

بررسی عددی رفتار کرنش سختی سلول‌های بنیادی مزنشیمال بر روی بسترهای الاستیک

اسماعیل رحیم‌پور^۱، بهمن وحیدی^{۲*} و زهرا ملاحسینی^۳

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۷/۱۴	<p>به منظور پیش‌بینی دقیق پاسخ سلولی، لازم است که در کنار سایر عوامل، اثر پهن شدن سلول روی بستر، به عبارتی دیگر اثر سختی بستر نیز در نظر گرفته شود. همچنین، تنش‌های ایجادشده روی هسته، بر اثر پهن شدن سلول، نقش تعیین‌کننده‌ای را در سرنوشت یک سلول بنیادی ایفا می‌کنند. در این پژوهش، اثر کرنش سختی یک سلول مزنشیمال، در مدلی دو بعدی از سلول، به کمک روش اجزای محدود، با اعمال جابه‌جایی تابع زمان به مرز سیتوپلاسم، بررسی عددی شد. با استفاده از تبدیل شوارتز-کریستوفل، مدلی برای پهن شدن سلول روی بستر ارائه شده است که می‌تواند در دست‌یابی به پاسخ دقیق سلولی راه‌گشا باشد. سه مدل مختلف برای این پدیده در نظر گرفته شده است. در مدل اول، با سلول به عنوان ماده‌ای غیرزنده رفتار می‌شود. بدین معنا که خواص مکانیکی آن تحت پهن شدن روی بستر ثابت می‌ماند. دو مدل دیگر، کرنش سختی خطی و نمایی، مدل‌های فعال هستند. با مقایسه نتایج این سه مدل با نتایج تجربی، مشخص گردید که فرض غیرفعال بودن سلول پاسخ را از میزان دقیق آن دور می‌سازد و در نظر گرفتن ماهیت زنده سلولی، در دو مدل خطی و نمایی، منجر به شباهت بیشتر نتایج، چه از نظر مقدار تنش و چه از نظر شیب تغییرات، با مشاهدات آزمایشگاهی می‌شود. همچنین، مشاهده شد که با افزایش میزان پهن شدن سلول روی بستر، اختلاف مقدار تنش بدست‌آمده برای هسته در مدل‌های فعال با مدل غیرفعال افزایش می‌یابد، به نحوی که تنش پیش‌بینی شده توسط مدل خطی به ۲/۳ برابر آنچه مدل غیرزنده پیش‌بینی می‌کند، می‌رسد.</p>
پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۱/۰۲	
واژگان کلیدی:	
پهن شدن سلول، کرنش سختی، روش اجزای محدود، سلول بنیادی، شوارتز-کریستوفل.	

۱-مقدمه

به نرخ‌های تکثیر و تمایز مختلف و جهت‌گیری‌های مختلف سلولی برای سلول‌های بنیادی می‌شود. تاکنون، محققان بسیاری به کمک مدل‌های مادی سعی در بررسی پاسخ مکانیکی سلول‌های زنده تحت تحریکات مکانیکی گوناگون داشته‌اند.

کارشر و همکاران [۷]، با هدف به‌دست آوردن توزیع تنش در تک‌لایه‌ای از سلول‌ها در آزمون سلول‌سنجی مغناطیسی، از یک مدل سه بعدی اجزای محدود استفاده کرده‌اند. آنها با استفاده از مدل‌های ویسکوالاستیک مکسول و وویت

مکانیک سلولی حوزه‌ای نوین در مهندسی بافت‌های زنده است. در مکانیک سلولی یکی از اهداف مهم ارائه‌ی مدل‌هایی برای سلول است که بتواند به حد کافی مشاهدات آزمایشگاهی مرتبط با تغییر شکل سلول تحت یک بارگذاری مشخص را اغنا کند. تحریکات بیوشیمیایی [۱]، مورفولوژی مقید شده‌ی سلولی [۲]، سختی بستر قرارگیری سلول [۳] و تحریکات نیرویی خارجی [۴-۶] هر یک عواملی هستند که تغییر در میزان و ترکیب آنها با هم منجر

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: bahman.vahidi@ut.ac.ir

۱. کارشناسی ارشد مهندسی پزشکی، بخش مهندسی پزشکی، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران

۲. دانشیار، بخش مهندسی پزشکی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی پزشکی، بخش مهندسی پزشکی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران

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 [۱۴] 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 ساده‌شده‌ی خود وارد کرده‌اند. هدف از این مطالعه مشاهده‌ی اثر سختی بستر بر مکانیک داخل سلول است. نتایج به دست 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.

مشاهدات بسیاری بر رفتار الاستیک سلول‌های زنده در تغییر شکل‌های بزرگ دلالت داشته‌اند. رونالد جین و همکاران [۱۵] مشاهده کردند که افزودن عاملی به نام تریپسین^۵ به سلول‌های اندوتلیال پهن شده روی بستر باعث می‌شود که سلول‌ها به شکل اولیه‌ی خود باز گردند. آنها همچنین مشاهده کردند که اندازه‌ی هسته‌ی سلول، متناسب با کاهش در سطح تصویر شده‌ی سلول، کاهش می‌یابد. آنها افزایش در سطح سلول بر اثر تماس با بستر را به تشکیل فیبرهای تنشی جانبی در اطراف هسته نسبت دادند. ویشاوکارما و همکاران [۱۶] مشاهده کردند که سلول‌های مزنشیمال موش بر اثر تماس با بستر شروع به پهن شدن کرده و اندازه‌ی هسته متناسب با این پهن شدن افزایش می‌یابد. هسته‌ی سلول بر اثر پهن شدن فشرده شده و شکل کروی اولیه‌ی خود را از دست می‌دهد. آنها این پدیده را به تشکیل فیبرهای تنشی بالای هسته نسبت دادند.

این مشاهدات مفهوم الاستیسیته در تغییر شکل‌های بزرگ را برای سیتوپلاسم سلول‌های زنده القا می‌کند. بر پایه‌ی این مشاهدات، ارائه‌ی مدل‌های هایپرالاستیک برای سلول، به منظور شبیه‌سازی فرآیند پهن شدن سلول، توجیه می‌شود.

همچنین، سلول در تغییر شکل‌های بزرگ، رفتار کرنش سختی^۶ از خود نشان می‌دهد تا شکل سلول پایدار بماند و

سازگاری بیش‌تر مدل مکسول با نتایج آزمایشگاهی را نسبت به مدل وویت گزارش کرده‌اند. نوآوری پژوهش آنها 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 سلول سنجی مغناطیسی در پاسخ سلولی و در نظر گرفتن اثر نرخ بارگذاری بر توزیع تنش می‌باشد. دایلی و همکاران [۸] مدل المان محدودی را به منظور فهم اثر تغییر مورفولوژی سلول‌های اپیتلیال در بازگشایی مسیر هوایی و تعیین سطح تنش و کرنش در محل این سلول‌ها ایجاد کرده‌اند. داخل سلول یک ماده‌ی الاستیک ایزوتروپ فرض شده است. نتایج این گروه نشان می‌دهد که مورفولوژی و مکانیک سلولی نقش چشم‌گیری در آسیب سلولی و در اندازه و تمرکز تنش در نقطه‌ای خاص دارند.

اما این مدل‌ها در نوع رفتار آنها با سلول ضعف دارند؛ چرا که در تمام این مدل‌ها سلول به صورت ماده‌ای غیرزنده در نظر گرفته شده است. اما خوشبختانه مدل‌هایی که بازسازمان‌یابی اسکلت سلولی را به عنوان یکی از مهم‌ترین جنبه‌های پاسخ سلول زنده به تحریکات مکانیکی مدل کنند، ارائه شده‌اند.

دشپانده و همکاران [۹-۱۱] مدل زیستی مکانیکی شیمیایی^۱ را برای بازآرایی اسکلت سلولی بر اثر تماس با بستر ارائه کرده‌اند. در مدل آنها، یک سیگنال فعال‌سازی منجر به تشکیل فیبرهای تنشی^۲ و انقباض سیتوپلاسم شد. این مکانیزم به مکانیزم انقباض سارکومر^۳های عضلانی شبیه است. این مدل به خوبی با مشاهدات تجربی، مبنی بر این‌که با افزایش سختی بستر نیروی انقباضی افزایش می‌یابد و همچنین در محل‌های اتصال به بستر فیبرهای تنشی شکل می‌گیرند، مطابقت دارد. آنها از این مدل برای بررسی پاسخ سلول بر اثر قرارگیری روی آرایه‌ای از میله‌های در ابعاد میکرو استفاده کرده‌اند [۱۱].

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 [۱۲]. واعظ قائمی و همکاران [۱۳] با روش رنگ‌آمیزی فلورسنت^۴

^۴ Fluorescent staining

^۵ Trypsin

^۶ Strain-Stiffening

^۱ Bio-chemo mechanical

^۲ Stress fibers

^۳ Sarcomere

سلول‌های مزنشیمال روی بسترهای با سختی مختلف مورفولوژی‌های متفاوتی را اتخاذ می‌کنند. این مورفولوژی‌ها لازمه‌ی تمایز به یک رده‌ی سلولی خاص هستند. شکل‌های ستاره‌ای برای سلول‌های اندوتلیال، شکل‌های کشیده با زائده برای سلول‌های عصبی و شکل‌های دوکی شکل برای سلول‌های استخوانی مشخصه هستند. اما چگونه می‌توان شکل کروی اولیه‌ی این سلول‌ها را به این مورفولوژی‌ها تبدیل کرد؟

بر اساس تئوری نگاشت ریمان، اگر C یک منحنی ساده‌ی بسته در صفحه‌ی مختلط Z باشد که مرزهای یک ناحیه‌ی همبند ساده‌ی R را تشکیل می‌دهد، همواره یک تابع تحلیلی در این ناحیه وجود دارد که هر نقطه‌ی R را به نقطه‌ای درون دایره‌ی واحد (در صفحه w) می‌نگارد. تبدیل شوارتز-کریستوفل تبدیلی است که نقاط درون یک چند ضلعی دلخواه را به نیم‌صفحه بالایی صفحه‌ی مختلط و نقاط رأس این چندضلعی را به نقاطی روی محور حقیقی می‌نگارد. به کمک این تبدیل و تبدیلی که نقاط نیم‌صفحه بالایی را به نقاط درون دایره واحد می‌نگارد، روش زیر برای تبدیل شکل دایره‌ی اولیه سلول به شکل شبیه چندضلعی نهایی آن پیشنهاد می‌شود [۲۰]:

در این روش، ابتدا، نقاط درون دایره به نقاط نیم‌صفحه بالایی، با استفاده از معکوس معادله (۱)، سپس نقاط نیم صفحه بالایی به نقاط درون چندضلعی، به کمک معکوس تبدیل شوارتز - کریستوفل (معکوس معادله (۲))، تبدیل می‌شوند.

$$w = e^{i\theta_0} \left(\frac{z - z_0}{z - \bar{z}_0} \right) \quad (1)$$

$$w = A \int (z - x_1)^{\frac{\alpha_1}{\pi-1}} \dots (z - x_n)^{\frac{\alpha_n}{\pi-1}} dz + B \quad (2)$$

در معادله (۱)، θ_0 زاویه‌ای است که نقطه متناظر در صفحه دایره‌ی w با افق ایجاد می‌کند. در معادله (۲) نیز x_n ها نقاط روی محور حقیقی صفحه Z می‌باشند. همچنین α_n ها زاویه‌هایی هستند که رأس آنها همان نقاط نگاشته شده در صفحه w است. A و B نیز ثوابت مختلط این معادله‌اند که از شرایط مرزی به دست می‌آیند.

۲-۲- بررسی رفتار کرنش سختی سلول‌های بنیادی

مزنشیمال روی بسترهای الاستیک

اکنون روشن شده است که سلول‌های زنده طی پهن شدن

از تغییر شکل‌های بیش از حد جلوگیری کند [۱۷]. محققان بسیاری سعی کرده‌اند تا این مکانیزم و عوامل مؤثر بر آن را بررسی کنند. تومین و همکاران [۱۸]، پدیده کرنش سختی را به تغییر ساختار اسکلت سلولی طی پهن شدن سلول نسبت داده‌اند. مک گری و همکاران [۱۹]، نقش اسکلت سلولی در ایجاد کرنش سختی، طی پهن شدن سلول، را با اعمال نیرو به پنج هندسه متفاوت از پهن شدن سلول بررسی کردند. مدل ارائه شده توسط آنها توانست رفتار غیرخطی سلول در پاسخ به نیرو را نشان دهد. همچنین، آنها با مطالعات موردی به این نتیجه رسیدند که خواص سیتوپلاسم (الاستیسیته و تراکم‌پذیری) نقش قابل توجهی در رفتار کرنش سختی سلول ایفا می‌کند. تمامی این مشاهدات مؤید اهمیت کرنش سختی سلول به هنگام پهن شدن روی بستر است.

پیشنهاد راه‌کاری برای مدل کردن انقباض اسکلت سلولی بر اثر تماس با بستر، ارائه‌ی مدلی برای رفتار کرنش سختی سلول بر اثر پهن شدن روی بستر و مقایسه این مدل‌های فعال با مدلی که در آن با سلول به صورت ماده‌ای غیرزنده رفتار می‌شود، از اهداف این پژوهش است. بنابراین، نوآوری‌های این تحقیق از دو جنبه قابل بیان است.

اولین جنبه، در ارتباط با ارائه‌ی راه‌کاری نوین برای مدل کردن انقباض اسکلت سلولی به کمک مشاهدات مرتبط با پهن شدن سلول است. همچنین، مدل‌سازی پهن شدن سلول به کمک مدل‌های کرنش سختی جنبه دیگر نوآوری پژوهش محسوب می‌شود.

۲- مواد و روش‌ها

در این بخش ابتدا متناسب با مشاهدات آزمایشگاهی، مدلی برای فرآیند پهن شدن سلول پیشنهاد می‌شود که بر اساس آن می‌توان تنش‌های ایجاد شده روی هسته سلول‌های بنیادی مزنشیمال، بر اثر تماس با بستر، را تقریب زد. در نهایت به کمک این روش و فرض سه رفتار متفاوت کرنش سختی برای سیتوپلاسم سلول، یک مدل فعال و دو مدل غیرفعال، مقادیر تنش‌های متوسط ایجاد شده روی بستر، تنش روی هسته و تغییر سطح تصویر شده هسته، برای سه مدل، به دست می‌آیند.

۲-۱- کاربرد تبدیل شوارتز-کریستوفل^۱ در مدل

کردن پهن شدن سلول

^۱ Schwarz-Christoffel

ی نهایی آن است. مشخصه‌ی نهایی، رفتار کرنش سختی سلول است. برای تعیین این مشخصه از سه مدل مختلف استفاده شده است. اولین مدل، سلول را به صورت ماده‌ای غیرزنده در نظر می‌گیرد، به طوری که خواص مکانیکی آن طی پهن شدن ثابت می‌ماند. در این حالت، از میانگین حسابی ۴۰۰ پاسکال و آن‌چه از معادله‌ی (۴) به دست می‌آید، به عنوان مدل یانگ استفاده شده است. مدل یانگ هسته، ۱۷۰۰ پاسکال، حدود ۴ برابر سیتوپلاسم در نظر گرفته شده است [۲۳].

از آنجایی که سیتوپلاسم و هسته به صورت دو دایره‌ی هم‌مرکز مدل شده‌اند، مدل، متقارن محوری است و بنابراین، به تعریف کرنش شعاعی نیاز است که خواص مکانیکی به صورت تابعی خطی از آن تغییر می‌کند. اولین مؤلفه از تانسور معادله (۵)، کرنش شعاعی مدنظر است.

$$\begin{bmatrix} E_{rr} & E_{r\theta} \\ E_{\theta r} & E_{\theta\theta} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \theta & -\sin \theta \\ \sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix}^T \times \begin{bmatrix} E_{xx} & E_{xy} \\ E_{yx} & E_{yy} \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} \cos \theta & -\sin \theta \\ \sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix} \quad (5)$$

از این معادله به دست می‌آید که:

$$E_{rr} = E_{xx}(\cos \theta)^2 + E_{yy}(\sin \theta)^2 + 2E_{xy} \sin \theta \cos \theta \quad (6)$$

اگر x و y مختصات نقطه‌ای دلخواه روی محیط این دایره باشند می‌توان نوشت:

$$E_{rr} = E_{xx} \frac{x^2}{x^2 + y^2} + E_{yy} \frac{y^2}{x^2 + y^2} + 2E_{xy} \frac{xy}{x^2 + y^2} \quad (7)$$

برای دومین مدل، مدل خطی کرنش سختی، تابع زیر را تعریف می‌شود:

$$E_Y = 400 + E_M \frac{E_{rr}}{E_{nn}} \quad (8)$$

در این معادله، E_M اختلاف ۴۰۰ پاسکال با آن‌چه که در معادله‌ی (۴) حاصل شد، می‌باشد. E_{nn} معیاری از کرنش لاگرانژ است که از رابطه‌ی زیر تعیین می‌شود:

$$E_{nn} = \frac{ds^2}{2(ds^2 + dS^2)} \quad (9)$$

در این معادله، ds شعاع نهایی سلول و dS شعاع ابتدایی آن، برابر با $12/6$ میکرومتر است.

در سومین مدل، برای اعمال رفتار نمایی کرنش سختی، تابع نمایی رابطه (۱۰)، تا سه ترم از سری مک لورن بسط داده شده است:

$$E_Y = 400 + \frac{E_M}{e} \exp\left(\frac{E_{rr}}{E_{nn}}\right) = 400 + \quad (10)$$

روی بستر دچار کرنش سختی شده و مدول الاستیک آنها افزایش می‌یابد. این رفتار با پدیده‌ی دیگری که کاهش در ویسکوزیته‌ی سلول است همراه است. در سطح مولکولی این پدیده به تشکیل فیبرهای تنشی و بازآرایی اسکلت سلولی نسبت داده می‌شود. یک مسیر بیولوژیک که به عنوان فرآیند حسگری سختی بستر سلول دانسته می‌شود شبیه فرآیند انقباض سارکومرهای عضلانی است. در این فرآیند آزاد شدن کلسیم باعث خارج شدن جایگاه‌های فعال روی فیبرهای اکتین و اتصال مایوزین به آنها می‌شود. در واقع آزاد شدن کلسیم باعث پلیمریزه شدن اکتین‌ها و فسفریلاسیون مایوزین‌ها می‌شود. اما یک سلول بنیادی چه مقدار به افزایش کرنش حساس است؟ به عبارت دیگر خواص مکانیکی و تنش‌های روی هسته چه مقدار با افزایش کرنش تغییر می‌کنند؟ تنش‌های روی هسته در التزام تباری سلول‌های بنیادی نقشی حیاتی دارند.

به منظور شبیه‌سازی فرآیند پهن شدن سلولی، به تعیین چند مشخصه‌ی مهم نیاز است. اولین مشخصه مدل مادی است. همان‌گونه که در دو آزمایش مراجع [۱۵] و [۱۶] مشاهده شده بود، سلول در تغییر شکل‌های بزرگ رفتاری الاستیک دارد. لذا برای مدل کردن رفتار سلول در تغییر شکل‌های بزرگ، در این پژوهش، از مدل مادی هاپر الاستیک نتوهوکین استفاده شده است. در این مدل ضرایب به صورت ساده‌ای تعیین می‌شوند.

تابع چگالی انرژی کرنش برای این مدل ماده به صورت رابطه (۳) است [۲۱]:

$$\psi = \frac{\mu}{2} (I_C - 3) - \mu (\ln J)^2 + \frac{\lambda}{2} \ln J \quad (3)$$

در این معادله μ و λ ثوابت مادی، J تغییر حجم نسبی و I_C نوردای اول تانسور راستگرد کوشی گرین می‌باشند. خواص مکانیکی نیز باید مشخص شوند. در این مسأله، از داده‌های آزمایشگاهی گزارش شده برای مدول یانگ سلول‌های مزنشیمال استفاده شده است. بدین منظور، مدول یانگ ۴۰۰ پاسکال برای سلول نجسبیده به بستر و ۲۰۰۰ پاسکال برای سلول چسبیده با سطح مقطع ۳۰۰۰ میکرومتر مربع به کار گرفته شده است [۲۲]. برای مدول‌های یانگ بین ۴۰۰ تا ۲۰۰۰ پاسکال تابع خطی معادله (۴) بر حسب سطح مقطع تعریف می‌شود:

$$E_Y = 0.64A + 80(Pa) \quad (4)$$

در این معادله، E_Y مدول یانگ سلول و A سطح تصویر شده

$$\frac{E_M}{e} \left(\frac{E_{rr}}{E_{nn}} + \frac{1}{2} \left(\frac{E_{rr}}{E_{nn}} \right)^2 + \frac{1}{6} \left(\frac{E_{rr}}{E_{nn}} \right)^3 \right)$$

در این معادله e عدد نپر است. در جدول ۱، مقادیر E_M به ازای سطوح تصویر شده‌ی سلولی ارائه شده‌اند.

جدول ۱- مقادیر به دست آمده برای E_M بر حسب سطح پهن شده‌ی سلولی

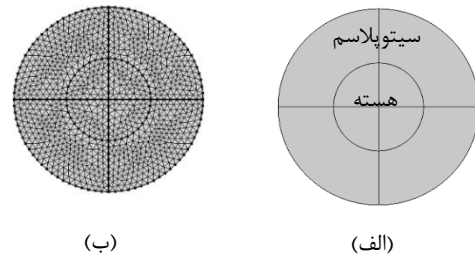
سطح سلول (μm^2)	E_M
۶۰۰	۶۴
۷۰۰	۱۲۸
۸۰۰	۱۹۲
۹۰۰	۲۵۶
۱۰۰۰	۳۲۰
۱۲۰۰	۳۸۴
۱۴۰۰	۴۴۸
۱۶۰۰	۵۱۲
۱۸۰۰	۵۷۶

۲-۳- شبیه‌سازی عددی و شرایط مرزی

در این پژوهش، پهن شدن سلول روی بستر در مدلی دو بعدی از سلول (شکل ۱- الف) که در واقع بیانگر سطح تصویر شده آن است، در محیط شبیه‌سازی نرم‌افزار کامسول، با استفاده از روش اجزای محدود، بررسی شده است.

در مدل دو بعدی مذکور، مرز سیتوپلاسم تحت یک جابه جایی متغیر با زمان قرار می‌گیرد تا سلول به سطح تصویر شده مطلوب برسد. مؤلفه‌های این جابه‌جایی (U_x و U_y)، متغیر با زمان t ، در معادلات (۱۱) و (۱۲) آمده‌اند [۱۵]. همچنین، بین مرز سیتوپلاسم و هسته شرط مرزی Face Link برقرار است.

هم‌زمان با این پهن شدن، مدول یانگ سلول افزایش می‌یابد. کل بازه حل، با معیار همگرایی و کمینه کردن هزینه محاسباتی، ۱۰۰ ثانیه، با گام زمانی ۰٫۱ ثانیه می‌باشد.

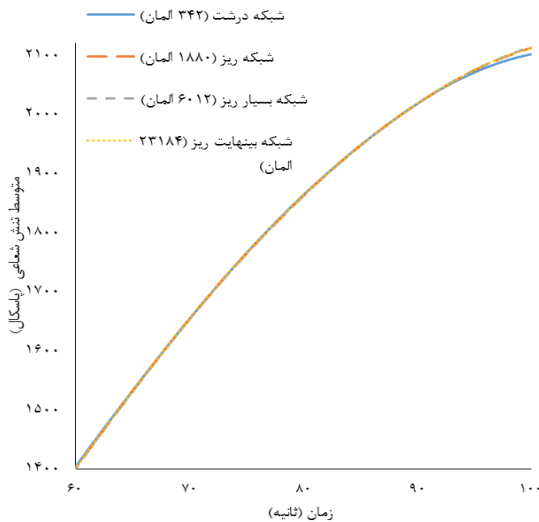


شکل ۱- الف) مدل دو بعدی سلول، ب) شبکه ایجاد شده روی مدل

در شکل (۱- ب)، شبکه ایجاد شده بر مدل، شامل ۱۸۸۰ المان مثلثی، نشان داده شده است.

$$U_x = \frac{1}{100} \left(\frac{17.84}{12.6} - 1 \right) X t \quad (11)$$

$$U_y = \frac{1}{100} \left(\frac{17.84}{12.6} - 1 \right) Y t \quad (12)$$



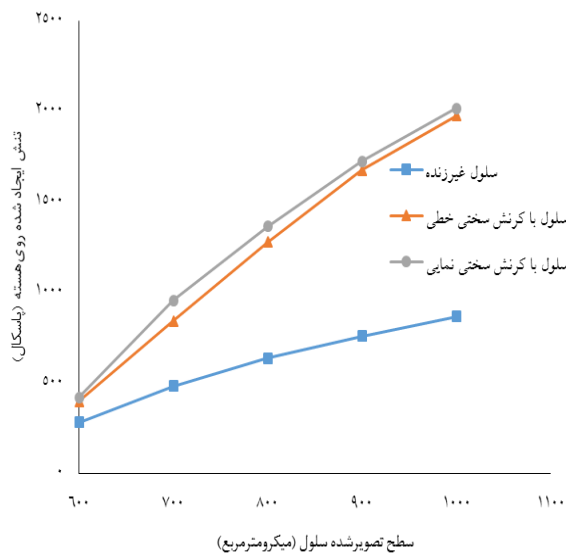
شکل ۲- متوسط تنش شعاعی برای شبکه‌بندی‌های مختلف، به منظور بررسی استقلال از شبکه

به منظور بررسی استقلال شبکه، میانگین تنش شعاعی در بازه حل، برای چهار نوع شبکه‌بندی متفاوت بررسی شد. همان‌طور که در شکل (۲) مشهود است، اختلاف بی‌نهایت ناچیزی بین نتایج ریزترین شبکه (با ۲۳۱۸۴ المان) با درشت‌ترین شبکه (با ۳۴۲ المان) وجود دارد. بنابراین برای کاهش هزینه محاسباتی، شبکه با ۱۸۸۰ المان انتخاب شد. لازم به ذکر است که تا نیمه بازه حل تفاوت نامحسوس است. از این جهت، نمودار شکل (۲) تنها نیمه بازه را نمایش داده است.

۳- نتایج و بحث

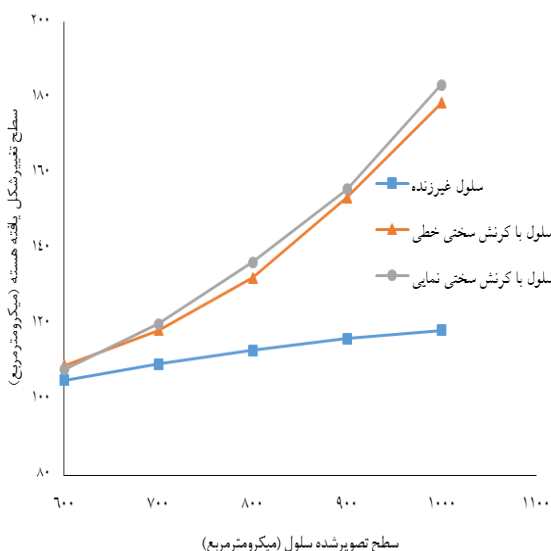
نتایج حاصل از متوسط تنش‌های ایجاد شده روی بستر برای سه مدل ذکر شده، مدول یانگ ثابت، خطی و نمایی، به همراه حد بالای مقادیر آزمایشگاهی اندازه‌گیری شده برای متوسط تنش، روی بسترهای با سختی‌های متفاوت در شکل (۳) آورده شده است. همان‌گونه که از این نمودار می‌توان دریافت، در محدوده‌ی پهن شدن تا سطح ۱۰۰۰ میکرومتر مربع، منحنی مقادیر پیش‌بینی شده برای متوسط

تنش‌های ایجاد شده روی بستر، به کمک مدل‌هایی که با سلول به صورت موجودی زنده رفتار می‌کنند، شباهت بیشتری از نظر اندازه و تمایل به منحنی حد بالای گزارش شده برای تنش وارده بر بستر دارند.



شکل ۵- تنش ایجاد شده روی هسته بر حسب میزان سطح پهن شده‌ی سلول

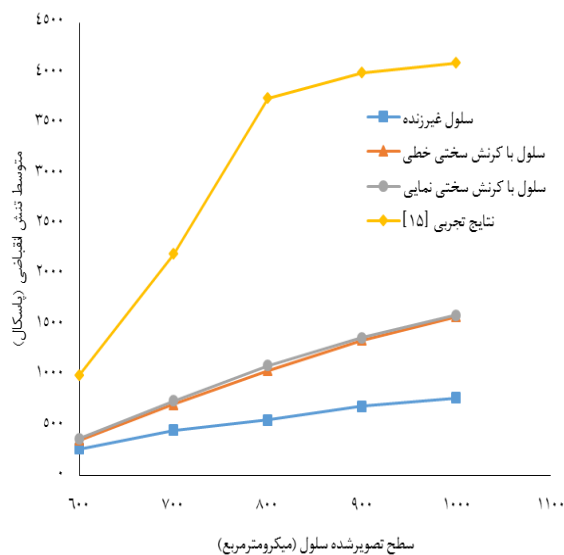
این خود یک دلیل محکم بر اهمیت رفتار کرنش سختی در تعیین سرنوشت سلول‌های بنیادی است. به عبارت دیگر اگر بتوان این رفتار را کنترل کرد می‌توان سرنوشت سلول‌های بنیادی را تغییر داد.



شکل ۶- سطح تغییر یافته هسته سلول بنیادی بر حسب میزان سطح تصویر شده‌ی آن بر اثر پهن شدن روی بستر

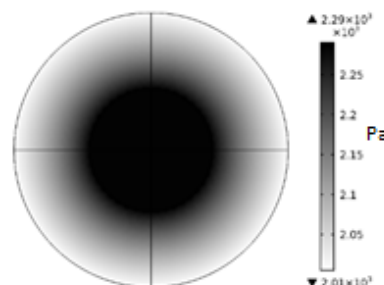
اما چگونه می‌توان اختلاف زیاد بین متوسط تنش‌های پیش بینی شده توسط حتی مدل‌های فعال با مقادیر اندازه‌گیری

متوسط تنش انقباضی (دین/سانتیمتر مربع) را با مقادیر تنش انقباضی (دین/سانتیمتر مربع) مقایسه کنیم. نتایج تجربی [۱۵] نشان می‌دهد که تنش‌های ایجاد شده روی بستر، به کمک مدل‌هایی که با سلول به صورت موجودی زنده رفتار می‌کنند، شباهت بیشتری از نظر اندازه و تمایل به منحنی حد بالای گزارش شده برای تنش وارده بر بستر دارند.



شکل ۳- متوسط تنش انقباضی، بر اثر پهن شدن سلول روی بسترهای با سختی متفاوت

در شکل (۴)، توزیع تنش شعاعی ایجاد شده در سلول، بر حسب پاسکال، بر اثر پهن شدن روی بستر، در ثانیه ۱۰۰ نشان داده شده است. همچنین در نمودار ۵، مقادیر تنش‌های ایجاد شده روی هسته برای سه مدل با یکدیگر مقایسه شده‌اند. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، مقدار تنش پیش بینی شده توسط دو مدل فعال تفاوت چشم‌گیری با مقادیر متناظر مدل غیرفعال دارند.



شکل ۴- توزیع تنش شعاعی در سلول، بر اثر پهن شدن روی بستر، در ثانیه ۱۰۰

منحنی ۶، سطح نهایی هسته‌ی سلول را برای سه حالت ذکر شده بر حسب سطح پهن شده‌ی سلول مقایسه می‌کند. اختلاف نتایج بین دو نوع مدل فعال و غیرفعال مشهود است. با توجه به شکل (۳)، می‌توان دریافت که رفتار کرنش

حداکثر تنش‌های گزارش شده ی وارد بر بستر مطالعه کردند. آنها ضریب اصلاحی را پیشنهاد کردند که تعیین سرنوشت سلول‌های بنیادی دارد. لذا به کمک مدلی دو بعدی از سلول بنیادی سعی شده است تا میزان این تنش‌ها تخمین زده شود. از آنجایی که سلول بر اثر پهن شدن دچار کرنش سختی می‌شود، لذا برای در نظر گرفتن این اثر، سه رفتار متفاوت برای کرنش سختی سلول فرض می‌شود و نتایج هر یک از این مدل‌ها با نتایج مشاهدات آزمایشگاهی مقایسه می‌شود (شکل ۳). در اولین مدل، مدول الاستیک سلول طی فرآیند پهن شدن ثابت فرض می‌شود. به این معنا که سلول غیرزنده فرض شده است. دومین مدل رفتاری خطی برای کرنش سختی اسکلت سلولی در نظر می‌گیرد و در نهایت مدل سوم رفتاری نمایی برای این پدیده فرض می‌کند. نتایج این شبیه‌سازی‌ها حاکی از این است که مدل‌های خطی و نمایی چه از نظر مقدار تنش‌های وارد بر بستر و چه از نظر شیب تغییرات به نتایج آزمایشگاهی نزدیک‌تر بوده و تطابق بهتری دارند. لذا در نظر گرفتن ماهیت زنده‌ی سلول‌ها نقش مهمی در تخمین تنش‌ها روی هسته‌ی آنها دارد. بر اساس نتایج بدست آمده در شکل (۵)، اختلاف مقدار تنش بدست‌آمده برای هسته در مدل‌های خطی یا نمایی با مدل غیرزنده با افزایش میزان پهن‌شدن سلول افزایش می‌یابد، به طوری که در سطح ۱۰۰۰ میکرومترمربع، مدل خطی تنشی ۲/۳ برابر آنچه مدل غیرزنده پیش‌بینی می‌کند، به دست می‌دهد.

با این وجود، حتی مدل‌های خطی و نمایی نیز به طور کامل بر نتایج آزمایشگاهی منطبق نمی‌باشند. از جمله‌ی منابع خطا و عدم تطابق می‌توان به دو بعدی بودن مدل، در نظر نگرفتن رفتار ویسکوالاستیک سلول، مدل نکردن اسکلت سلولی، و مدل کردن پهن‌شدن به صورت کاملاً متقارن اشاره کرد.

با توجه به محدودیت‌های مذکور، در تحقیقات آینده می‌توان مدلی سه بعدی برای سلول در نظر گرفت. ضمن آنکه برای مدل کردن واقعی پهن‌شدن سلول، مدلی که در این پژوهش با استفاده از تبدیل شوارتز – کریستوفل معرفی شد، می‌تواند راه‌گشا باشد.

شده‌ی آزمایشگاهی را تفسیر کرد؟ زیلینسکی و همکاران [۲۴] اثر چسبندگی‌های موضعی و مکانیک سلولی را بر نیروی انقباضی سلول را به حداکثر تنش‌های وارد بر بستر تبدیل می‌کند. بر پایه‌ی نتایج آنها تنش انقباضی ایجادشده درون سلول، بر اثر بازآرایی اسکلت سلولی، کمتر از حداکثر مقادیر تنش‌های وارد بر بستر است. ضریب اصلاح پیشنهاد شده به وسیله‌ی آنها برابر با ۰/۳۸ است به طوری که:

$$\sigma_c = 0.38T_{\max} \quad (13)$$

در این معادله σ_c تنش انقباضی ایجادشده درون سلول و T_{\max} حداکثر تنش اندازه‌گیری شده در آزمایشگاه است که بر بستر وارد می‌شود.

ضریب اصلاح معرفی شده تا حدی مقادیر به دست آمده از شبیه‌سازی را جبران می‌کند، ولی نه به طور کامل. منبع دیگر عدم تطابق نتایج با نتایج آزمایشگاهی در مدل کردن فرآیند پهن شدن به صورت فرآیندی متقارن محوری است. طبیعتاً تبدیل شدن سلول از شکل اولیه‌ی خود به شکلی پیچیده‌تر نیازمند اعوجاج و کرنش بیش‌تر و بنابراین تنش بیشتر است. همچنین در نظر گرفتن سلول در سه بعد می‌تواند تنش‌ها و تغییر شکل‌های هسته را تحت تأثیر قرار دهد، چرا که تغییر شکل در یک جهت باعث تغییر شکل در دو جهت دیگر می‌شود.

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق سعی شده است که با توجه به رفتارهای مشاهده شده برای سلول‌های بنیادی مزنشیمال و همچنین، با توجه به ساختار سلول‌های زنده، مدلی مکانیکی برای اسکلت سلولی ارائه شود. یکی از این آزمایشات مهم، افزودن تریپسین به سلول‌های چسبیده به منظور ممانعت از تشکیل چسبندگی‌های موضعی است. نتایج این آزمایشات [۱۵]، حاکی از این است که سلول تغییر شکل یافته با افزودن این ماده بدون هیچ تغییر شکل ماندگاری به حالت اولیه‌ی خود باز می‌گردد. همچنین هسته‌ی سلول نیز به حالت اولیه تغییر شکل می‌یابد. این امر نشان دهنده‌ی این است که هسته بر اثر پهن شدن سلول روی بستر دارای یک پیش‌تنش می‌باشد. این پیش‌تنش نقش بسیار مهمی در

مراجع

[1] H.W. Wu, C.C. Lin, S.M. Hwang, Y.J. Chang, G.B. Lee, "A Microfluidic Device for Chemical and Mechanical Stimulation of Mesenchymal Stem Cells", *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol. 11, Issue 5, 2011, pp. 545–556.

- [2] 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, 2004, pp. 483–495.
- [3] 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, 2010, pp. 385–391.
- [4] O. Schätti, S. Grad, J. Goldhahn, G. Salzmänn, Z. Li, M. Alini, et al., "A Combination of Shear and Dynamic Compression Leads to Mechanically Induced Chondrogenesis of Human Mesenchymal Stem Cells", *European Cells & Materials*, Vol. 22, 2011, pp. 214–225.
- [5] 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, 2007, pp. 1775–1782.
- [6] 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, 2015, pp. 584–595.
- [7] A. Vaziri, M.R. Mofrad, "Mechanics and Deformation of the Nucleus in Micropipette Aspiration Experiment", *Journal of Biomechanics*, Vol. 40, No. 9, 2007, pp. 2053–2062.
- [8] H.L. Dailey, L.M. Ricles, H.C. Yalcin, S.N. Ghadiali, "Image-Based Finite Element Modeling of Alveolar Epithelial Cell Injury During Airway Reopening", *Journal of Applied Physiology*, Vol. 106, No. 1, 1985, pp. 221–232.
- [9] V.S. Deshpande, R.M. McMeeking, A.G. Evans, "A Bio-Chemo-Mechanical Model for Cell Contractility", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 103, No. 38, 2006, pp. 14015–14020.
- [10] V.S. Deshpande, M. Mrksich, R.M. McMeeking, A.G. Evans, "A Bio-Mechanical Model for Coupling Cell Contractility with Focal Adhesion Formation", *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, Vol. 56, Issue 4, 2008, pp. 1484–1510.
- [11] J.P. McGarry, J. Fu, M.T. Yang, C.S. Chen, R.M. McMeeking, A.G. Evans, et al., "Simulation of the Contractile Response of Cells on an Array of Micro-Posts", *Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences*, Vol. 367, Issue 1902, 2009, pp. 3477–3497.
- [12] 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 Microscopy", *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, Vol. 70, 2017, pp. 494–504.
- [13] R.V. Ghaemi, B. Vahidi, M.H. Sabour, N. Haghighipour, Z. Alihemmati, "Fluid–Structure Interactions Analysis of Sear-Induce Modulation of a Mesenchymal Stem Cell: an Image-Based Study", *Artificial Organs*, Vol. 40, No. 3, 2016, pp. 278–287.
- [14] 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, Issue 101, 2014.
- [15] R.P. Jean, D.S. Gray, A.A. Spector, C.S. Chen, "Characterization of the Nuclear Deformation Caused by Changes in Endothelial Cell Shape", *Journal of Biomechanical Engineering*, Vol. 126, No. 5, 2004, pp. 552–558.
- [16] R. Vishavkarma, S. Raghavan, C. Kuyyamudi, A. Majumder, J. Dhawan, P.A. Pullarkat, "Role of Actin Filaments in Correlating Nuclear Shape and Cell Spreading", *Public Library of Science*, Vol. 9, No. 9, 2014.

- [17] N. Wang, D. Stamenovic, "Contribution of Intermediate Filaments to Cell Stiffness, Stiffening, and Growth", *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, Vol. 279, No. 1, 2000, pp. 188–194.
- [18] O. Thoumine, O. Cardoso, J-J. Meister, "Change in the Mechanical Properties of Fibroblasts during Spreading: a Micromanipulation Study", *European Biophysics Journal*, Vol. 28, Issue 3, 1999, pp. 222–234.
- [19] J.G. McGarry, P.J. Prendergast, "A Three Dimensional Finite Element Model of an Adherent Eukaryotic Cell", *European Cells and Materials*, Vol. 7, 2004, pp. 27-34.
- [20] M.R. Spiegel, *Schaum's Outline of Theory and Problems of Complex Variables: with an Introduction to Conformal Mapping and Its Application*, New York, McGraw Hill, 1964.
- [21] J. Bonet, R.D. Wood, *Nonlinear Continuum Mechanics for Finite Element Analysis*, United Kingdom, Cambridge University Press, 2008.
- [22] D. Docheva, D. Padula, C. Popov, W. Mutschler, H. Clausen-Schaumann, M. Schieker, "Researching into the Cellular Shape, Volume and Elasticity of Mesenchymal Stem Cells, Osteoblasts and Osteosarcoma Cells by Atomic Force Microscopy", *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, Vol. 12, No. 2, 2008, pp. 537–552.
- [23] F. Guilak, J. Tedrow, R. Burgkart, "Viscoelastic Properties of the Cell Nucleus", *Biochemical and Biophysical Research Communication*, Vol. 269, No. 3, 2000, pp. 781–786.
- [24] R. Zielinski, C. Mihai, D. Kniss, S.N. Ghadiali, "Finite Element Analysis of Traction Force Microscopy: Influence of Cell Mechanics, Adhesion, and Morphology", *Journal of Biomechanical Engineering*, Vol. 135, No. 7, 2013.