stretch on human mesenchymal stem cell into skeletal muscle cell, *Cell Biology International*, Vol. 36, No. 7, pp. 669-675, 2012.
- [22] S. P. C. Marques, G. J. Creus *Computational Viscoelasticity*, Springer Science & Business Media, pp. 71-75, 2012.
- [23] J. Bonet, R. D Wood, *Nonlinear Continuum Mechanics for Finite Element Analysis*, pp. 161, (Translated by I. Mahmoodzani Kani) University of Tehran Press, 2007. (in Persian فارسی)
- [24] G. A. Holzapfel, *Nonlinear Solid Mechanics*, pp. 212-294, London: John Wiley & Sons Ltd, 2000.
- [25] D. Docheva, D. Padula, C. Popov, W. Mutschler, H. C. Schumann, M. Schieker, Researching into the cellular shape, volume and elasticity of mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteosarcoma cells by atomic force