

تحلیل عددی تأثیر ساختار سه بعدی داربست بر توزیع فاکتورهای مکانیکی در سطح داربست استخوانی

بهرام احمدیان^۱، بهمن وحیدی^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- دانشیار، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

* صندوق پستی ۱۴۳۹۹۵۶۱۹۱، تهران، ایران

bahman.vahidi@ut.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۳۰

پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۷

چکیده

ارزیابی پاسخ سلول به تحریکات مکانیکی در فضای آزمایشگاهی همواره به عنوان یکی از موضوعات مهم در راستای دستیابی به کنترل رفتار سلول در محیط کشت شناخته می شود. در بررسی تحریک های مکانیکی سلول در داربست استخوانی یکی از پارامترهای مؤثر ریز ساختارهای داربست، از جمله اندازه و شکل حفرات است. با توجه به پیچیدگی بسیار امکان کنترل این پارامترها در فضای آزمایشگاه، در پژوهش حاضر با استفاده از مدل سازی عددی به بررسی تأثیر ساختار داربست بر فاکتورهای مکانیکی ناشی از جریان سیال نوسانی در داربست پرداخته شده است. در این پژوهش، به ارزیابی داربست های با شکل حفرات مکعبی، کروی و هگزاگونال با طول حفرات ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میکرومتر پرداخته شده است. نتایج حاصل از مدل دینامیک سیالات محاسباتی نشان می دهد که داربست ها با شکل حفرات کروی و مکعبی با طول حفرات ۵۰۰ میکرومتر و داربست با شکل حفرات هگزاگونال با طول حفرات ۴۵۰ میکرومتر دارای تنش برشی در بازه ۰/۱ - ۱۰ میلی پاسکال در سطوح مختلف خود هستند که این بازه از تنش برشی مناسب برای تمایز سلول بنیادی به سلول استخوانی است. علاوه بر این، نتایج حاصل از توزیع جریان سیال در این داربست نشان می دهد که با توجه به دسترسی سیال به نواحی مختلف داربست حجم ناحیه مرده که محل مناسبی برای کشت سلول نیست در این داربست کاهش یافته است. دستاوردهای حاصل از این پژوهش می تواند در شرایط آزمایشگاهی برای دستیابی به شرایط بهینه کشت سلول بنیادی در راستای تمایز به سلول استخوانی استفاده شود.

کلید واژگان: داربست متخلخل، مدولاسیون مکانیکی، دینامیک سیالات محاسباتی، تمایز سلول بنیادی

۱- مقدمه

یکی از مباحث چالش برانگیز در حوزه پزشکی بازساختی، پاسخ‌های سلول بنیادی در داربست به تحریک‌های مکانیکی است که می‌توان با استفاده از آن پدیده‌های فیزیولوژیکی سلول از جمله تکثیر تمایز و مهاجرت را بررسی کرد [۱]. نفوذ جریان سیال به داخل داربست متخلخل برای انتقال مواد غذایی به سلول بنیادی جهت رشد و تکثیر و انتقال مواد زائد به بیرون داربست همواره به‌عنوان یک عامل مهم در سرنوشت سلول بنیادی مطرح می‌شود. علاوه بر این، تنش برشی ناشی از نفوذ جریان سیال به داخل داربست می‌تواند باعث تغییر سرنوشت سلول بنیادی شود [۲].

در بررسی تحریک مکانیکی سلول در داربست استخوانی، یکی از پارامترهای موثر دیگر، مؤلفه‌های ساختاری داربست از جمله اندازه حفرات، تخلخل و شکل حفرات است که به دلیل پیچیدگی ساختاری در گذشته امکان تولید چنین داربست‌هایی فراهم نبوده است. اما در حال حاضر با استفاده از روش‌های تولید افزودنی، امکان ساخت چنین داربستی فراهم شده است و می‌توان با در نظر گرفتن داربست با اشکال مختلف تأثیر شکل تخلخل را بر روی تنش برشی وارد بر سلول و در نتیجه تمایز سلول بنیادی بررسی کرد [۳].

برای بررسی تأثیر تنش برشی سیال بر روی فاکتورهای رشد و تمایز سلول در داربست استخوانی، پژوهشی توسط اقبالی و همکاران انجام شد که هدف از آن بررسی انتقال مواد و پارامترهای کشت بر رشد سلول بود [۴]. در این پژوهش یک داربست از جنس پلی (ε-کاپرولاکتون) در دو شرایط استاتیکی و تحت تأثیر عبور جریان از طریق بیوراکتور قرار گرفت. نتایج آزمایشگاهی این پژوهش نشان داد که فرایندهای متابولیک سلول تحت شرایط عبور جریان سیال، ۳۰ درصد بیشتر از حالت ساکن است. در مطالعه دیگر که توسط بلیر و همکاران [۵] انجام شد، با

استفاده از روش تولید افزایش چهار داربست توسط بیوپرینتر با جنس کو پلیمر ساخته شد. اندازه دقیق رشته‌ها و فاصله بین آن‌ها توسط عکس میکروسی تی به دست آمد. نتایج حاصل نشان داد که بزرگی تنش برشی وابسته به سرعت جریان سیال است. درحالی‌که توزیع تنش برشی به سرعت ورودی سیال بستگی ندارد. با توجه به نتایج از این پژوهش استنباط شد که پارامترهای ساختار داربست از جمله شکل و اندازه تخلخل در سرنوشت سلول بسیار تأثیرگذار بوده و می‌بایست مورد ارزیابی قرار گیرد. برای بررسی این موضوع، پژوهشی توسط بوشتی و همکاران [۶] انجام شد که هدف از آن پیش‌بینی تنش برشی اعمالی بر سلول از طریق کنترل پارامتر اندازه تخلخل بود. در این پژوهش، سه دسته داربست با اندازه حفرات ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومتر ساخته شد که هرکدام از این دسته‌ها شامل چهار مدل با درصد تخلخل ۵۹، ۶۵، ۷۷ و ۸۹ درصد است. نتایج شبیه‌سازی نشان داد که اندازه حفرات به‌عنوان یک پارامتر متغیر به میزان زیادی بر مقدار تنش برشی تأثیر می‌گذارد. درحالی‌که مقدار تخلخل بر توزیع تنش برشی تأثیرگذار است، در مقدار بزرگی آن مؤثر نیست.

پس از اثبات تأثیر ریزساختار داربست بر تنش برشی مؤثر سیال بر روی سلول، مالو و همکاران [۷] تأثیر پارامترهای مختلف ساختار متخلخل داربست را بررسی کردند. در این پژوهش پارامترهای دهانه داربست و قطر رشته را تحت عنوان پارامترهای قابل کنترل معرفی کردند که می‌تواند تغییر کند و تأثیرات آن بر روی تنش برشی بررسی شد. در این مطالعه، سرعت و تنش برشی سیال در یک داربست منظم با استفاده از تکنیک برهم‌کنش سیال-سازه محاسبه شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش برشی بر روی دیواره در نقاط مختلف داربست متفاوت است. به‌گونه‌ای که تنش برشی در نواحی محیطی زیاد و در نواحی مرکزی کمتر است. به‌صورت کلی مشخص شد که با افزایش قطر رشته، مقدار تنش برشی افزایش می‌یابد و

با افزایش دهانه ورودی داربست مقدار تنش اعمالی کاهش می‌یابد.

در پژوهشی دیگر که توسط ژاو و همکاران انجام شد، با استفاده از روش برهم کنش سیال-سازه تاثیر شکل و شعاع حفرات داربست بر توزیع تنش برشی در سطح داربست بررسی شد. در این پژوهش، داربست‌ها با شکل حفرات کروی و مکعبی در بازه ۱۰۰-۴۰۰ میکرومتر طراحی شد. نتایج نشان داده است که داربست کروی با سایز حفرات بزرگتر از ۳۰۰ میکرومتر شرایط مناسبی را برای کشت سلول ایجاد می‌کند، علاوه بر این، تاثیر سایز حفرات بر توزیع تنش برشی در سطح سلول از شکل حفرات برجسته‌تر است [۹].

یکی از ساده‌سازی‌های رایج در شبیه‌سازی‌های عددی در این حوزه در نظر گرفتن جریان سیال به صورت پایا است. در حالی که در شرایط آزمایشگاهی و فیزیولوژیکی، جریان سیال به صورت نوسانی اعمال می‌شود. برای بررسی این موضوع، پژوهشی آزمایشگاهی توسط چن و همکاران انجام شد. سلول بنیادی در داربست سه‌بعدی را تحت تاثیر جریان سیال نوسانی با دبی ۱ ml/min و فرکانس ۱/۶ Hz قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از جریان نوسانی به جای جریان پایا، توان ترشح کلاژن را افزایش می‌دهد. یافته‌های حاصل از این کار نشان می‌دهد که استفاده از

بیوراکتور ریزشی نوسانگر نه تنها توزیع یکنواخت‌تر سلول در داربست را فراهم می‌کند، بلکه فرایند تمایز استوژنیک سلول بنیادی را نیز تسهیل می‌کند. به همین دلیل، در این پژوهش فاکتورهای دینامیکی ناشی از جریان سیال نوسانی در داربست‌ها با ساختار متفاوت برای دستیابی به ساختار بهینه داربست در جهت نوآوری ارزیابی شده است [۱۰].

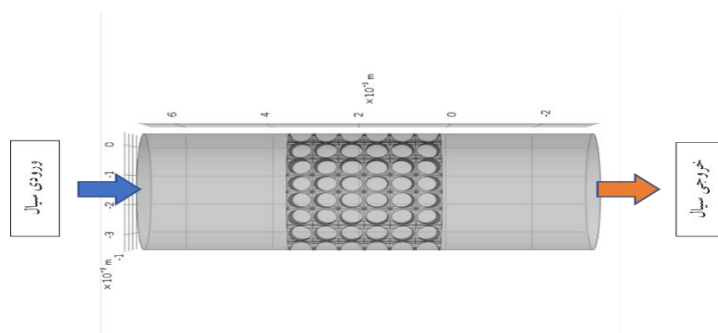
۲- مواد و روش‌ها

۱-۲ بیوراکتور

در این پژوهش مطابق با مطالعات آزمایشگاهی چن^۱ و همکاران [۱۰] از بیوراکتور نوسانی ریزشی استفاده شده است که در آن داربست در بیوراکتور استوانه‌ای شکل تحت جریان سیال نوسانی قرار گرفته است. بر همین اساس در پژوهش حاضر بیوراکتور به صورت استوانه با شعاع و ارتفاع به ترتیب ۲ و ۱۰ میلی‌متر مدل‌سازی شده است (شکل ۱).

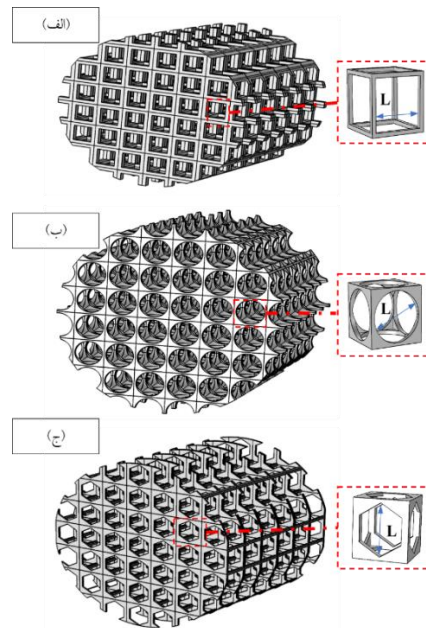
۲-۲ ساختار داربست

ساختار داربست به عنوان یک پارامتر مؤثر در سرنوشت سلول بنیادی تأثیرگذار است و می‌بایست همواره به گونه ای طراحی شود که امکان انتقال مواد بیولوژیکی و مهاجرت سلول را فراهم آورد.



شکل ۱ بیوراکتور نوسانی طراحی شده که داربست در مرکز آن تعبیه شده است.

^۱ Chen



شکل Error! No text of specified style in document. داربست‌های طراحی شده در نرم‌افزار سالی‌دورک با طول حفرات ۵۰۰ میکرومتر و شکل

حفرات: الف) مکعب، ب) کروی و ج) هگزاگونال

جنس مواد به کار رفته محیط مناسب برای رشد و چسبندگی سلول فراهم آوردند. داربست‌های پلیمری دارای خواص مکانیکی، زیست تخریب‌پذیری و زیست سازگاری مناسبی جهت کارکردهای مهندسی بافت استخوان هستند. بر همین اساس در این پژوهش مطابق با پژوهش گذشته [۸] داربست از جنس پلی-دی-ال-لاکتید اسید (poly D,L-lactide (PDLLA)) به صورت الاستیک خطی مدل‌سازی شده است خواص مکانیکی داربست در جدول ۱ آورده شده است.

۲-۳-۲ سیال

در شرایط آزمایشگاهی در اغلب اوقات از آب به عنوان سیال اصلی در محیط‌کشت استفاده می‌شود که به این آب برخی مواد مغذی اضافه شده تا منابع مورد نیاز برای رشد سلول در محیط‌کشت فراهم شود. با توجه به اینکه این مواد در خواص آب تغییرات گسترده‌ای ایجاد نمی‌کنند، در این پژوهش خواص آب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به عنوان سیال در نظر گرفته شده است. خواص مکانیکی سیال در جدول ۱ آورده شده است.

در این پژوهش برای بررسی تأثیر شعاع حفرات داربست و شکل حفرات بر توزیع تنش برشی سه دسته داربست با شکل حفرات هگزاگونال، مکعبی و استوانه‌ای در نرم‌افزار سالی‌دورک طراحی شد، مطالعات نشان داده است که داربست با سایز حفرات بین ۳۰۰-۵۰۰ میکرومتر برای کارکردهای مهندسی بافت استخوان کارآمد هستند [۱۱]. به همین دلیل در این پژوهش داربست‌ها با اشکال هگزاگونال، مکعبی و استوانه‌ای با طول حفرات (L) ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میکرومتر طراحی شد. برای کاهش هزینه محاسبات مطابق با پژوهش زاو و همکاران [۱۲] ناحیه مرکزی داربست به شعاع ۲ میلی‌متر مدل‌سازی شده است. نمونه‌های داربست‌های طراحی شده به همراه شکل حفرات آن در شکل ۲ نشان داده شده است.

۲-۳ خواص مکانیکی

۲-۳-۱ داربست

با توجه به کارکردهای مهندسی بافت استخوان، داربست‌های متنوعی از نظر خواص مکانیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این داربست‌ها باید از نظر خواص مکانیکی و

جدول ۱ خواص مکانیکی اجزای مختلف در مدل سازی

ردیف	ماده	خواص	مقدار	واحد	مرجع
۱	سیتوپلاسم سلول بنیادی مزانشیمال	ضریب پواسون	۰,۳۳	-	[۱۵]
۲	سیال	لزجت	۰,۰۰۰۱۷۸	Pa.s	[۱۵]
		چگالی	۱۰۰۰	Kg/m ³	[۱۵]
۳	داربست	مدول الاستیک	۳,۳	GPa	[۳۳]
		ضریب پواسون	۰,۳	-	[۳۳]

۲-۴ معادلات حاکم

در این قسمت، معادلات استفاده شده در نرم افزار کامسول که متناسب با انتخاب فیزیک برهم کنش سیال و جامد برای حل مسئله استفاده شده، آورده شده است. جریان سیال اعمالی بر سلول در این پژوهش به صورت نوسانی با فرکانس ۱ هرتز در نظر گرفته شده [۱۰] که به صورت زیر بیان می شود:

رابطه ۲-۱

$$V = 30 + 300\pi \sin(2\pi t) \mu m/s$$

رابطه ۲-۲

$$Re = \frac{\rho V D}{\mu}$$

در راستای بررسی لایه ای بودن جریان مطابق با رابطه (۲-۳) عدد رینولدز برای سیال در بیوراکتور استوانه ای محاسبه شد. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر ماکزیمم عدد رینولدز حدوداً ۵/۲ است و این مقدار بسیار کوچکتر از مقدار بحرانی ۵۰۰ است به همین دلیل جریان به صورت لایه در نظر گرفته شده است. در شرایطی که سیال به داخل یک لوله نفوذ می کند، لایه مرزی در ناحیه نزدیک دیواره لوله شکل می گیرد و با افزایش طول ورودی، عرض

لایه مرزی نیز بیشتر می شود. سرانجام، بعد از طولی مشخص از ورودی، جریان به صورت جریان کاملاً توسعه یافته در می آید. در چنین شرایطی پروفیل سرعت در راستای محور لوله تغییر نمی کند. طول لازم برای توسعه یافتگی جریان لایه ای در استوانه از رابطه $0.06Re = \frac{L_e}{D}$ پیروی می کند، که در آن L_e طول لازم برای ورودی و D قطر استوانه است در پژوهش حاضر، L_e برابر با ۰/۹۴ میلی متر است، در مدل سازی حاضر طول بیوراکتور قبل از نفوذ جریان در داربست ۳ میلی متر طراحی شده است، بر همین اساس، جریان سیال قبل از ورود به داربست به صورت کامل توسعه یافته است [۱۶].

۲-۴-۱ دامنه سیال

معادلات حاکم برای سیال نوسانی تراکم ناپذیر شامل معادله ی پیوستگی و معادله ی بقای ممنتوم (ناویر-استوکس) است (۲-۳ و ۲-۴) که به ترتیب در زیر آورده شده است [۱۷]. که در آن ها ρ چگالی سیال، u بردار سرعت سیال، t زمان، p فشار، I تانسور واحد و μ لزجت سیال است.

$$\rho \nabla \cdot \mathbf{u} = 0$$

Error! No text of)
specified style in
(۱-document.

$$\rho \frac{\partial u_{\text{سیال}}}{\partial t} + \rho (u_{\text{سیال}} \cdot \nabla) u_{\text{سیال}} = \nabla \cdot [-pI + \mu(\nabla u_{\text{سیال}} + (\nabla u_{\text{سیال}})^T)]$$

Error! No text of)
specified style in
(۲-document.

۲-۴-۲ دامنه جامد

در این پژوهش، از مدل الاستیک خطی برای دامنه جامد استفاده شده است [۱۸]. بر همین اساس، از معادلات حاکم بر ماده‌ی الاستیک خطی همسانگرد به صورت زیر استفاده شده است [۱۸]:

$$\frac{\partial^2 u_{\text{جامد}}}{\partial t^2} \rho - \nabla \cdot \sigma = (I + \nabla u_{\text{جامد}}) v$$

Error!)
No text
of
(۳-specified style in document.

که در آن v ضریب پواسون و $u_{\text{جامد}}$ جابه‌جایی دامنه جامد است. شرایط مرزی پایه‌ی مژک که از قید لایه‌ی الاستیک استفاده شده است، به صورت زیر است [۱۸]:

(۴-Error! No text of specified style in document.)

$$\sigma \cdot n = -k(u_{\text{جامد}} - u_0)$$

که در آن σ تانسور تنش جامد، n بردار نرمال و k ثابت فنر و مقدار آن برابر با 10^1 N/m.m^2 است [۱۸].

۲-۵ دینامیک سیالات محاسباتی

در این پژوهش با توجه به اینکه مدول یانگ داربست نسبت به سلول بسیار بزرگ‌تر است، تغییر شکل داربست تحت تأثیر جریان سیال بسیار ناچیز بوده و می‌توان از تغییر شکل داربست صرفه نظر کرد. به همین دلیل برای کاهش هزینه محاسبات داربست به صورت صلب در نظر گرفته شده و از روش دینامیک سیالات محاسباتی (CFD) برای حل مسئله استفاده شده است. از نتایج حاصل از مدل CFD می‌توان برای ارزیابی تأثیر جریان سیال بر توزیع و مقدار تنش برشی و سرعت سیال در نواحی مختلف داربست‌های طراحی شده استفاده کرد. علاوه بر این، با

استفاده از نتایج حاصل از این مدل می‌توان برای پیش‌بینی ساختار بهینه داربست برای قرارگیری سلول بنیادی در راستای تمایز به سلول استخوانی استفاده کرد.

۲-۶ روش حل معادلات

در پژوهش‌های مربوط به برهم‌کنش سیال-سازه، نیروی ناشی از دامنه سیال باعث تغییر شکل دامنه جامد می‌شود و جابجایی سازه بر الگوی جریان تأثیر دارد. برای حل این نوع معادلات دو روش حل وجود دارد. نوع اول حل جفت شدگی^۲ یک سویه است که در آن از تأثیر تغییرات دامنه سازه بر الگو سیال صرفه نظر می‌شود. نوع دوم حل، جفت شدگی دو سویه است که در آن تأثیر سیال بر سازه و تأثیر سازه بر سیال در نظر گرفته می‌شود. در این پژوهش از روش جفت شدگی دو سویه استفاده شده است که در آن متغیرهای سیال و جامد به طور کامل جفت شده حل شده‌اند. برای حل این متغیرها از روش مستقیم استفاده شده که در آن معادلات سیال و سازه پس از فرایند گسسته سازی به صورت ماتریس در آمده و با استفاده از روش مستقیم و به صورت کاملاً جفت شده در یک زمان حل می‌شود و جواب دقیق دستگاه به دست می‌آید. در این مطالعه از حلگر MUMPS برای حل مسئله استفاده شده، که این حلگر به صورت پیش فرض در نرم‌افزار کامسول قرار دارند.

۲-۶-۱ استقلال حل از شبکه محاسباتی

در شبیه‌سازی‌های عددی به روش اجزای محدود باید از شبکه محاسباتی برای حل مسئله استفاده کرد. در این پژوهش از نرم‌افزار کامسول ورژن ۵/۳ استفاده شده که در آن شبکه محاسباتی توسط خود نرم‌افزار ایجاد می‌شود.

^۲one way coupling

مدل ارائه شده در برخی از قسمت‌ها دارای ناحیه باریک است و تغییر شکل و توزیع تنش در آن نواحی از اهمیت پژوهشی بالایی برخوردار است. به همین دلیل، از شبکه محاسباتی به صورت غیر اتوماتیک استفاده شده و در نواحی باریک برای افزایش دقت محاسباتی از المان‌های کوچک استفاده شده است. یکی از پارامترهای مهم در اعتبار بخشی به دقت نتایج عددی، رعایت استقلال حل از شبکه محاسباتی است. به همین دلیل، در این پژوهش با کاهش اندازه المان‌ها و تغییر در نحوه توزیع المان به خصوص در نواحی مرزی، دقت پاسخ در برابر تغییر اندازه المان بررسی شده است. نتایج نشان می‌دهد پس از ۳ مرحله افزایش تعداد و توزیع مش نتایج به دست آمده کمتر از ۵ درصد تغییر می‌کنند. در جدول ۲ اطلاعات مربوط به تعداد المان‌های استفاده شده در این پژوهش آورده شده است.

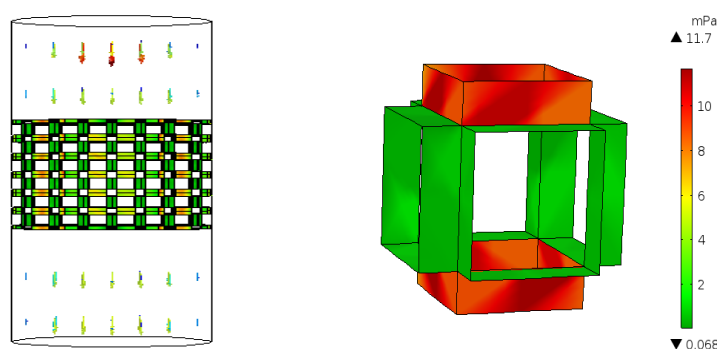
۲-۷ اعتبارسنجی مدل

در بخشی از پژوهش انجام شده توسط ژاو و همکاران [۹] داربست با شکل حفرات مکعبی با شعاع ۳۰۰ میکرومتر تحت تاثیر جریان سیال پایا با ۱۰۰ میکرومتر بر ثانیه و فشار خروجی صفر پاسکال مدل‌سازی شده و تنش برشی در دیواره داربست برر سی شد. برای مقایسه، داربست طراحی شده با شکل حفرات مکعبی با شعاع ۳۰۰ در این پژوهش تحت شرایط مرزی حاکم بر پژوهش ژاو و همکاران [۹] مدل‌سازی شد. نتایج حاصل از این مدل‌سازی در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین مقدار تنش در پژوهش ژاو و همکاران ۱۰ میلی پاسکال است که در مدل حاضر بیشترین مقدار تنش برشی در حدود ۱۱/۷ میلی پاسکال است. علت این اختلاف وجود تفاوت در ابعاد کلی دو داربست می‌باشد که در راستای کاهش هزینه محاسبات در این پژوهش قسمتی از داربست طراحی شده توسط ژاو و همکاران بررسی شده است.

جدول ۱ تعداد المان‌های استفاده شده در هر کدام از مدل‌های حل شده

نوع داربست	اندازه حفرات	تعداد مش
داربست با شکل حفرات کروی	۳۰۰	۹۴۳۰۴
	۳۵۰	۸۹۲۵۶
	۴۰۰	۸۷۸۹۹
	۴۵۰	۸۳۴۹۴
	۵۰۰	۸۱۰۳۰
داربست با شکل حفرات مکعبی	۳۰۰	۹۷۸۴۳
	۳۵۰	۹۱۳۴۵
	۴۰۰	۸۸۹۴۱
	۴۵۰	۸۴۲۳۸
	۵۰۰	۸۰۲۳۲
داربست با شکل حفرات هگزاگونال	۳۰۰	۹۷۸۰۹
	۳۵۰	۹۳۵۷۳
	۴۰۰	۹۰۹۸۸
	۴۵۰	۸۶۲۵۱
	۵۰۰	۸۲۳۰۳

داربست طراحی شده بر اساس پژوهش آزمایشگاهی	-	۶۵۷۳۹
سلول‌ها در حفره مکعبی	۵۰۰	۸۰۱۶۸
سلول‌ها در حفره کروی	۵۰۰	۷۶۸۷۹
سلول‌ها در حفره هگزاگونال	۴۵۰	۸۳۹۴۸



شکل ۳ داربست با شکل حفرات مکعبی با طول حفرات ۳۰۰ میکرومتر تحت جریان سیال پایا

۳- نتایج

مقدار و توزیع تنش برشی همواره به عنوان یکی از پارامترهای تأثیر گذار در بررسی‌های عددی و آزمایشگاهی در راستای پیش بینی عملکرد داربست و تمایز سلول بنیادی بررسی شده است. علاوه بر این، توزیع سرعت سیال در سطوح مختلف داربست و دسترسی سیال به نواحی گوناگون این امکان را فراهم می‌آورد که نواحی مرده داربست مشخص شود. منظور از نواحی مرده داربست بخش‌های از داربست است که سیال به آن نواحی دسترسی نداشته و امکان رشد سلول به دلیل نبود مواد مغذی در آن نواحی فراهم نیست. بر همین اساس، در این پژوهش داربست‌های با شکل حفرات کروی، مکعبی و هگزاگونال با طول حفرات ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میکرومتر طراحی شده و در بیوراکتور نوسانی تحت جریان سیال نوسانی قرار گرفته است. هدف از این بخش بررسی تأثیر تغییرات طول و شکل حفرات داربست بر فاکتورهای دینامیکی ناشی از جریان سیال در داربست

است، که از نتایج حاصل از آن برای انتخاب ساختار بهینه داربست جهت کارکردهای مهندسی بافت استخوان استفاده می‌شود.

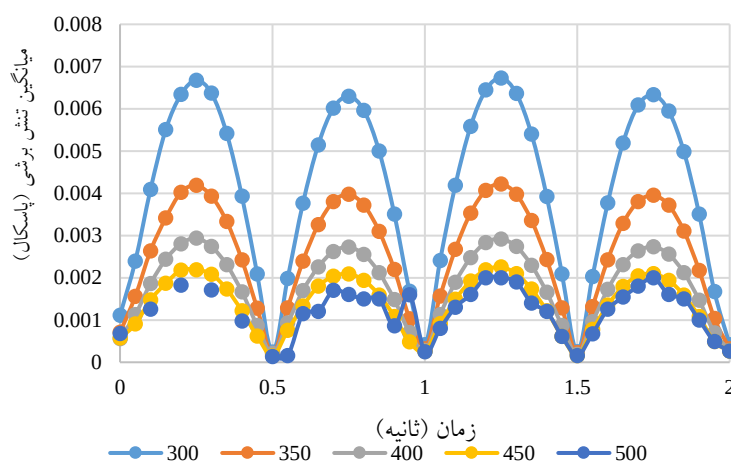
۳-۱ ارزیابی فاکتورهای مکانیکی داربست با شکل حفرات کروی

در این بخش نتایج حاصل از مدلسازی داربست با شکل حفرات کروی با قطر حفرات در بازه ۳۰۰-۵۰۰ میکرومتر تحت تأثیر جریان سیال نوسانی آورده شده است. در شکل ۴ میانگین تنش برشی در سطوح مختلف داربست در زمان‌های مختلف برای هر کدام از قطرهای حفرات داربست نشان داده شده است. براساس این نمودار با افزایش مقدار قطر داربست میانگین تنش برشی در سطوح مختلف داربست کاهش یافته است. علاوه بر این، نمودار نشان می‌دهد که میانگین تنش برشی در سطوح مختلف در بازه ۷-۰ میلی‌پاسکال و تأثیر فرکانس بر پاسخ تنش برشی بسیار ناچیز است. زیرا پس از تناوب اول (۱ ثانیه) میانگین

تنش‌های برشی نسبت به تناوب قبل دچار تغییرات بسیار ناچیزی می‌شود.

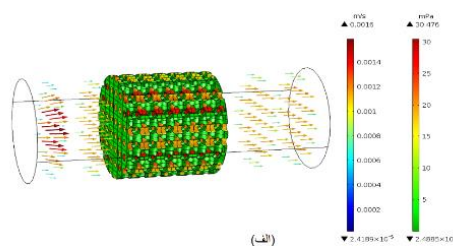
در شکل ۵ نتایج حاصل از توزیع تنش برشی ناشی از سیال در داربست‌های با قطر حفرات مختلف نشان داده شده‌است. براساس این نتایج با فاصله گرفتن از مرکز داربست به سمت دیوارهای بیوراکتور مقدار تنش برشی

ایجاد شده در دیواره‌های داربست افزایش یافته و ماکزیمم تنش برشی در سطح داربست در نزدیکی دیواره بیوراکتور رخ می‌دهد. زیرا با نزدیک شدن به دیواره‌ها گرادیان سرعت سیال افزایش یافته است، بر همین اساس میزان تنش برشی در این نواحی بیشتر از مقدار تنش برشی در نواحی مرکزی است.



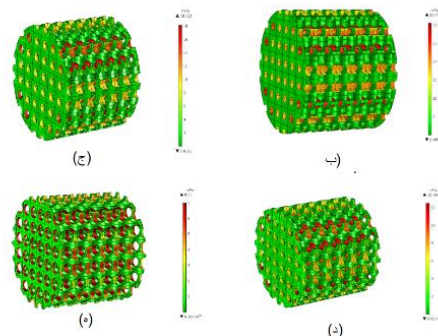
شکل ۴ نمودار میانگین تنش برشی در کل داربست با شکل حفرات کروی نسبت به زمان

شکل ۵ الف) قرارگیری داربست با قطر حفرات ۳۰۰ میکرومتر در بیوراکتور نوسانی و بردارهای سرعت ناشی از جریان سیال در داربست. ب-ی) توزیع تنش برشی در سطح داربست با شکل حفرات کروی با قطر حفرات: (ب) ۳۰۰، (ج) ۳۵۰، (د) ۴۰۰، (ه) ۴۵۰ و (ی) ۵۰۰ میکرومتر



۲-۳ ارزیابی فاکتورهای مکانیکی داربست با شکل حفرات مکعبی

همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است، جریان سیال از دیواره سمت راست وارد بیوراکتور شده و از سمت چپ آن خارج می‌شود. توزیع تنش برشی در سطوح مختلف داربست با اندازه حفرات ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میکرومتر در شکل ۶ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد با افزایش طول حفرات داربست، توزیع تنش برشی در سطوح داربست یکنواخت‌تر می‌شود.



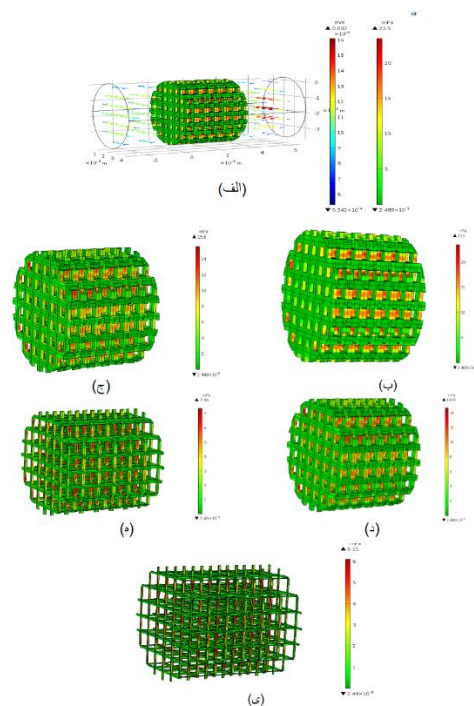
برشی در سطح داربست با شکل حفرات مکعبی به ترتیب با طول حفرات: (ب) ۳۰۰، (ج) ۳۵۰، (د) ۴۰۰، (ه) ۴۵۰ (ی) ۵۰۰ میکرومتر.

۳-۳ ارزیابی فاکتورهای مکانیکی داربست با شکل حفرات هگزاگونال

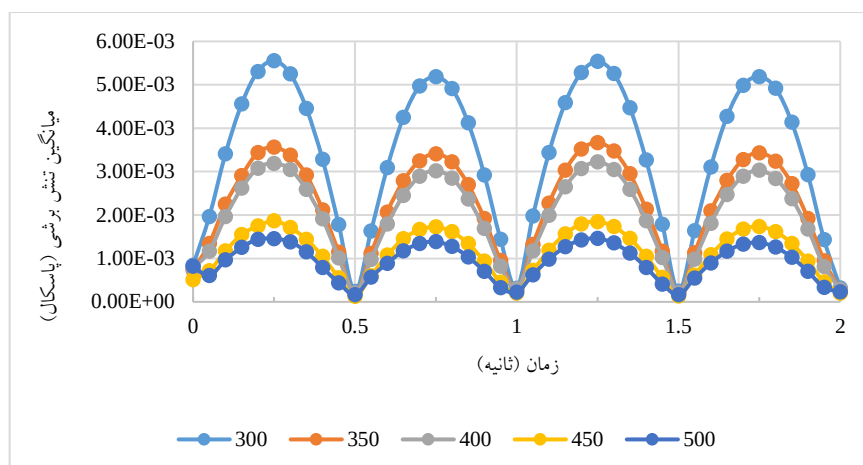
در این قسمت نتایج حاصل از مدل سازی داربست با شکل حفرات هگزاگونال و طول حفرات ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میکرومتر ارائه شده است. در راستای بررسی کلی تنش برشی در سطوح مختلف داربست میانگین تنش برشی در سطوح مختلف داربست نسبت به زمان بررسی شده است. همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده با افزایش طول حفرات میانگین تنش برشی در سطوح مختلف داربست کاهش می یابد. علاوه بر این، نتایج نشان می دهد که بیشترین مقدار تنش در زمان ۱/۲۵ ثانیه رخ می دهد.

همواره توزیع و مقدار تنش برشی در سطح داربست به عنوان یک فاکتور مهم در عملکرد داربست بررسی می شود. در شکل ۸ نتایج حاصل از توزیع تنش برشی ناشی از جریان سیال در داربست با طول حفرات مختلف نشان داده شده است. مطابق با این شکل با فاصله گرفتن از مرکز داربست به سمت دیواره های آن مقدار تنش برشی ایجاد شده در دیواره ها افزایش می یابد؛ زیرا با نزدیک شده به دیواره ها گرادپان سرعت سیال افزایش یافته، بر همین اساس میزان تنش برشی در این نواحی افزایش می یابد.

شود. مطابق با نتایج به دست آمده از توزیع و مقدار تنش برشی در داربست های با طول حفرات ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میکرومتر دارای مقادیر به ترتیب ۲۳/۵، ۱۵/۶ و ۱۴/۶۸ میلی پاسکال است که این مقادیر از بیشینه مقدار توزیع تنش برشی (۱۰ میلی پاسکال) برای تمایز سلول بنیادی به سلول استخوانی بیشتر است. با توجه به اینکه این مقدار بیشینه در یک محدوده (ناحیه های قرمز رنگ) رخ می دهند، به همین دلیل این داربست ها برای کاربرد مهندسی بافت استخوان مطلوب نخواهند بود.



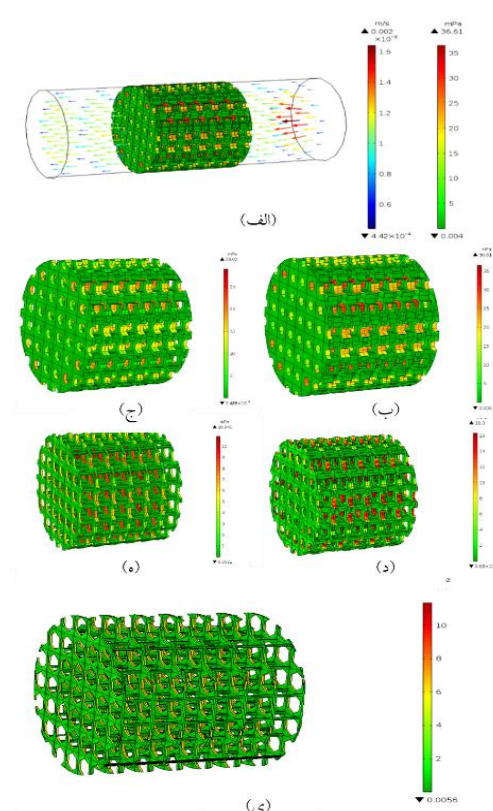
شکل ۶ الف) قرارگیری داربست با شکل حفرات مکعبی با طول حفرات ۳۰۰ میکرومتر در بیوراکتور نوسانی و بردارهای سرعت ناشی از جریان سیال در داربست. ب-ی) توزیع تنش



شکل ۷ نمودار میانگین تنش برشی در کل داربست با شکل هگزاگونال نسبت به زمان

تنش برشی یکی از مهم ترین فاکتورها در تمایز سلول بنیادی به سلول استخوانی است. با توجه به اینکه اندازه گیری توزیع و مقدار تنش برشی در نقاط مختلف داربست در شرایط آزمایشگاهی بسیار پیچیده و گاهی امکان ناپذیر است. بر همین اساس، با استفاده از روش های عددی می توان پیشنهاد های مبنی بر توزیع و مقدار تنش برشی ارائه کرد. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر تغییر شکل داربست تحت جریان سیال بسیار ناچیز است، می توان از تغییر شکل داربست نسبت به جریان سیال چشم پوشی کرد. به همین دلیل در این بخش به منظور کاهش هزینه محاسبات داربست به صورت صلب در نظر گرفته شده است.

پژوهش های گذشته [۲۰، ۲۱] نشان داده است استفاده از داربست ها با طول حفرات بزرگ تر از ۳۰۰ میکرومتر باعث افزایش چشمگیر چسبندگی، تمایز و مهاجرت سلول بنیادی می شود. نتایج این پژوهش نشان می دهد افزایش طول حفرات داربست باعث یکنواخت شدن توزیع تنش برشی در داربست می شود. علاوه بر این، با افزایش طول حفرات دسترسی سیال به نقاط مختلف داربست افزایش یافته و بر همین اساس حجم ناحیه مرده داربست کاهش می یابد.



شکل ۸ الف) قرارگیری داربست با شکل حفرات هگزاگونال با شعاع حفرات ۳۰۰ میکرومتر در بیوراکتور نوسانی و بردارهای سرعت ناشی از جریان سیال در داربست. ب-ی) توزیع تنش برشی در سطح داربست با شکل حفرات مکعبی به ترتیب با شعاع حفرات: ب) ۳۰۰، ج) ۳۵۰، د) ۴۰۰، ه) ۴۵۰، ی) ۵۰۰

۴- بحث

این، می‌توان دامنه وسیع‌تری از شعاع حفرات را برای داربست در نظر گرفت و تأثیر تخلخل را بر توزیع فاکتورهای مکانیکی ناشی از جریان سیال در داربست ارزیابی کرد.

۵- نتیجه‌گیری

در این پژوهش به بررسی توزیع تنش برشی در سطح داربست با استفاده از مدل عددی و ارزیابی تأثیر شکل و اندازه حفرات داربست بر توزیع آن پرداخته شد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که داربست‌های با شکل حفرات کروی و مکعبی با طول حفرات ۵۰۰ میکرومتر و داربست با شکل حفرات هگزاگونال با طول حفرات ۴۵۰ میکرومتر ساختاری مطلوب برای کشت سلول بنیادی از نظر توزیع تنش برشی و دسترسی سیال به نواحی مختلف ایجاد می‌کند. همچنین، پیش‌بینی می‌شود داربست با ساختار مکعبی، به دلیل وجود امکان تمایز استئوژنیک و کندروژنیک، برای نواحی اتصال استخوان و غضروف کارآمد باشد. در پژوهش‌های بعدی می‌توان مدل جامع‌تری از سلول شامل اجزای آن از قبیل میکروتوبل و اینتگرین‌ها طراحی کرد و با استفاده از این مدل به ارزیابی پاسخ سلول به جریان سیال نوسانی پرداخت. پاسخ مژک به جریان سیال می‌تواند به عنوان یک سنسور الکترومکانیکال برای جریان سیال عبوری از سطح سلول در نظر گرفته شود که در اثر خم شدن مژک سگینال‌های الکتریکی به داخل سلول ارسال شده و سلول متناسب با این سگینال‌های ارسالی به جریان سیال پاسخ می‌دهد. بر همین اساس، می‌توان با مدلسازی غشای مژک به عنوان ماده پیزوالکتریک پاسخ الکتریکی مژک به جریان سیال را از طریق ولتاژ تولید شده، به علت ایجاد کرنش در غشای مژک ارزیابی کرد. علاوه بر این، با استفاده از مدلسازی چند مقیاسی می‌توان با در نظر گرفتن ساختار

نتایج پژوهش مک کوی و همکاران^۳ [۲۲] نشان می‌دهد که داربست مکعبی و کروی با میانگین تنش برشی به ترتیب ۱۲/۷ و ۵/۲ میلی پاسکال دارای قابلیت مناسبی جهت چسبندگی سلول به داربست می‌باشد. بر همین اساس، در پژوهش حاضر داربست با شکل حفرات مکعبی با طول حفرات ۳۵۰ میکرومتر و داربست کروی با قطر حفرات ۵۰۰ میکرومتر تنش برشی در این محدوده را تجربه می‌کنند. همچنین، پیش‌بینی می‌شود که این داربست‌ها دارای ساختاری کارآمد برای چسبندگی سلول هستند. بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده است که تنش برشی متناسب برای تمایز سلول بنیادی به سلول استخوانی در بازه (۰/۱ - ۱۰) میلی پاسکال است [۱۹]. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تنش برشی در داربست‌های با شکل حفرات کروی، مکعبی با طول حفرات ۵۰۰ و داربست هگزاگونال با طول حفرات ۴۵۰ میکرومتر در این بازه قرار می‌گیرد. علاوه بر این، توزیع جریان سیال در این داربست‌ها یکنواخت بوده و دارای کمترین ناحیه مرده می‌باشند. بنابراین، پیش‌بینی می‌شود در صورتی که در شرایط آزمایشگاهی سلول در این داربست‌ها کاشته شود و تحت جریان نوسانی مشابه با بیوراکتور طراحی شده در این پروژه قرار گیرد، احتمال تمایز سلول بنیادی به سلول استخوانی بسیار بالا است.

یکی از رایج‌ترین محدودیت‌ها در پژوهش‌های عددی هزینه محاسبات است. در این پژوهش با استفاده از شبکه‌های محاسباتی متناسب با مدل و پیاده‌سازی فرضیات ساده سازی مطابق با پژوهش‌های سابق هزینه محاسبات کاهش یافته تا با توجه به امکانات در دسترس مدل قابل حل شود. در پژوهش‌های بعدی می‌توان با در نظر گرفتن حجم و سیع‌تری از داربست با ساختار متنوع‌تر، از جمله داربست‌های با سطوح ضلعی، تأثیر جریان سیال نوسانی بر فاکتورهای مکانیکی در داربست ارزیابی شود. علاوه بر

^۳ McCoy

[11] Zadpoor, A.A., Bone tissue regeneration: the role of scaffold geometry. *Biomaterials science*, 2015. 3(2): p. 231-245.

[12] Zhao, F., T.J. Vaughan, and L.M. McNamara, Quantification of fluid shear stress in bone tissue engineering scaffolds with spherical and cubical pore architectures. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 2016. 15(3): p. 561-577.

[13] Vaughan, T., M. Haugh, and L. McNamara, A fluid-structure interaction model to characterize bone cell stimulation in parallel-plate flow chamber systems. *Journal of The Royal Society Interface*, 2013. 10(81): p. 20120900.

[14] Vaez Ghaemi, R., et al., Fluid-Structure Interactions Analysis of Shear-Induced Modulation of a Mesenchymal Stem Cell: An Image-Based Study. *Artificial Organs*, 2016. 40(3): p. 278-287.

[15] Abbasszadeh Rad, A. and B. Vahidi, The Effect of the Kind of Attachment of Primary Cilium to Cell in Its Response to the Fluid Flow: A 3D Computational Simulation. *Journal of Solid and Fluid Mechanics*, 2018. 8(1 #HD : (۰۰۱۰۵p.- .

[16] Pritchard, P.J. and J.W. Mitchell, Fox and McDonald's introduction to fluid mechanics. 2016: John Wiley & Sons.

[17] Rad, A.A. and B. Vahidi, A finite elements study on the role of primary cilia in sensing mechanical stimuli to cells by calculating their response to the fluid flow. *Journal of Computational Applied Mechanics*, 2016. 47(1): p. 35-44.

[18] Abbasszadeh Rad, A.H. and B. Vahidi, The Effect of the Kind of Attachment of Primary Cilium to Cell in Its Response to the Fluid Flow: A 3D Computational Simulation. *Journal of Solid and Fluid Mechanics*, 2018. 8(1): p. 203-213.

[19] Olivares, A.L., et al., Finite element study of scaffold architecture design and culture conditions for tissue engineering. *Biomaterials*, 2009. 30(30): p. 6142-61۴۹

[20] Murphy, C.M., et al., Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad. *Eur Cell Mater*, 2013. 26(4): p. 120-132.

[21] Murphy, C.M., et al., Mesenchymal stem cell fate is regulated by the composition and mechanical properties of collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2012. 11: p. 53-62.

[22] McCoy, R.J., C. Jungreuthmayer, and F.J. O'Brien, Influence of flow rate and scaffold pore size on cell behavior during mechanical stimulation in a flow perfusion bioreactor. *Biotechnology and bioengineering*, 2012. 109(6): p. 1583-1594.

سایتواسکلتون، پاسخ سلول را به تحریک مکانیکی اعمالی بر آن بررسی کرد.

۶- منابع

[1] Moradkhani, M., Vahidi, B. & Ahmadian, B. Finite element study of stem cells under fluid flow for mechanoregulation toward osteochondral cells. *J Mater Sci: Mater Med*, 2021. 32 (7), P. 1-10.

[2] Ali, D. and S. Sen, Permeability and fluid flow-induced wall shear stress of bone tissue scaffolds: computational fluid dynamic analysis using Newtonian and non-Newtonian blood flow models. *Computers in Biology and Medicine*, 2018. 99: p. 201-208.

[3] Giannitelli, S., et al., Current trends in the design of scaffolds for computer-aided tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 2014. 10.(۲)

[4] Eghbali, H., et al., An experimental-numerical investigation on the effects of macroporous scaffold geometry on cell culture parameters. *The International journal of artificial organs*, 2017. 40(4): p. 185-195.

[5] Hendrikson, W.J., et al., Influence of additive manufactured scaffold architecture on the distribution of surface strains and fluid flow shear stresses and expected osteochondral cell differentiation. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2017. 5: p. 6.

[6] Boschetti, F., et al., Prediction of the micro-fluid dynamic environment imposed to three-dimensional engineered cell systems in bioreactors. *Journal of biomechanics*, 2006. 39(3): p. 418-425.

[7] Malvè, M., D. Bergstrom, and X. Chen, Modeling the flow and mass transport in a mechanically stimulated parametric porous scaffold under fluid-structure interaction approach. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 2018. 96: p. 53-60.

[8] Zhao, F., T.J. Vaughan, and L.M. McNamara, Multiscale fluid-structure interaction modelling to determine the mechanical stimulation of bone cells in a tissue engineered scaffold. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 2015. 14(2): p. 231-243.

[9] Zhao, F., T.J. Vaughan, and L.M. McNamara, Quantification of fluid shear stress in bone tissue engineering scaffolds with spherical and cubical pore architectures. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 2016. 15(3): p. 561-577..

[10] Chen, G., et al., Responses of MSCs to 3D scaffold matrix mechanical properties under oscillatory perfusion culture. *ACS applied materials & interfaces*: (۲)۹ .۲۰۱۷, p. 1207-1218.

Numerical analysis of the effect of three-dimensional scaffold structure on the distribution of mechanical factors on the surface of bone scaffold

Bahram Ahmadian¹, Bahman Vahidi^{2*}

1. MSc, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

2. Associate Professor, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran.

bahman.vahidi@ut.ac.ir

Receipt: 2022/08/21

Accepted: 2022/12/28

Abstract

Evaluating the response of the stem cells to different mechanical stimulation is an important issue to obtain control over cell behavior in the culture environment. One of the effective parameters in the mechanoregulation of stem cells is the microstructure of scaffolds. Evaluating the effect of microstructure of scaffold in the lab environment is very complicated. Therefore, in this study, the effect of scaffold architecture on mechanical factors in the scaffold was investigated under oscillatory fluid flow by using numerical modeling. In this study, distribution of shear stress and fluid velocity in three types of scaffolds with spherical, cubical and regular hexagonal pores with length of 300, 350, 400, 450 and 500 micrometers were investigated by using computational fluid dynamics method. The results of the computational fluid dynamics model showed that the scaffold with spherical and cubic pores shape with length of 500 micrometers and scaffold with hexagonal pores with length of 450 micrometers experienced shear stress in the range of 0.1-10 mPa. This range of the shear stress is suitable for differentiation of the stem cell to bone cells. Moreover, the result of exerting oscillatory fluid flow to these scaffolds indicated that dead zones of the scaffold, where isn't suitable for cell seeding, was decreased due to the access of fluid flow to the different area of scaffold. The results of this study can be used in a laboratory to achieve optimal stem cell culture to provide suitable environment culture for differentiation of stem cells toward the bone cell.

Keywords: Porous Scaffold, Mechanomodulation, Computational Fluid Dynamics, Stem Cell Differentiation