

مدولاسیون مکانیکی سلول‌های بنیادی در راستای تمایز به سلول‌های غضروفی - استخوانی با استفاده از داربست‌های دارای سطوح ضمنی

مهدي مرادخانی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران، mehdi.moradkhani@gmail.com

بهمن وحیدی*، دانشیار، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران، bahman.vahidi@ut.ac.ir

چکیده

فرایندهای تولید بافت‌های بیولوژیکی نیازمند یک بستر مصنوعی می باشد تا پاسخ سلولی به سیگنال‌های مکانیکی و شیمیایی را کنترل نماید. این حامی مصنوعی به نام داربست موسوم است. بررسی تاثیر هندسه‌ی داربست بر رژیم جریان سیال و همچنین تاثیر محل قرار گیری سلول‌ها در نقاط مختلف داربست بر روی تحریکات مکانیکی موثر بر سلول بنیادی از طرف جریان سیال از اهداف اصلی این پژوهش می‌باشد. برای این منظور، از داربست‌های دارای معماری حفرات با استفاده از سطوح ضمنی استفاده شد. با به کارگیری روش‌های اجزای محدود و برهمکنش سیال و سازه و حل به شیوه‌ی جفت شوندگی دو طرفه‌ی معادلات سیال و سازه، نتایج به دست آمده نشان داد که ریزساختار داربست و معماری حفرات آن تاثیر اساسی در بهبود دسترسی جریان سیال به نقاط مختلف داربست دارد. این اثر در کنار بهینه سازی شرایط تنش برشی و فشار هیدرودینامیکی در سطوح مختلف داربست، باعث افزایش رسانش اکسیژن و عوامل تغذیه‌ای به سلول‌ها می‌شود. همچنین، ارجحیت استفاده از داربست‌های HP و در اولویت بعدی داربست‌های Gyroid گزارش می‌شود. **واژگان کلیدی:** مهندسی بافت، مدولاسیون مکانیکی، داربست، سلول بنیادی، اجزای محدود، سلول‌های غضروفی استخوانی

Mechanical Modulation of Stem cells for differentiation Toward Osteochondral Cells Using Scaffolds with implicit surfaces

M. Moradkhani

Department of Life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran

B. Vahidi

Department of Life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran

Abstract

The creation process of biological tissues needs an artificial substrate in order to control cellular responses to mechanical and chemical signals. This artificial support is named a scaffold. Investigating the effects of scaffold geometry on fluid flow regime as well as influence of different locations of the cells on the scaffold on effective mechanical stimulations of the stem cells are the main goals of this study. So, scaffolds were utilized which include architecture of the pores achieved from implicit surfaces. Using finite elements and fluid-structure interaction methods and solving the problem through two way coupling of the equations, the results show that microstructure of the scaffolds and architecture of their pores have major effects on improvement of fluid flow reaching various locations of the scaffold. This issue besides of optimization conditions of shear stress and hydrodynamic pressure in different surfaces of the scaffold leads to increase of oxygen delivery and perfusion to the cells. Moreover, preference of using HP scaffolds and as a next priority utilizing of Gyroid scaffolds is reported.

Keywords: Tissue Engineering, Mechanical modulation, Scaffold, Stem Cell, Finite Elements, Osteochondral Cells.

سه بعدی امکان پذیر نیست. این مطلب به راحتی با مقایسه‌ی داربست نهایی ساخته شده به کمک این فناوری با داربست‌های ساخته شده با روش‌های قدیمی ملموس می باشد [۲]. این تحقیقات ثابت کرده‌اند که یک معماری Gyroid از داربست که با دسترسی خوب و کانال‌های باز برای عبور سیال که توسط روش سنگ‌چاپ سه‌بعدی^۱ ساخته شده باشد، قابلیت کشت سلول را به نسبت داربست ساخته شده به روش قدیمی تر آب شویی نمکی^۲ بهبود بخشیده و همچنین موجب دستیابی به توزیع همگن تری از جمعیت سلولی در داربست می‌شود [۲]. همچنین پژوهش دیگری نیز به بررسی نقش طراحی داربست در توزیع سلول‌های چسبیده به سطوح داربست و اثر تنش برشی در این امر پرداخته است و به کمک روش‌های آزمایشگاهی و شبیه سازی این مهم

۱- مقدمه

امروزه، زمینه‌ی پژوهشی پزشکی بازساختی از پیشروترین عرصه‌ها در حوزه مهندسی بافت و بیومکانیک سلولی-مولکولی است. پیشرفت‌ها در این زمینه علمی نقش بسیار مهمی در ترمیم بافت‌های آسیب دیده و بازتولید بافت‌ها در محیط‌های بیرون بدنی دارد. سوق دادن سرنوشت سلول‌های بنیادی به سمت سلول‌های تخصص یافته بافت‌های مختلف بدن از طریق تحریک‌های مکانیکی و شیمیایی سلول‌ها در این راستا حائز اهمیت است. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که طراحی‌های مدرن داربست و معماری حفرات که قابلیت رسانایی جریان سیال با سرعت و نرخ برشی خوب و همچنین اکسیژن و مواد غذایی به مقدار مناسب در نقاط مختلف داربست را منتج شوند، تاثیر بسیار شگرفی بر بهبود نرخ رشد و تکثیر و تمایز سلول‌ها بنیادی دارند [۱-۳]. دستیابی به تولید کنترل شده‌ی ریزساختار داربست بدون بهره مندی از فناوری پرینت

* نویسنده مکاتبه کننده، آدرس پست الکترونیکی: bahman.vahidi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۳

¹ Stereolithography

² Salt leaching

را به سرانجام رسانده است [۱]. یافته‌ی دیگر این تحقیق، تاثیر گرادیان تخلخل بر این اثر است و این‌که در دو داربست با معماری حفرات Gyroid ولی یکی با تخلخل یکنواخت در تمام طول داربست و دیگری دارای گرادیان تخلخل در طول داربست، شبیه‌سازی کامپیوتری مشخصه‌های محلی جریان در حفرات همچون نرخ برش سیال روی دیواره و همچنین کشت آزمایشگاهی سلول در دو داربست را ارزیابی نمود و نتایج نشان دادند که توزیع جمعیت سلولی در داربست با تخلخل ثابت، همگن می‌باشد و در داربست دارای گرادیان تخلخل، شاهد یک توزیع متغیر جمعیت سلولی مطابق با تغییر نرخ برشی در طول داربست می‌باشیم [۱].

سابقه‌ی استفاده از روش‌های اجزای محدود در شبیه‌سازی و تحلیل پدیده‌های فیزیکی و خصوصا تنش‌ها و کرنش‌های اعمالی به سلول به‌وسیله‌ی عوامل مختلف، قدمتی بیش از یک دهه دارد. از پژوهش‌های پیشگام این حوزه می‌توان استفاده از مدل‌های دوبعدی را نام برد که تنش‌های تجربه شده توسط سلول در اثر بارگذاری کششی را مورد بررسی قرار داده‌اند [۵ و ۴] تا مدل‌های کامل‌تر دو بعدی و سه بعدی که آنها نیز پاسخ سلولی از جنس تنش و کرنش را در شرایطی که تحت اثر بارهای خارجی قرار دارد مورد بررسی قرار داده‌اند [۶-۱۰]. در برخی از این شبیه‌سازی‌ها، محققین با شبیه‌سازی شرایط داخل بدن و با در نظر گرفتن هندسه‌ی واقعی سلول و محیطی که در آن قرار دارد و با استفاده از تجهیزات تصویربرداری پزشکی که در توسعه‌ی مدل سه‌بعدی به آنها کمک می‌کند، اقدام به انجام شبیه‌سازی‌های مختلف نموده‌اند [۶]. همچنین در حوزه‌ی بررسی تاثیرات هندسه‌ی داربست بر مشخصه‌های دینامیکی سیال نیز تحقیقات قابل ذکری وجود دارد. در غالب این تحقیقات نسبت به بررسی تاثیر هندسه‌ی کلی و میزان تخلخل داربست و همچنین معماری حفرات در فراهم آوردن محیط مناسب کشت از منظر خواص هیدرودینامیکی سیال، تحقیقات مناسبی انجام شده و در آنها با استفاده از نرم افزارهای شبیه‌سازی کامپیوتری نسبت به بررسی تنش برشی تجربه شده توسط سطوح مختلف سیال اقدام شده است [۱۱]. البته در اغلب این شبیه‌سازی‌ها از داربست‌های مرسوم هشت ضلعی به عنوان سازه‌ی مورد بررسی استفاده شده است و اثر چندانی از بررسی داربست‌هایی با هندسه‌های پیچیده‌تر به چشم نمی‌خورد.

بیشتر شبیه‌سازی‌های انجام شده در مورد تاثیر جریان سیال بر تنش‌ها و کرنش‌های اعمالی به سلول به‌صورت صرفا سیالاتی بوده و غالبا در آنها حضور سلول در نظر گرفته نمی‌شود و یا برای آن یک هندسه‌ی ایده آل صلب در نظر گرفته شده است که تحت تاثیر سیال تغییر حالت نمی‌دهد. در ادامه نیز تنش‌های به‌دست آمده در سطح مورد نظر را به تنش‌هایی که سلول در محیط واقعی تجربه می‌کند نسبت می‌دهند. گرچه این فرضیات می‌تواند تخمین خوبی از تنش‌های برشی اعمالی به سلول ارائه کنند، اما بهتر آن است که با استفاده از روش تحلیل برهمکنش سیال و سازه^۱ که با در نظر گرفتن حضور سلول و خواص مکانیکی آن و حل همزمان معادلات برای دامنه‌های سیال و جامد نسبت به یافتن پاسخ اقدام می‌کند، تخمین‌های دقیق تری از

تحریکات مکانیکی منتقل شونده به سلول توسط جریان سیال به دست آوریم. در زمینه‌ی کاربرد این روش تنها شبیه‌سازی‌های اندکی صورت گرفته است [۷ و ۶].

در این پژوهش، تاثیر هندسه‌ی داربست بر رژیم جریان سیال و همچنین تاثیر محل قرارگیری سلول‌ها در نقاط مختلف داربست بر روی تحریک‌های مکانیکی موثر بر سلول بنیادی از طرف جریان سیال بررسی می‌شود. نوآوری‌های تحقیق پیش‌رو استفاده از روش برهمکنش سیال و سازه در شبیه‌سازی تاثیر جریان سیال بر روی سلول بنیادی کاشته شده بر روی یک داربست با ساختار شکل گرفته از سطوح ضلعی^۲ و مقایسه عملکرد سه نوع داربست با هندسه‌های متفاوت در اثر جریان برشی است.

۲- مبانی و روش‌ها

شبیه‌سازی شرایط محیطی سلول بنیادی حین آزمایش یا در محیط کشت، پیش‌تر به طرق مختلف انجام می‌پذیرفته است، از جمله تحلیل CFD محض جریان سیال در داربست جهت یافتن تنش‌های برشی موثر [۱۲] و همچنین بررسی سلول به صورت منفرد و با استفاده از نیروهای به دست آمده و یا جابه‌جایی‌ها بدون حضور سیال [۱۳]. با وجود فواید بسیار این تکنیک‌ها، واضح است که هیچ یک از آنها نمی‌توانند به‌طور کامل نماینده‌ی شرایط بیومکانیکی محیطی سلول در حین آزمایش باشند. زیرا سلول در آزمایش واقعی تحت اثر جریان سیال دچار تغییر شکل شده و صلب فرض نمودن آن به نوعی چشم پوشی کردن از اثرات متقابل سیال و سازه و تغییر شکل‌های صورت گرفته در پاسخ واقعی سلول می‌باشد. به همین دلیل FSI با همی کمبودهای احتمالی، نسبت به روش‌های قبلی، در تحلیل شرایط سلول تحت اثر جریان، یک گام به به شرایط واقعی نزدیک‌تر است.

۲-۱- فرضیات داربست، سلول و سیال عامل

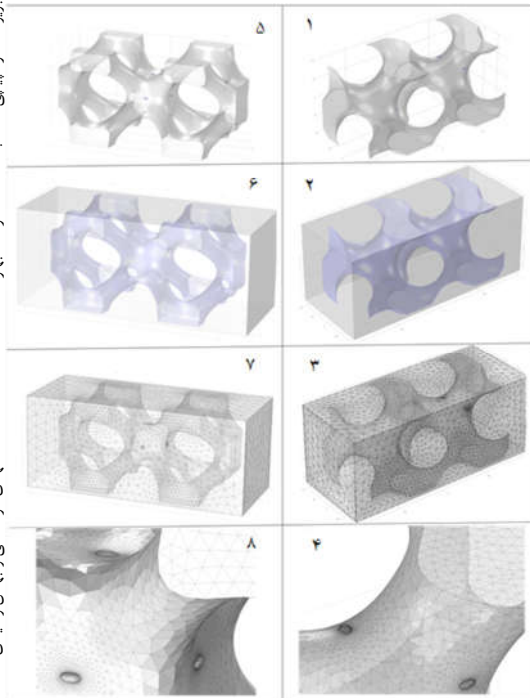
سلول بنیادی به صورت یک جسم بیضی‌گون با هندسه‌ی ایده آل در نظر گرفته شده است که مبتنی بر هندسه واقعی سلول بنیادی است که در عکس برداری‌های پزشکی مشخص شده است [۱۴]. برای این سلول مدول یانگ معادل 490 Pa [۱۵] و ضریب پواسون معادل 0.49 [۱۰ و ۹] در نظر گرفته شد. سلول مستقیما به بستر زیرین (داربست) که صلب در نظر گرفته شد، اتصال داده شد.

در این پژوهش، نسبت به نقش هندسه کلی داربست در مهیا نمودن شرایط کشت سلولی از منظر پارامترهای هیدرودینامیکی جریان همچون تنش برشی و فشار هیدرودینامیک، نگاه گسترده‌تری به کار گرفته شد. به‌همین منظور، سه مدل مختلف داربست با سطوح ضلعی که همگی از کلاس داربست‌های مدرن بوده و برخی از آنها مانند مدل با تخلخل بالا هم اکنون توسط محققین به عنوان داربست برای کشت سلول‌های بنیادی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به کار گرفته شدند. در ادامه نیز نسبت به بررسی نقش هر یک از داربست‌ها در فراهم آوردن شرایط هیدرودینامیکی لازم برای کشت سلول و همچنین پاسخ سلول‌های بنیادی کشت شده، پرداخته شد تا علاوه بر بررسی منطقه‌ای

² Implicit Surfaces

¹ Fluid Structure Interaction (FSI)

اندازه‌ی واقعی تکرار می‌شود) و به‌صورت ایده آل شرط مرزی ورودی با سرعت نرمال صفر در نظر گرفته شدند که در واقع موجب می‌شود که از این سطوح، نه سیالی خارج شود و نه به آن وارد شود و همچنین میزان تنش برشی در سطوح جانبی حجم کنترل سیال صفر در نظر گرفته شود.



شکل ۱- نمایی از دو داربست HP^۲ (سمت راست) و IWP^۳

(سمت چپ) - (۱) نمای کلی ساختار داربست HP (۲) دامنه سیال و جامد در تحلیل FSI برای داربست HP (۳) دانه بندی (Mesh) مورد استفاده برای تحلیل (۴) نمایی از سلول های جانمایی شده بر روی داربست HP (۵) نمای کلی ساختار داربست IWP (۶) دامنه سیال و جامد در تحلیل FSI برای داربست IWP (۷) دانه بندی (Mesh) مورد استفاده برای تحلیل (۸) نمایی از سلول های جانمایی شده بر روی داربست IWP

از آنجایی که از میان تحریک‌های مختلف اعمالی به سلول‌های بنیادی مزانشیمی^۴ برای تمایز به سلول‌های غضروفی- استخوانی، رژیم دینامیک جریان سیال در یک بیوراکتور PPFC برای این شبیه سازی انتخاب شد، نسبت به ایجاد هندسه‌ی یک بیوراکتور PPFC اقدام شد. این مدل شامل یک ورودی برای سیال، یک کانال باریک مابین صفحات موازی (بخشی است که داربست در آن قسمت قرار می‌گیرد) با ضخامت ۰/۲ میلی‌متر و طول کلی ۲۰ میلی‌متر و همچنین یک محفظه‌ی خروجی به ضلع ۵ میلی‌متر که سطح خروجی سیال در انتهای پایینی آن قرار دارد (شکل ۲). در همه شبیه‌سازی‌ها، داربست همراه با سلول با رعایت شرط توسعه یافتگی جریان، در منطقه‌ای در وسط این

تاثیر جریان بر روی یک سلول، تاثیر محل قرارگیری هر سلول بر روی پاسخ آن نیز بررسی شود. فرآیند انجام شبیه سازی‌های به این صورت است که ابتدا با استفاده از مدل داربست‌های مذکور یک شبیه سازی عددی جریان سیال انجام می‌شود و با توجه به نتایج آن، نسبت به جانمایی سلول‌های آزمون بر روی سطوح مختلف داربست اقدام شد. در این جانمایی، سه عامل تاثیر گذار بودند؛ اول نمودار نرخ تنش برشی حاصل از جریان بر روی سطوح داربست، دوم نمودار خطوط هم فشار در داربست و سوم موقعیت سطح خاصی از داربست نسبت به جریان سیال که در صورت جانمایی سلول بر روی آن سطح بایستی در یکی از چهار موقعیت روبرو، پشت و موازی نسبت به بردار سرعت جریان ورودی قرار گیرد. یکی از دلایل این کار این است که میزان دسترسی پذیری سلول به مواد مغذی و اکسیژن در این سه آرایش می‌تواند متفاوت باشد. در ادامه، سلول‌های آزمون به‌گونه‌ای جانمایی شدند که در نهایت حداقل دو سلول وجود داشته باشد که دو عامل از عوامل مذکور در آنها متفاوت باشد تا بتوان تاثیر آن یک عامل را بر روی تنش‌ها و کرنش‌های منتقل شده به سلول در آن شرایط بررسی نمود. به‌عنوان مثال، دو سلول در دو ناحیه با نرخ کرنش برشی و فشار هیدرودینامیکی نزدیک به هم ولی یکی با موقعیت روبرو و دیگری با موقعیت پشت به جریان مورد بررسی و مقایسه گرفتند. فارغ از این مقایسه‌های دو به دو، داربست‌ها از منظر حداکثر فضای مفید جهت کشت سلول بنیادی نیز بررسی خواهند شد. همچنین، هر داربست با توجه به هندسه‌ی خود، شرایط متفاوتی برای رژیم جریان فراهم خواهد نمود. این شرایط متفاوت منجر به ایجاد فضاهای مختلفی می‌شود؛ از جمله نواحی ورودی که جریان در آنها توسعه یافته نیست، سطوح مرده که گرادینان تنش برشی در آن نواحی با سطوح مجاور بسیار زیاد است و در نهایت سطوح دارای نرخ برشی یکنواخت که می‌توان با تنظیم سرعت ورودی به بیوراکتور و فشار خروجی در آن، میزان نرخ برش سیال در این سطوح را در بازه‌ی دلخواه (با توجه به شرایط آزمایشگاهی، سلول مورد کشت و تمایز مطلوب آزمایش) کنترل نمود. در شکل ۱ نمایی از دو داربست مورد استفاده در شبیه‌سازی و همچنین المان‌بندی انجام شده برای حل عددی آن و همین‌طور مکان‌های جانمایی سلول روی آن مشاهده می‌شود. مطابق تصویر، دامنه‌ی سیال در این دسته شبیه سازی به‌صورت باکس در شکل مشخص است. این دامنه به گونه‌ای فرض شده است که قسمتی از دامنه‌ی سیال کلی (شکل ۲) و در واقع جانمایی شده در وسط محفظه‌ی PPFC^۱ باشد. در واقع، به‌دلیل کاهش منطقی هزینه‌ی محاسباتی، قسمت کوچکی از آن دامنه‌ی بزرگ، در این شبیه سازی در نظر گرفته شد ولی تلاش شد تا شرایط مرزی برای این دامنه از نتایج به دست آمده از تحلیل CFD دامنه‌ی سیال اصلی اقتباس شود. این باکس در نظر گرفته شده دارای یک ورودی است که در آن سرعت سیال برابر با سرعت میانگین حالت کلی بوده و یک خروجی که در آن شرط مرزی فشار با توجه به فشار هیدرودینامیکی موجود در وسط PPFC در نظر گرفته شده‌اند. تمامی سطوح جانبی حجم کنترل مورد نظر نیز با توجه به شرایط تقارن (زیرا مدل داربست استفاده شده در واقع الگویی است که در داربست با

² High Porous
³ Instalation Work Package
⁴ Mesenchymal

¹ Parallel-plate flow chamber

داربست Gyroid

$$\Phi(r) = \cos(2\pi x)\sin(2\pi y) + \cos(2\pi y)\sin(2\pi z) + \cos(2\pi z)\sin(2\pi x) = 0$$

داربست HP

$$\Phi(r) = \cos(2\pi x)\sin(2\pi y) + \cos(2\pi y)\sin(2\pi z) + \cos(2\pi z)\sin(2\pi x) - 0.6 = 0$$

داربست IWP

$$\Phi(r) = 2[\cos(2\pi x)\cos(2\pi y) + \cos(2\pi y)\cos(2\pi z) + \cos(2\pi z)\cos(2\pi x)] - [\cos(4\pi x) + \cos(4\pi y) + \cos(4\pi z)] - 1 = 0$$

۲-۱-۲-۲ دامنه سیال

روابط مورد استفاده برای حل دامنه‌ی سیال در این مسأله، مطابق معادلات حاکم برای یک سیال نیوتونی در رژیم جریان لایه‌ای پایا می باشد که عبارت است از رابطه عمومی ناویر-استوکس که عبارات وابسته به زمان در آن حذف شده است (رابطه ۱). از سوی دیگر، شرط دیگری که باید در حل مسأله‌ی جریان پایا برقرار باشد، شرط پیوستگی جریان است که برای این منظور بایستی رابطه (۲) تحصیل گردد. این رابطه به معادله‌ی پیوستگی شهرت دارد. همچنین، عبارات ضخیم در این فرمول‌ها بیانگر ماهیت ماتریسی آن عبارات می باشند. همچنین همانطور که مشخص است، از ماتریس واحد برای هم مرتبه نمودن ماتریس‌ها در برخی عبارات استفاده شده است [۱۸]:

$$??(\mathbf{u}_{fluid} \cdot \nabla)\mathbf{u}_{fluid} =$$

$$\nabla \cdot \left[-p\mathbf{I} + \mu(\nabla\mathbf{u}_{fluid} + (\nabla\mathbf{u}_{fluid})^T) - \frac{2}{3}\mu(\nabla \cdot \mathbf{u}_{fluid})\mathbf{I} \right] + \mathbf{F} \quad (1)$$

$$\nabla \cdot (??\mathbf{u}_{fluid}) = 0 \quad (2)$$

در فرمول‌های بالا \mathbf{u}_{fluid} بیانگر تانسور سرعت سیال، $??$ نماینده‌ی چگالی سیال، p نماینده‌ی فشار سیال و μ نماینده‌ی لزجت دینامیکی سیال می باشد.

۲-۲-۲-۲ دامنه جامد

از آنجایی که برای سلول، از مدل مادی الاستیک خطی استفاده شده است، فرمول‌های حاکم بر این دامنه‌ها همان‌طور که در رابطه (۳) ذکر شده است، بر مبنای رابطه‌ی بین تنش و کرنش به وسیله‌ی تانسور ضرایب سختی C برای یک ماده‌ی الاستیک خطی به یکدیگر مرتبط می شوند [۱۰]:

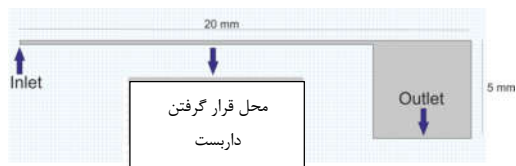
$$\sigma = s$$

$$s - s_0 = C : (\varepsilon - \varepsilon_0)$$

$$\varepsilon = \frac{1}{2} [(\nabla\mathbf{u}_{solid})^T + \nabla\mathbf{u}_{solid}] \quad (3)$$

در عبارات بالا s بیانگر تانسور تنش کوشی، C بیانگر تانسور ضرایب سختی، ε بیانگر تانسور کرنش و \mathbf{u}_{solid} بیانگر تانسور جابجایی دامنه‌ی جامد می باشد. در این تحلیل، جابجایی دامنه جامد به نسبت ابعاد مسئله کوچک می باشد.

بیوراکتور قرار گرفته است. با توجه به شرایط هندسی کانال و همچنین سرعت‌های موسوم مورد استفاده در این نوع بیوراکتورها [۱۶] عدد رینولدز در بازه‌ی جریان لایه‌ای قرار می‌گیرد و به همین دلیل در این شبیه‌سازی، رژیم جریان سیال، لایه‌ای در نظر گرفته شد. پس از آن، برای سرعت‌های ورودی مختلف، تحلیل عددی جریان سیال (CFD) بدون داربست انجام شد تا مشخصه‌های دینامیکی جریان در نقاط مختلف این دامنه به دست آید و سپس، از آن نتایج در تنظیم مقادیر مورد نیاز برای شرایط مرزی شبیه‌سازی‌های نهایی که در آنها دامنه‌ی سیال به صورت بخش کوچک‌تری از این دامنه‌ی بزرگ در نظر گرفته می‌شود، استفاده شود. سیال واسط مورد استفاده در بیوراکتورها غالباً بر پایه‌ی آب می‌باشد که عوامل تغذیه‌ای جهت فراهم نمودن محیط بیوشیمیایی لازم برای رشد سلول‌های بنیادی به آن اضافه می‌شود. از آنجا که این مواد اضافی محلول در آب تاثیر ناچیزی در تغییر خواص هیدرودینامیک آن ایفا می‌کنند، در شبیه‌سازی‌های انجام شده از خواص هیدرودینامیک آب در دمای ۳۷ درجه برای خواص سیال استفاده شد. لذا، چگالی و لزجت دینامیکی سیال عامل در بیوراکتور به ترتیب 993 Kg/m^3 و $6/8 \times 10^{-4} \text{ Pa.s}$ [۱۷] در نظر گرفته شد. شرایط جریان سیال در ورودی بیوراکتور، سرعت ورودی $0/001$ متر بر ثانیه است و در خروجی، فشار $4/17$ پاسکال [۱۶] اعمال شد.



شکل ۲- نمای از بیوراکتور و داربست جانمایی شده در آن

۲-۲-۲-۲ معادلات حاکم و شرایط مرزی

۱-۲-۲-۲ هندسه داربست

به منظور طراحی سطوح اولیه که توصیف کننده سه ساختار جیروید، داربست پر تخلخل HP و هندسه IWP هستند، از نرم افزار رسم سطوح ریاضی K3DSurf استفاده گردیده است. نحوه عملکرد این نرم افزار به این گونه است که بعد از رسم رویه‌ها، خروجی نرم افزار، مختصات کلیه نقاطی است که رویه مورد نظر را میسازند. توابع مثلثاتی سازنده این رویه‌ها در ادامه نشان داده شده است. همانگونه که قابل ملاحظه است، این توابع به صورت ضمنی و متشکل از سه متغیر x، y و z هستند. از سویی دیگر، این توابع ضمنی دارای دوره‌های تناوبی هستند که قابلیت تکرار آنها را ایجاد میکنند. به این ترتیب سادگی کنترل طراحی توجیه می‌شود. خروجی این نرم افزار، همانطور که گفته شد، مختصات نقاط تشکیل دهنده رویه است که ابر نقاط نامیده میشود. با استفاده از ابر نقاط به دست آمده در مرحله اول، در گام بعدی، با بهره‌گیری از نرم افزار Solidworks 2014 هندسه‌ها مورد اصلاح قرار گرفته و به داربست تبدیل شده‌اند. فرمول رویه سه بعدی تشکیل دهنده داربست مورد استفاده در این تحلیل به شرح زیر می‌باشد [۲۲]:

می‌تواند باشد.

جدول ۱- نوع و تعداد المان مورد استفاده در دامنه‌های شبیه سازی

Domain or Boundry	Fluid Domain		Scaffold wall	Cells	Entire geometry
	Prism	Tetrahe dral	Triangular	Tetrahe dral	
Type of Meshes Scaffold					
IWP	62264	341753	30554	27210	431227
Gyroid	67710	293284	23179	42056	403050
HP	58994	359133	24088	31153	449310

مطابق معمول تمامی شبیه سازی‌های عددی، برای این پژوهش نیز لازم است تا شبکه‌ی محاسباتی برای حل مسأله تعریف شود. با توجه به تفاوت بسیار زیاد اندازه‌ی سلول با خود داربست، لازم بود تا شبکه بندی سلول‌ها به‌طور دستی اصلاح شوند تا دقت لازم را تضمین نمایند. به همین منظور توزیع المان‌ها در محل اتصال سلول به داربست را ریزتر نمودیم تا دامنه‌ی سلولی از شبکه‌ی ریزتری برخوردار گردد. همچنین نرم افزار به طور خودکار در لایه‌ی مرزی سیال با سطوح داربست از المان‌ها منشوری برای المان‌بندی استفاده می‌نماید. علت آن است که المان چهار وجهی نمی‌تواند شرایط مناسب برای حل عددی جریان سیال در لایه‌ی مرزی مهیا نماید. برای دیگر قسمت‌های دامنه‌ی سیال و همچنین تمامی دامنه سلول از المان‌های چهار وجهی استفاده شد که بهترین گزینه برای استفاده در هندسه‌های نامتقارن است. همچنین، سطوح داربست نیز با المان‌های مثلثی شبکه‌بندی شدند که این امر نیز به دلیل هندسه‌ی فضایی و دارا بودن سطوح منحنی زیاد طبیعی به‌نظر می‌رسد. جزئیات شبکه‌ی محاسباتی به همراه تعداد و نوع المان‌ها در دامنه‌های مختلف در جدول ۱ قابل مشاهده می‌باشد.

در جهت بررسی استقلال حل از شبکه محاسباتی، با ریزتر نمودن شبکه و انجام اصلاحات در شبکه خصوصاً در نواحی مرزی و فصول مشترک سلول با سیال و همچنین داربست، دقت پاسخ‌های بدست آمده در مورد متغیرهایی که قصد گزارش آنها به عنوان نتیجه نهایی وجود دارد و یا از آن اطلاعات در استخراج نمودارها و عملیات پس پردازش استفاده شده است، بررسی شد و به همین منظور شبکه‌بندی هر مدل با توجه به هندسه آن بین ۱/۵ تا ۲ برابر ریزتر شد و به‌عنوان مثال تعداد المان‌های داربست HP تا حدود ۸۰۰ هزار المان افزایش یافت (به دلیل تفاوت در هندسه‌ی داربست‌ها امکان افزایش المان‌های هر داربست با نسبت یک عدد منحصر به فرد وجود نداشت). پس از اطمینان از اینکه با ریزتر کردن شبکه‌ی محاسباتی، پاسخ‌هایی معتبر و با خطایی میانگین در بازه‌ی ۰/۰۱ تا ۰/۰۲ برای داربست‌های مختلف و برای پارامترهای انتخابی تصادفی همچون میانگین تنش اعمالی و نرخ برشی سیال در سطح فوقانی سلول به‌دست می‌آید، در جهت

۲-۲-۳- فصل مشترک بین دامنه‌ی جامد و سیال

به‌دلیل این‌که دامنه‌های جامد و سیال هر کدام با رویکردی متفاوت مدل‌سازی و فرمول بندی می‌شوند، انتقال اطلاعات میان این دو دامنه به‌آسانی امکان پذیر نیست. زیرا در یکی از آنها از بیان لاگرانژی و در دیگری از بیان اولری برای مدل‌سازی دامنه و جابه‌جایی و انتقال اطلاعات استفاده می‌شود. به همین منظور روش FSI باید به گونه‌ای این مشکل را مرتفع نماید. تئوری مورد استفاده برای انتقال اطلاعات و پاسخ‌ها در فصل مشترک میان جامد و سیال در روش جفت شونده‌ی دو طرفه‌ی معادلات FSI، شیوه‌ی لاگرانژی-اولری دلخواه می‌باشد که با جفت کردن مرحله به مرحله‌ی اطلاعات و حل‌گرهای هر دامنه می‌تواند موجب همگرایی پاسخ‌ها، از جنس تنش‌های انتقالی و تغییر شکل سازه و تغییرات در میدان جریان در اثر آن شود [۱۹]. رابطه ریاضی این روش برای فصل مشترک میان جامد و سیال مطابق رابطه (۴) است. در این روش، دو قسمت اول مربوط به شرط تعادل سینماتیکی در فصل مشترک میان این دو دامنه می‌باشد و بخش سوم نیز مربوط به شرط تعادل دینامیکی در مرز می‌شود [۱۹]:

$$\begin{aligned} \mathbf{u}_{fluid} &= \mathbf{u}_w \\ \mathbf{u}_w &= \frac{\partial \mathbf{u}_{solid}}{\partial t} \end{aligned} \quad (2)$$

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}_w + \mathbf{F}_f + \mathbf{F}_s$$

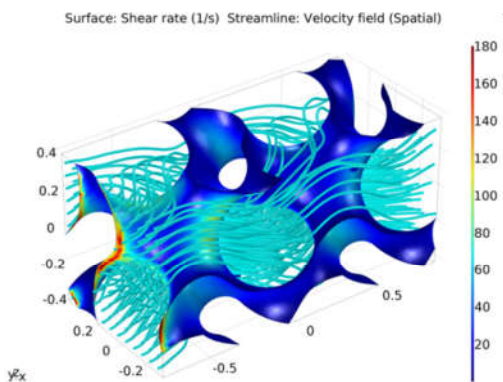
در عبارات بالا \mathbf{u}_w بیانگر تانسور سرعت دیواره‌ی فصل مشترک میان سیال و سازه می‌باشد و همچنین \mathbf{F} نماینده‌ی تنش هیدرودینامیک منتقله از دامنه‌ی سیال به دامنه‌ی جامد می‌باشد.

۲-۳- حل عددی

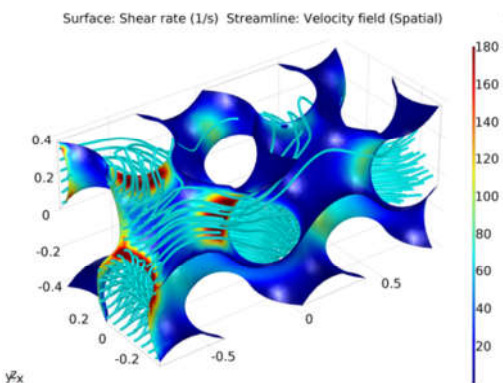
حل عددی بر مبنای روش اجزای محدود و توسط نرم افزار COMSOL صورت گرفت. حل‌گر مورد استفاده برای دامنه‌ی جامد در این تحقیق، حل‌گر مستقیم می‌باشد و در میان گزینه‌های موجود در نرم افزار کامسول، از حل‌گر MUMPS برای یافتن پاسخ‌ها استفاده شد. در این شیوه از الگوریتم پیش آرایش خودکار استفاده شد و ضریب pivot threshold برابر ۰/۱ مورد استفاده قرار گرفت. برای دامنه‌ی سیال از حل‌گر تکراری از نوع GMRES استفاده شد و همچنین از شیوه‌ی چند شبکه‌ای هندسی^۱ دو مرحله‌ای برای کاستن از مرتبه‌ی معادلات در المان‌ها و در نتیجه کاهش هزینه‌ی محاسباتی و در عین حال حفظ دقت مطلوب استفاده شد.

با در نظر گرفتن تolerانس همگرایی 1.0×10^{-4} ، تعداد تکرار در حل معادلات اصلی جفت شده‌ی دامنه‌های سیال و جامد بین ۱۰ تا ۱۵ تکرار است که البته لازم به ذکر است که در حین حل این معادلات، تکرارهای لازم برای حل‌گر تکراری جریان سیال به میزان حداکثر ۲۰۰ تکرار در هر مرحله صورت گرفت. این میزان از تکرار با توجه به پیچیدگی هندسه، تعداد المان‌ها و تعداد درجات آزادی، تا حداکثر ۱۴ ساعت برای یک حل در شبیه سازی می‌رسد که علت آن نیز پیچیدگی بیشتر هندسه و سه‌بعدی بودن دامنه و همچنین تعداد المان‌های بیشتر

^۱ Geometric Multigrid



شکل ۴- نرخ کرنش برشی و خطوط جریان برای داربست HP



شکل ۵- نرخ کرنش برشی و خطوط جریان برای داربست Gyroid

از انجام شبیه‌سازی، پاسخ‌های سلولی به‌دست آمده از جنس تنش و کرنش مورد تحلیل قرار گرفت. با توجه به‌اینکه این دسته شبیه‌سازی برای ۳ داربست مختلف انجام پذیرفت، نتایج برای هر داربست به ترتیب بیان خواهند شد.

۳-۲-۱- داربست IWP

در این مدل داربست، به‌دلیل کمتر بودن پیچیدگی سطوح نسبت به سایر داربست‌های مورد مقایسه، تعداد مکان‌هایی که سلول مورد جانمایی قرار گرفت نیز به‌مراتب کمتر است. در این داربست، یک سلول رو به جریان و یکی دیگر پشت به جریان قرار گرفته‌اند و دو سلول موازی با جریان نیز در دو سطح مختلف قرار گرفته‌اند. همچنین دو سلول دیگر نیز در سطوح مورب که تنش برشی بیشتری دارند، جانمایی شدند. نتایج تنش برشی محاسبه شده بر روی سطح سلول در شکل ۷ نشان می‌دهد که سلول اول که در سطح و روبرو به جریان قرار دارد، کمترین میزان تنش برشی را متحمل می‌شود. علت آن است که چون سرعت سیال در سطحی که این سلول جانمایی شده است، بسیار پایین است و این سطح به‌مانند یک مانع در جهت حرکت سیال رفتار می‌کند، در نتیجه تنش‌های حاصل از حرکت سیال بر روی این سلول در مقایسه با سلول‌های دیگر که سیال با سرعت بالاتری در مجاورت آنها در حرکت است، کمتر است. همچنین، این نتیجه نمایانگر آن است که این سطح برای کشت سلول چندان مناسب نیست؛ زیرا شرایط هیدرودینامیکی جریان بر روی این سطح تفاوت بسیاری با سایر سطوح

کاستن از هزینه‌ی محاسباتی از شبکه‌ای با اندازه مطلوب (جدول ۱) که به روش مذکور دقت آن اثبات شده بود، استفاده گردید.

۳- نتایج

۳-۱- تاثیر هندسه‌ی داربست بر نرخ کرنش برشی و

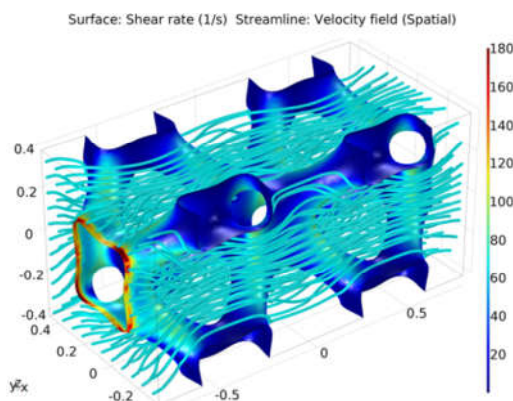
خطوط جریان

تحلیل‌های عددی جریان سیال برای داربست‌های طراحی شده صورت گرفت تا وضعیت سطوح مختلف این داربست‌ها از منظر مشخصه‌های جریان سیال یعنی نرخ کرنش برشی سیال و فشار هیدرودینامیکی در حضور جریان سیال به‌دست آید. این کار برای بررسی این موضوع است که اولاً آیا می‌توان به‌نوعی با تنظیم سرعت‌های ورودی و فشارهای خروجی (عواملی که در یک بیوراکتور PPFC قابل تنظیم از سوی کاربر هستند)، به بازه‌هایی بهینه از این مقادیر برای کشت سلول‌های بنیادی جهت تمایز به سلول‌های مختلف دست یافت و دوم اینکه به‌طور کلی کدام قسمت‌ها و سطوح داربست برای این کار مناسب خواهند بود و آیا گرادیان این مقادیر بر روی سطوح به گونه خواهد بود که بتوان حداکثر استفاده را از سطوح موجود یک نوع داربست خاص نمود. خروجی این قسمت از تحلیل، مقایسه بین داربست‌های مختلف است و اینکه کدام یک شرایط بهینه‌تری را برای کشت یک نوع سلول خاص فراهم می‌نماید. میزان نرخ برشی سیال در سطوح داربست و همچنین خطوط جریان برای سه داربست HP، Gyroid و IWP به‌ترتیب در شکل‌های ۳-۵ مشخص‌اند.

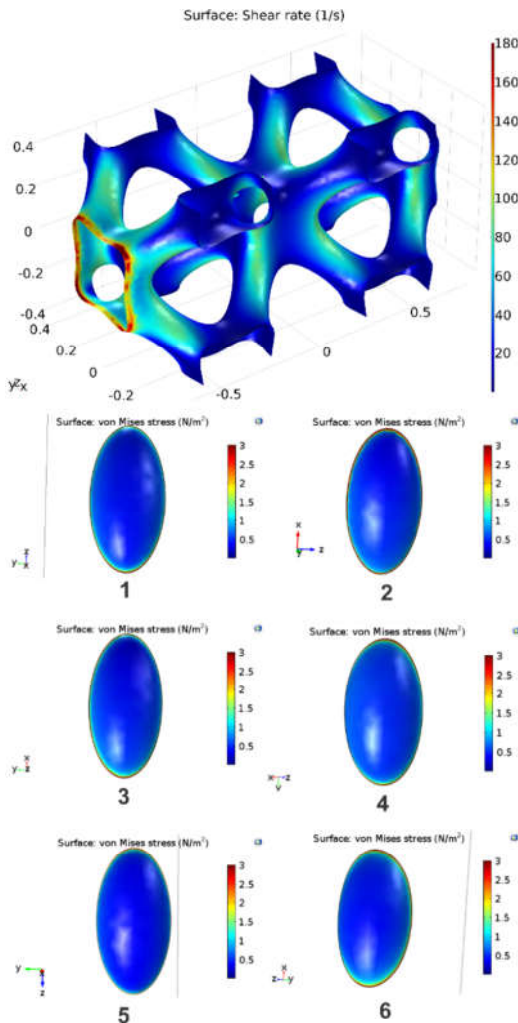
۳-۲- تاثیر هندسه‌ی داربست بر روی تنش‌های اعمالی به

سلول

یکی از قسمت‌های اصلی شبیه‌سازی تحقیق حاضر، بررسی تاثیر هندسه‌ی کلی داربست بر روی تنش‌های منتقل شده از جریان سیال به سلول بنیادی جانمایی شده در قسمت‌های متفاوت آن می‌باشد. در این مطالعه، با جانمایی سلول بنیادی در نقاط مختلف یک داربست دارای سطوح ضمنی، سه عامل نرخ برشی، فشار هیدرودینامیکی و موقعیت قرارگیری سلول نسبت به جهت بردار سرعت ورودی بررسی شد و پس



شکل ۳- نرخ کرنش برشی و خطوط جریان برای داربست IWP



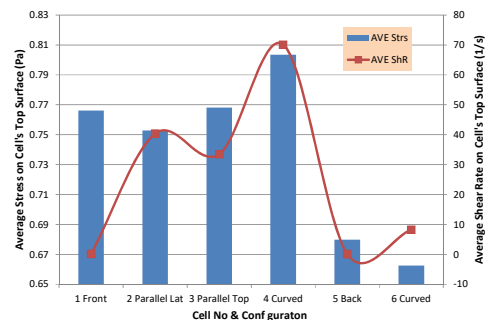
شکل ۷- نرخ کرنش برشی در قسمت‌های مختلف سطح داربست IWP (بخش بالای شکل) و همچنین نمودار رنگی تنش فون مایز وارد بر سلول‌های جانمایی شده در نقاط مختلف داربست (سلول‌های شماره ۱ الی ۶)

۲-۲-۳- داربست HP

در این داربست نیز پنج سلول مختلف جانمایی شد و همانند دیگر مدل‌ها سعی شد تا این پنج سلول در سطوح مختلف از داربست که دارای بازه‌ی نرخ برش متفاوتی بودند، جانمایی شوند. همچنین حالت قرارگیری این سلول‌ها نسبت به بردار نرمال جریان ورودی نیز در نمودارها مشخص شده است. لازم به ذکر است که تفاوت فشار هیدرودینامیکی زیادی مابین سطوح مختلف داربست مشاهده نشد. شکل ۸ نمایان‌کننده‌ی نرخ برش در نقاط مختلف داربست و همچنین تنش اعمالی به سلول‌های مختلف جانمایی شده بر سطوح مختلف آن می‌باشد. همچنین در شکل ۹ می‌توان میانگین تنش وارده به سطح فوقانی سلول و همچنین نرخ برش سیال در همان سطح را برای سلول‌های مختلف جانمایی شده در این داربست مشاهده نمود.

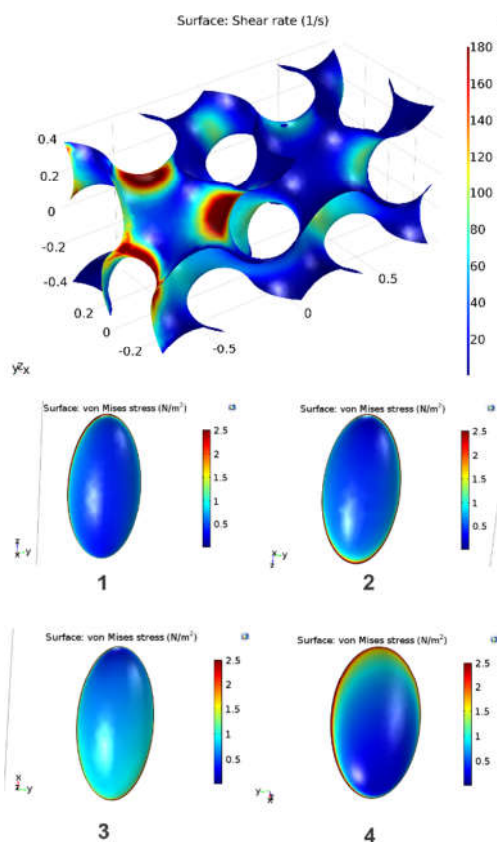
همین داربست دارد. اعداد به دست آمده برای میزان تنش میانگین و همچنین نرخ برشی سیال بر روی سطح بالایی سلول بنیادی جانمایی شده در نقاط مختلف داربست در شکل ۶ آمده است.

همان‌گونه که به کمک تحلیل اولیه CFD نیز پیش‌بینی شد، این داربست سطوح بهینه‌تری برای کشت سلول در اختیار قرار می‌دهد. اگر از گرادیان زیاد نرخ برش در نواحی ورودی که غیر قابل اجتناب‌اند صرف‌نظر شود، در $\frac{3}{4}$ انتهایی داربست یک گرادیان نرخ برش با شیب بسیار ملایم در سطوح مختلف این داربست مشاهده خواهد شد. یکی از دلایل این امر این است که معماری حفرات این داربست به‌گونه‌ای است که کمک می‌کند تا سیال به‌خوبی و در همه‌ی کانال‌ها به یک میزان جریان داشته باشد که این امر هم در رسانایی عوامل رشد و اکسیژن به نواحی مختلف داربست و جلوگیری از مرگ سلولی موثر است و هم شرایط هیدرودینامیکی لازم از قبیل تنش برشی و فشار هیدرودینامیکی لازم برای کشت یک نوع سلول خاص را در اکثر نقاط داربست فراهم می‌آورد. به‌همین دلیل، می‌توان انتظار داشت که در صورت فراهم بودن سایر شرایط زیستی، با تنظیم نمودن سرعت‌های ورودی و فشار خروجی در بیوراکتور، شاهد رشد و تمایز سلول‌های بنیادی جانمایی شده در بسیاری از سطوح این داربست باشیم.

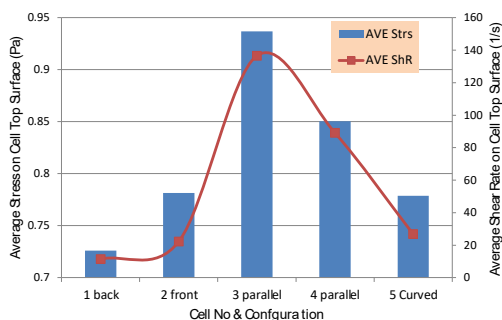


شکل ۶- میانگین نرخ برش و تنش اعمالی در سطح بالایی سلول‌های کاشته شده در نقاط مختلف داربست IWP

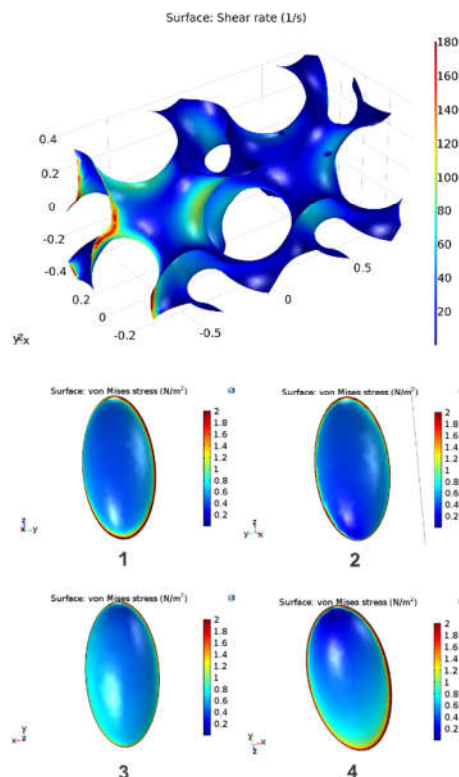
ابتدایی داربست قرار ندارند. مشابه با شرایط دو داربست پیشین، این پنج سلول نیز در سطوحی با بازه نرخ برشی متفاوت جانمایی شدند و شبیه سازی به منوال دو داربست قبلی صورت پذیرفت. همچنین موقعیت قرار گیری هر سلول نسبت به بردار نرمال جریان ورودی نیز در شکل ۱۰ مشخص شده است. همچنین، میانگین تنش‌های اعمالی به سطح فوقانی سلول و همچنین نرخ برش سیال در همان سطوح برای سلول‌های مختلف جانمایی شده در نقاط مختلف داربست در شکل ۱۱ قابل مشاهده است.



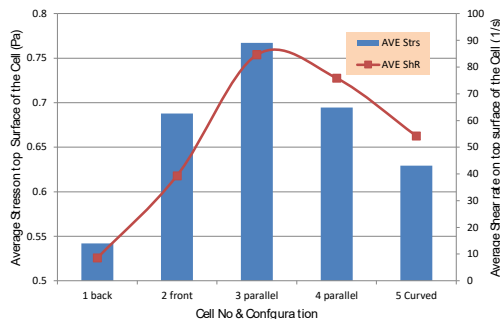
شکل ۱۰- نرخ کرنش برشی در قسمت‌های مختلف سطح داربست Gyroid (بخش بالایی) و همچنین نمودار رنگی تنش ون مایزر وارد بر سلول‌های جانمایی شده در نقاط مختلف داربست (شماره ۱ تا ۴)



شکل ۱۱- میانگین مقدار نرخ تنش برشی و تنش نرمال اعمالی و در سطح بالایی سلول‌های کاشته شده در نقاط مختلف داربست Gyroid



شکل ۸- نرخ کرنش برشی در قسمت‌های مختلف سطح داربست HP (بخش بالای شکل) و همچنین نمودار رنگی تنش ون مایزر وارد بر سلول‌های جانمایی شده در نقاط مختلف داربست (شماره ۱ الی ۴)



شکل ۹- میانگین مقدار نرخ تنش برشی و تنش نرمال اعمالی در سطح بالایی سلول‌های کاشته شده در نقاط مختلف داربست HP

۳-۲-۳- داربست Gyroid

سومین داربست مورد استفاده در شبیه‌سازی، داربست Gyroid می‌باشد که از نظر طراحی سطوح آن، شباهت بسیاری با داربست HP دارد، با این تفاوت که میزان تخلخل در این داربست کمتر از داربست HP می‌باشد. به همین دلیل می‌توان در این داربست نیز رفتاری مشابه رفتار سیال در داربست HP را از منظر رسانش سیال و به تبع آن اکسیژن و مواد غذایی به نقاط مختلف دامنه را انتظار داشت. البته همانطور که در شکل ۱۰ مشخص است، کمتر شدن سطح مقطع عبور جریان باعث افزایش نرخ برشی سیال در سطوح مختلف این داربست خصوصاً در نواحی ورودی شده است. به همین منظور، هیچ‌یک از ۵ سلولی که در این داربست جانمایی شده اند، در ناحیه‌ی ۳۰ درصد

۴- بحث

در این مطالعه از داربستهای دارای سطوح ضمنی جهت مدولاسیون مکانیکی سلولهای بنیادی در جهت تمایز به سلولهای غضروفی - استخوانی استفاده شد. این دسته از داربستها جزو داربستهای مدرن مورد استفاده در مهندسی بافت می باشند و پیش از این در هیچ پژوهشی به همراه سلولهای بنیادی جانمایی شده بر روی آن مورد بررسی برهمکنش سیال و سازه قرار نگرفته اند؛ بر خلاف داربستهای دارای طراحی سنتی همچون داربستهای دارای حفرات شش وجهی^۱ که پیشتر با این تکنیک بررسی شده بودند [۲۰ و ۱۱]. در این پژوهش، اثر هندسه کلی داربست و همچنین تاثیر محل قرار گیری سلول در نقاط مختلف بر تنشهای تجربه شده توسط آن بررسی شد. نکته اولی که در بررسی نمودارها و نتایج به دست آمده در این قسمت یافت می شود، این است که هر داربست چه میزان از سطوح خود را برای فراهم نمودن شرایط مناسب کشت برای یک نوع سلول خاص و با هدف تمایز به یک سرنوشت اختصاصی، در اختیار قرار می دهد. با مقایسه نمودارهای نرخ برش به دست آمده در سطوح مختلف سه داربست، به خوبی متوجه می شویم که داربست HP به دلیل نرخ برشی یکنواختتر و گرادیان کمتر این پارامتر در سطوح مختلف آن، میزان سطوح بیشتری را برای کنترل شرایط آزمایش در اختیار قرار می دهد. این نتیجه به این معنی است که در صورتی که برای کشت یک نوع سلول خاص لازم باشد تا حتما تنش برشی در بازه‌ی مشخصی قرار گیرد، می توان با تنظیم سرعت‌های ورودی در این داربست، سطوح بیشتری را متناسب با آن بازه تنش برشی فراهم آوریم که این نکته امر بسیار مهمی در حوزه توانایی تاثیر گذاری بر سرنوشت سلول بنیادی می باشد. در صورتی که از منظر این پارامتر یعنی یکنواختتر بودن تنش برشی در سطوح مختلف بنگریم، داربست Gyroid در مرتبه دوم قرار می گیرد. این داربست نیز به دلیل مشابهت در طراحی و هندسه با داربست HP شرایط نسبتا متعادلی برای تنش برشی در سطوح مختلف در اختیار می گذارد. البته به شرطی که از نتایج به دست آمده در نواحی ورودی به دلیل توسعه یافته نبودن جریان خودداری نماییم. نقطه‌ی تفاوت این داربست در تخلخل کمتر آن نسبت به HP و در نتیجه، کمتر بودن سطح مقطع عبور سیال در آن است که موجب می شود تا در برخی سطوح شاهد گرادیان تنش برشی بیشتری باشیم. داربست سوم یا همان IWP به رغم اینکه به دلیل هندسه‌ی حفرات آن از افت فشار کمتری در طول مسیر برخوردار است، اما دارای سطوح مرده‌ی بسیاری است؛ به نحوی که میزان نرخ تنش برشی در برخی سطوح آن به نسبت سطوح دیگر تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر می باشد. به همین دلیل و با هر تنظیمی که بر روی سرعت ورودی صورت پذیرد، در نهایت در دسته‌ی قابل توجهی از این سطوح، بازه‌ی تنش برشی مورد نیاز جهت کشت سلول مهیا نمی شود.

مطابق نتایج شبیه سازی ها، میانگین تنش های اعمالی به سلول های مختلف جانمایی شده در این داربست ها، در بازه‌ی ۰/۵۵ - ۰/۹ پاسکال به دست آمد. این نتیجه با نتایج آزمایشگاهی گزارش شده در خصوص حداقل مقدار تنش لازم جهت تحریک مکانیکی سلول از

جانب سیال [۲۱]، مطابقت بسیار خوبی دارد. این در شرایطی است که شرط مرزی فشار خروجی که مقادیر آن با توجه به ایجاد پس فشار^۲، تاثیر بسیاری بر تنشهای وارده به سلول دارد، در حداقل مقدار یعنی صفر پاسکال در نظر گرفته شده است. با افزایش این متغیر در زمان آزمایش، به راحتی می توان به کمینه مقدار تنش لازم جهت تحریک سلول دست پیدا کرد.

نتایج به دست آمده در این شبیه سازی ها برای فهم بهتر برهمکنش میان سیال، سلول و داربست و همچنین شرایط محیطی سلول در مقیاس میکرو بسیار سودمند است، زیرا می توان پیش از ساخت داربستی خاص نسبت به بهینه سازی طراحی آن اقدام نمود و حتی در حین آزمایش، مقادیر قابل تنظیم از جریان سیال یعنی سرعت ورودی و فشار خروجی را به گونه‌ای تنظیم نمود که سلول های مورد کشت در محیط آزمایشگاهی در بهینه ترین حال ممکن قرار گیرند.

گرچه پارامترهای موثر بر تنظیمات سرنوشت سلول بنیادی بسیار زیاد و غالبا دارای طبیعت پیچیده‌ای بوده و سازوکارهای عملکردی اغلب آن ها به طور کامل شناسایی نشده است، ولی منطقی به نظر می رسد که بتوان عوامل شناسایی شده را تا حدودی کنترل نمود. به عنوان مثال، در مورد تمایز در راستای بافت غضروفی-استخوانی، در صورتی که قرار است از تکنیک یک داربست واحد برای هر دو قسمت غضروفی و استخوانی استفاده شود، پیشنهاد می گردد تا میزان اثرگذاری داربست دارای گرادیان تخلخل، بر روی مشخصه های هیدرودینامیکی موثر سیال را بررسی نمود. گرادیان تخلخل موجب می شود که یک ناحیه با گرادیان تنش برشی و فشار هیدرودینامیکی زیاد (ناحیه با تخلخل پایین) و همچنین یک ناحیه با گرادیان ملایم تر از این دو پارامتر در یک داربست به وجود بیاید که نتیجه‌ی آن اعمال تحریکات مکانیکی متفاوت در دو قسمت خواهد بود. همچنین می توان هندسه کلی داربست، معماری حفرات و ضخامت بستر آن را برای هر قسمت بهینه سازی نمود، به طوری که در مقیاس بزرگ و از منظر بیرونی شاهد یک داربست واحد باشیم ولی طراحی داخلی داربست و آن قسمتی که مربوط به ریز محیط^۳ سلول کشت شده می شود، متفاوت باشد. از آنجایی که تکنیک های پرینت سه بعدی روز به روز در حال گسترش هستند، می توان بر روی این فناوری برای ساخت عملی چنین داربست بهینه شده‌ای حساب ویژه‌ای باز کرد.

جهت پژوهش های آتی و برای بررسی تاثیر هندسه‌ی کلی سلول می توان به سراغ سایر طراحی های موجود از شبکه های مختلف حفرات در داربست ها نیز حرکت نمود و شرایط برهمکنش میان سلول و داربست در آنها را نیز مورد بررسی قرار داد. همچنین، تغییر مدل مکانیکی انتخاب شده برای سلول از مدل های الاستیک خطی به مدل های پیچیده تر همچون ویسکوالاستیسیته نیز برای ادامه کار به اذهان متبادر می شود. به علاوه، می توان برخی فیزیک های دیگر را نیز در حل مسأله دخالت داد. به عنوان مثال، فارغ از اثر هیدرودینامیکی جریان سیال، می توان توزیع و غلظت مواد محلول در دامنه‌ی سیال در نقاط مختلف داربست را نیز به دست آورد و نحوه‌ی توزیع غلظت اکسیژن و مواد غذایی در حفره های مختلف داربست را بررسی نمود.

² Back Pressure

³ Microenvironment

¹ Hexagonal

- with the extracellular matrix. *Cell Stem Cell*, Vol. 5, pp. 17-26, 2009.
- [5] Guilak F. and Mow V.C., The mechanical environment of the chondrocyte: a biphasic finite element model of cell-matrix interactions in articular cartilage. *Journal of biomechanics*, Vol. 33, No. 12, pp. 1663-1673, 2000.
- [6] Verbruggen S.W., Vaughan T.J. and McNamara L.M., Fluid flow in the osteocyte mechanical environment: a fluid-structure interaction approach. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, Vol. 13, No.1, pp. 85-97, 2014.
- [7] Vaughan T.J., Haugh M.G. and McNamara L.M., A fluid-structure interaction model to characterize bone cell stimulation in parallel-plate flow chamber systems. *Journal of The Royal Society Interface*, Vol. 10, pp. 20120900:1-10, 2013.
- [8] Katzungold R., Shoham N., Benayahu D. and Gefen A., Simulating single cell experiments in mechanical testing of adipocytes. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, Vol. 14, No. 3, pp. 537-547, 2015.
- [9] Barreto S., Clausen C.H., Perrault C.M., Fletcher D.A. and Lacroix D., A multi-structural single cell model of force-induced interactions of cytoskeletal components. *Biomaterials*, Vol. 34, No. 26, PP. 6119-6126, 2013.
- [10] Barreto S., Perrault C.M. and Lacroix D., Structural finite element analysis to explain cell mechanics variability. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, Vol. 38, pp. 219-231, 2014.
- [11] Zhao F., Vaughan T.J. and McNamara L.M., Multiscale fluid-structure interaction modelling to determine the mechanical stimulation of bone cells in a tissue engineered scaffold. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, Vol. 14, No. 2, pp. 231-243, 2015.
- [12] Olivares A.L. and Lacroix D., Computational methods in modeling of scaffolds for tissue engineering. *Studies in mechanobiology, tissue engineering and biomaterials*. Book chapter. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 107-126, 2013.
- [13] Katzungold R., Shoham N., Benayahu D. and Gefen A., Simulating single cell experiments in mechanical testing of adipocytes. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, Vol. 14, No. 3, pp. 537-547, 2015.
- [14] Long M., Sato M., Lim C.T., Wu J., Adachi T. and Inoue Y., Advances in experiments and modeling in micro-and nano-biomechanics: a mini review. *Cellular and Molecular Bioengineering*, Vol. 4, No. 3, pp. 327-339, 2011.
- [15] Sun, Y., Chen, C.S., and Fu, J., Forcing Stem Cells to Behave: A Biophysical Perspective of the Cellular Microenvironment. *Annual Review of Biophysics*, Vol. 41, pp. 519-542, 2012.
- [16] Fridley K.M., Kinney M.A. and McDevitt T.C., Hydrodynamic modulation of pluripotent stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*, Vol. 3, No. 6, pp. 45:1-9, 2012.
- [17] Fox R.W., McDonald A.T. and Pritchard P.J., Introduction to fluid mechanics. Vol. 7. New York: John Wiley & Sons, 1985.
- [18] Lai W.M., Rubin D. and Krempl E., Introduction to continuum mechanics. Butterworth-Heinemann, 2009.
- [19] Donea J., Huerta A., Ponthot J.P. and Rodríguez-Ferran, A., Arbitrary Lagrangian-Eulerian Methods. *Encyclopedia of Computational Mechanics*, Chapter 14, pp. 1-25, 2004.
- [20] Zhao F., Vaughan T.J. and McNamara L.M., Quantification of fluid shear stress in bone tissue engineering scaffolds with spherical and cubical pore architectures. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, Vol. 15, No. 3, pp. 561-577, 2015.
- [21] Huang H., Kamm R.D. and Lee R.T., Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, Vol. 287, No. 1, pp. C1-C11, 2004.
- [22] Bakhshian Nik A, Vahidi B. Simulation of the Effects of Shear Flow of the Culture Medium Fluid on Stem Cells using the Scaffolds of Hard Tissue Engineering. *Modares Journal of Biotechnology*. 2019;10(4):635-646

پیشنهاد آخر نیز معطوف به ادغام شبیه‌سازی‌ها می‌باشد؛ بدین صورت که تا جای ممکن، اثرات مختلف مدولاسیون مکانیکی را در یک دسته شبیه‌سازی بررسی و نتایج را با حالتی که تنها یک عامل در شبیه‌سازی حضور دارد و بقیه عوامل ایزوله شده‌اند، مقایسه نمود. البته تعدد عوامل و دامنه‌ها در شبیه‌سازی و همچنین افزایش فیزیک‌های دخیل در حل مسئله، نیازمند طراحی دقیق فرایند شبیه‌سازی و همچنین بهره‌مندی از سیستم‌های محاسباتی با توان بسیار بالا جهت انجام چنین شبیه‌سازی‌هایی خواهد بود.

۵- نتیجه‌گیری

در این تحقیق با استفاده از روش‌های اجزای محدود، اثر هندسه کلی داربست و حفرات آن و همچنین محل قرارگیری سلول در داربست، بر روی تنش‌ها و کرنش‌های اعمالی به سلول از جانب سیال بررسی شد. برای همین منظور، سه نوع داربست سه بعدی متخلخل به نام‌های IWP، HP و Gyroid به‌کار گرفته شد و با جانمایی سلول در نقاط مختلف این داربست‌ها و انجام شبیه‌سازی برهمکنش سیال-سازه برای آن، نمودارها و مقادیر میانگین تنش تجربه شده توسط سلول و همچنین نرخ برشی سیال در سطوح مختلف داربست به‌دست آمد. اولین نوآوری این تحقیق استفاده از روش برهمکنش سیال و سازه جهت بررسی برخی از اثرات مدولاسیون مکانیکی بر سلول بنیادی است. نوآوری دیگر در زمینه استفاده از داربست‌های تولید شده به روش سطوح ضمنی در شبیه‌سازی می‌باشد. نتایج در این قسمت نیز به خوبی موید تفاوت این سه داربست در فراهم آوردن شرایط بهینه هیدرودینامیک برای کشت یک نوع سلول خاص می‌باشند. نتیجه‌ی این بررسی ارجحیت استفاده از داربست‌های HP و در مرحله‌ی بعدی داربست‌های Gyroid را مشخص نمود. انجام این پژوهش در راستای فراهم آوردن بستری مناسب جهت انجام شبیه‌سازی داربست‌های دارای سطوح ضمنی پیش از ساخت نمونه‌ی واقعی و اصلاح و بهینه‌سازی آنها برای کاربردی خاص در پزشکی بازساختی می‌باشد. در واقع به کمک این شبیه‌سازی می‌توان متغیرهای موثر بر کشت سلول از جمله تنش برشی موثر دیواره و تنش فشاری بر روی سلول را شبیه‌سازی و پیش‌بینی نمود.

۶- مراجع

- [1] Melchels F.P., Tonnarelli B., Olivares A.L., Martin I., Lacroix D., Feijen J., Wendt D.J. and Grijpma D.W., The influence of the scaffold design on the distribution of adhering cells after perfusion cell seeding. *Biomaterials*, Vol. 32, No. 11, pp. 2878-2884, 2011.
- [2] Melchels F.P., Barradas A.M., van Blitterswijk C.A., de Boer J., Feijen J. and Grijpma D.W., Effects of the architecture of tissue engineering scaffolds on cell seeding and culturing. *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, No. 11, pp. 4208-4217, 2010.
- [3] Melchels F.P., Bertoldi K., Gabbriellini R., Velders A.H., Feijen J. and Grijpma D.W., Mathematically defined tissue engineering scaffold architectures prepared by stereolithography. *Biomaterials*, Vol. 31, No. 27, pp. 6909-6916, 2010.
- [4] Guilak F., Cohen D.M., Estes B.T., Gimble J.M., Liedtke W., Chen C.S., Control of stem cell fate by physical interactions