

## **Numerical analysis of a single cultured mesenchymal stem cell under pressure stimulation using atomic force microscopy and finite element method**

Z. Alihemmati<sup>1</sup>, B. Vahidi<sup>2\*</sup>, N. Haghighipour<sup>3</sup>

<sup>1</sup>MSc of Biomedical Engineering-Tissue Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies (FNST),  
University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor of Biomedical Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies (FNST),  
University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>3</sup>National cell bank of Iran, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

---

### **Abstract**

Body cells, including mesenchymal stem cells are subject to a lot of mechanical forces. The type and magnitude of these forces are different in different physiological and pathological conditions. They cause a wide variety of cell responses and are able to change metabolisms and functions of the cell. Analysis of stem cell response to mechanical stimulation is very important in recognizing healthy and diseased condition of tissues and cells. Differentiation potential of mesenchymal stem cells to specialized cells makes them important cell sources in tissue engineering. In this study, atomic force microscopy and finite element method and used mechanical effects on a stem cell are simulated which includes cell behavior due to strain and stress distributions in internal components of the cell. In this study, the ADINA software used to simulate mechanical behavior of the cell components (cell membrane, cytoplasm and nucleus) under a compressive load. Results indicate mechanical response of stem cells in the body through which they can differentiate into bone cells and cartilage under compressive loads in the physiological range. This study has some considerable innovations as compared with the similar studies in the literature which is because of the kind of cells has been used (adipose-derived stem cells) as well as and also using precise material models for cell components based on the data extracted from laboratory tests for mechanical properties of the cell. Furthermore, this study can be considered as an important initial step for future studies on different patho-cells and analyzing their responses to mechanical loading using a similar method of this study to find new diagnostic methods. Also, it can be used to deepen pathological studies of the cells and the tissues.

**Keywords:** *Mechanical regulation of stem cell behavior, mechanical properties of the cell, finite element method, cell Mechanics*

---

\*Corresponding author

Address: Bahman Vahidi, Postal Code 14395-1561, Faculty of New Sciences and Technologies (FNST), University of Tehran, Tehran, Iran

Tel: +98 2161118407

Fax: +98 21 8861 7087

E-mail: [bahman.vahidi@ut.ac.ir](mailto:bahman.vahidi@ut.ac.ir)

## تحلیل عددی تحریک فشاری سلول بنیادی مزانشیمی کشت داده شده با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی و روش اجزای محدود

زکّیه علی همّتی<sup>۱</sup>، بهمن وحیدی<sup>۲\*</sup>، نوشین حقیقی پور<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد مهندسی پزشکی - مهندسی بافت، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و فنون نوین

<sup>۲</sup> استادیار مهندسی پزشکی، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و فنون نوین

<sup>۳</sup> بانک سلولی ایران، انیستیتو پاستور ایران

### چکیده

سلول‌های بدن، از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی در معرض نیروهای مکانیکی مختلفی قرار دارند. نوع و بزرگی این نیروها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک متفاوت بوده و پاسخ‌های بسیار متنوعی در سلول‌ها ایجاد می‌کند که توانایی تغییر عملکرد سلول را دارد. بررسی پاسخ سلول‌های بنیادی به نیروهای مکانیکی در شناخت عملکرد سلول‌ها و بافت‌ها در شرایط سالم و بیمار از اهمیت بالایی برخوردار است. توانایی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دیگر سلول‌ها، آن‌ها را به یک منبع سلولی بسیار مهم در مهندسی بافت تبدیل کرده است. درین مطالعه، با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی و روش محاسباتی اجزای محدود، به شبیه‌سازی اثر بارگذاری‌های مکانیکی بر سلول بنیادی پرداخته شد که شامل بررسی رفتار سلول، متأثر از رفتار اجزای داخلی آن، از طریق توزیع تنش و تغییر شکل‌های بزرگ است. درین طرح، نرم‌افزار اجزای محدود آدینا برای شبیه‌سازی رفتارهای الاستیک خطی و هایپرالاستیک اجزای سلول (غشای سلول، سیتوپلاسم و هسته) تحت بار فشاری به کار گرفته شد. نتایج حاصل، نشان دهنده‌ی پاسخ مکانیکی سلول بنیادی در بدن است که در اثر اعمال بار فشاری در محدوده‌ی مورد بررسی فیزیولوژیک، قابلیت تمایز به سلول‌های استخوانی و غضروفی را دارد. جنبه‌های نوآوری برجسته‌ی این حوزه تحقیق، استفاده از نوع سلول (سلول بنیادی بافت هم‌بندی چربی)، به کارگیری اجزای سلولی و نیز استفاده از مدل‌های محاسباتی دقیق‌تر برای اجزای سلولی با بهره‌گیری از داده‌های آزمایشگاهی از خواص مکانیکی سلول است. این پژوهش می‌تواند گام اولیه‌ی مهمی در تحقیقات از سلول‌های مختلف بیمار و بررسی پاسخ‌های آن سلول‌ها به بارگذاری‌های مکانیکی با روش مشابه در جهت یافتن روش‌های درمانی جدید باشد و باعث تعمیق مطالعات آسیب شناسی بافت و سلول خواهد شد.

کلیدواژه‌ها: تنظیم مکانیکی رفتار سلول بنیادی، خواص مکانیکی سلول، روش اجزای محدود، مکانیک سلولی

\*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: تهران، انتهای خیابان کارگر شمالی، بعداز پل حکیم، جنب خوابگاه دانشجویی چمران، دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران

تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۸۴۰۷، دورنگار: ۰۲۱-۸۸۶۱۷۰۸۷، پیام نگار: bahman.vahidi@ut.ac.ir

## ۱- مقدمه

ارزیابی قرار گرفت و سلول به صورت یک پوسته‌ی متقارن مدل شد. وولی (۲۰۱۴) با این ارزیابی نشان داد که هر دو قید هندسی و بیومکانیکی در انجام این فرآیند مهم است [۵].

بسیاری از بافت‌های بدن انسان عملکرد مکانیکی دارند که شامل تحمل بار در استخوان، میرا شونده‌ی انرژی در غضروف، تغییر شکل الاستیک پوست مطابق با حرکت مفاصل و انقباض فعال قلب در حین گردش خون است. وقتی که بافتی آسیب می‌بیند، فعالیت مکانیکی جهت ترمیم آغاز می‌شود. اوییک هویزر و هم‌کارانش (۲۰۱۴) یک مدل محاسباتی را توسعه دادند که جهت‌گیری اجزای سلول در برابر تحریکات مکانیکی براساس جهت‌گیری رشته‌های اکتین توزیع شده در داخل سلول را پیش‌بینی می‌کند [۶].

استئوسایت‌ها ساختار الاستیکی دارند که در پاسخ به جریان سیال خارجی اعمال شده در اثر باگذاری، تغییر شکل می‌دهند. شرایط فیزیکی مسأله با توجه به سیال و جامد بودن محیط، سبب ایجاد چالش‌هایی می‌شود. بر همین اساس، وربروگن (۲۰۱۴) مدلی ایجاد کردند که شرایط مکانیکی محیط احاطه‌کننده استئوسایت را شبیه‌سازی نماید [۷]. لذا تعیین خواص محیط، جهت تعیین رفتار سلول از اهمیت بالایی برخوردار است. از آنجایی که رفتار هسته‌ی سلول نقش مهمی در رفتار مکانیکی سلول دارد، در مدل‌سازی‌های انجام شده توسط گیورسو (۲۰۱۴)، هسته‌ی سلول به عنوان یک ماده الاستیک تراکم‌ناپذیر را در نظر گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده، اهمیت فعل و انفعال تغییر شکل‌پذیری هسته و چسبندگی سلول را آشکار کرد [۸].

براساس مطالعه‌ی کاتزنگولد و هم‌کارانش (۲۰۱۴) که با استفاده از روش اجزای محدود انجام شده، مدل‌سازی ساختار سلول‌های بالغ چربی صورت گرفت که خواص هندسی تجربی را برای این نوع سلول‌ها دربر دارد. این مدل‌سازی به بررسی رفتار سلول در حین بارگذاری فشاری و کششی پرداخت و تغییر شکل‌های بزرگ ایجاد شده در سلول را بررسی کرد [۹]. پیشرفت‌های اخیر در علوم زیستی و پزشکی سبب توسعه‌ی مدل‌سازی درین زمینه شده‌است. هم‌چنین، ورود نرم‌افزارهای جدید درین حوزه، مسایل پیچیده‌ی زیستی

مکانیک سلولی مطالعه‌ی محدوده‌ی وسیعی از فرآیندهای اساسی سلولی را دربر می‌گیرد. این محدوده از اتفاقات ماکروسکوپی مانند حفظ شکل سلول، حرکت سلولی، چسبندگی و تغییر شکل تا اتفاقات میکروسکوپی مانند چگونگی دریافت سیگنال‌های مکانیکی توسط سلول‌ها و هدایت آن‌ها به دسته سیگنال‌های بیومکانیکی با پاسخ‌های بیولوژیکی را شامل می‌شود. از اهداف اصلی مطالعه‌ی مکانیک سلول‌ها، توضیح و روشن‌سازی خواص مکانیکی سلول‌ها، ساختارهای سلولی، تأثیر مکانیکی سلول‌ها نسبت به هم و محیط اطراف‌شان است. امروزه توجه بسیاری در زمینه‌ی بررسی خواص مکانیکی سلول‌ها صورت می‌گیرد.

اوبری و هم‌کارانش (۲۰۱۴)، برای بازسازی شرایط آزمایشگاهی، سلول‌های هلا<sup>۱</sup> را به صورت دو بعدی، با استفاده از روش اجزای محدود و تنش صفحه‌ای ایجاد شده در آن در ضمن حرکت در میکروکانال، شبیه‌سازی کردند [۱].

بروآ و کام (۲۰۱۴) چگونگی تعامل وابسته به زمان سیستم انقباضی اکتامیوزین را بررسی نموده و پاسخ الاستیک اجزای سلول و رفتار دریافت مکانیکی تک سلول را تعیین کردند. درین مطالعه مدل تعیین شده یک برآورد اولیه و ساده برای پیش‌بینی رفتار فعال ماکروسکوپی سلول ارائه شد [۲].

ونگ (۲۰۱۴) با ترکیب پارامترهای آزمایشگاهی و مدل، معین کرد که طول شدن سلول با این پارامترها رابطه مستقیم دارد. مدل ریاضی ارائه شده برای توضیح مشاهدات، در ارتباط با طول شدن سلول با توجه به تغییر شکل ناهم‌سان-گرد توری (بستر سلول) است [۳].

کانوی (۲۰۱۴) با توسعه‌ی تکنیکی به نام تصویربرداری بیومکانیکی<sup>۲</sup>، با تصویربرداری سریع از سلول، امکان بررسی خواص اجزای سلول مانند سختی و پیش‌تنش<sup>۳</sup> را فراهم نمود [۴].

در ادامه بررسی ویژگی‌های مکانیکی سلول، غشا و فرآیندهای غشایی در حین شروع، بیرون زدگی سلولی مورد

<sup>۱</sup> Hela

<sup>۲</sup> Biomechanical imaging

<sup>۳</sup> Prestress

شروع به تمایز می‌کنند، نظم و ترتیب اجزای داخلی آن‌ها مانند شبکه‌ی اسکلت سلولی، در نتیجه‌ی تغییر هم‌زمان در خواص مکانیکی آن‌ها، دچار تغییراتی می‌شود.

تست AFM برای به دست آوردن مجموعه‌ای از پارامترهای الاستیک و ویسکوالاستیک به کار می‌رود که رفتار مکانیکی تک سلول را بیان می‌کند. سلول‌ها با سختی بیش‌تر، پتانسیل تمایز به سلول‌های استخوانی را دارند. سلول‌ها با ویژگی‌های لزجی بیش‌تر، پتانسیل تمایز به سلول‌های غضروفی دارند و سلول‌های نرم‌تر تمایل به تمایز به سلول‌های چربی دارند. شاخص‌های مکانیکی برای تعیین رفتار سلول بنیادی برای تمایز به یک نوع بافت خاص می‌تواند به کار رود. با توجه به این نوع خواص مکانیکی تک سلول، رافاعل قابلیت تمایز سلول تمایز نیافته را پیشنهاد کرد [۱۲].

با در نظر گرفتن موارد فوق، درین تحقیق در ارتباط با سلول بنیادی مزانشیمی و روش تعیین خواص مکانیکی، با استفاده از روش اجزای محدود و میکروسکوپ AFM میزان تغییرات ایجاد شده در سلول با هندسه‌ی کروی و رفتار غیر خطی در اثر اعمال تحریک فشاری بررسی شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- کشت سلول

سلول‌های تمایز نیافته ویژگی‌های مورفولوژیکی و عملکردی خود را حفظ نکرده و در صورت بالغ شدن آن را به دست خواهند آورد. سلول‌های مزانشیم در محیط (۱:۱) DMEM/Ham's F12 با ۱۰٪ سرم جنین گاو و ۱٪ پنسیلین/استپتومایسین نگهداری می‌شوند.

### ۲-۲- آماده‌سازی و تثبیت سلول‌ها برای تصویربرداری

#### با میکروسکوپ نیروی اتمی

میکروسکوپ نیروی اتمی این قابلیت را دارد که برخلاف دیگر میکروسکوپ‌ها سطح نمونه را بدون نیاز به هیچ آماده سازی خاصی ارزیابی کند. بررسی مورفولوژی، توپوگرافی و خواص مکانیکی سلول زنده به وسیله‌ی این میکروسکوپ امکان‌پذیر است.

و ارتباط بین اجزای آن را آشکار می‌سازد. تلاش‌های صورت گرفته درین زمینه، شبیه‌سازی پدیده‌های زیستی با استفاده از یک مدل ساده را به وجود آورده که درعین سادگی به دلیل نیاز به حل پذیری، بتواند ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی اساسی مسأله‌ی مورد بررسی را نشان دهد. مطالعات صورت گرفته توسط مفرد (۲۰۰۶) نشان می‌دهد استفاده از مدل‌سازی با روش اجزای محدود، امکان ترکیب مدل‌سازی پدیده‌های زیستی را در مقیاس‌های زمانی و طولی فراهم می‌نماید [۱۰].

امکان تعیین خواص مکانیکی تک سلول‌ها از طریق آزمایش تکنیک‌های جدید به وجود آمده‌است. این تکنیک‌ها شامل سایتومتری دوران مغناطیسی<sup>۴</sup>، میکرورنولوژی ردیابی ذرات<sup>۵</sup>، میکروسکوپ نیروی اتمی<sup>۶</sup>، مکش میکروپیپت<sup>۷</sup>، کشش و ابزار نوری<sup>۸</sup> و سیالیت سنجی<sup>۹</sup> است. این تکنیک‌ها برای توصیف قابلیت تغییر شکل پذیری انواع سلول‌های معین به کار برده شدند. اما ممکن است برای توصیف سیستم مرکزی سلول‌های عصبی کارآیی لازم را نداشته باشند. سایتومتری دوران مغناطیسی یک تکنیک قدرتمند اندازه‌گیری است که خواص محلی مواد در سطح غشا، از طریق آن به دست می‌آید، اما برای آزمایش خواص در کل قسمت‌های سلول مناسب نیست. تحقیقات انجام شده توسط برنیک (۲۰۱۱) نشان داد که آزمون AFM برای تصویربرداری از سطح مواد غیرآلی با وضوح اتمی زیاد توسعه پیدا کرده‌است و توانایی اندازه‌گیری خواص مکانیکی در مقیاس سلولی و اجزای سلول در یک محدوده وسیع از نیروها (از مقیاس پیکو تا نانونیوتن)، سرعت‌ها (انواع مقیاس‌های بارگذاری دینامیکی) و مقیاس‌های طولی (از نانو تا میکرومتر) را دارد [۱۱].

تنوع در هندسه نوک کانتیلور AFM امکان آزمایش محدوده‌ی وسیعی از بارگذاری‌های سلولی را فراهم می‌سازد. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که سلول‌های بافت‌های استخوان، چربی و غضروف، خواص مکانیکی متفاوتی از سلول‌های بنیادی اولیه دارند. وقتی که سلول‌های بنیادی

<sup>4</sup> Magnetic twisting cytometry

<sup>5</sup> Particle – tracking microrheology

<sup>6</sup> Atomic force microscopy (AFM)

<sup>7</sup> Micropipette aspiration

<sup>8</sup> Optical tweezing and stretching

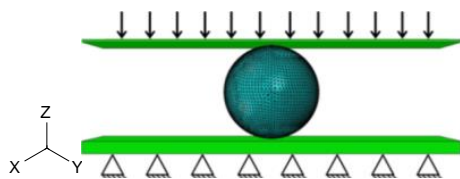
<sup>9</sup> Microplate rheometry

است. شکل (۱) تصویر سلول‌های تثبیت شده را جهت تعیین خواص مکانیکی سلول نشان می‌دهد.

### ۲-۳- توسعه مدل‌سازی سلول بنیادی در نرم‌افزار آدینا

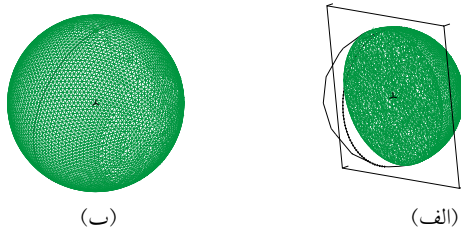
برای مطالعه‌ی تغییر شکل‌های بزرگ ایجاد شده در اثر بار فشاری و برای توسعه‌ی مدل‌های سلول بنیادی مزانشیمی، چهار نوع مدل برای بررسی رفتار سلول در نظر گرفته شد که ویژگی‌های آن در جدول (۱) نشان داده شده‌است.

**گروه اول**، برای اعمال تغییر شکل‌های بزرگ فشاری به سلول، یک صفحه به عنوان پایه و یک صفحه به عنوان صفحه اعمال بار در بالای سلول قرار گرفت که این صفحه‌ها از ابعاد سلول بزرگ‌تر است. در شکل (۲)، تک سلولی را نشان می‌دهد که روی صفحه‌ی پایه واقع شده و صفحه بارگذاری روی آن قرار گرفته است.



شکل (۲) - شماتیکی از نحوه‌ی بارگذاری بر سلول و ابعاد آن، سلول به صورت هندسه کروی

درین مدل، ابتدا سلول به صورت یک جسم واحد کروی، الاستیک خطی، هم‌سان‌گرد، تراکم ناپذیر و یک‌نواخت در نظر گرفته شد (شکل ۳). مدل یانگ برای سلول براساس مدل یانگ به دست آمده از میکروسکوپ نیروی اتمی است.

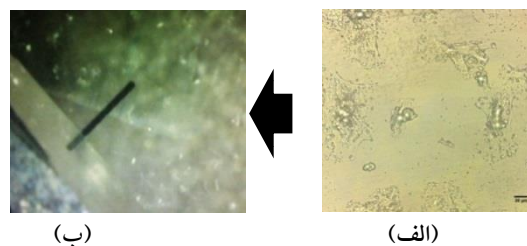


شکل (۳) - شماتیکی از هندسه‌ی سلول به صورت کره و جسم واحد بدون در نظر گرفتن اجزای داخل سلولی در نرم‌افزار آدینا و شبکه‌ی محاسباتی ایجاد شده؛ الف) سلول کروی و با رفتار الاستیک؛ ب) شکل برش یافته سلول در راستای محور X

درین پژوهش، به سبب پاره‌ای از مسایل از جمله دشوار بودن کار با سلول زنده، تأمین کردن میزان مناسب گاز دی‌اکسیدکربن، درجه‌ی حرارت و میزان رطوبت، به علاوه پر هزینه بودن تیرک<sup>۱۰</sup> مصرفی در هر بار جاروب کردن سلول زنده، از روشی بسیار کم‌هزینه‌تر استفاده شد که اطلاعات به دست آمده را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد.

برای تثبیت سلول‌ها، بعد از حذف محیط کشت سلول از روی سطح نمونه، مقدار ۲۰۰-۳۰۰  $\mu\text{l}$  گلو تارالدیدید ۰.۴٪ تا حدی که روی سطح سلول‌ها را بپوشاند ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه بدین صورت رها شد. زان‌پس، نمونه‌ها را سه مرتبه با فسفات بافر سالین (PBS) و هر بار به مدت ۵ دقیقه شست‌وشو داده شد. پس از این مرحله، برای جلوگیری از رسوب هرگونه گرد و غبار و آلودگی روی سطح سلول‌ها که می‌تواند نتایج خواص مکانیکی را تحت تأثیر قرار دهد، ظرف پتری دیش به طور کامل بسته نگه داشته شد.

در مرحله‌ی بعد، برای اندازه‌گیری مدول یانگ سلول‌ها، بلافاصله بعد از تثبیت، پتری دیش حاوی نمونه آماده شده روی میز کنترل نوین دستگاه AFM قرار گرفت.



شکل (۱) - الف) تصویر سلول‌های بنیادی مزانشیمی تثبیت شده با استفاده از میکروسکوپ نوری و در بزرگ‌نمایی ۴۰۰ جهت تعیین خواص مکانیکی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی؛ ب) نمونه تثبیت شده هنگام پروب میکروسکوپ نیروی اتمی.

آغاز فرآیند آنالیز با استفاده از پروب dc با نوک مخروطی شکل به شعاع ۱۰nm که روی تیرک با ثابت فنریت ۱۵/۰ N/m قرار دارد انجام شد. دستگاه برای هر سلول ۵۰۰ عدد نقطه با مختصات به صورت (x و y) ارائه می‌دهد که در آن x میزان نیرو بر حسب نانونیوتون و y ارتفاع مطلق انبرک

<sup>10</sup> Cantilever

جدول (۱) - مشخصات مدل‌های توسعه داده شده برای سلول در نرم‌افزار آدینا

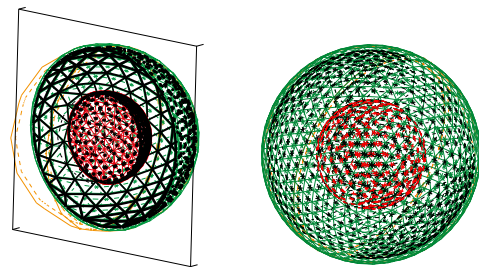
ویژگی‌های سلول	رفتار مکانیکی سلول	گروه اول
سلول بدون در نظر گرفتن سیتوپلاسم و هسته	الاستیک خطی	گروه اول
سلول با در نظر گرفتن اجزای داخلی آن	الاستیک خطی	
سلول بدون در نظر گرفتن اجزای آن و اثر ویسکوآلستیک	هایپرالاستیک	گروه دوم
سلول و اجزای آن بدون در نظر گرفتن اثر ویسکوآلستیک		

در معادله (۱)،  $H_0$  ارتفاع اولیه و  $H$  ارتفاع به دست آمده پس از تغییر شکل سلول است. سیتوپلاسم سلولی در مدل‌های این تحقیق به صورت کامپوزیتی از فیبرهای اسکلت سلولی (اکتین، فیلامان‌های حدواسط و میکروتوبول) در زمینه‌ی سیتوسل لزوج در نظر گرفته شد. مدول یانگ سیتوپلاسم از قانون کامپوزیت‌ها و با استفاده از درصد حجمی اسکلت سلولی و نیز سیتوسل در سلول‌ها محاسبه شد.

مطالعات پیشین، مقدار مدول یانگ برای فیلامان‌های اکتین، میکروتوبول‌ها و فیلامان‌های حدواسط را به ترتیب برابر  $E_{IF}=1-5 \text{ GPa}$  و  $E_M=1,9 \text{ GPa}$  و  $E_A=1,3-2,5 \text{ GPa}$  گزارش شده است [۱۴]. از طرف دیگر اکتین‌ها به عنوان فراوان‌ترین فیبرهای اسکلت سلولی، حدود ۱۰٪ و میکروتوبول‌ها و فیلامان‌های حدواسط به ترتیب ۵٪ و ۱٪ کل پروتئین‌های سلول را تشکیل می‌دهند [۱۵]. بنابراین، می‌توان مدول یانگ معادل را برای این جزء سیتوپلاسم مجدداً از قانون کامپوزیت‌ها محاسبه نمود. بدین ترتیب، مدول یانگ سیتوپلاسم با داشتن مدول یانگ مؤثر اسکلت سلولی ( $E_{Cytosol} = E_{Cytoskeleton} = 325 \text{ kPa}$ ) [۱۶] و سیتوسل ( $E_{Cytosol} = 1 \text{ kPa}$ )، (برگر، ۲۰۰۰) و نیز دانستن این موضوع که کسر حجمی محیط سیتوسل ۶۰٪ و اسکلت سلولی ۱۰٪ حجم کل سلول را تشکیل می‌دهد [۱۵] برابر  $E_{Cytoplasm} \sim 15 \text{ kPa}$  محاسبه گردید و در مدل‌ها اعمال شد (جدول ۲).

در گروه دوم، به منظور نزدیک کردن مدل با هندسه کروی به رفتار واقعی سلول با در نظر گرفتن اجزای سلولی، به صورت جامد هایپرالاستیک، هم‌سان‌گرد، تراکم‌ناپذیر و یک-نواخت در نظر گرفته شد. از میان مدل‌های هایپرالاستیک، مدل ساسمن/بته با تحلیل استاتیکی انتخاب شد.

برای تعیین نقش دیگر اندامک‌های سلولی (سیتوسل و هسته) در تغییر شکل‌های بزرگ سلولی، اجزای سلولی به مدل افزوده شد. مدل دوم، سلول از این از غشای سلول، سیتوسل و هسته تشکیل شده است. بیش‌ترین شعاع این سلول کروی  $20 \mu\text{m}$  و ضخامت غشای آن در حدود  $10 \text{ nm}$  در نظر گرفته شد. شرایط بدون لغزش بین غشای پلاسمایی و صفحه اعمال شده است (شکل ۴).



شکل (۴) - مدل نوع اول با در نظر گرفتن اجزای داخلی سلول به همراه شبکه‌ی محاسباتی ایجاد شده در نرم‌افزار آدینا برای مدل‌های الاستیک و هایپرالاستیک

برای شبیه‌سازی بارگذاری، ضریب اصطکاک بین سلول و صفحه‌ی پایه در حدود ۰٫۲ است که امکان تغییر شکل‌های سلولی را بدون مشکلات هم‌گرایی فراهم می‌سازد [۱۳]. صفحه‌ی پایه در همه‌ی جهت‌های جابه‌جایی و چرخشی ثابت شده و صفحه بارگذاری، تنها در امتداد محور عمودی، دارای حرکت است. میزان تغییر شکل برای سلول و اجزای آن از رابطه‌ی ذیل به دست آمد:

$$\text{میزان تغییر شکل ایجاد شده در سلول}^{11} = \frac{H_0 - H}{H_0} \quad (1)$$

<sup>11</sup> Global cell deformation (GCD)

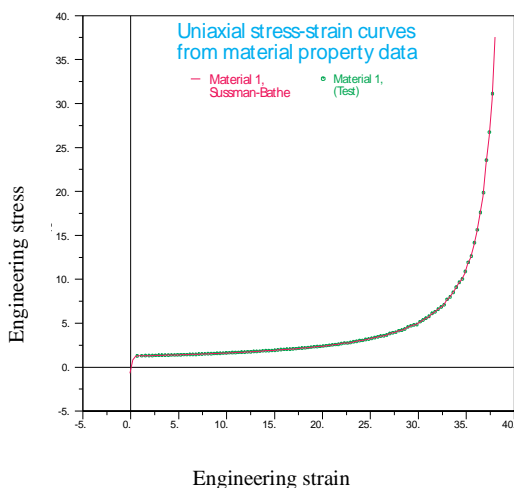
جدول (۲) - خواص و ویژگی‌های سلول در مدل‌های نوع اول

اجزای سلولی	ضخامت/شعاع ( $\mu\text{m}$ )	مدول یانگ (Mpa)	ضریب پواسون	چگالی ( $\text{gr}/\text{cm}^3$ )	تعداد المان‌ها
هسته	۵	[۱۹] ۰٫۰۰۱	[۱۳] ۰٫۴	[۱۴] ۱٫۴	۵۴۸
سیتوسل	۱۰	[۱۷] ۰٫۰۰۲۹	[۱۳] ۰٫۴	[۱۴] ۱٫۲۶	۳۱۸۳
غشا	۰٫۵	[۱۸] ۰٫۰۰۶۵	[۱۳] ۰٫۴	[۱۴] ۱٫۱۲	۲۲۳۹
سلول	۱۰	[۲۰] ۰٫۰۰۱	[۱۹] ۰٫۳۸	[۱۹] ۱٫۰	۴۵۶۳

## ۲-۴- انتخاب شبکه‌ی محاسباتی، زمان، روش حل

### معادلات و نتایج آنالیز استقلال حل از شبکه‌ی عددی

انتخاب نوع اجزای مربوط به مدل جامد در هریک از مدل‌های این پژوهش با توجه به حل پذیری مسأله، توانایی‌های نوع اجزا در مسایل خاص و محدودیت‌های نرم افزار آدینا به دلیل پیچیدگی‌های حل مسایل و رفتار غیر خطی تعیین شد. در خصوص زمان حل مدل‌های ارائه شده، یادآوری این نکته ضروری است که تلاش بر این بوده که تا رسیدن به گام زمانی کارا هزینه محاسباتی تا حد امکان کاهش داده شود. این مورد در مدل‌ها در حد مطلوبی با انتخاب گام زمانی و سرعت حل مناسب در نظر گرفته شد.



شکل (۵) - نمودارهای تنش/کرنش نرم‌افزار آدینا با ویژگی ساسمن/بته (منحنی قرمز رنگ نشان دهنده رفتار هایپرالاستیکی منحنی تنش/کرنش نرم‌افزار است و نقاط سبز رنگ، منحنی تنش/کرنش حاصل از داده‌های میکروسکوپ نیروی اتمی است).

جهت حل معادلات، از روش عددی اجزای محدود استفاده شد که در آن گسسته‌سازی معادلات براساس حل

این روش تابع چگالی انرژی کرنشی،  $W$  را به صورت مجموعی از توابع انرژی کرنشی جدا از هم،  $w$  به کار می‌گیرد و از کرنش‌های حقیقی،  $e$  به جای نامتغیرهای کششی استفاده می‌کند. درین مدل، برای تعیین منحنی تنش بر حسب کرنش تنش،  $\sigma$ ، به صورت تابعی از کرنش‌های حقیقی بیان شد. رابطه‌ی تنش و مشتق اول تابع چگالی انرژی کرنشی ( $w'(e)$ ) به صورت ذیل است:

$$w'(e) = \sum_{k=0}^{\infty} [\sigma(\frac{1}{4})^k e] + \sigma(-\frac{1}{2})(\frac{1}{4})^k e \quad (2)$$

بنابراین، مشتق اول تابع چگالی انرژی کرنشی می‌تواند برای به دست آوردن مقادیر تابع چگالی انرژی کرنشی یک-پارچه استفاده شود.

$$W = \sum_{i=1}^3 w(e_i) \quad (3)$$

برای محاسبه چگالی انرژی کرنشی در اجزای سلولی، نیاز به مقادیر تنش/کرنش مهندسی است که این مقادیر با استفاده از مقادیر نیرو/جابجایی به دست آمده از میکروسکوپ نیروی اتمی برای سلول، محاسبه شد. برای شبیه‌سازی رفتار سلول به صورت هایپرالاستیک، حالت‌های مختلفی از خواص هایپرالاستیک از جمله ویژگی مونی/ریولینی، آگدن، ساسمن/بته و هایپرفوم در نظر گرفته شد. فقط نمودار تنش/کرنش ویژگی ساسمن/بته با داده‌های حاصل از میکروسکوپ نیروی اتمی مطابقت داشت. لذا درین تحقیق، برای مدل خواص هایپرالاستیکی برای سلول، ویژگی ساسمن/بته مورد مطالعه قرار گرفت.

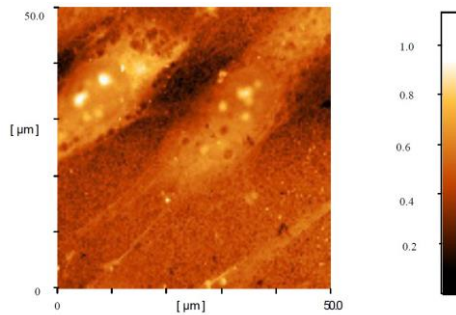
نمودارهای تنش/کرنش برای حالت‌های مختلف هایپرالاستیکی مطابق شکل (۵) است.

### ۳- نتایج

#### ۳-۱- اندازه‌گیری خواص مکانیکی و مدول الاستیک

##### سلول با استفاده از داده‌های AFM

داده‌های AFM برای هر سلول یک تصویر توپوگرافی و ۵۰۰ عدد نقطه با مختصات (x,y) ارائه می‌دهد که y میزان نیرو بر حسب نانونیوتون و x ارتفاع مطلق انبرک است (شکل ۶).



شکل (۶) - تصویر توپوگرافی از سلول بنیادی مزانشیمی تثبیت شده با استفاده از AFM

با تبدیل x به  $\delta$  که میزان جابه‌جایی انبرک است، به وسیله‌ی مدل هرتز تحت تبدیل نقطه به نقطه، نمودار مدول الاستیک بر حسب فرورفتگی تهیه شد. لحظه‌ی مجانب شدن نمودار مدول الاستیک با خط افقی (در ده نقطه‌ی انتهایی) به عنوان مدول الاستیک نهایی سلول گزارش شد. برای محاسبه دقیق مدول الاستیک و قابلیت اطمینان اعداد گزارش شده، سه سلول به صورت تصادفی در نمونه انتخاب شد.

روی سلول اول به اندازه‌های ۲۰۰ نانومتر و ۳۰۰ نانومتر، روی سلول دوم به اندازه‌های ۳۰۰ نانومتر و ۴۰۰ نانومتر و روی سلول سوم به اندازه‌های ۳۰۰ نانومتر و ۴۰۰ نانومتر فرورفتگی ایجاد کرد. برای هر فرورفتگی، چهار مرتبه آزمایش تکرار شد. میزان فرورفتگی پروب دستگاه درون سلول ( $\delta$ ) طبق رابطه‌ی (۴) محاسبه شد:

$$\delta = Z - \frac{F}{k} \quad (4)$$

در معادله k ثابت فنر کانتیلور و برابر ۱۵۰ nN/nm، F و Z به ترتیب همان x و y در داده‌های AFM است. با کمی تغییر

ماتریس‌های تنک<sup>۱۲</sup> بوده که این روش نسبت به روش‌های دیگر سرعت بالاتری دارد و حافظه کامپیوتری کم‌تری را اشغال می‌کند [۲۱].

از اتصالات سطحی<sup>۱۳</sup> برای برقراری ارتباط بین شبکه‌های غشا/سیتوسل و شبکه‌های سیتوسل/هسته در مدل استفاده شد. برای انجام آنالیز حساسیت شبکه، اندازه المان‌ها تا زمانی که تفاوت بین پاسخ مورد بررسی کم‌تر از ۰/۰۵ باشد، تغییر داده می‌شود.

به جهت بررسی استقلال حل از شبکه‌ی محاسباتی در هر یک از مدل‌ها، تأثیر تعداد اجزای شبکه بر مدل نیز بررسی شد. تغییرات ایجاد شده در مدل پس از اعمال بار نشان می‌دهد، شبکه‌ی درشت، برای تجزیه و تحلیل به اندازه‌ی کافی دقیق نیست.

برای ایجاد توازن بین دقت و کارایی، از چگالی شبکه‌ی متوسط، برای شبیه‌سازی استفاده شد. تفاوت معناداری بین شبکه‌های متوسط و ریز، براساس استفاده از شبکه‌ی چهار وجهی برای سلول وجود ندارد [۲۲].

تعداد ۱۰۶۷ و ۱۰۶۷ جزء جامد چهار گره‌ای سه بعدی (چهار وجهی) با شبکه‌بندی آزاد برای گسسته‌سازی دامنه‌ی جامد به ترتیب در مدل‌های اول و دوم مورد استفاده قرار گرفت.

تعداد اجزا در آزمون‌های استقلال حل از شبکه‌ی عددی هر گروه از مدل‌ها در دامنه‌ی جامد در جدول (۳) نشان داده شده‌است.

جدول (۳) - تعداد المان‌ها در مدل‌های گروه‌های متفاوت جهت بررسی

استقلال حل از شبکه‌ی عددی

گروه	مدل	چگالی شبکه در دامنه جامد	
		درشت	متوسط
گروه ۱	حالت اول	۹۷۵۶۶	۳۰۹۵۲
	حالت دوم	۷۷۸۲	۱۰۷۹۷۹
گروه ۲	حالت اول	۶۷۹۹	۳۰۹۴۴
	حالت دوم	۶۷۳۳	۲۹۰۶۲

<sup>12</sup> Sparse

<sup>13</sup> Face link



درحالت اول، ابتدا سلول به صورت یک ماده همگن و یک‌نواخت مدل شد و مدول الاستیک برای آن، مدول الاستیک کل سلول در نظر گرفته شد.

درحالت دوم، سلول به صورت یک ماده کامپوزیتی در نظر گرفته شد و مدل ایجاد شده شامل غشای سلول، سیتوپلاسم و هسته است که عدد مدول یانگ برای هر کدام از اجزای تشکیل دهنده سلول متفاوت بوده و مطابق جدول (۲) است.

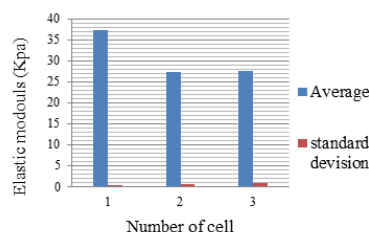
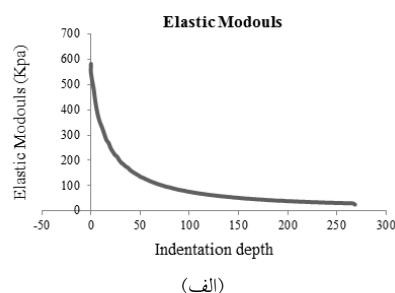
با اعمال بار فشاری، بیشترین میزان تغییر شکل ایجاد شده در سلول، درحالت اول، ۴۰٪ و در مقدار متوسط آن در حدود ۱۹٪ است. در صورتی که بیشترین میزان تغییر شکل ایجاد شده درحالت دوم، در غشای سلولی ۱۴٪، در سیتوپلاسم ۱۴٪ و در هسته سلولی ۱۲٪ است که مربوط به آخرین مرحله بارگذاری است و مقدار متوسط در غشا، سیتوپلاسم و هسته به ترتیب ۷/۲۸٪، ۴/۲۸٪ و ۳/۷۴٪ است (شکل ۸).

مقایسه دو حالت نشان می‌دهد که میزان تغییر شکل ایجاد شده در مدل حالت اول (سلول بدون اجزای آن) بیش‌تر از حالت دوم (با در نظر گرفتن اجزای سلولی) است. هرچند میزان تغییرات در غشای سلولی مدل حالت دوم نسبت به تک سلول حالت اول بیش‌تر است، اما میزان تغییرات ایجاد شده در کل مدل حالت دوم نسبت به حالت اول کم‌تر است. همچنین مقایسه‌ی مقادیر به دست آمده برای اجزای سلولی حالت دوم، نشان می‌دهد تغییرات غشای سلول در اثر اعمال بار فشاری بیش‌تر از سایر اجزا است که با ساختار دو لایه فسفولیپیدی غشا مطابقت دارد. وجود اسکلت سلولی در ساختار سیتوپلاسم باعث افزایش سختی آن شده و مقاومت آن را در برابر نیروهای اعمالی افزایش می‌دهد. بنابراین، عدد به دست آمده برای آن، با این ویژگی ذاتی سیتوپلاسم سازگاری دارد. با مطالعه‌ی ساختار سلول نشان می‌دهد که هسته سلول سختی بیش‌تری دارد؛ لذا تغییرات ایجاد شده در آن کم‌تر است. در مدل ارائه شده نیز مقدار تغییر شکل هسته کم‌تر از سایر اجزا است (شکل ۹).

رابطه مدل هرتز برای پروب مخروطی با شعاع ۱۰ nm به منظور محاسبه‌ی مدول الاستیک رابطه‌ی ذیل را داریم:

$$F = \left( \frac{2 \tan \alpha}{\pi} \right) \left( \frac{E}{1 - \nu^2} \right) \delta^2 \quad (5)$$

در معادله‌ی فوق،  $\alpha$  نصف زاویه مخروط است و برابر ۴۰ درجه است. با رسم نقطه به نقطه مقادیر محاسبه شده مدول الاستیک درین رابطه برحسب  $\delta$  نمودار شکل (۷ الف) حاصل شد که مقدار مدول الاستیک هریک از سلول‌ها تعیین شد. همان طور که در شکل (۷ ب) مشاهده می‌شود، مدول الاستیک برای هر سه سلول مورد اندازه‌گیری در حدود ۳۰ کیلوپاسکال است.

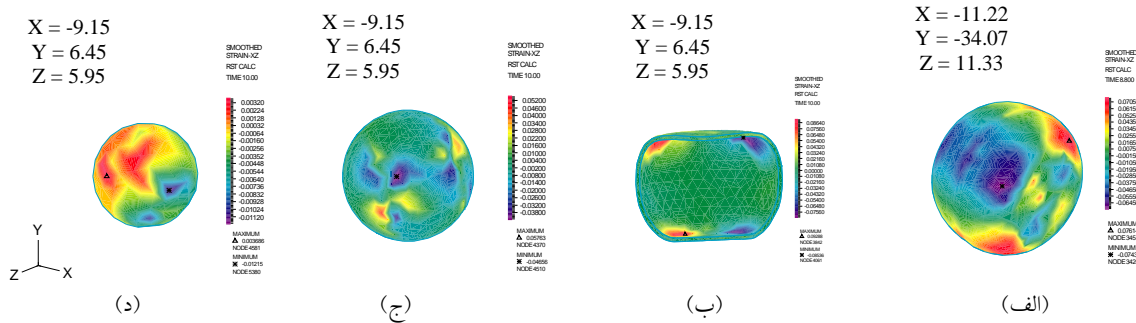


شکل (۷) - الف) نمودار مدول الاستیک بر حسب فرو رفتگی (لحظه مجانب شدن نمودار به عنوان مدول الاستیک سلول در نظر گرفته شده است)؛ ب) مدول یانگ میانگین و انحراف معیار استاندارد محاسبه شده برای سه سلول متفاوت در پتریدیش.

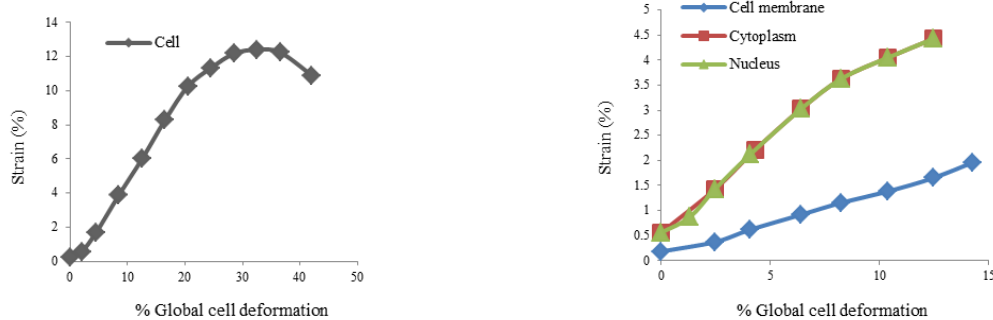
### ۲-۳- تحلیل مدل‌ها

#### ۳-۲-۱- بررسی مدل‌های گروه اول

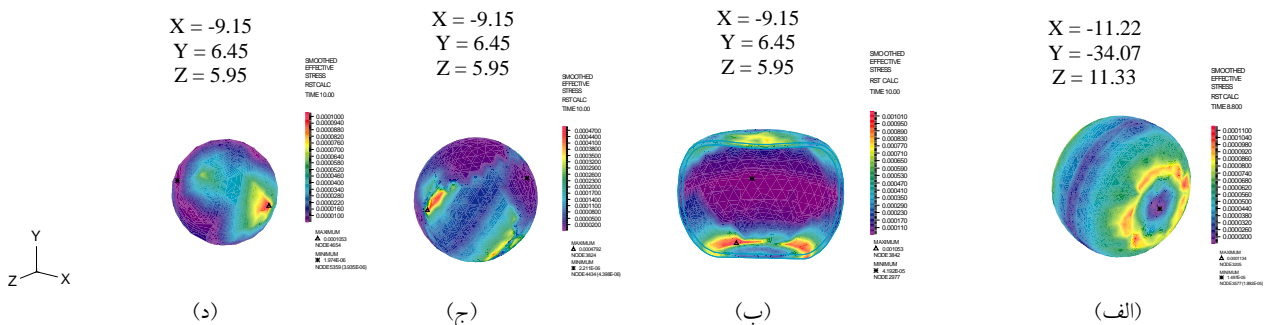
برای بررسی اثر اجزای داخل سلولی مانند سیتوسل، اسکلت سلولی و هسته و نیز جهت بررسی رفتار غیرخطی سلول نسبت به رفتار خطی آن برای هر گروه، دو حالت برای سلول در نظر گرفته شد.



شکل (۸) - ایجاد کرنش؛ (الف) سلول بدون در نظر گرفتن اجزای آن؛ (ب) غشای پلاسمایی؛ (ج) سیتوپلاسم؛ (د) هسته سلول در اثر اعمال بار فشاری (سلول با رفتار الاستیک خطی)



شکل (۹) - نمودار کرنش فشاری بر حسب تغییر شکل ایجاد شده؛ (الف) سلول بدون در نظر گرفتن اجزای آن؛ (ب) برای اجزای سلولی بر حسب تغییر شکل ایجاد شده در آن در اثر اعمال بار فشاری (نمودارهای فوق مطابق جدول (۴) در گره‌هایی از شبکه سلول که با بیش‌ترین میزان کرنش رسم شده‌اند)



شکل (۱۰) - توزیع تنش ون/مایسز در سلول و اجزای آن بر حسب MPa؛ (الف) سلول بدون در نظر گرفتن اجزای آن؛ (ب) غشای پلاسمایی؛ (ج) سیتوپلاسم؛ (د) هسته سلول (سلول با رفتار الاستیک خطی)

برخی نقاط افزایش یافته و در حدود ۱ کیلو پاسکال است. تنش ایجاد شده در سیتوپلاسم ۰٫۴۷ کیلو پاسکال و برای هسته سلول ۰٫۱ کیلو پاسکال است. مقایسه‌ی اعداد به دست آمده برای تنش نشان می‌دهد که بیش‌ترین مقدار تنش مربوط به سیتوپلاسم است که حضور اسکلت سلولی درین ارگانل، باعث افزایش استحکام کششی می‌شود. بررسی میزان کرنش

توزیع تنش ون/مایسز الگوی متفاوتی را در سلول و اجزای آن نشان می‌دهد. با توجه به شکل (۱۰) بیش‌ترین میزان تنش ایجاد شده در سلول را درحالت اول و در حدود ۰٫۱۱ کیلو پاسکال نشان داد که در محل تماس سلول با بستر آن است. میزان تنش برای اجزای سلولی درحالت دوم، برای غشا به طور متوسط حدود ۰٫۱ کیلو پاسکال است که این مقدار در

تنش‌های ایجاد شده در سلول در دو حالت نیز به صورت تنش ون/مایسز مورد ارزیابی قرار گرفت. مطابق شکل (۱۳)، توزیع تنش در سلول در حالت اول که فاقد اجزای سلولی است بیش‌تر از حالت دوم است که شامل اجزای سلولی است. در توجیه این توزیع تنش در هر دو شبکه می‌توان گفت چون در مدل دوم، رفتار هسته سلول به صورت الاستیک خطی در نظر گرفته شده‌است، میزان الاستیسیته هسته بر دیگر ارگانل‌های مدل تأثیر گذاشته‌است. در مدل حالت اول بیش‌ترین میزان تنش در قسمت رأسی (جایی که بار فشاری به صورت مستقیم بر سلول اعمال شده) بیش‌تر است و در واقع محل تماس سلول با بستر آن، محل تمرکز تنش است. در مدل حالت دوم نیز میزان توزیع تنش در نقاط رأسی بیش‌تر است. در محل اتصال سیتوپلاسم با هسته سلول نیز تنش رو به افزایش است.

#### ۴- بحث

درین مطالعه، روشی برای تحلیل عددی پاسخ مکانیکی تک سلول بنیادی مزانشیمی به بارگذاری فشاری ارائه شده‌است. جهت تعیین خواص مکانیکی سلول در تحقیق حاضر از میکروسکوپ نیروی اتمی استفاده شد. بدین ترتیب، چند نمونه سلولی آماده و تثبیت گردید. سپس، از میان نمونه‌های سلولی، سه نمونه به صورت تصادفی انتخاب شد.

برای سلول اول، در ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومتر فرورفتگی‌هایی ایجاد شد و برای هر کدام از این فرورفتگی‌ها چهار مرتبه آزمایش تکرار شد. سپس، با محاسبه‌ی میزان فرورفتگی (معادله ۴)، مقدار میانگین مدول الاستیک درین میزان فرورفتگی محاسبه شد که در حدود  $(۴۳/۴۲ \pm ۰/۵۱)$  و  $(۳۰/۹۴ \pm ۰/۱۸)$  کیلوپاسکال است.

برای سلول دوم، جهت تعیین مدول الاستیک در عمق ۳۰۰ و ۴۰۰ نانومتری و با تکرار آزمایش (چهار مرتبه)، مقدار میانگین مدول الاستیک در عمق ۳۰۰ و ۴۰۰ نانومتری به ترتیب  $(۳۰/۹۴ \pm ۰/۱۸)$  کیلوپاسکال و  $(۲۲/۷۶ \pm ۰/۲۷)$  کیلوپاسکال است.

کششی در غشای پلاسمایی به لحاظ مقاومت کششی بالای غشای سلول و نقش آن در حفظ تمامیت ساختار سلول حائز اهمیت بسیاری است. چراکه اعمال تنش‌های فشاری به سلول بیش‌از حد تحمل غشای سلولی است که درین شرایط دچار کشش می‌شود (کرنش کششی بیش‌از ۳۵٪ و یا بارگذاری بیش‌از ظرفیت سلول) منجر به پارگی غشا و تخریب و مرگ سلولی می‌شود.

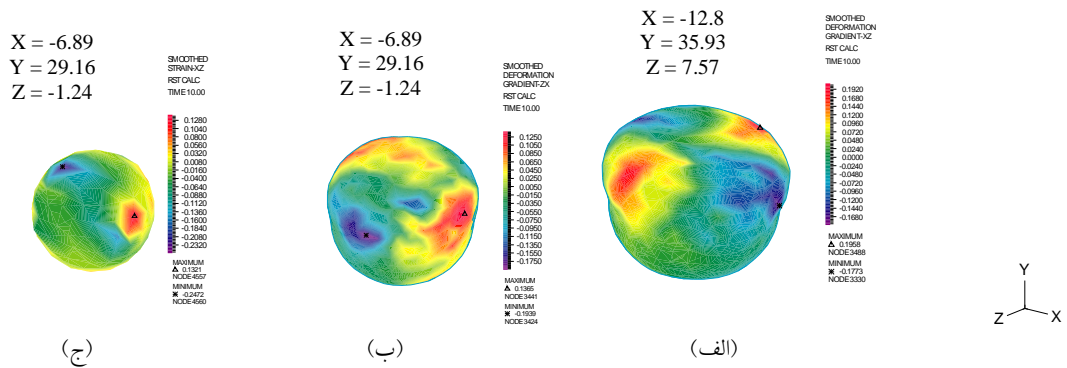
#### ۳-۲-۲- بررسی مدل‌های گروه دوم

در گروه دوم، مدل هندسه سلول به شکل کروی است؛ اما رفتار مواد آن به صورت هاپیرالاستیک است. هم‌چنین به دلیل کمبود داده‌های آزمایشگاهی برای بسیاری از اندامک‌های سلولی، غشای سلولی، اسکلت سلولی و سیتوپلاسم به صورت یک شبکه‌ی واحد در نظر گرفته شد. بنابراین، مدل شامل دو جزء سیتوپلاسم و هسته سلول است که اندامک‌های اصلی در تحمل بار فشاری هستند.

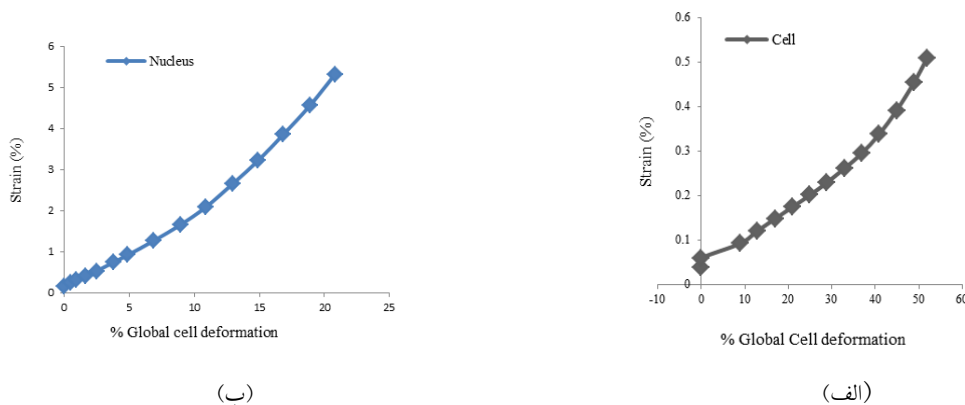
همان‌طور که در شکل (۱۱) مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان کرنش‌ها در داخل سیتوپلاسم سلول است که با توجه به نقش فیبرهای اسکلت سلولی برای مقاومت در برابر نیروی مکانیکی اعمالی به خوبی قابل توجیه است.

کرنش‌ها در داخل سیتوپلاسم از طریق اسکلت سلولی در فضای سیتوسل توزیع شده و باعث بازآرایی فیبرها در راستای اعمال نیرو می‌شود. بررسی تغییر شکل ایجاد شده در هر دو حالت (بدون در نظر گرفتن اجزای سلولی و با در نظر گرفتن اجزای آن) نشان می‌دهد که شبکه‌ی سیتوپلاسمی دچار تغییر شکل بیش‌تری شد که می‌تواند به دلیل خواص غیرخطی این شبکه باشد. اما در شبکه‌ی هسته سلول در حالت دوم تغییر چندانی ایجاد نشد که این نیز می‌تواند به دلیل رفتار الاستیک خطی آن باشد.

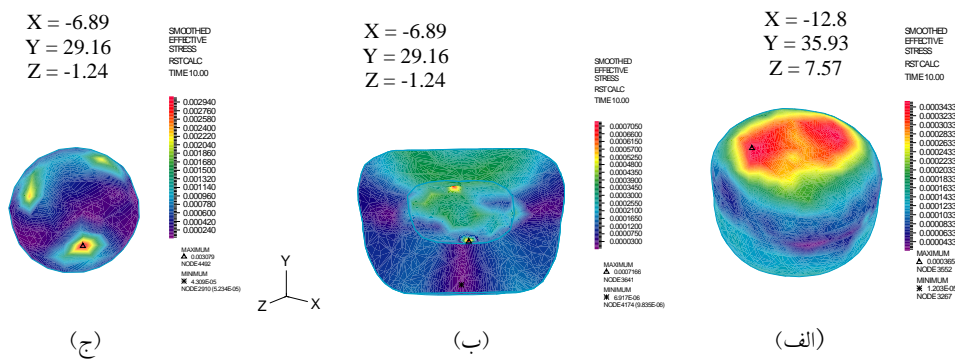
بیش‌ترین مقدار تغییر شکل برای شبکه سلول در مدل حالت اول ۵۵٪ و مقدار متوسط آن ۲۵٪ است. برای مدل حالت دوم، بیش‌ترین مقدار تغییر شکل و مقدار متوسط آن برای شبکه‌ی سیتوپلاسمی به ترتیب ۶۰٪ و ۲۷/۸٪ و برای شبکه‌ی هسته سلول به ترتیب ۲۰٪ و ۷٪ است (شکل ۱۲).



شکل (۱۱) - (الف) توزیع گرادبان تغییر شکل در شبکه سلول؛ (ب) شبکه سیتوپلاسمی؛ (ج) در هسته سلول (سلول با رفتار هایپر الاستیکی)



شکل (۱۲) - نمودار کرنش فشاری بر حسب تغییر شکل ایجاد شده؛ (الف) سلول بدون در نظر گرفتن اجزای آن؛ (ب) برای اجزای سلولی بر حسب تغییر شکل ایجاد شده در آن در اثر اعمال بار فشاری و با اعمال خواص هایپر الاستیکی برای سلول (نمودارها مطابق جدول (۴) در گرهی با بیشترین میزان کرنش در نظر گرفته شده است)



شکل (۱۳) - توزیع تنش ون/مایسز در سلول و اجزای آن بر حسب MPa؛ (الف) سلول بدون در نظر گرفتن اجزای آن؛ (ب) سیتوپلاسم؛ (ج) هسته سلول (با اعمال فشار میزان تنش در سلول و اجزای آن با رفتار هایپر الاستیکی افزایش می یابد)

مقایسه‌ی اعداد به دست آمده برای هر سه سلول نشان می‌دهد که با فرورفتگی بیش‌تر پروپ میکروسکوپ، میزان مدول الاستیک کاهش می‌یابد. هم‌چنین بررسی عدد به دست آمده و مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که بهترین

برای سلول سوم نیز روند انجام آزمایش مانند سلول دوم بود که مقدار میانگین مدول الاستیک برای این سلول در ۳۰۰ و ۴۰۰ نانومتری به ترتیب  $(31.1 \pm 0.81)$  کیلوپاسکال و  $(22.81 \pm 1.06)$  کیلوپاسکال است.

مطالعه‌ی شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد عوامل مختلفی مانند فاکتورهای رشد، سیگنال‌های شیمیایی و چگالی اجزا می‌توانند بر تنظیم عملکرد و تمایز سلول‌های بنیادی تأثیر بگذارند. هم‌چنین این مطالعات نشان می‌دهد بارگذاری مکانیکی با کرنش‌های کوچک، مدت زمان کوتاه و فرکانس بالا برای تکثیر و تمایز سلول مناسب است [۲۸].

تفسیر این نتایج، حاکی از این موضوع است که سازمان داخلی سلول بنیادی مزانشیمی استخراج شده از چربی، به هندسه آن وابسته بوده و رفتار مکانیکی آن از هندسه سلولی متأثر است. درین زمینه، تحقیقاتی روی سلول‌های فیروبلست و میوبلاست انجام شده است که نشان می‌دهد هندسه‌ی سلول بر کرنش‌های ایجاد شده در اجزای داخلی آن تأثیر می‌گذارد [۲۹، ۲۷].

نکته‌ی مهم در ارتباط با تأثیر بار فشاری بر تمایز سلول بنیادی این است که نشانه‌های اولیه از غضروفی یا استخوانی شدن سلول‌ها می‌تواند تحت اثر فشار دینامیکی و در ژل آلیجنات که از کلاژن اسفنجی پوشیده شده است، ظاهر شود. با تغییر مقدار کرنش در اثر اعمال بار، تشکیل چنین سلول‌هایی امکان پذیر است و مقدار کرنش لازم برای برای ژن استخوان ۱۰٪ و کرنش لازم برای ژن غضروف و استخوان ۱۵٪ است [۲۸].

مطالعه حاضر، اعمال این میزان بار در محدوده‌ی فیزیولوژیک است و بیش‌ترین مقدار کرنش ایجاد شده در سلول در حدود ۱۲٪ است که نشان می‌دهد که سلول بنیادی شبیه‌سازی شده پتانسیل لازم برای تمایز به سلول غضروفی یا استخوانی را دارد. به طور کلی به نظر می‌رسد که بار فشاری که در بدن در مفاصل بر سلول بنیادی اعمال می‌شود برای ایجاد ماتریس غضروفی و غیر فیبری مناسب است.

درین طرح، ویژگی هایپیرالاستیک برای مواد نرم جهت مدل‌سازی سلول بنیادی استفاده شد که هدف اصلی بیان و روشن سازی مکانیسم انتقال سیگنال‌های خارج سلولی به داخل سلول از طریق فرآیند تبدیل نیروهای مکانیکی به سیگنال‌های بیوشیمیایی است. یادآوری می‌شود که توسعه‌ی مدل مواد با رفتار غیرخطی به درک رفتارهای بیومکانیکی و

شرایط برای تعیین عدد مدول الاستیک در شرایط تثبیت سلولی، در عمق فرورفتگی بیش‌تر پروپ دستگاه در سلول و با اعمال نیروی بیش‌تری نسبت به شرایط تثبیت نشده و زنده سلول است [۲۳]. عدد مدول الاستیک به دست آمده نزدیک به محدوده‌ی مدول یانگ سلولی در مطالعات پیشین (۱۳ کیلوپاسکال تا ۱۵۰ کیلوپاسکال) است [۲۴]؛ اما این مقدار، بیش‌تر از مقدار تعیین شده برای سلول بنیادی مزانشیمی زنده و استخراج شده از بافت چربی (حدود ۱ کیلوپاسکال) است [۲۵]. در مطالعه دیگری که روی سلول‌های بنیادی مایع آمینوتیک انجام شده است میزان مدول یانگ تعیین شده برای سلول زنده در حدود ۳۱/۶ کیلوپاسکال است [۲۶]. بنابراین، چنین به نظر می‌رسد که فرآیند تثبیت سلولی سبب افزایش میزان مدول الاستیک شده است؛ اما این افزایش تا حدی نیست که خواص مکانیکی سلول را به طور معنابهی تحت تأثیر قرار دهد.

با توجه به شکل‌های (۱۰) و (۱۳)، با افزایش میزان بار فشاری، میزان کرنش‌های داخلی سلول و تنش ون/مایسز به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد. براساس میزان تغییر شکل ایجاد شده در اجزای سلولی می‌توان گفت، تغییر شکل‌های بزرگ درین اجزا اتفاق می‌افتد که میزان کرنش‌های ایجاد شده در آن‌ها بیش‌از کرنش‌های لازم جهت تمایز سلولی بنیادی مزانشیمی استخراج شده از چربی است، چه بسا این میزان کرنش و تنش در سلول، آسیب و مرگ سلولی را سبب شود (بیش‌ترین آستانه‌ی کرنشی که غشای سلول می‌تواند تحمل کند در حدود ۱۰٪ گزارش شده است [۲۷])؛ لذا، برای نزدیک شدن به شرایط واقعی نسبت به محیط فیزیولوژیکی در مدل‌های گروه دوم، داده‌های آزمایشگاهی حاصل از میکروسکوپ نیروی اتمی جهت تعیین خواص مکانیکی روی سلول با هندسه‌ی کروی (ایده‌ال) اعمال شد. مقایسه میزان تغییر شکل ایجاد شده در مدل‌های گروه اول و دوم نشان می‌دهد که میزان تغییرات در گروه اول بیش‌تر از گروه دوم است که می‌تواند به دلیل رفتار هایپیرالاستیک شبکه‌ی سیتوپلاسمی مدل‌های گروه دوم باشد.

## ۷- مرجع‌ها

- [1] D. Aubry, H. Thiam, M. Piel, R. Allena, "A computational mechanics approach to assess the link between cell morphology and forces during confined migration" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 2014.
- [2] C. Borau, R. Kamm, "A time-dependent phenomenological model for cell mechano-sensing" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 451–462, 2014.
- [3] S. Wong, S. Teo, S. Park, K. Chiam, E. Yim, "Anisotropic rigidity sensing on grating topography directs human mesenchymal stem cell elongation" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 27–39, 2014.
- [4] E. Canovi'c, et al. "Biomechanical imaging of cell stiffness and prestress with subcellular resolution" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 665–678, 2014.
- [5] T. Woolley, et al. "Cellular blebs: pressure-driven, axisymmetric, membrane protrusions" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 463–476, 2014.
- [6] C. Obbink-Huizer, et al. "Computational model predicts cell orientation in response to a range of mechanical stimuli" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 227–236, 2014.
- [7] S. Verbruggen, et al. "Fluid flow in the osteocyte mechanical environment: a fluid-structure interaction approach" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 85–97, 2014.
- [8] C. Giverso, et al. "Influence of nucleus deformability on cell entry into cylindrical structures" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 13, 481–502, 2014.
- [9] R. Katzungold, et al. "Simulating single cell experiments in mechanical testing of adipocytes" *Journal of Biomech Model Mechanobiol* 2014.
- [10] M. R. K. Mofrad, R. D. Kamm, "Cytoskeletal mechanics models and measurements" 2006.
- [11] K. B. Bernick, "Cell Biomechanics of Central Nervous system" *Massachusetts Institute of Technology* 2011.
- [12] D. Rafael, V. González-Cruz, C. Fonseca, M. Eric, "Darling Cellular mechanical prop differentiation potential mesenchymal stem cells" *Journal of Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 1523- 1529, 2012.
- [13] N. Slomka, A. Gefen, "Confocal microscopy-based three-dimensional cell-specific modeling for large deformation analyses in cellular mechanics" *Journal of Biomechanics* 43, 1806–1816, 2010.
- [14] F. Guilak, R. John, s.l. Tedrow, R. Burgkart, "Viscoelastic Properties of the Cell Nucleus" *Journal of Biochemical and Biophysical Research Communications* 269, 781–786, 2000.
- [15] H. Hatami, M. Marbini, R. K. Mofrad, "Cytoskeletal Mechanics and Cellular Mechanotransduction: a molecular prospective" *book auth.* 2010.

بیوفیزیکی سلول‌ها کمک می‌کند. برخی محدودیت‌ها مربوط به داده‌های آزمایشگاهی برای تعیین خواص مکانیکی سلول است که در رابطه با محدودیت دستگاه‌های لازم برای تعیین این خواص در مقیاس سلولی است. با توجه به این موضوع، درین تحقیق، تصمیم به بررسی کرنش و تنش مؤثر در اجزای سلولی گرفته شد و از برون‌یابی تنش در راستاهای مختلف جلوگیری شد. چنانچه خواص ساختاری مربوط به هر کدام از اجزا قابل تعیین باشد، مدل ارائه شده قادر به تحلیل شرایط دقیق‌تری از توزیع تنش خواهد بود.

## ۵- نتیجه‌گیری

تحقیق انجام شده نشان می‌دهد که بسیاری از سلول‌های بنیادی در بدن به‌عنوان یک ماده‌ی هایپروالاستیک و ویسکوالاستیک عمل می‌کنند و میزان بار اعمال شده به لحاظ هندسه‌ی سلول غیرمتقارن قابلیت تمایز به سلول‌های غضروفی و استخوانی را دارد. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق، یک انتخاب بهتر برای انجام آزمایش‌ها با نزدیکی به شرایط فیزیولوژیک بدن را فراهم می‌سازد.

مدل‌سازی ارائه شده نه تنها در زمینه‌ی مدل‌های چند مقیاسی کاربرد دارد، بلکه به طراحی بهتر سیستم‌های بارگذاری آزمایشگاهی نیز کمک می‌کند. همچنین استفاده از روش‌های محاسباتی مانند المان محدود، در کشف سازوکارهای سلولی توانمند به نظر می‌رسد. یادآوری این نکته ضروری است که هر اقدامی در زمینه‌ی مدل‌سازی مکانیک سلولی صورت گیرد، نیازمند درک صحیح از بدن انسان است. درین زمینه، تهیه‌ی تصاویر سه بعدی جهت دست یافتن به هندسه‌ی واقعی بافت یا سلول می‌تواند مفید باشد.

## ۶- سپاس‌گزاری

نویسندگان از صندوق حمایت از پژوهش‌گران کشور به دلیل حمایت مالی ازین پژوهش قدردانی می‌نمایند.

- [24] A. Kweku, "Measurement Techniques for Cellular Biomechanics In Vitro" *Journal of Experimental Biology and Medicine* 233, 792-809, 2008.
- [25] S. Shojaei, et al. "Essential Functionality of Endometrial and Adipose Stem Cells in Normal and Mechanically Motivated Conditions" *Journal of Biomaterial and Tissue Engineering* 3, 581-588, 2013.
- [26] A. Aryaei, A. Jayasuriya "Mechanical properties of human amniotic fluid stem cells using nanoindentation" *Journal of Biomechanics* 46, 1524-1530, 2013.
- [27] N. Slomka, S. Or-Tzadikario, D. Sassun, A. Gefen, "Membrane-stretch-induced cell death in deep tissue injury: computer model studies" *Journal of Cellular and Molecular Bioengineering* 2, 118-132, 2009.
- [28] M. Robin, Delaine-Smith et al. "Mesenchymal stem cell responses to mechanical stimuli" *Journal of Muscles, Ligaments and Tendons* 2, 169-180, 2012.
- [29] S. Or-Tzadikario, A. Gefen, "Confocal-based cell-specific finite element modeling extended to study variable cell shapes and intracellular structures: the example of the adipocyte" *Journal of Biomechanics* 44, 567-573, 2011.
- [16] A. C. Guyton, J. E. Hall, "Text book of medical physiology" *Elsevier Science* 2005.
- [17] S. A. Berger, L. D. Jou, "Flows in stenotic vessels" *Journal of Annual Review of Fluid* 32 347-382, 2000.
- [18] A. Gefen, "cellular and biomolecular mechanics and mechanobiology" *springer*, 2011.
- [19] W. Christopher Harland, J. Miranda Bradley, R. Parthasarathy. "Phospholipid bilayers are viscoelastic" *Journal of Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 107, 19146-19150, 2010.
- [20] Suncica Canic. "Fluid-Structure Interaction In Blood Flow. S.L. : Women In Mathematics" 2006.
- [21] O. C. Zienkiewicz, R. L. Taylor, J.Z. Zhu, "The Finite Element Method: Its Basis and Fundamentals" *Sixth edition. Oxford OX2 8D* 2005.
- [22] E. Leopold, A. Gefen, "A simple stochastic model to explain the sigmoid nature of the strain-time cellular tolerance curve" *Journal of Tissue Viability* 21, 27-36, 2012.
- [23] L. Zheng, et al. "A Porous Elastic Model for Bacterial Biofilms: Application to the Simulation of Deformation of Bacterial Biofilms Under Microfluidic Jet Impingement" *Journal of Biomechanical Engineering* 134, 051003, 2012.