مجله مهندسی مکانیک مدرس، مهر 1396، دوره 17، شماره 7، ص‌ص 207-216

ماهنامه علمی پژوهشی

مهندسی مکانیک مدرس

mme.modares.ac.ir

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

بهمن وحیدی[1*]، اسماعیل رحیم پور[2]، زهرا ملاحسینی[3]

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

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

هایپرویسکوالاستیسیته

چسبندگی‌های موضعی

تمایز غضروفی

چکیده

سلول‌های بنیادی مزنشیمال به خاطر داشتن توانایی خودنوزایی و تمایز به رده‌های گوناگون سلولی گزینه‌های ایده‌آل مهندسی بافت بازایجادگر هستند. این سلول‌ها در پاسخ به تحریکات مکانیکی مانند کرنش‌های تناوبی به سمت تمایز یافتن به سلول‌هایی که در درون بدن بارگذاری مشابهی را تجربه می‌کنند، مانند سلول‌های استخوانی و غضروفی، هدایت می‌شوند. 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 اینتگرین‌ها و به‌کارگیری مدل هایپرویسکوالاستیک 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 می‌دهد که متوسط تنش‌های محیطی، شعاعی و برشی به ترتیب تا 240، 260 و 140 پاسکال و نیروهای متناظر تا 24، 45 و 15 پیکونیوتن می‌رسند که برای انگیزش سلول به پاسخی متفاوت نسبت به شرایطی که در آن بارگذاری وجود ندارد، کافی است. نتایج این پژوهش می‌تواند در راستای طراحی بهتر آزمایش‌های 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

مهندسی بافت باز ایجادگر[1] زمینه‌ای نوین در مهندسی پزشکی است که بر پایه‌ی تحریک آزمایشگاهی سلول‌های زنده قصد دارد راهی برای تولید بافت‌های زنده در محیطی خارج از محیط بدن فراهم کند [1]. در این میان سلول‌های بنیادی[2] گزینه‌های ایده‌آلی برای تحقق این هدف هستند چرا که این سلول‌ها می‌توانند بدون اینکه به سلولی دیگر تمایز یابند تکثیر شده که این تکثیر متأثر از تحریکات اعمالی روی آن‌ها است و از طرفی توانایی تمایز به رده‌های گوناگون سلولی را دارند [2]. تحریکات بیوشیمیایی [3]، توپوگرافی‌های در ابعاد میکرو و نانو [5,4]، مورفولوژی[3] مقید شده‌ی سلولی [6]، سختی بستر قرارگیری سلول [7] و تحریکات نیرویی خارجی [8-10]

[1] Regenerative tissue engineering
[2] Stem cells
[3] Morphology

Please cite this article using:

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

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)

هر یک عواملی هستند که تغییر در میزان و ترکیب آن‌ها با هم منجر به نرخ‌های تکثیر و تمایز مختلف و جهت‌گیری‌های مختلف سلولی برای سلول‌های بنیادی می‌شود.

محققان بسیاری به کمک مدل‌های مادی مختلف سعی در بررسی پاسخ مکانیکی سلول‌های زنده تحت تحریکات مکانیکی گوناگون داشته‌اند. کارشر و همکاران [11] از یک مدل سه بعدی اجزای محدود برای بدست آوردن توزیع تنش در تک لایه‌ای از سلول‌ها در آزمون سلول‌سنجی مغناطیسی استفاده کرده‌اند. آن‌ها مدل‌های ویسکوالاستیک مکسول و وویت را برای این منظور به کار برده‌اند و سازگاری بیشتر مدل مکسول با نتایج آزمایشگاهی را نسبت به مدل وویت گزارش کرده‌اند. ملاحظات نوین این تحقیق شامل اعمال ویسکوالاستیسیته بر یک مدل توزیع شده‌ی فضایی سلول برای سلول‌های چسبیده و بررسی اثر مدل‌های مختلف ماده بر پاسخ مکانیکی سلول، در نظر گرفتن نقش مکانیکی ترکیبی غشاء و قشر سلول در سلول‌سنجی مغناطیس در پاسخ سلولی و در نظر گرفتن اثر نرخ بارگذاری بر توزیع تنش می‌باشد.

بایجنز و همکاران [12] مدل اجزای محدودی را برای بدست آوردن خواص مکانیکی سلول‌های کندروسایت و مقایسه‌ی آن با نتایج تحلیلی موجود ایجاد کرده‌اند. آن‌ها از مدل‌های مادی هایپرالاستیک نئوهوکین[1] تراکم‌پذیر و تراکم‌ناپذیر برای مدل کردن رفتار الاستیک غیرخطی سلول، مدل دوفازی الاستیکی که تانسور تنش فاز جامد آن به صورت نئوهوکین است و مدل دو فازی ویسکوالاستیکی که تانسور تنش فاز جامد آن با تانسور تنش یک ماده‌ی ویسکوالاستیک دو مدی بیان می‌شود، استفاده کرده‌اند. نتایج بدست آمده به وسیله‌ی این گروه پیشنهاد می‌کند که یک مدل دوفازی الاستیک محض نمی‌تواند پاسخ خزش آزمایشگاهی مشاهده شده در کندروسایت‌ها را به طور کامل ضبط کند، در حالی که یک مدل ویسکوالاستیک دوفازی به صورت دقیق‌تری پاسخ سلول را پیش‌بینی می‌کند. این یافته پیشنهاد می‌کند که پدیده‌ی دوفازی احتمالاً مکانیزم عمده‌ی مسئول ویسکوالاستیسیته‌ی سلولی نیست.

وزیری و کاظم‌پور مفرد [13] یک مدل اجزای محدود را برای شبیه‌سازی پاسخ مکانیکی هسته در مکش مایکروپیپت ایجاد کرده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی نقش‌های متمایز اجزای مختلف هسته در پاسخ بیومکانیکی هسته‌ی ایزوله شده است. در مدل محاسباتی ارائه شده به وسیله‌ی این گروه ناکلئوپلاسم[2] به صورت یک ماده‌ی ویسکوالاستیک مکسول مدل شده است.

اخیراً برخی از محققان اثر اینتگرین‌ها و چسبندگی‌های موضعی[3] ناشی از آن‌ها در پاسخ مکانیکی سلول زنده به تحریک خارجی را مورد مطالعه قرار داده‌اند. ووگان و همکارانش [14] مدل اجزای محدودی را برای سلول‌های اَستئوبلست[4] و اُستئوسایت[5] تحت شرایط فیزیولوژیک و شرایط آزمایشگاهی ایجاد کردند. در این مدل آن‌ها اثر حسگرهای مکانیکی سلول یعنی اینتگرین‌ها و سیلیوم[6] آن را بر توزیع و میزان تنش برای هر دو نوع سلول بررسی کرده‌اند. در این مدل که با در نظر گرفتن برهم‌کنش جامد-سیال[7]، سلول‌ها تحت اثر جریان پایای فیزیولوژیک و آزمایشگاهی قرار می‌گیرند، نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که این حسگرهای مکانیکی به اندازه‌ی کافی برای انگیزش یک پاسخ از سلول تحت اثر جریان سیال تحریک می‌شوند. بنابراین این حسگرهای مکانیکی احتمالاً نقشی در واسطه بودن تفسیر مکانیکی[8] سلول استخوان در شرایط آزمایشگاهی ایفا می‌کنند.

به طور کلی مورفولوژی سلول‌ها، به طور خاص سلول‌های مزنشیمال این امکان را فراهم می‌کند تا تأثیر هندسه سلول در سرنوشت آن به خصوص تمایز بررسی شود [15]. واعظ قائمی و همکاران [16] با روش رنگ‌آمیزی فلورسنت[9] سلول‌های مزنشیمال، مدلی سه بعدی را توسعه دادند و پاسخ سلولی تحت تنش برشی سیال نوسانی عبوری را با استفاده از آنالیز بر هم‌کنش سیال-جامد بررسی نمودند. مولن و همکارانش [17] مدل اجزای محدودی از سلول‌های مزنشیمال با دو مورفولوژی متفاوت پهن شده و شاخه‌دار ایجاد کردند. در این مدل، آن‌ها چسبندگی‌های موضعی را به صورت آزمایشگاهی مشاهده و در مدل ساده شده‌ی خود وارد کرده‌اند. هدف از این مطالعه مشاهده‌ی اثر سختی بستر بر مکانیک داخل سلول است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که موقعیت و چگالی چسبندگی‌های موضعی، تنش‌های داخل سلولی ناشی از سختی بستر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این مدل آن‌ها سلول را به صورت یک ماده‌ی الاستیک خطی مدل کرده‌اند.

تحقیقات بسیاری حاکی از اثر بارگذاری‌های کششی تناوبی[10] بر تمایز سلول‌های بنیادی بوده است. پارک و همکاران [18] اثر بارگذاری‌های تناوبی تک محوره و دو محوره را بر تمایز سلول‌های بنیادی مزنشیمال بررسی کرده‌اند. آن‌ها از محدوده‌ی کرنش‌های تناوبی فیزیولوژیک برای اعمال کرنش استفاده کرده‌اند یعنی کرنش‌های 10 درصد با فرکانس 1 هرتز. سلول‌های مورد آزمایش روی بسترهای سیلیکونی که با لایه‌ای از کلاژن نوع 1 پوشیده شده بودند، کشت شده‌اند. آن‌ها ابتدا بیان ژن‌های نشانگر عضلات صاف را در آزمون کرنش دو محوره اندازه گرفتند. میزان بیان این دو ژن تحت کرنش‌های تناوبی دو محوره کاهش چشم‌گیری را نسبت به گروه کنترل بدون کرنش نشان داد. با توجه به این‌که کرنش مکانیکی عمده در رگ‌های خونی کرنش محیطی است، آن‌ها نتیجه گرفته‌اند که کرنش‌های تناوبی تک محوره برای افزایش بیان نشانگرهای سلول‌های عضله‌ی صاف ضروری‌اند. بر خلاف کرنش‌های دو محوره، کرنش تک محوره باعث افزایش بیان نشانگرهای سلول‌های عضله‌ی صاف تا دو برابر بعد از یک روز شد. اما بعد از دو روز میزان بیان این ژن‌ها با میزان بیان آن‌ها در گروه کنترل برابر شد. این مشاهدات حاکی از این است که کرنش‌های تناوبی تک محوره به صورت گذرا باعث افزایش بیان نشانگرهای انقباضی سلول‌های عضله‌ی صاف می‌شود.

گرینسون و همکاران [19] سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان را روی یک بستر سیلیکونی کاشته و آن‌ها را تحت کرنش‌های 5 درصد با فرکانس 1 هرتز قرار دادند. مطالعه‌ی آن‌ها نشان می‌دهد که کرنش‌های دارای زمان کوتاه تا 1 ساعت باعث القای پایدار تمایز استئوژنیک[11] سلول‌های بنیادی نمی‌شوند. بنابراین کرنش های طولانی‌تر و یا تکراری برای حفظ یک تمایز پیوسته ضروری هستند.

کنلی و همکاران [20] سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان را در درون هیدروژل‌های فیبرین[12] 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 پروتئوگلیکن[13] شد. اعمال یک هفته‌ای کرنش‌های کششی قطع و وصل شونده، محتوای کلاژن و گگ سولفاته را افزایش داد. در کل این مطالعه بیانگر این است که ترکیب عوامل غضروف‌زا[14]

[1] Neo - Hookean
[2] Nucleoplasm
[3] Focal adhesions
[4] Osteoblast
[5] Osteocyte
[6] Cilium
[7] Fluid – structure interaction
[8] Mechanotransduction
[9] Fluorescent staining
[10] Cyclic tensile loading
[11] Osteogenic
[12] Fibrin hydrogel
[13] Proteogalycan
[14] Chondrogenic

و بارگذاری تناوبی پتانسیل تولید آزمایشگاهی بافت غضروف لیفی[1] را دارد.

حقیقی پور و همکاران [21] اثر کرنش‌های تناوبی را بر تمایز مایوژنیک[2] سلول‌های بنیادی مزنشیمال مطالعه کردند. آن‌ها سلول‌های بنیادی را روی بستر سیلیکونی[3] پوشیده شده با کلاژن کاشته و در معرض کرنش‌های سیکلیک 10 درصدی با فرکانس 1 هرتز قرار دادند. مشاهدات این گروه حاکی از این است که بارگذاری مکانیکی به تنهایی می‌تواند آغازگر تمایز مایوژنیک باشد. علاوه بر این، ترکیب عوامل رشد و بارگذاری مکانیکی می‌تواند باعث افزایش بیش‌تر بیان نشانگرهای ماهیچه‌ای شود.

اما آزمایشی که مبنای این پژوهش برای شبیه‌سازی پاسخ مکانیکی سلول‌های بنیادی مزنشیمال به کرنش‌های تناوبی قرار گرفته، آزمایشی است که توسط کنلی و همکاران [20] انجام شده است. در تحقیق انجام شده به وسیله‌ی این گروه طی 7 روز پیش‌کاشت در شرایط محیط کاشت، سلول‌ها ماتریس فیبرین 20 میلی‌متری را به میزان 30 درصد تا طول متوسط 13.87 میلی‌متر منقبض کردند. سپس 1.4 میلی‌متر جابجایی (10 درصد طول روز 7 اُم) به گروه سازه‌های تحت بارگذاری وارد شد. سلول‌ها در گروه درون محیط کاشت به منقبض کردن سازه‌های ژلی تا 9.68 و 8.75 میلی‌متر بعد از به ترتیب 14 و 21 روز ادامه دادند. اثر این انقباض به صورت افزایش مدول یانگ سازه لحاظ شده است.

با مبنا 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 سلول‌های بالغ غضروف لیفی سوق دهد. اهمیت بررسی این مسأله به پاسخی که اسکلت سلولی به تنش‌های تناوبی اعمالی می‌دهد و هم چنین فهم بهتر مکانیزم‌های تنظیم مکانیکی وابسته به تنش بر می‌گردد. برای تحقق این اهداف، یک مدل مادی هایپرویسکوالاستیک[4] برای مدل کردن اسکلت سلولی به روش اجزای محدود به کار برده شده است. ضمن آن‌که نقش اینتگرین[5]ها به عنوان پل‌های 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 می‌آید 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 می‌شود.

آنچه این تحقیق را از تحقیقات انجام شده در حوزه‌ی مکانیک سلولی متمایز می‌کند از دو جنبه قابل بیان است. اولین وجه تمایز این تحقیق ارائه‌ی مدلی هایپرویسکوالاستیک برای سلول در تغییر شکل‌های بزرگ است. دومین وجه تمایز این تحقیق به بررسی پاسخ مکانیکی سلول بنیادی تحت کرنش‌های تناوبی با در نظر گرفتن نقش اینتگرین‌ها در چسبندگی‌های موضعی مربوط می‌شود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- معادلات حاکم

سیمو و همکاران مدلی ساختاری برای ویسکوالاستیک غیرخطی بر مبنای متغیرهای حالت ایجاد کردند. این مدل موادی را شامل می‌شود که در بارگذاری کوتاه مدت مانند یک ماده هایپرالاستیک رفتار می‌کنند. در مدل سیمو رفتار ویسکوالاستیک تنها به برش محدود است [22]، بنابراین تجزیه‌ی حجمی – برشی ماتریس گرادیان تغییر شکل، تانسور راستگرد کوشی–گرین، تابع انرژی کرنشی و تانسور تنش دوم پیولا–کرکاف ضروری می‌نماید. در معادله‌ی (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 حجم[6] ماتریس می‌باشد.

$$\bar{F} = J^{-\frac{1}{3}} F \tag{1}$$

تانسور راستگرد کوشی–گرین در معادله‌ی (2) و تجزیه‌ی حجمی–برشی آن در معادله‌ی (3) تعریف شده است [22].

$$C = F^{\mathrm{T}} F \tag{2}$$

$$\bar{C} = J^{\frac{2}{3}} C \tag{3}$$

رفتار مواد هایپرالاستیک بر حسب تابع چگالی انرژی کرنشی آن‌ها ψ توصیف می‌شود. در معادله ی (4) این تابع به دو بخش حجمی (عبارت اول) و حافظ حجم (عبارت دوم) تجزیه شده است [22].

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

برای یک ماده‌ی هایپرالاستیک تانسور تنش مادی متقارن دوم پیولا–کرکاف طبق معادله‌ی (5) تعریف می‌شود [22].

$$S = 2\,\frac{\partial \Psi(C)}{\partial C} \tag{5}$$

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

$$S = 2\,\frac{\partial \Psi(C)}{\partial C} = S_{\mathrm{vol}} + S_{\mathrm{iso}} \tag{6}$$

$$S_{\mathrm{vol}} = 2\,\frac{\partial \Psi_{\mathrm{vol}}(J)}{\partial C} = J\,\frac{\partial \Psi_{\mathrm{vol}}(J)}{\partial J}\,C^{-1} \tag{7}$$

$$S_{iso} = 2\,\frac{\partial \Psi_{\mathrm{iso}}(\bar{C})}{\partial C} = J^{-\frac{2}{3}}\,\mathrm{dev}\,(\bar{S}) \tag{8}$$

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

در معادله‌ی (9)، I تانسور واحد مرتبه‌ی چهار و $\otimes$ بیانگر ضرب تانسوری است. طبق معادلات سیمو تنش‌های دوم پیولا – کرکاف برای کرنش‌های محدود از معادله‌ی (10) بدست می‌آیند. در این معادله S^0 از معادله‌ی (6) بدست می‌آید که در این حالت ψ تابع انرژی کرنشی کل ذخیره شده‌ی اولیه $\psi^0 = \psi^0_{\mathrm{vol}} + \psi^0_{\mathrm{iso}}$ می‌باشد. عملگر dev (.) طبق معادله‌ی (11) تعریف می‌شود. در معادله‌ی (10)، Q_i را تانسور تنش ساختگی جزء i- اُم می‌نامند [22].

$$S(t) = S^0(t) - J^{-\frac{2}{3}}\,\mathrm{dev}\Big[\sum_{i=1}^{\mathrm{n}} Q_i\,(t)\Big] \tag{10}$$

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

Q_i ها پاسخ معادله‌ی دیفرانسیل مرتبه‌ی اول (12) هستند. در این معادله T_i ثابت زمانی جزء ویسکوالاستیک i -اُم و γ_i نسبت ثابت الاستیک جزء i - اُم به مجموع ثوابت الاستیک تمام شاخه‌هاست [22].

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

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

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

[1] Fibrocartilage
[2] Myogenic
[3] Silicon
[4] Hyper - viscoelastic
[5] Integrins
[6] Isochoric

در این‌جا فرض می‌شود که تابع چگالی انرژی کرنشی اولیه ذخیره شده برابر با انرژی کرنشی ذخیره شده در یک ماده‌ی هایپرالاستیک نئوهوکین باشد که در معادله‌ی (14) بیان شده است [23].

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

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 بخش‌های حجمی و حافظ حجم ψ^0 را نمایش می‌دهند:

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

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

معادله‌ی (17) عبارت داخل پرانتز سمت راست معادله‌ی (12) را به ازای $\psi^0 = \psi^0_{\text{iso}}$ و $I_{\bar{\text{C}}} = \bar{C}:I$ محاسبه می‌کند که منظور از عملگر (:) ضرب دوبله‌ی دو تانسور است. در نهایت، معادله‌ی (18) حاصل عملگر $\text{dev}\,(\mu I)$ را که لازمه‌ی حل معادله‌ی دیفرانسیل (12) است را به دست می‌دهد [24].

$$2\,\frac{\partial \Psi^0_{\text{iso}}(\bar{C})}{\partial \bar{C}} = \mu I \qquad (17)$$

$$\begin{aligned}\text{dev}\,(\mu I) &= \left(I - \frac{1}{3}\,C \otimes C^{-1}\right):\mu I \\ &= \mu\left(I - \frac{1}{3}\,\text{trace}(C^{\text{T}} I)C^{-1}\right)\end{aligned} \qquad (18)$$

عبارت‌های اعوجاجی معادله (18) به زبان برنامه‌نویسی 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 می‌شود.

در بسط مدل هایپرویسکوالاستیک 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 نماینده‌ی اجزای سازنده‌ی اسکلت سلولی یعنی فیبرهای تنشی و میکروتوبول‌ها می‌باشند. در شکل 2 شماتیک اسکلت سلولی به همراه اجزای سازنده‌ی آن نمایش داده شده است.

در جدول 1، خواص مکانیکی فیبرهای تنشی و میکروتوبول‌ها شامل مدول یانگ و زمان تخفیف ارائه شده است. با توجه به این جدول و تعریف پارامترهای مدل سیمو، مقادیر ثوابت مکانیکی E_∞=1000 Pa، E_1=15000 Pa، E_2 = 0.7 GPa، η_1=6s و η_2=30s برای ثوابت شکل 1 بدست می‌آید. مقدار E_∞ در واقع بیانگر مدول الاستیک سلول است که با روش میکروسکوپ نیروی اتمی برای سلول چسبیده اندازه‌گیری شده است [25].

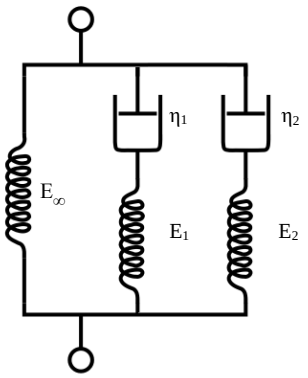

Fig. 1 Chosen Maxwell model to model cytoskeleton

شکل 1 مدل مکسول انتخاب شده برای مدل کردن اسکلت سلولی

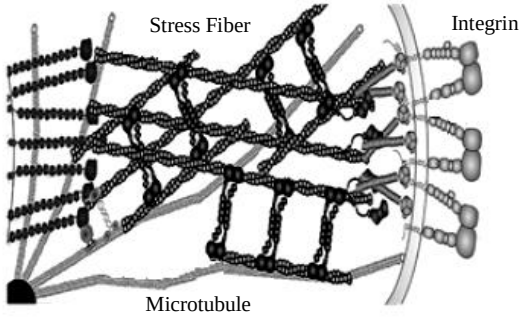

Fig. 2 Cytoskeleton and its components [26]

شکل 2 اسکلت سلولی و اجزای تشکیل‌دهنده آن [26]

جدول 1 خواص مکانیکی فیبرهای تنشی و میکروتوبول‌ها

Table 1 Mechanical properties of tensile fibers and microtubules

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

2-2- محاسبه‌ی خواص مؤثر کامپوزیت هیدروژل – سلول

فرض می‌شود که سلول‌های بنیادی مزنشیمال به صورت کره‌هایی با قطر 25 میکرومتر [31] درون داربست هیدروژل فیبرین پخش شده‌اند. این ترکیب باعث تولید کامپوزیتی می‌شود 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 می‌باشد (شکل 3). این مدل شامل مجموعه‌ای از ذرات کروی قرار گرفته درون ورق‌های هم مرکز یک ماتریس خارجی است [32]. سفتی مؤثر این‌گونه کامپوزیتی با فرض اتصالات همسانگرد باید در شرط هاشین – شریکمن صدق کند [32].

$$\frac{n+1+c(n-1)}{n+1-c(n-1)} \le e \le n\frac{2+c(n-1)}{2n-c(n-1)} \qquad (19)$$

نمادهای استفاده شده در معادله (19) دارای این معانی‌اند: نسبت سفتی $n = \frac{E_{\text{P}}}{E_{\text{S}}}$، مدول یانگ نسبی کامپوزیت $e = \frac{E}{E_{\text{S}}}$. مدول یانگ فازهای S، P و کامپوزیت به ترتیب برابر با E_{S}، E_{P} و E می‌باشند. هر مدول سفتی از این مواد کامپوزیت ایزوتروپ با دانستن تنش در یکی از فازهای سازنده می‌تواند پیش‌بینی شود [32].

$$k = \frac{K}{K_{\text{S}}} = \left[1 + c\,\frac{1-n_{\text{k}}}{n_{\text{k}}}\,\frac{\sigma_{\text{P}}}{\sigma}\right]^{-1} \qquad (20)$$

$$\frac{\sigma_{\text{P}}}{\sigma} = \frac{n_{\text{k}}(1+\kappa_{\text{S}})}{n_{\text{k}} + \kappa_{\text{S}}[1+(n_{\text{k}}-1)c]} \qquad (21)$$

$$g = \frac{G}{G_{\text{S}}} = \left[1 + c\,\frac{1-n_{\text{g}}}{n_{\text{g}}}\,\frac{s_{\text{P}}}{s}\right]^{-1} \qquad (22)$$

در معادلات (20) تا (22) نمادهای مورد استفاده، $k = \frac{K}{K_{\text{S}}}$ و $g = \frac{G}{G_{\text{S}}}$، به ترتیب بیانگر مدول حجمی نسبی و مدول برشی نسبی می‌باشند. معادله‌ی (21) نسبت تنش حجمی را به دست می‌دهد. نسبت سفتی حجمی $n_{\text{k}} = \frac{K_{\text{P}}}{K_{\text{S}}}$ و نسبت سفتی برشی $n_{\text{g}} = \frac{G_{\text{P}}}{G_{\text{S}}}$ می‌باشند. در نهایت برای نسبت تنش اعوجاجی می‌توان نوشت [32]:

$$\frac{s_{\text{P}}}{s} = \frac{n_{\text{g}}(1+\gamma_{\text{S}})}{n_{\text{g}} + \gamma_{\text{S}}[1+(n_{\text{g}}-1)c]} \qquad (23)$$

مدول یانگ و ضریب پواسون در معادله (24)، مدول‌های حجمی و برشی در معادله‌ی (25) و کمیت‌های مربوط به ضریب پواسون (κ و γ) در

معادله‌ی (26) تعریف شده‌اند [32].

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

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

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

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

$$c = \frac{V_{\mathrm{P}}}{V_{\mathrm{P}}+V_{\mathrm{S}}} \tag{27}$$

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

$$e = \frac{3kg}{2(1+\nu_{\mathrm{S}})k+(1-2\nu_{\mathrm{S}})g} \tag{28}$$

$$\nu = \frac{(1+\nu_{\mathrm{S}})k-(1-2\nu_{\mathrm{S}})g}{2(1+\nu_{\mathrm{S}})k+(1-2\nu_{\mathrm{S}})g} \tag{29}$$

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 شده‌است. هم چنین با توجه به این‌که غلظت فیبرینوژن استفاده شده در ساخت فیبرین 50 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده و غلظت ترومبین 50 یونیت بر میلی‌لیتر، 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 میلی‌لیتر در نظر گرفته شده‌است [20].

در آزمایش مبنا [20] کامپوزیت فیبرین- سلول بر اثر انقباض سلول‌های مزنشیمال از طول اولیه‌ی 20 میلی‌متر به طول 14 میلی‌متر در روز هفتم و به طول 8.75 میلی‌متر در پایان روز بیست و یکم می‌رسد. بنابراین در درون سازه‌ی کامپوزیتی یک پیش‌تنش ناشی از انقباض اسکلت سلولی به وجود آمده است. با فرض یکنواخت بودن توزیع این پیش‌تنش 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 1600≈0.56×2850 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

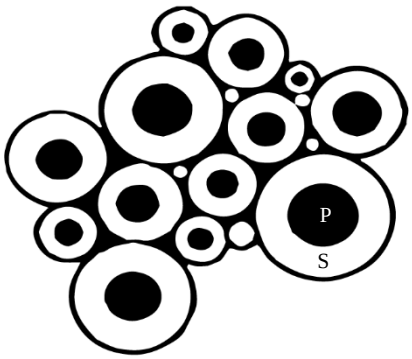

Fig. 3 Schematic expression of the composite spheres assemblage [32]

شکل 3 بیان شماتیکی کامپوزیت مجموعه‌ی کره‌ها ارائه شده توسط هاشین [32]

جدول 2 ثوابت مدل کامپوزیت هاشین برای کامپوزیت سلول - فیبرین

Table 2 Hashin's composite model constants for cell-fibrin composite

ثابت	مقدار
حجم سلول (m^3)	8.18×10^{-15}
حجم بلوک فیبرین (ml) [20]	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_{κ}	0.2
n_{g}	0.2
κ	0.138
γ	1.35
$\frac{\sigma_{\mathrm{P}}}{\sigma}$	0.69
$\frac{\mathrm{s}_{\mathrm{P}}}{\mathrm{s}}$	0.32
k	0.81
g	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 پلی‌اتیلنی انتهایی آن نشان داده شده است. شکل 6 نیز شبکه‌ی تولیدی برای بلوک فیبرینی به منظور تحلیل اجزای محدود تحت بارگذاری کششی در نرم‌افزار کامسول را ارائه می‌دهد.

خواص هسته به منظور ساده‌سازی 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 مدل‌سازی 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 قیبرینی جابجایی تناوبی u_x با دامنه‌ی 1.4 میلی‌متر طبق معادله‌ی (30) وارد می‌شود:

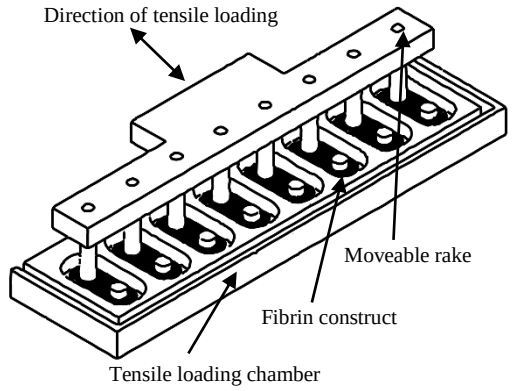

Fig. 4 loading device on the fibrin block [35]

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

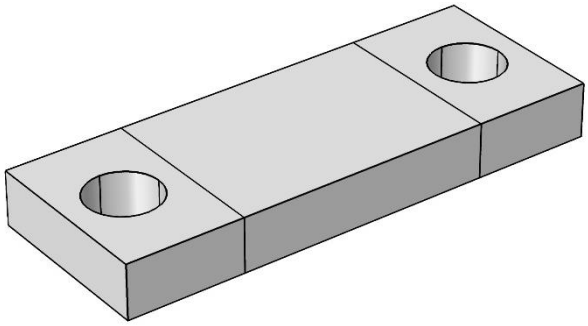

Fig. 5 Fibrin block model in Comsol (fibrin block size 20×10×3 mm, dimensions of each polyethylene piece 6.5×10×3 and diameter of each hole 4mm)

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

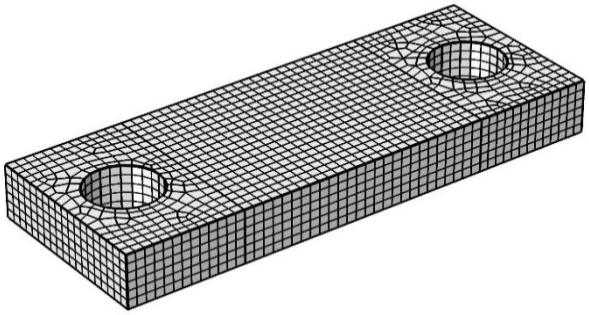

Fig.6 Created mesh on the fibrin block

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 آن‌جا 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

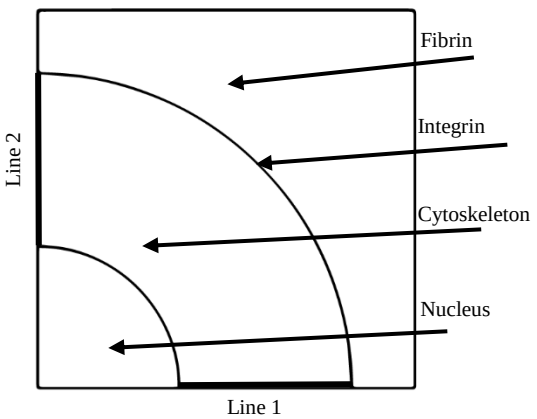

Fig. 7 The model including the cytoplasm, integrins, cell nucleus and a small part of fibrin blocks (dimensions in micrometers).

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

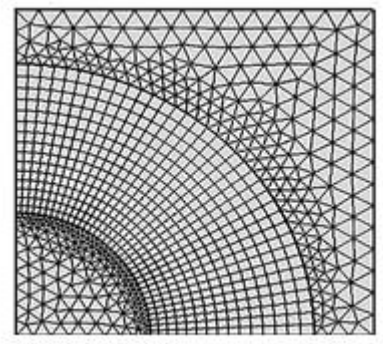

Fig. 8 Created mesh on cellular model in micro-scale

شکل 8 شبکه‌ی تولیدی روی مدل سلولی در ابعاد میکرو

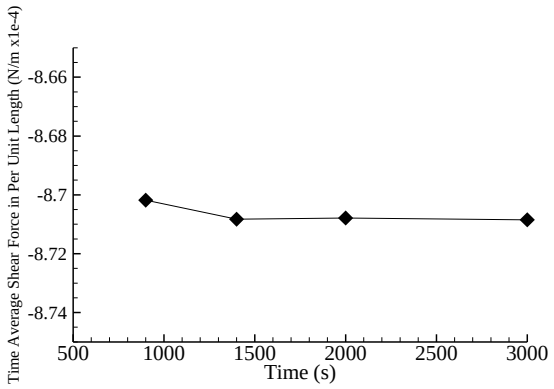

Fig. 9 Mesh independency analysis

شکل 9 بررسی استقلال از شبکه

تنش‌ها و نیروهای ایجاد شده درون اسکلت سلولی و اطمینان از این‌که 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. همان‌گونه که به روشنی از این منحنی‌ها می توان دریافت هیچ‌گونه تغییرات ناگهانی در مقادیر تنش‌ها و نیروهای

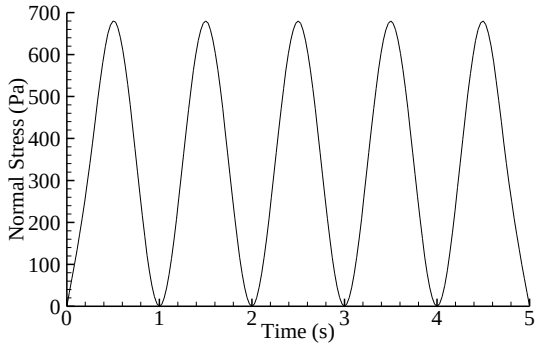

Fig.10 Cyclic tensile stress at the midpoint of fibrin block as a function of time

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

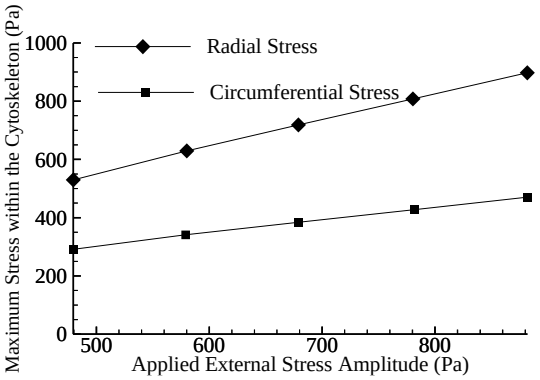

Fig. 11 The Maximum radial and circumferential stresses within the cytoskeleton for 5 different values of applied external stress amplitude

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

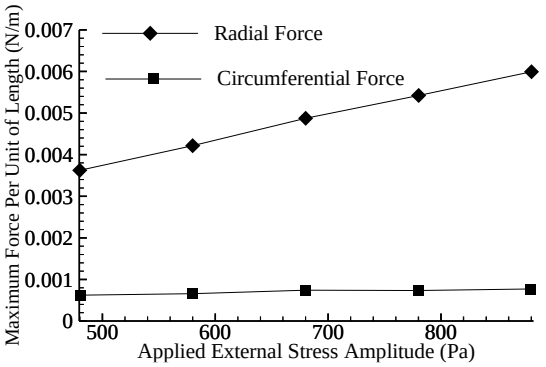

Fig. 12 The Maximum radial and circumferential forces on line 1 within the cytoskeleton for 5 different values of applied external stress amplitude

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 پلی‌یوریتانی[1] با قطر 15 میلی‌متر و طول 6 میلی‌متر تحت 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 پلی‌یوریتانی 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

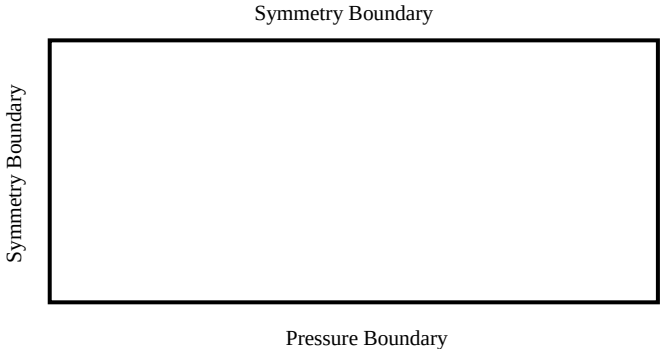

Fig. 13 Polyurethane 2D model with boundary conditions to simulate in Comsol

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

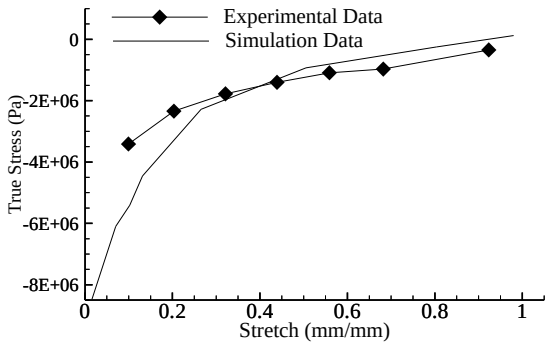

Fig. 14 The comparison between experimental and simulation results for polyurethane components under quasi-static pressure test

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

[1] Polyurethane

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

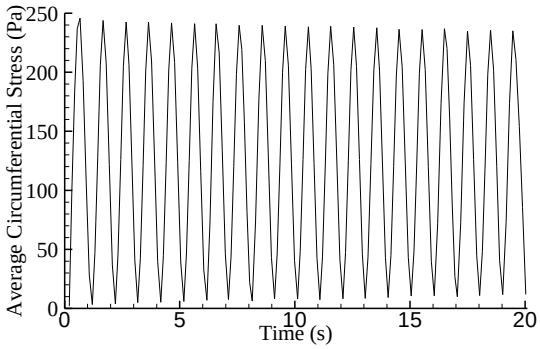

Fig. 15 The average circumferential stress within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading-

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

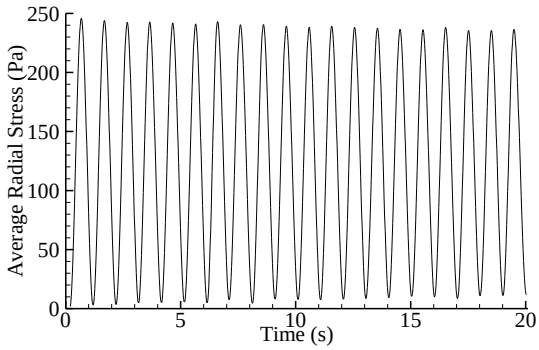

Fig. 16 The average radial stress in the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

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

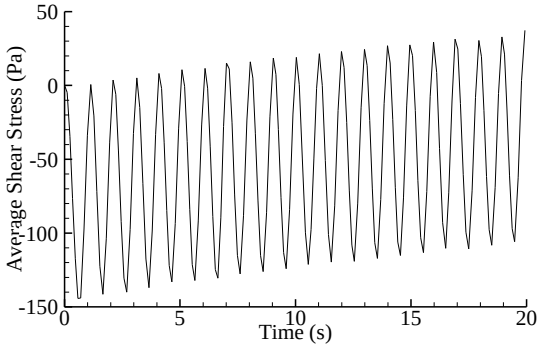

Fig. 17 The average shear stress within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

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

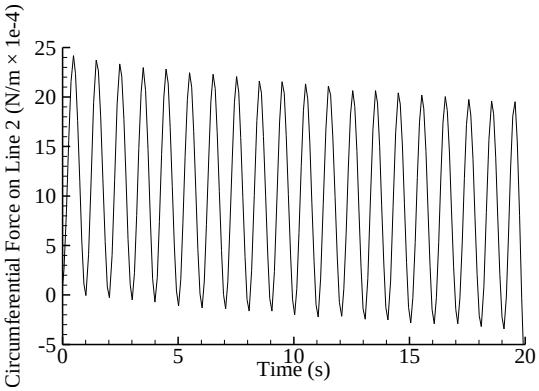

Fig. 18 The circumferential force on line 2 within cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

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

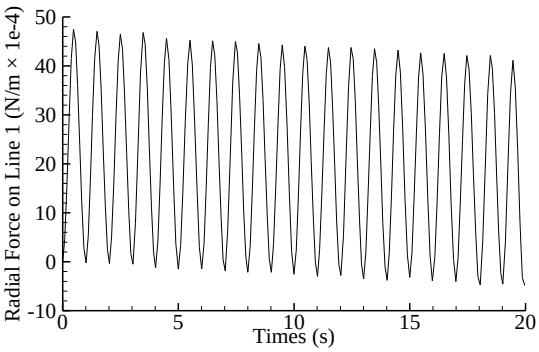

Fig. 19 The radial force on line 1 within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

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

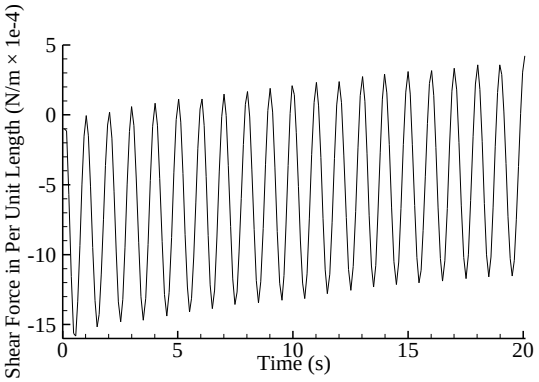

Fig. 20 The shear force on the line which makes a 45 degree angle with the horizon within the cytoskeleton in the first 20 seconds of loading

شکل 20 نیروی برشی روی خطی که با افق زاویه ی 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 غضروف‌زا 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

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

اگر نیروی خارجی بخواهد قادر به ایجاد یک تغییر چشم‌گیر در نرخ واکنش‌های بایوشیمیایی داخل سلولی شود، اثر نیرو روی 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 مشخصه‌ای در مقیاس 1 تا 10 نانومتر، سطوح نیروی متناظر در محدوده‌ی 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 می‌تواند منجر به القای سیگنال‌دهی سلولی شود، می‌باشد [37].

نتایج شکل 18 حاکی از این است که برای مولکول‌های 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 مولکول‌های با ابعاد ذکر شده، مقدار نیروی شعاعی ایجاد شده در بازه‌ی 4.5 تا 45 پیکونیوتن می‌باشد. همچنین بر اساس شکل 20 نیروی برشی روی مولکول در بازه‌ی 1.5 تا 15 پیکونیوتن قرار می‌گیرد. بنابراین هر یک از تنش‌های محیطی، شعاعی و برشی مستعد فعال‌سازی مولکول‌های زیستی و تأثیرگذاری بر نرخ و میزان واکنش‌های شیمیایی درون سلول می‌باشند. به عنوان نمونه مولکول زیستی فیلامین را در نظر بگیرید. فیلامین[1] یکی از متصل‌کننده‌های عرضی بسیار مهم فیلامان‌های اکتین است که از طریق تماس مستقیم و غیرمستقیم با اینتگرین‌ها باعث لنگر انداختن اسکلت سلولی اکتین به غشاء لیپیدی سلول می‌شود. پیشنهاد شده است که تحت نیروهای برشی، فیلامین‌ها در سراسر سلول انباشته می‌شوند که باعث افزایش پایداری و مقاومت مکانیکی سلول می‌شوند [38]. فیلامین می‌تواند به شکل‌های ساختاری مختلفی تحت اعمال نیرو و گشتاور درآید و به موجب این رفتار یک انتقال‌دهنده‌ی نیرو در اسکلت سلولی است. با استفاده از مایکروسکوپ نیروی اتمی نشان داده شده است که بازکردن ناحیه‌ی شبیه ایمونوگلوبین فیلامین‌ها در محدوده‌ی نیرویی 50 تا 220 پیکونیوتن رخ می‌دهد. همچنین نشان داده شده است که این ناحیه از مولکول، تحت بارگذاری‌های کوچک (25 پیکونیوتن) تغییرات ساختاری چشم‌گیری پیدا می‌کند که نشان‌دهنده‌ی نقش این مولکول به عنوان یک حسگر مکانیکی است که با نیرو فعال می‌شود [38].

از محدودیت‌های این تحقیق می‌توان به مدل کردن دو بعدی سلول، مدل نکردن چسبندگی‌های موضعی به صورت متمرکز و مدل کردن سلول به عنوان ماده‌ای منفعل اشاره کرد. همچنین مدل هاشین که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت، در میکرومکانیک مواد محدودیت‌هایی دارد که در پژوهش‌های آتی مورد ملاحظه قرار می‌گیرد. در تحقیقات آینده می‌توان به سمت توسعه‌ی مدل‌هایی که بازآرایی خاص اسکلت سلولی را تحت بارگذاری‌های مختلف لحاظ می‌کنند و ترکیب کردن آن‌ها با مدل پیشنهاد شده در این‌جا و هم‌چنین رفع محدودیت‌های ذکر شده پیش رفت.

5- نتیجه‌گیری

مطالعات صورت گرفته در مورد بنا نهادن مدلی برای اسکلت سلولی که هم دربردارنده‌ی اثرات ویسکوالاستیک و هم اثرات هایپرالاستیک باشد مسیر تحقیق را به تئوری‌های کلاسیک مدل‌های غیرخطی برای مواد ویسکوالاستیک رهنمون شد. مدلی که در بخش (2-1) مطرح شد مدل ویسکوالاستیک غیرخطی سیمو است. این مدل بر پایه‌ی سری‌های دیریشله – پرونی در ریاضیات سعی در تقریب زدن پاسخ یک مجموعه‌ی ویسکوالاستیک غیرخطی به کمک ترم‌های نمایی این سری‌ها دارد. اجزای سلولی که نقش ویسکوالاستیک آن‌ها لحاظ شده است، شامل فیبرهای تنشی و میکرو توبول‌ها می‌باشند. گرچه اجزای حد واسط نیز می‌توانند نقش چشم‌گیری در پاسخ سلولی داشته باشند، اما تحقیقی که در بردارنده‌ی خواص ویسکوالاستیک این جزء خاص باشد یافت نشد.

اولین جنبه‌ی نوآوری این تحقیق ارائه‌ی مدلی هایپرویسکوالاستیک برای سلول زنده به منظور بررسی دقیق‌تر پاسخ مکانیکی آن می‌باشد. جنبه دوم به بررسی پاسخ مکانیکی سلول‌های مزنشیمال درون داربستی از جنس فیبرین بر می‌گردد که در آن اثر اینتگرین‌ها به عنوان ارتباط دهنده‌های اسکلت سلولی به ماتریس خارج سلولی در نظر گرفته شده است. این تحلیل چندمقیاسی بر آن بوده است که به صورت هر چه دقیق‌تر 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 هایپرویسکوالاستیک ارائه شده استفاده کند.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مدل ارائه شده توانسته است سطحی از تنش را برای اسکلت سلولی پیش‌بینی کند که برای تحریک سلول به پاسخی متفاوت نسبت به حالتی که در آن بارگذاری وجود ندارد، کافی می‌باشد. این پاسخ متفاوت به صورت افزایش نشانگرهای سلول غضروف لیفی و یا به عبارتی تمایز به سلول‌های 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. Riehle, 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.

[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. Brodkin, A. J. García, 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.Schaumann, M. Schieker, Researching into the cellular shape, volume and elasticity of mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteosarcoma cells by atomic force