

شبیه سازی محاسباتی تحریک مکانیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت نیروی کشش چرخه‌ای تک‌محوره

بهمن وحیدی*

تهران، ایران

فاطمه میراخوری

نوشین حقیقی‌پور

پوریا اسماعیلی

دانشیار، بخش مهندسی پزشکی، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
دانشیار، بانک سلولی ایران، انستیتو پاستور ایران
کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

در پاسخ به نیروهای خارجی، سلول‌های چسبیده به سطح از حالت آرایش تصادفی به حالت منظم و یکنواخت بسته به کشش اعمالی، بازآرایی می‌شوند. در سطح زیر سلولی، اسکلت سلولی و همچنین رشته‌های تنشی با قطبی شدن، نیروهای داخلی انقباضی ایجاد می‌کنند که موجب بازآرایی سلول‌ها در زاویه‌ای مشخص می‌شوند. در پژوهش حاضر، به بررسی محاسباتی پاسخ تک سلول به کشش چرخه‌ای زیرلایه پرداخته شده است. نوآوری پژوهش، شبیه‌سازی تغییرات مورفولوژی سلول بنیادی با استفاده از مدل ویسکو الاستیک است. به این منظور، تک سلول با توجه به ابعاد سلول‌های بنیادی مزانشیمی در نرم‌افزار comsol طراحی گردید. کرنش چرخه‌ای تک محوره به زیرلایه اعمال شد و فرکانس اعمال این کرنش به عنوان پارامتری متغیر بررسی شد. زاویه‌ی خوابیدگی سلول روی بستر از ۳۴ تا ۹۰ درجه تغییر داده شد. مدول الاستیک بستر و تغییرات کرنش اعمالی نیز در مقادیر مختلف بررسی شد. نتایج به‌دست آمده حاکی از وابستگی شدید توزیع تنش روی سطح سلول و هسته به زاویه‌ی خوابیدگی است و نشان داد که سلول در زاویه‌ی تقریبی ۷۰ درجه نسبت به راستای بارگذاری کمترین تنش و کرنش را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سلول بنیادی مزانشیمی، کرنش چرخه‌ای تک محوره، مورفولوژی سلول، زاویه‌ی خوابیدگی.

Computational Simulation of Mechanical stimulation of Mesenchymal Stem Cells under Uniaxial Cyclic Tensile Stress

B. Vahidi
F. Mirakhorli
N. Haghighipour
P. Esmaeli

Department of Life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran
Department of Life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran
National Cell Bank of Iran, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
Department of Life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran

Abstract

To respond to the external forces, adherent cells are reoriented from random orientation to an ordered and homogeneous one, regarding the applied strain direction. Furthermore, in subcellular scale, cytoskeleton and stress filaments with polarization generate inner contractile forces leading to a reorientation of the cell at a specific angle. In the present study, morphological changes of mesenchymal stem cells under cyclic strain toward myogenic differentiation were analyzed. Simulation of stem cell morphological changes using a nonlinear mechanical model (viscoelastic) is the innovative aspect of this research. To do so, mesenchymal stem cells with real size by the use of finite element method were designed in the Comsol software. Furthermore, time-dependent mechanical properties were applied. The uniaxial cyclic strain is applied to the substrate, and the frequency of the strain was considered as one of the variables. The lying angle of the cell on the substrate was varied from 34 to 90°. Also, Young's modulus of the substrate and the role of strain alteration were investigated. The results revealed that the stress distribution on the cell and the nucleus are strongly dependent on the lying angle. The approximate angle in which the stress and strain is minimum was calculated about 70 degrees.

Keywords: Mesenchymal stem cell, Uniaxial cyclic strain, Cell morphology, Lying angle.

توانایی سلول در پذیرش، احساس و پاسخ به نیروهای اعمالی، اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. این برهم‌کنش‌های میکرو و نانو-مکانیکی می‌توانند تغییرات ماکروسکوپی نظیر حفظ شکل سلول، حرکت، چسبندگی و تغییر شکل آن را موجب شوند. افزون بر این، در ابعاد میکروسکوپی اتفاقاتی از قبیل دریافت و درک سیگنال‌های مکانیکی توسط سلول و تبدیل آن‌ها به پیام‌های شیمیایی حادث می‌شود و

۱- مقدمه

سلول جز اصلی ساختار بدن موجودات زنده است و به عنوان واحد اساسی کارکردی تلقی می‌شوند. سلول خود از اجزای متعدد با خصوصیات مکانیکی مختلف تشکیل شده است. برای انجام عملکردها و کارکردهای مختلف، سلول‌ها تحت دامنه‌ی وسیعی از تحریکات داخل و خارج سلولی قرار می‌گیرند و به‌طور مداوم در حال برهم‌کنش با میکرومحیط اطراف خود هستند. اهمیت برهم‌کنش‌های مکانیکی، یعنی

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

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۹

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۲۷

مجموع این عوامل و تغییرات منجر به ایجاد پاسخ‌های زیستی از طریق عملکردهای بیولوژیکی از قبیل مهاجرت، تغییرات ریخت‌شناسی^۱ و تغییر در بیان ژن و سنتز و تولید پروتئین از سوی سلول می‌شود [۱] و [۲]. همچنین تمایزهای نامطلوب مانند تصلب شرایین و آسم را می‌توان ناشی از پاسخ سلول به تحریکات بیومکانیکی ویژه دانست [۳].

سلول بنیادی به سلولی با توانایی تمایز به انواع سلول‌ها گفته می‌شود. سلول‌های بنیادی به دو دسته جنینی و بالغ تقسیم می‌شوند. سلول جنینی در مرحله بلاستوسایت بدست می‌آیند. این سلول‌ها توانایی تمایز به همه ارگان‌های بدن را دارند. سلول‌های بنیادی جنینی تنها سلول‌هایی هستند که چنین توانایی را دارند. سلول بنیادی بالغ، سلول متمایز نشده‌ای است که در بافت‌های انسان بالغ حضور دارد [۴].

تمایز سلولی فرآیندی است که طی آن سلول‌های چندتوانی در ارگانیزم‌های در حال پیشرفت، ویژگی‌های سلولی ویژه‌ای را بدست می‌آورند که آن‌ها را از رده‌ی سلولی قبلی متمایز می‌کند. در این جریان عوامل مختلفی مانند عامل شیمیایی محیط کشت، عوامل هندسی و محیط مکانیکی اثر گذار است. مکانیک سلولی و بارگذاری‌های مکانیکی، قیود هندسی، کرنش‌های مکانیکی و تنش‌های برشی و خواص مکانیکی بستری که سلول بنیادی روی آن کشت شده است، از عوامل مهم و حیاتی در رشد، تکثیر و تمایز سلول و در نهایت عملکرد بافت مهندسی شده محسوب می‌شوند [۵]. تغییرات سلولی که از طریق تحریکات مکانیکی اعمال می‌شوند، از نظر بیولوژی و آسیب‌شناسی برای بسیاری از بافت‌های بدن اهمیت دارد [۶]. برای مثال، در تمایز استخوانی از کرنش‌های چرخه‌ای تک‌محوره و دو محوره، در تمایز غضروفی از تنش فشاری چرخه‌ای، فشار هیدرواستاتیک، ترکیب تنش برشی و فشاری، در تمایز تاندون و لیگامان از کرنش‌های طولی و کرنش پیچشی و دو محوره، در تمایز به اندوتلیال از تنش برشی و ترکیب کرنش چرخه‌ای تک محوره به همراه تنش برشی و در تمایز به سلول‌های ماهیچه‌ای صاف از کرنش‌های دو محوره و تک محوره استفاده شده است [۷-۱۳]. انتقال نیروی مکانیکی فرایند تمایز را از طریق القای رونویسی و فاکتورهای اصلی تنظیم کننده‌ی بافتی فعال می‌کند. همچنین ممکن است گیرنده‌های اینترگرینی نیز در انتقال نیروهای مکانیکی به داخل سلول نقش مهمی ایفا نمایند [۱۴]. انتقال نیروی مکانیکی به ترتیب به چهار مرحله‌ی جفت‌شدگی مکانیکی^۲، جفت‌شدگی بیوشیمیایی^۳، انتقال^۴ و پاسخ سلول‌های عمل‌کننده^۵ تقسیم می‌شود [۱۵]. طی این فرایند سلول‌ها نیروهای مکانیکی را درک کرده و سپس با تنظیم سنتز زمینه‌ی خارج سلولی و ایجاد تغییرات به این نیروها پاسخ می‌دهند. اجزای اصلی شرکت کننده در این فرایند اینترگرین‌ها، اسکلت سلولی، G-پروتئین‌ها، گیرنده‌های تیروزین کینازی RTKs، MAPKs و کانال‌های یونی فعال شونده با کشش هستند [۱۶].

تحریک سلول فرایند فیزیکی-شیمیایی پیچیده‌ای است که منجر

به جایجایی جسم سلول از میان سطوح دو بعدی، غشاهای زیرین و بافت‌های بینابینی سه بعدی می‌شود که برای این کار دو ویژگی مهم مورد نیاز است: ایجاد نیروهای محرک و تولید پروتئین‌های تخریب کننده‌ی زمینه که سلول را قادر می‌سازد بر موانع ایجاد شده از طرف زمینه‌ی خارج سلولی غلبه کند [۱۷]. سلول‌های بنیادی در خواستگاه خود از طریق چندین گیرنده‌ی مختلف از جمله اینترگرین‌ها در تماس با زمینه‌ی خارج سلولی هستند [۱۸]. گیرنده‌های اینترگرین مانند گیرنده‌ی چسبندگی و نیز مبدل‌های سیگنال مکانیکی، بعد از اتصال لیگاند به دامنه‌ی موجود در زمینه‌ی خارج سلولی، سیگنال‌ها را از غشا عبور داده و به این ترتیب عملکردهای مختلف سلولی مانند چسبندگی سلول، تکثیر و تمایز را تنظیم می‌کند [۱۹-۲۱]. نقاط چسبندگی^۶ که شامل اینترگرین‌ها و بسیاری دیگر از پروتئین‌ها هستند و به صورت فیزیکی زمینه‌ی خارج سلولی را به اسکلت سلولی اکتین متصل کرده و نیروهای مکانیکی را دریافت می‌کند، به رشته‌های تنشی قفل شده‌اند [۲۲]. بازآرایی سلولی ناشی از کشش معمولاً از طریق آرایش رشته‌های تنشی صورت می‌پذیرد [۲۳]. رشته‌های تنشی مهم‌ترین سازه‌های تحمل‌کننده‌ی تنش در حالت چسبیده و سلول‌های غیرماهیچه‌ای هستند و برای عملکردهای سلول از قبیل آرایش سلولی، قابلیت انقباضی و چسبندگی سلولی نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند [۲۳]. تصویربرداری از سلول زنده که با استفاده از فلوروسانتی کردن اکتین انجام گرفت، نشان داد بازآرایی رشته‌های تنشی می‌تواند حداقل با دو مکانیزم لغزش نقاط چسبندگی [۲۴] و چرخش رشته‌ی تنشی [۲۵] در جهتی که تنش حداقل شود، صورت پذیرد [۲۶]. روشی که به طور گسترده برای بررسی اثر کرنش مکانیکی روی سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفته، سطوح الاستومری صاف است که این پوشش‌ها معمولاً منجر به چسبندگی خوب سلول‌ها به بستر زیرین می‌شوند [۲۲].

در پاسخ به کشش تک محوره چرخه‌ای زیرلایه، رشته‌های تنشی^۷ اکتین اسکلت سلولی به‌طور تقریبی در راستای عمود بر راستای اعمال کشش آرایش پیدا می‌کنند. از سویی دیگر کشش چرخه‌ای زیرلایه موجب کاهش پیشرونده‌ی تنش انقباضی سلول از طریق سیال شدن^۸ اسکلت سلولی (که یک پدیده‌ی خنثی‌سازی تنش است) می‌شود. از این پدیده می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که: بازآرایی اسکلت سلولی، سیال‌شدگی و قابلیت انقباض به طور تنگاتنگی به یکدیگر مرتبط هستند [۲۷]. کاهش تنش انقباضی سلول حین کشش تک محور چرخه‌ای به وسیله‌ی سیال‌شدگی اسکلت سلولی منجر به کاهش پیشرونده‌ی کشش مکانیکی و پایداری مکانیکی رشته‌های تنشی اکتین می‌شود. بعد از برداشته شده کشش از رشته‌های تنشی، آن‌ها تمایل به در هم ریختگی و جدا شدن دارند [۲۸].

الاستیسیته‌ی بستر، شکل سلول و بافت و پروتئین‌های چسبنده از عوامل مهم در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده سلولی خاص (عصبی، قلبی، استخوانی ...) می‌باشد [۲۶ و ۲۹ و ۳۰]. به‌طور ویژه، سلول‌های بنیادی مزانشیمی که روی بسترهای سفت (مدول الاستیک در حدود ۳۴ kPa) کشت شده‌اند، منجر به تمایز به سمت

¹ Morphological changes

² mechanocoupling

³ Biochemical Coupling

⁴ Transmission

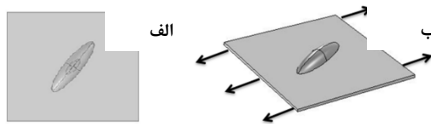
⁵ Effector Cell Response

⁶ Focal adhesions

⁷ Stress Fibers (SFs)

⁸ fluidization

هسته و راستای اعمال کرنش و نحوه‌ی اعمال کرنش نشان داده شده است. در اینجا هسته‌ی سلول دارای رفتار الاستیک خطی با مدول الاستیک ۱۷۰۰ kPa و ضریب پواسون ۰/۴۵ فرض شده است [۴۲] و [۴۳]. خواص مکانیکی سلول و ابعاد هسته در جدول ۱ ذکر شده است. در محل‌های تماس سلول با بستر شرط مرزی اتصال سطح^۳ اعمال شد که این شرط باعث ایجاد ارتباط بین بستر و سلول شده و همچنین در رابطه با زیرلایه یا بستری که سلول روی آن قرار گرفته است، باید به این نکته اشاره نمود که شکل این زیرلایه به صورت مربع (به دلیل ایجاد شباهت میان غشا و مخزن کشت سلول در آزمایشگاه‌ها و همچنین رعایت اصول سنت و نانت به منظور توزیع یکنواخت بارگذاری بر سلول) و با ابعاد $50 \mu m \times 50 \mu m$ و با ضخامت $1 \mu m$ طراحی شده است. در آزمایش‌های عملی از ماده‌ی پلیمری پلی‌دیمتیل‌سیلوکسان به عنوان بستر کشت سلول استفاده می‌شود [۴۴] و [۴۵]. مدول الاستیک فرض شده برای بستری از جنس ماده‌ی پلیمری PDMS با نسبت‌های مختلفی از پلیمر اولیه، ۰/۳۰۰، ۰/۷۵۰، ۰/۴۲۰ و ۰/۷۵۰ فرض شد [۴۳]. همچنین لازم به ذکر است که فرکانس‌های مورد استفاده در این پژوهش، از فرکانس‌های مورد استفاده در فعالیت‌های آزمایشگاهی استخراج شده است [۳۳] و [۳۸] و [۴۸]. فرکانس‌های مورد استفاده در این تحقیق ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ هرتز می‌باشد.



شکل ۱- (الف) قرارگیری زیرلایه، هسته‌ی سلول و غشای سلول (ب) نحوه‌ی اعمال کرنش

جدول ۱- ابعاد سلول و هسته [۴۶] و [۴۷] و خواص مکانیکی هسته [۴۲] و

[۴۳]		
ابعاد سلول (μm)	قطر بزرگ	۲۸
	قطر کوچک	۷
	ارتفاع	۹
ابعاد هسته (μm)	قطر بزرگ	۸
	قطر کوچک	۳
	ارتفاع	۲
خواص مکانیکی هسته	مدول الاستیک (kPa)	۱۷۰۰
	ضریب پواسون	۰/۴۵

سلول‌های استخوانی می‌شوند. کشش اسکلت سلولی نه تنها به وسیله‌ی الاستیسیته‌ی بستر، بلکه به وسیله‌ی شکل سلول تنظیم می‌شود [۳۱]. همچنین کشش مکانیکی سرنوشت تمایز را به سمت سلول‌های استخوان‌ساز تسهیل می‌کند [۳۲]. در سال ۲۰۱۲، خیاط^۱ و همکاران گزارش نمودند که تحریک مکانیکی با فرکانس نسبتاً پایین (۰/۰۱ Hz) حتی در حضور محیط کشتی که به طور بالقوه تمایز به سمت سلول‌های چربی را ترغیب می‌کرد، مانع از این تمایز در سلول‌های بنیادی مزانشیمی موش شد [۳۳]. تنش برشی [۳۴] و کشش چرخه‌ای [۳۵] می‌تواند بیان مارکرهای تمایز استخوانی را افزایش دهند. کشش چرخه‌ای همچنین به عنوان نیروی محرکه برای ترویج بیان ژن‌های مربوط به سلول‌های صاف ماهیچه‌ای^۲ در سلول‌های بنیادی مزانشیمی استخوانی عمل می‌کند [۳۶]. افزون بر این، کشش مکانیکی چرخه‌ای توانست تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی استخوانی را افزایش دهد [۳۷]. بارگذاری‌های اعمالی به انواع سلول‌های بنیادی برای ایجاد تمایز به سمت سلول‌های صاف ماهیچه‌ای شامل تنش برشی سیال، کرنش چرخه‌ای تک‌محوره و دو محوره است [۳۸]. در تحقیقی، شیمیزو و همکاران نشان دادند که تکثیر سلولی و بیان ژن‌های رده‌های مختلف تحت کرنش‌های چرخه‌ای مختلف افزایش یافته است و تقریباً عمود بر جهت اعمال کرنش جهت‌گیری کرده‌اند [۳۹]. با توجه به مطالعات انجام شده در منابع علمی، عدم وجود نگاه دقیق و محاسباتی از نحوه‌ی توزیع و دریافت تنش‌های اعمالی به سلول قابل ذکر است. نوآوری این پژوهش بررسی محاسباتی نحوه‌ی اعمال کرنش تناوبی به سلول شبیه‌سازی شده با خواص ویسکو الاستیک و ایجاد دید دقیق از نحوه‌ی انتقال این تنش به غشای سلول و در ادامه نحوه‌ی انتقال آن به هسته‌ی سلول، از طریق یک مدل مکانیکی غیرخطی (مدل ویسکو الاستیک) می‌باشد. معادلات ویسکو الاستیک حاکم بر سلول نیز معادلات $\tau_{vm} \dot{\epsilon}_{vm} + \epsilon_{vm} = \epsilon_{el,dev}$ و $Sq = \sum_m 2G_{vm}(\epsilon_{el,dev} - \epsilon_{vm})$ می‌باشند که در این معادلات S بیانگر تنش، G مدول برشی آنی و ϵ کرنش می‌باشند [۴۰ و ۴۱].

۲- مواد و روش‌ها

در این بخش، مدل ارائه شده، نحوه و جزئیات طراحی سلول و هسته، بستر و رژیم اعمال کرنش، شبکه‌بندی، نحوه‌ی بررسی استقلال حل از شبکه محاسباتی و صحت مدل محاسباتی بررسی خواهد شد.

۲-۱- هندسه‌ی مسئله و خواص

در این پژوهش، سلول و هسته‌ی آن به صورت بیضوی در نظر گرفته شده و سعی بر آن است که ابعاد در نظر گرفته شده برای شبیه‌سازی به شرایط واقعی سلول بسیار نزدیک باشد. شکل و ابعاد سلول به ترتیب در شکل ۱ و جدول ۱ آمده است. مدل خواص مکانیکی سلول مورد استفاده در این تحقیق، به دلیل حضور سیتوپلاسم در فضای بین غشای بیرونی و هسته‌ی سلول ویسکو الاستیک در نظر گرفته شده است و مقادیر آن در جدول ۲ آورده شده است. در شکل ۱ نحوه قرارگیری

³ Face link

¹ Khayat

² Smooth muscle cell (SMCs)

جدول ۲- ثوابت ویسکوالاستیک سلول

مرجع	مقدار	پارامتر
[۴۰ و ۴۱]	۱۵ kPa	شاخه اول
	۰.۷ GPa	شاخه دوم
	۱۰ s	زمان آرامش ^۱
	۳۰ s	شاخه دوم

جدول ۳- نتایج حاصل از بررسی استقلال حل از شبکه‌ی محاسباتی

نوع شبکه‌بندی	شکل المان‌ها	تعداد المان‌ها	تنش میانگین (kPa)
عادی	مثلثی	۶۰۳۲	۱۰۵/۹۱
ریز	مثلثی	۱۱۷۹۷	۱۰۶/۳۴
بسیار ریز	مثلثی	۲۶۱۶۱	۱۰۵/۲۲

۲-۲- روش حل عددی و شبکه‌بندی

معادلات حاکم بر مسئله در ماژول مکانیک جامدات نرم افزاری comsol شامل معادلات زیر می‌شوند [۴۹]:

$$\frac{\partial^2 \mathbf{u}}{\partial t^2} \rho = \nabla \cdot \mathbf{S} + \mathbf{F}_v \quad (1)$$

$$\mathbf{S} = \mathbf{S}_a + \mathbf{C}; \epsilon_e \quad (2)$$

$$\mathbf{S}_{ad} = \mathbf{S}_0 + \mathbf{S}_{ext} + \mathbf{S}_q \quad (3)$$

$$\epsilon_{el} = \epsilon - \epsilon_{inel} \quad (4)$$

$$\epsilon_{inel} = \epsilon_0 + \epsilon_{th} + \epsilon_{hs} + \epsilon_{pl} + \epsilon_{cr} \quad (5)$$

$$\epsilon = \frac{1}{2} [(\nabla \mathbf{u})^T + \nabla \mathbf{u}] \quad (6)$$

در معادلات بالا قانون هوک تانسور تنش و کرنش را به یکدیگر مرتبط کرده (معادله‌ی (۲)) و "!" بیانگر ضرب داخلی تانسوری می‌باشد. زیروندهای صفر نشان‌دهنده‌ی مقادیر اولیه‌ی متغیرها می‌باشد.

برای دستیابی به نحوه‌ی همگرایی به پاسخ صحیح، در نرم افزار comsol، از سه حالت شبکه‌بندی مثلثی (مناسب‌ترین نوع شبکه با توجه به هندسه و وجود زوایا و انحناهای تند) عادی با تعداد ۶۰۳۲، ریز با تعداد ۱۱۷۹۷ و بسیار ریز با تعداد ۲۶۱۶۱ برای زاویه‌ی ۵۶ درجه استفاده شد. به منظور بررسی صحت نتایج بدست آمده در پژوهش و محاسبات انجام گرفته، نتایج مربوط به آزمایش استقلال حل از شبکه مقایسه شد و صحت نتایج مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به وجود اختلاف ناچیز میان نتایج حاصل از تغییر تعداد المان‌ها و تنش میانگین حاصل به‌منظور کاهش هزینه‌ی زمان محاسبات، از شبکه‌بندی عادی استفاده شده است (جدول ۳). حل‌گر مورد استفاده برای بخش جامد نیز در این پژوهش، حل‌گر مستقیم است که در میان گزینه‌های موجود در نرم‌افزار comsol، از حل‌گر MUMPS^۲ به‌منظور یافتن پاسخ استفاده شد. همچنین، بازه‌ی زمانی مورد استفاده ۰-۱۰ ثانیه و گام زمانی به‌کار رفته ۰/۰۱ ثانیه با لحاظ تئورانس خطای ۰/۰۰۱ است.

۳- نتایج

در این تحقیق، تحریک‌های مکانیکی و تغییر در مورفولوژی ناشی از اعمال کرنش به زیر لایه یا بستر مورد بررسی قرار گرفت. تغییر در زاویه خوابیدگی سلول، فرکانس اعمال کرنش و مدول الاستیک زیر لایه در هر مرحله انجام گرفت.

۳-۱- توزیع تنش با تغییر زاویه‌ی خوابیدگی

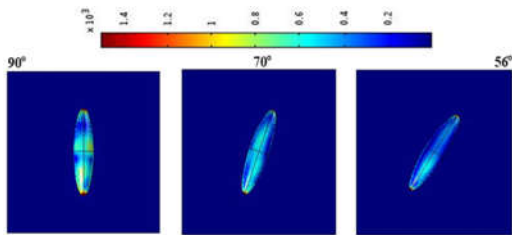
سلول‌ها پس از بارگذاری نسبت به حالت بدون بار، کشیده شده و مساحت آن‌ها کاهش و محیط آن‌ها افزایش می‌یابد (در کشش چرخه‌ای تک‌محوره این تغییر دیده می‌شود). این سلول‌ها همچنین، تمایل دارند تا به گونه‌ای نسبت به راستای بارگذاری بازآرایی شوند و جهتگیری کنند که کم‌ترین میزان تغییر شکل غشای زمینه را دارا باشند. الگوی تغییرات تنش فون میز روی غشا هسته تقریباً مشابه الگوی تنشی روی غشا سلول است. با توجه به شکل‌های ۲ و ۳ می‌توان مشاهده نمود که تنش وارده به هسته مقدار کوچک‌تری نسبت به تنش وارده به غشا هسته دارد. می‌توان نتیجه گرفت که عدم ارتباط و اتصال مستقیم هسته‌ی سلول با بستر و نیز کاهش مقدار تنش وارده توسط اسکلت سلولی موجب می‌شود هسته تنشی با بزرگی کم‌تر را تجربه نماید. از این یافته می‌توان نتیجه گیری نمود که اسکلت سلولی ابتدا موجب کاهش بزرگی تنش اعمال شده به سلول در حین انتقال به هسته می‌شود و از سویی دیگر، همان الگوی تنشی اعمال شده را به هسته‌ی سلول وارد می‌نماید. نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین نیز ثابت کردند که حداقل تنش در راستایی حاصل می‌گردد که کمترین میزان تغییر شکل سلول و ساختار درونی آن پس از بارگذاری رخ می‌دهد. در واقع با توجه به آزمایش‌هایی که توسط رشیدی انجام شد، تاثیر انواع القای تمایز که شامل تحریک مکانیکی نیز می‌شد، در سلول‌های بنیادی مزانشیم چربی خرگوشی در مسیر تمایز به سلول‌های عضله صاف مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. تحریک مکانیکی به شکل کرنش تک‌محوره چرخه‌ای در ساعت‌های مختلف (۴، ۸، ۱۶ و ۲۴ ساعت) بارگذاری با استفاده از یک بیوراکتور بر سلول‌ها اعمال گردید و از طریق آزمون‌های پی سی آر لحظه‌ای^۳ واکنش این سلول‌ها به تحریک مورد مشاهده و بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از پردازش تصاویر سلولی با توجه به تعداد چرخه‌ها برای پارامترهای مورفولوژیکی مختلفی از قبیل شاخص شکل سلول، شاخص کشیدگی سلول و میانگین زاویه‌ی جهت‌گیری سلول ارائه و بررسی شده‌اند. با توجه به نتایج حاصل، سلول در راستایی آرایش می‌یابد که کشش وارد بر ساختار اسکلتی سلول حداقل و کمترین میزان تحریک به

¹ Relaxation time

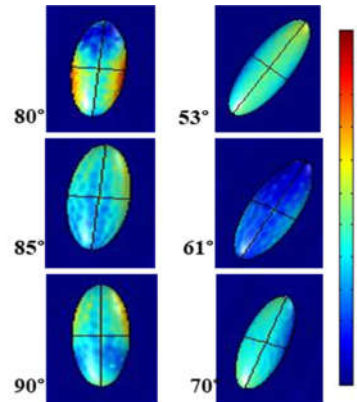
² Multifrontal Massively Parallel Sparse Direct Solver

³ Real-time PCR

طور یکنواخت با توجه به زاویه ۹۰ به تمام سلول است. ذکر این نکته نیز مهم است که در تمامی حالت‌ها نقطه‌ی بحرانی که دارای تمرکز تنش بیش از اندازه است، محل اتصال سلول به بستر در دو قطب غشای سلول (بخش جلویی و بخش پشتی) است [۵۴].



شکل ۴- توزیع تنش فون میزز برای زاویه‌ی ۵۶، ۷۰ و ۹۰ درجه روی غشای سلول (kPa)

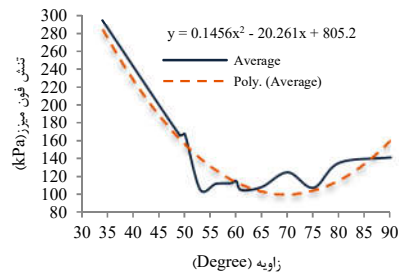


شکل ۵- توزیع تنش فون میزز روی هسته‌ی سلول در زوایای ۵۳، ۶۱، ۷۰، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه (kPa)

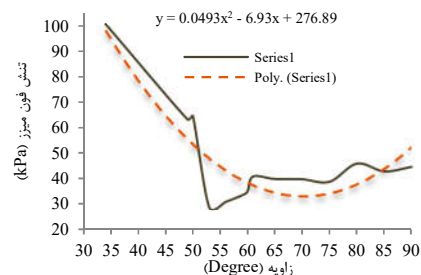
۲-۳- تغییر تنش فون میزز با تغییر فرکانس اعمال کرنش

با توجه به شکل ۶ و ۷، تغییر در فرکانس اعمال کرنش تاثیر چندانی بر تنش وارد شده به غشای سلول و هسته‌ی سلول ندارد. می‌توان نتیجه گرفت که اگر چه افزایش فرکانس اعمال کرنش تغییری در توزیع و بزرگی تنش وارد شده ایجاد نمی‌کند، ولی این افزایش موجب دریافت سیگنال‌های خارجی و تحریک‌های بیشتر به سلول می‌شود که این امر باعث افزایش پیام رسانی به هسته و افزایش پیام‌های ایجاد کننده‌ی تغییرات زیستی در سلول می‌شود. تغییر در فرکانس همچنین بر تنش وارد شده به غشا هسته‌ی سلول اثر نمی‌گذارد. اگر چه با افزایش فرکانس، به مقدار بسیار ناچیز از تنش کاسته می‌شود، اما در این جا نیز روند تقریباً ثابت است. مقدار حاصل از فرکانس ۲۰ Hz به دلیل اینکه خارج از بازه‌ی تنشی است، از تحلیل‌ها خارج گردید.

سلول وارد شود [۱۹ و ۵۰ و ۵۱] که این راستا نیز مطابق با این پژوهش (نشان داده شده در شکل ۲ و ۳) در محدوده‌ی زاویه‌ی ۷۰ تا ۷۵ درجه گزارش شده است [۵۲].



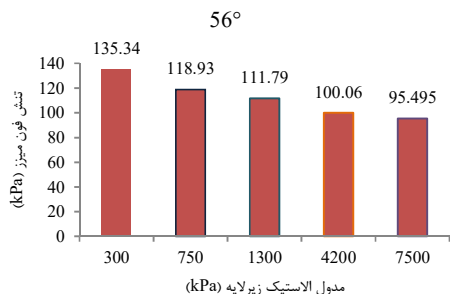
شکل ۲- تغییرات میانگین تنش فون میزز روی سطح سلول (kPa) بر حسب تغییر در زاویه و تطبیق منحنی درجه دو با توجه به این تغییرات



شکل ۳- تغییرات میانگین تنش فون میزز روی سطح هسته‌ی سلول (kPa) بر حسب تغییر در زاویه و تطبیق منحنی درجه دو با توجه به این تغییرات

حال، به الگوی توزیع تنش فون میزز وارد شده به غشا هسته‌ی سلول پرداخته می‌شود. در زاویه‌ی ۵۳ درجه همان طور که از شکل ۵ می‌توان دریافت، تمرکز تنش در قطب پشتی در مقایسه با سایر نقاط بیشتر است. با تغییر زاویه از ۵۳ به ۶۱ درجه، توزیع تنش روی غشای سلول یکنواخت‌تر شده و نواحی تمرکز تنش کاهش می‌یابد و عملاً حذف می‌شود. روند تغییر در الگوی تنش و ایجاد میدان‌های تمرکز تنش با افزایش زاویه به ۷۰ درجه و سپس تا زاویه‌ی ۹۰ درجه آغاز شده و ادامه می‌یابد. در زاویه‌ی ۸۰ درجه، می‌توان به وضوح مشاهده نمود که تمرکز تنش در ناحیه‌ی میانی غشا هسته قرار گرفته است. با افزایش زاویه به ۸۵ و ۹۰، این تمرکز تنش تمایل منتقل شدن به بخش پشتی غشا را دارد. اگر چه الگوی توزیع تنش در این بخش با روند توزیع تنش در غشا سلول متفاوت است، ولی می‌توان یک روند کلی تقریباً یکسان را به هر دو غشا (غشا سلول و غشا هسته) نسبت داد [۵۳]. در شکل ۴ نیز نحوه‌ی توزیع تنش فون میزز روی غشای سلول‌ها نمایش داده شده است. همان طور که قابل مشاهده است، تغییر زاویه‌ی خوابیدگی سلول روی بستر توزیع تنش را تغییر می‌دهد. در زاویه‌ی ۵۶ درجه، تمرکز تنش در بخش میانی غشا سلول قرار گرفته است. در زاویه‌ی ۷۰ درجه تمرکز تنش تقریباً به وسط سلول انتقال یافته است. در زاویه‌ی ۹۰ درجه نیز تمرکز تنش به حالت تقریباً یکنواختی در کل غشا سلول مشاهده می‌شود که این امر ناشی از وارد آمدن کرنش به

هستند، با روش رنگ آمیزی مورد بررسی قرار گرفته و قبل و بعد از اعمال بار بازآرایی و تغییراتی را نشان می دهند که این بازآرایی به منظور کمینه کردن انرژی کرنشی و همچنین به حداقل رساندن تغییر شکل اعمال شده از طریق بستر به سلول، اعمال می شود [۵۶].



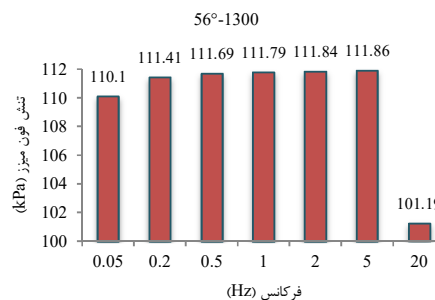
شکل ۸- تغییرات تنش فون میزز (kPa) روی غشا سلول با توجه به تغییر در مدول الاستیک زیر پایه (kPa)

۴- نتیجه گیری

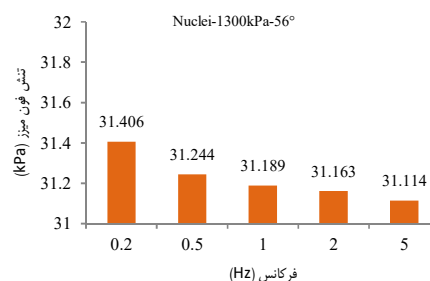
اعمال کرنش چرخه‌ای به بستر کشت سلول از جمله روش‌های آزمایشگاهی به منظور بررسی رفتار و سرنوشت سلول در اثر اعمال تحریک‌های مکانیکی است. اما این روش آزمایشگاهی تنها با استفاده از یک دید ماکروسکوپی و بررسی عوامل شیمیایی و نشانگرهای زیستی به پیش‌بینی تغییرات در سلول می‌پردازد و نگاه زیر سلولی دقیقی بدست نمی‌دهد. ایجاد نگاه دقیق و بیان چگونگی وارد شدن تنش‌های ناشی از کشش چرخه‌ای بستر از جمله اهداف انجام پژوهش حاضر است. در این پژوهش سعی بر آن شد تا نگاهی جامع و محاسباتی از اتفاقاتی که برای سلول و هسته در حین کشش چرخه‌ای بستر کشت می‌افتد، بدست داده شود. با توجه به نتایج ارائه شده می‌توان نتیجه گرفت که تنش ناشی از کرنش اعمال شده به بستر نقش مهمی در مورفولوژی، تمایز و سرنوشت سلول ایفا می‌کند. به این ترتیب، نتایج زیر بدست آمد:

۱. تمرکز تنش در قطب‌های سلول در تمامی زوایای خوابیدگی دیده می‌شود.
۲. هسته‌ی سلول الگوی تنشی تقریباً یکسانی نسبت به غشای سلول در حین اعمال کرنش دارد.
۳. تغییر فرکانس اعمال کرنش در بازه‌های کوچک، نقش چشمگیری در تغییر تنش اعمال شده به سلول ندارد.
۴. رفتار تنشی هسته و غشای سلول در برابر تغییر در مدول الاستیک بستر عکس یکدیگر است.
۵. افزایش مدول بستر تنش وارد به غشای سلول را کاهش می‌دهد.
۶. افزایش مدول بستر تنش وارد به هسته سلول را افزایش می‌دهد.

نیروهای مکانیکی پاسخ‌های بیولوژیکی مختلفی را ایجاد می‌کنند، از جمله بازآرایی سلول، بازسازی ساختاری اسکلتی اکتین، تغییر تکثیر



شکل ۶- تغییرات تنش فون میزز (kPa) روی غشا سلول بر حسب تغییر در فرکانس اعمال کرنش (Hz)



شکل ۷- تغییرات تنش فون میزز (kPa) روی غشا هسته‌ی سلول بر حسب تغییر در فرکانس اعمال کرنش (Hz)

۳-۳- توزیع تنش فون میزز با تغییر مدول الاستیک زیر پایه

بر خلاف نتایج حاصل از تغییر در فرکانس که اثر چندانی بر تنش‌های وارد شده به سلول ندارد، تغییر در مدول الاستیک بستری که سلول روی آن قرار گرفته است، تأثیری چشمگیری بر تنش وارد به غشا سلول دارد. همان‌طور که از شکل ۸ می‌توان دریافت، افزایش مدول الاستیک بستر، موجب کاهش تنش وارد شده به سلول می‌شود. با ۲/۵ برابر شدن مدول الاستیک (از ۳۰۰ kPa به ۷۵۰۰ kPa) حدود ۳۰ درصد کاهش در تنش وارد شده به سلول مشاهده شد. با کاهش مدول الاستیک بستر، به دلیل این که نیروهای ایجاد کننده‌ی کرنش ثابت نگه داشته شد، در نتیجه تنش کم‌تری در بستر ایجاد شده است. این تنش کم‌تر خود موجب شده است تنش کم‌تری به غشا سلول وارد شود. مطالعات نشان می‌دهد که مدول الاستیک بستری که سلول روی آن کشت شده، می‌تواند موجب تغییر در مدول الاستیک سلول شود. با افزایش مدول الاستیک بستر، مدول الاستیک سلول نیز افزایش می‌یابد. سختی^۱ سلول نیز با افزایش سختی بستر افزایش می‌یابد. اثرات ناشی از مورفولوژی سلولی و بازآرایی اسکلت سلولی را نمی‌توان مستقل از یکدیگر دانست و این دو عامل خود آغازگر تمایز سلولی و تنظیم بیان ژن‌ها هستند [۵۵]. در واقع، زمانی که سلول تحت تغییر شکل بستر قرار می‌گیرد، فیلامان‌های اکتین که از اجزای ساختار اسکلت سلولی

¹ stiffness

M. A., and Haghhighipour N., Alteration of human umbilical vein endothelial cell gene expression in different biomechanical environments. *Cell Biol. Int.*, Vol. 38, No. 5, pp. 577-581, 2014.

[9] Shojaei S., Tafazzoli-Shahdpour M., Shokrgozar M. A., and Haghhighipour N., Comparative analysis of effects of cyclic uniaxial and equiaxial stretches on gene expression of human umbilical vein endothelial cells. *Cell Biol. Int.*, Vol. 39, No. 6, pp. 741-749, 2015.

[10] Haghhighipour N., Heidarian S., Shokrgozar M. A., and Amirizadeh N., Differential effects of cyclic uniaxial stretch on human mesenchymal stem cell into skeletal muscle cell. *Cell Biol. Int.*, Vol. 36, No. 7, pp. 669-675, 2012.

[11] Haghhighipour N., Tafazzoli-Shadpour M., Shokrgozar M. A., and Amini S., Effects of Cyclic Stretch Waveform on Endothelial Cell Morphology Using Fractal Analysis. *Artif. Organs*, Vol. 34, No. 6, pp. 481-490, 2010.

[12] Bayati V., Sadeghi Y., Shokrgozar M. A., Haghhighipour N., Azadmanesh K., Amanzadeh A., Azari S., The evaluation of cyclic uniaxial strain on myogenic differentiation of adipose-derived stem cells. *Tissue Cell*, Vol. 43, No. 6, pp. 359-366, 2011.

[13] Safshekan F., Tafazzoli-Shadpour M., Shokrgozar M. A., Haghhighipour N., Mahdian R., and Hemmati A., Intermittent Hydrostatic Pressure Enhances Growth Factor-Induced Chondroinduction of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Artif. Organs*, Vol. 36, No. 12, pp. 1065-1071, 2012.

[14] Hu D. D., Lin E. C. K., Kovach N. L., Hoyer J. R., and Smith J. W., A Biochemical Characterization of the Binding of Osteopontin to Integrins $\alpha v \beta 1$ and $\alpha v \beta 5$. *J. Biol. Chem.*, Vol. 270, No. 44, pp. 26232-26238, 1995.

[15] Peake M., Cooling L. M., Magnay J., and Thomas P. B. M., Regulatory pathways involved in mechanical induction of c-fos gene expression in bone cells. *J Appl Physiol.*, Vol. 89, No. 6, pp. 2498-2507, 2001.

[16] Maniotis A. J., Chen C. S., and Ingber D. E., Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 94, No. 3, pp. 849-854, 1997.

[17] Zhang B., Luo Q., Chen Z., Sun J., Xu B., Ju Y., Song G., Cyclic mechanical stretching promotes migration but inhibits invasion of rat bone marrow stromal cells. *Stem Cell Res.*, Vol. 14, No. 2, pp. 155-164, 2015.

[18] Lee J., Abdeen A. A., Tang X., Saif T. A., and Kilian K. A., Geometric guidance of integrin mediated traction stress during stem cell differentiation. *Biomaterials*, Vol. 69, pp. 174-183, 2015.

[19] Wang J. H.-C., and Thampatty B. P., An Introductory Review of Cell Mechanobiology. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, Vol. 5, No. 1, pp. 1-16, 2006.

[20] Coppolino M. G., and Dedhar S., Bi-directional signal transduction by integrin receptors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, Vol. 32, No. 2, pp. 171-188, 2000.

سلولی، بیان ژن و ساخت پروتئین. در این تحقیق نحوه‌ی اثر نیروهای خارجی بر سلول بنیادی مزانشیمی به صورت محاسباتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش در درمان سلولی و پزشکی باز ترمیمی زمانی که کشت سلول‌های بنیادی و القای تمایز به رده‌ی سلولی خاص از سلول‌ها در شرایط خارج از بدن نیاز است، کاربرد دارد. تنظیم بیان ژن‌ها از جمله ویژگی‌های اعمال نیروهای خارجی است که در این پژوهش نگاهی محاسباتی به این نیروها در ابعاد سلولی شده است.

۵- نمادها

C	مدول خطی در ماده هوکی
FV	نیرو بر حجم واحد (N/m^3)
G	مدول برشی
S	تنش (N/m^2)
t	زمان (s)
u	جابجایی (m)
ρ	چگالی (Kg/m^3)
v	ضریب پواسون
ϵ	کرنش کل
ϵ_{el}	کرنش الاستیک

۶- مراجع

[1] Fletcher D. A., and Mullins R. D., Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, Vol. 463, no. 7280, pp. 485-492, 2010.

[2] Murphy W. L., McDevitt T. C., and Engler A. J., Materials as stem cell regulators. *Nat. Mater.*, Vol. 13, No. 6, pp. 547-557, 2014.

[3] Karcher H., Lammerding J., Huang H., Lee R. T., Kamm R. D., and Kaazempur-Mofrad M. R., A Three-Dimensional Viscoelastic Model for Cell Deformation with Experimental Verification. *Biophys. J.*, Vol. 85, No. 5, pp. 3336-3349, 2003.

[4] Aggarwal S., Moggio A., and Bussolati B., Concise Review: Stem/Progenitor Cells for Renal Tissue Repair: Current Knowledge and Perspectives. *Stem Cells Transl. Med.*, Vol. 2, No. 12, pp. 1011-1019, 2013.

[5] Li D., Zhou J., Chowdhury F., Cheng J., Wang N., and Wang F., Role of mechanical factors in fate decisions of stem cells. *Regen. Med.*, Vol. 6, No. 2, pp. 229-240, 2011.

[6] Jean R. P., Chen C. S., and Spector A. A., Finite-Element Analysis of the Adhesion-Cytoskeleton-Nucleus Mechanotransduction Pathway During Endothelial Cell Rounding: Axisymmetric Model. *J. Biomech. Eng.*, Vol. 127, No. 4, p. 594, 2005.

[7] Safshekan F., Tafazzoli-Shadpour M., Shokrgozar M. A., Haghhighipour N., and Alavi S. H., Effects of Short-Term Cyclic Hydrostatic Pressure on Initiating and Enhancing the Expression of Chondrogenic Genes in Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *J. Mech. Med. Biol.*, Vol. 14, No. 04, p. 1450054, 2014.

[8] Shojaei S., Tafazzoli-Shahdpour M., Shokrgozar

- Strain: Implications for Vascular Tissue-Engineering Applications. *Tissue Eng.*, Vol. 10, No. 3-4, pp. 361-369, 2004.
- [37] Yuan L., Luo Q., Yang L., and Song G.-B., Role of FAK-ERK1/2 signaling pathway in proliferation of rat bone-marrow mesenchymal stem cells stimulated by cyclic stretching. *J. Med. Biol. Eng.*, Vol. 33, No. 2, p. 229, 2013.
- [38] Kurpinski K., Park J., Thakar R. G., and Li S., Regulation of vascular smooth muscle cells and mesenchymal stem cells by mechanical strain. *Mol. Cell. Biomech.*, Vol. 3, No. 1, pp. 21-34, 2006.
- [39] Shimizu N., *et al.*, Cyclic strain induces mouse embryonic stem cell differentiation into vascular smooth muscle cells by activating PDGF receptor β . *J. Appl. Physiol.*, Vol. 104, No. 3, pp. 766-772, 2008.
- [40] Lin Y. C., Koenderink G.H., and MacKintosh F.C., and Weitz D. A., Viscoelastic Properties of Microtubule Networks. *Macromolecules*, Vol. 40, No. 21, pp. 7714-7720, 2007.
- [41] Kumar S., *et al.*, Viscoelastic Retraction of Single Living Stress Fibers and Its Impact on Cell Shape, Cytoskeletal Organization, and Extracellular Matrix Mechanics. *Biophys. J.*, Vol. 90, No. 10, pp. 3762-3773, 2006.
- [42] Chen B., Ji B., and Gao H., Modeling active mechanosensing in cell-matrix interactions. *Annu. Rev. Biophys.*, Vol. 44, pp. 1-32, 2015.
- [43] Johnston I. D., McCluskey D. K., Tan C. K. L., and Tracey M. C., Mechanical characterization of bulk Sylgard 184 for microfluidics and microengineering. *J. Micromechanics Microengineering*, Vol. 24, No. 3, p. 035017, 2014.
- [44] Park T. H., and Shuler M. L., Integration of Cell Culture and Microfabrication Technology. *Biotechnol. Prog.*, Vol. 19, No. 2, pp. 243-253, 2003.
- [45] Choi J., Lee E. K., Choo J., Yuh J., and Hong J. W., Micro 3D cell culture systems for cellular behavior studies: Culture matrices, devices, substrates, and in-situ sensing methods. *Biotechnol. J.*, Vol. 10, No. 11, pp. 1682-1688, 2015.
- [46] Vega S. L., Kwon M., Mauck R. L., and Burdick J. A., Single Cell Imaging to Probe Mesenchymal Stem Cell N-Cadherin Mediated Signaling within Hydrogels. *Ann. Biomed. Eng.*, Vol. 44, No. 6, pp. 1921-1930, 2016.
- [47] Ge J., Guo L., Wang S., Zhang Y., Cai T., Zhao R. C., and Wu Y., The Size of Mesenchymal Stem Cells is a Significant Cause of Vascular Obstructions and Stroke. *Stem Cell Rev Rep.*, Vol. 10, No. 2, pp. 295-303, 2014.
- [48] Rashidi N., Tafazzoli-Shadpour M., Haghhighipour N., and Khani M. M., Morphology and contractile gene expression of adipose-derived mesenchymal stem cells in response to short-term cyclic uniaxial strain and TGF- β 1. *Biomed. Eng. / Biomed. Tech.*, Vol. 63, No. 3, pp. 317-326, 2018.
- [49] Comsol AB., Comsol Multiphysics Reference Manual. Version, 2007.
- [50] Takemasa T., Sugimoto K., and Yamashita K., Amplitude-Dependent Stress Fiber Reorientation
- [21] Iqbal J., and Zaidi M., Molecular regulation of mechanotransduction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 328, No. 3, pp. 751-755, 2005.
- [22] Sears C., and Kaunas R., The many ways adherent cells respond to applied stretch. *J. Biomech.*, Vol. 49, No. 8, pp. 1347-1354, 2016.
- [23] Goldyn A. M., Kaiser P., Spatz J. P., Ballestrem C., and Kemkemer R., The kinetics of force-induced cell reorganization depend on microtubules and actin. *Cytoskeleton*, Vol. 67, No. 4, p. NA-NA, 2010.
- [24] Goldyn A. M., Rioja B. A., Spatz J. P., Ballestrem C., and Kemkemer R., Force-induced cell polarisation is linked to RhoA-driven microtubule-independent focal-adhesion sliding. *J. Cell Sci.*, Vol. 122, No. 20, 2009.
- [25] Chen B., Kemkemer R., Deibler M., Spatz J., and Gao H., Cyclic Stretch Induces Cell Reorientation on Substrates by Destabilizing Catch Bonds in Focal Adhesions. *PLoS One*, Vol. 7, No. 11, p. e48346, 2012.
- [26] Chen B., Chen X., and Gao H., Dynamics of Cellular Reorientation on a Substrate under Biaxial Cyclic Stretches. *Nano Lett.*, Vol. 15, No. 8, pp. 5525-5529, 2015.
- [27] Pirentis A. P., Peruski E., Jordan A. L., and Stamenović D., A Model for Stress Fiber Realignment Caused by Cytoskeletal Fluidization During Cyclic Stretching. *Cell. Mol. Bioeng.*, Vol. 4, No. 1, pp. 67-80, 2011.
- [28] Wada H., *Biomechanics at Micro- and Nanoscale Levels*. WORLD SCIENTIFIC, 2006.
- [29] Engler A. J., Sen S., Sweeney H. L., and Discher D. E., Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification. *Cell*, Vol. 126, No. 4, pp. 677-689, 2006.
- [30] Rahimpour E., Vahidi B., and Mollahoseini Z., A computational simulation of cyclic stretch of an individual stem cell using a nonlinear model. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, Vol. 13, No. 2, pp. 274-282, 2019.
- [31] Kilian K. A., Bugarija B., Lahn B. T., and Mrksich M., Geometric cues for directing the differentiation of mesenchymal stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, Vol. 107, No. 11, pp. 4872-4877, 2010.
- [32] Cirka H. A., Kural M. H., and Billiar K. L., Mechanoregulation of aortic valvular interstitial cell life and death. *J. Long. Term. Eff. Med. Implants*, Vol. 25, No. 1-2, pp. 3-16, 2015.
- [33] Khayat G., Rosenzweig D. H., and Quinn T. M., Low frequency mechanical stimulation inhibits adipogenic differentiation of C3H10T1/2 mesenchymal stem cells. *Differentiation*, Vol. 83, No. 4, pp. 179-184, 2012.
- [34] Kim K. M., *et al.*, Shear Stress Induced by an Interstitial Level of Slow Flow Increases the Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells through TAZ Activation. *PLoS One*, Vol. 9, No. 3, p. e92427, 2014.
- [35] Kang M.-N., Yoon H.-H., Seo Y.-K., and Park J.-K., Effect of Mechanical Stimulation on the Differentiation of Cord Stem Cells. *Connect. Tissue Res.*, Vol. 53, No. 2, pp. 149-159, 2012.
- [36] Hamilton D. W., Maul T. M., and Vorp D. A., Characterization of the Response of Bone Marrow-Derived Progenitor Cells to Cyclic

- in Early Response to Cyclic Strain. *Exp. Cell Res.*, Vol. 230, No. 2, pp. 407-410, 1997.
- [51] Yamada H., Takemasa T. and Yamaguchi T., Theoretical study of intracellular stress fiber orientation under cyclic deformation. *J. Biomech.*, Vol. 33, No. 11, pp. 1501-1505, 2000.
- [52] رشیدی ن.، ارزیابی تاثیر پارامترهای مکانیکی بر تمایز، مورفولوژی و ساختار اسکلتی سلولهای بنیادی در مسیر تمایز به سلول عضله صاف با استفاده از روش های تجربی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، ۱۳۹۴.
- [53] Jagodzinski M., Drescher M., Zeichen J., Hankemeier S., Krettek C., Bosch U., van Griensven M., Effects of cyclic longitudinal mechanical strain and dexamethasone on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *Eur. Cell. Mater.*, Vol. 7, pp. 35-41, 2004.
- [54] Neidlinger-Wilke C., Grood E. S., Wang, R. A., Brand J. H.-C., and Claes L., Cell alignment is induced by cyclic changes in cell length: studies of cells grown in cyclically stretched substrates. *J. Orthop. Res.*, Vol. 19, No. 2, pp. 286-293, 2001.
- [55] Mullen C. A., Vaughan T. J., Voisin M. C., Brennan M. A., Layrolle P., and McNamara L. M., Cell morphology and focal adhesion location alters internal cell stress. *J. R. Soc. Interface*, Vol. 11, No. 101, 2014.
- [56] Chen Y.-J., Huang C.-H., Lee I.-C., Lee Y.-T., Chen M.-H., and Young T.-H., Effects of Cyclic Mechanical Stretching on the mRNA Expression of Tendon/Ligament-Related and Osteoblast-Specific Genes in Human Mesenchymal Stem Cells. *Connect. Tissue Res.*, Vol. 49, No. 1, pp. 7-14, 2008.