

## Effect of Mechanical Stimulations on the Fate of Stem Cells – A Review

Majid Halvaei<sup>1</sup>, Atefeh Solouk<sup>2</sup>, Nabiollah Abolfathi<sup>2</sup>, Nooshin Haghhipour<sup>3\*</sup>, Mahnaz Eskandari<sup>2</sup>, Mohammad Ali Shokrgozar<sup>4\*\*</sup>

- 1- M.Sc. Student, Department of Tissue Engineering, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran
- 2- Assistant Professor, Department of Tissue Engineering, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran
- 3- Assistant Professor, National Cell Bank of Iran, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
- 4- Professor, National Cell Bank of Iran, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

\*Corresponding Address: P.O.Code: 1316943551, Pasteur Ave., 12 Farvardin, 69, Pasteur Institute of Iran, National Cell Bank of Iran, Tehran, Iran  
Email: haghhipour@pasteur.ac.ir

\*\*Corresponding Address: P.O.Code: 1316943551, Pasteur Ave., 12 Farvardin, 69, Pasteur Institute of Iran, National Cell Bank of Iran, Tehran, Iran  
Email: mashokrgozar@pasteur.ac.ir

Received: 30/Oct/2013, Accepted: 30/Dec/2013

### Abstract

The provision of an adequate quantity of cells with proper function and purity is one of the main challenges of tissue engineering studies. Stem cells, with their self-renewal and differentiation capacity, are considered one of the main cell sources in the field of tissue engineering. Previously, the use of chemical factors seemed to be the only possible way for stem cell differentiation. However, scientists have recently realized that physiological processes of the human body are composed of chemical, mechanical and electrical signals. Mechanical stimulation is one of the current methods that produce cells with proper morphology and alignment in the scaffold. Specific differentiation, a higher rate of cell growth, proliferation and differentiation, and lower experiment costs can be achieved using mechanical stimulation. Different parameters such as the chemical environment, physical environment that surrounds the cell (including geometry, stiffness and topology of scaffold surface), amplitude, frequency, and duration of mechanical stimulation can affect the stem cell fate. In this study we have investigated the impact of all types of mechanical stimulations under different loading regimes on the fate of stem cells with respect to the target tissue. The result has been reflected in the design of a proper bioreactor.

**Keywords:** Mechanical stimulation, Bioreactor, Tissue engineering, Stem cell fate, Cell biomechanics

Modares Journal of Medical Sciences: *Pathobiology*, Vol 16, No 3, Autumn 2013, Pages: 1-23

## مروری بر تأثیر تحریکات مکانیکی بر سرنوشت سلول‌های بنیادی

مجید حلوائی<sup>۱</sup>، عاطفه سلوک<sup>۲</sup>، نبی‌الله ابوالفتحی<sup>۲</sup>، نوشین حقیقی پور<sup>۳\*</sup>، مهناز اسکندری<sup>۲</sup>،  
محمدعلی شکرگزار<sup>۴\*\*</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بافت، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران
- ۲- استادیار، گروه مهندسی بافت، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران
- ۳- استادیار، بانک سلولی ایران، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
- ۴- استاد، بانک سلولی ایران، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

\*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۳۱۶۹۴۳۵۵۱، خیابان پاستور، خیابان ۱۲ فروردین، انستیتو پاستور ایران، بانک سلولی ایران  
Email: haghipour@pasteur.ac.ir

\*\*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۳۱۶۹۴۳۵۵۱، خیابان پاستور، خیابان ۱۲ فروردین، انستیتو پاستور ایران، بانک سلولی ایران  
Email: mashokrgozar@pasteur.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۰۹

دریافت مقاله: ۹۲/۰۸/۰۸

### چکیده

تأمین منبع سلولی با عملکرد مناسب به مقدار کافی و نیز خلوص مناسب یکی از چالش‌های اساسی پیش روی مطالعات مهندسی بافت بوده است. با توجه به ویژگی‌های سلول‌های بنیادی (خود نوزایی و قابلیت تمایز)، این سلول‌ها یکی از منابع اصلی سلولی مورد استفاده در حوزه مهندسی بافت به حساب می‌آیند. در گذشته استفاده از عوامل شیمیایی تنها راه تمایز سلول‌های بنیادی به نظر می‌رسید، اما با توجه به بررسی‌های انجام شده، دانشمندان دریافته‌اند که در فرآیندهای فیزیولوژیک بدن، ترکیب پیچیده‌ای از انواع پیام‌های شیمیایی، مکانیکی و الکتریکی درگیر است. امروزه از تحریک‌های مکانیکی به منظور تولید سلول‌های با ریخت‌شناسی و جهت‌گیری مناسب درون داربست استفاده می‌شود. به علاوه، با استفاده از این نوع تحریک‌ها می‌توان به تمایز اختصاصی، افزایش سرعت رشد، تکثیر و تمایز و هزینه کمتر نسبت به استفاده از عوامل شیمیایی دست یافت. پارامترهای مختلفی نظیر محیط شیمیایی، محیط فیزیکی اطراف سلول (شامل هندسه، سختی و توپولوژی سطح داربست)، دامنه، فرکانس و مدت زمان اعمال تحریک مکانیکی همگی می‌توانند سرنوشت سلول‌های بنیادی را تحت تأثیر قرار دهد. در این گزارش به بررسی اثر انواع تحریک‌های مکانیکی (تحت رژیم‌های بارگذاری متفاوت) بر سرنوشت سلول‌های بنیادی با توجه به بافت حاصل از آنها پرداخته شده است و نتیجه حاصل در طراحی راکتور زیستی مناسب آن‌ها منعکس شده است.

کلیدواژگان: تحریک مکانیکی، راکتور زیستی، مهندسی بافت، سرنوشت سلول بنیادی، بیومکانیک سلول

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۱۶، شماره ۳ پاییز ۱۳۹۲، صفحات: ۱-۲۳

### مقدمه

این سلول‌ها یکی از منابع اصلی مورد استفاده در حوزه مهندسی بافت به حساب می‌آیند. سلول‌های بنیادی هنوز تخصصی نشده‌اند و قابلیت تمایز به سایر رده‌های سلولی را دارند. این سلول‌ها به دسته‌های مختلفی تقسیم‌بندی می‌شوند

مهندسی بافت بر چهار اصل سلول، تحریک، داربست و راکتور زیستی استوار است [۱، ۲]. منبع سلولی مناسب یکی از چالش‌های مهم پیش روی محققان است. با توجه به ویژگی‌های سلول‌های بنیادی (خود نوزایی و قابلیت تمایز)،

### تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

انواع تحریک‌های مکانیکی که روی سلول‌ها بررسی شده، شامل تنش فشاری، تنش برشی و تنش کششی است. معمولاً تنش کششی توسط پارامتر کرنش (Strain) معرفی و بررسی می‌شود، همچنین در برخی مقالات تنش فشاری هم به صورت کرنش مطالعه شده است [۱۰-۱۲].

تاریخچه بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر رفتار سلول‌ها به قرن ۱۷ میلادی باز می‌گردد؛ زمانی که گالیلئو (Galileo) برای اولین بار به بررسی تأثیر بارگذاری‌های مکانیکی بر ریخت‌شناسی استخوان‌ها پرداخت [۱۳]. بعد از آن ون‌میر (Von Meyer) به بررسی جهت‌گیری تراپکولاه‌ها (Trabeculae) در استخوان اسفنجی پرداخت. یک مهندس مکانیک به نام کولمان (Culmann) با همکاری ون‌میر تئوری ترجتوری (Trajectory) را در سال ۱۸۶۷ میلادی ارائه داد که بر اساس آن تراپکولاه‌ها در راستای تنش‌های اصلی وارد بر استخوان جهت‌گیری می‌کنند. سپس ولف (Wolff) در سال ۱۸۹۲ میلادی قانون ولف را ارائه نمود که طبق آن با تغییر بارگذاری روی استخوان، جهت‌گیری تراپکولاه‌ها نیز تغییر می‌کند [۱۴-۱۶]. اما اولین مطالعات آزمایشگاهی مربوط به بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر رفتار سلول به سال ۱۹۳۹ میلادی باز می‌گردد، زمانی که شخصی به نام گلوکسمان (Glucksmann) بارگذاری‌های مختلفی را بر سلول‌های به‌دست آمده از تیبای (Tibia) جوجه اعمال کرد و نتایج آن را مورد بررسی قرار داد [۱۷، ۱۸]. در ادامه این تحقیقات، کارهای زیادی در این زمینه انجام شد و تا به امروز روش‌ها و دستگاه‌های مختلفی برای بررسی آثار تحریک‌های مکانیکی بر رفتار سلول به کار برده شده است. اکثر پژوهش‌های انجام شده در زمینه بررسی اثر تحریک مکانیکی بر سرنوشت سلول با الهام از بارگذاری‌های طبیعی انجام شده است [۱۹].

مکانیسم‌های مختلفی برای تبدیل تحریک مکانیکی به تحریک فیزیولوژیک قابل درک برای سلول پیشنهاد شده است. در کل می‌توان فرآیند تبدیل تحریک مکانیکی را به سه بخش تقسیم نمود. ابتدا تحریک توسط گیرنده‌های مکانیکی سطح

که یکی از مهم‌ترین تقسیم‌بندی‌ها، بر اساس میزان توان تمایزی آن‌ها است. این سلول‌ها بر اساس توانایی تمایز به رده‌های مختلف به سه دسته همه‌توان، پرتوان و چندتوان تقسیم می‌شوند [۳، ۴].

سلول‌های همه‌توان قابلیت تمایز به سمت همه رده‌های سلولی انسان بالغ، به علاوه سلول‌های جفت و بند ناف را دارند. سلول‌های پرتوان نیز مانند سلول‌های همه‌توان قادر هستند به همه رده‌های سلولی بدن انسان بالغ تمایز یابند، اما این گروه بر خلاف سلول‌های همه‌توان قادر به تمایز به سمت سلول‌های جفت و بند ناف نیستند. گروه بعدی سلول‌های بنیادی، سلول‌های چندتوان هستند که تنها می‌توانند به رده‌های خاصی از سلول‌ها (معمولاً سلول‌های بافتی که در آن قرار دارند) تمایز یابند (سلول‌های مزانشیمال جز این گروه هستند) [۳، ۴].

استفاده از سلول‌های بنیادی با مشکلاتی نظیر سرعت تکثیر و تمایز، خلوص سلول‌های تمایز یافته به‌دست آمده، جهت‌گیری مناسب سلول‌ها در داریست و نیز داشتن سلول‌هایی با عملکرد مناسب، روبه‌رو است. به علاوه، سلول‌های بنیادی مزانشیمال در محیط آزمایشگاه خاصیت تمایزی و تکثیر خود را از دست می‌دهند که باید با روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی مانع این فرآیند شد. با توجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه تمایز سلول‌های بنیادی، مشخص شده است که محرک‌های شیمیایی تنها تحریک‌های تعیین‌کننده سرنوشت سلول نیست و محرک‌های فیزیکی نظیر تحریک‌های مکانیکی، الکتریکی و نیز هندسه سطح بر سرنوشت سلول تأثیرگذار است [۵-۹].

یکی از روش‌های شناخته شده برای تمایز انتخابی سلول‌های بنیادی، تحریک‌های مکانیکی است. این روش با داشتن مزایایی نظیر افزایش سرعت رشد و تکثیر، هزینه کمتر نسبت به استفاده از عوامل شیمیایی، قدرت تمایز انتخابی با خلوص بالا و تولید سلول‌هایی با عملکرد و ریخت‌شناسی (Morphology) مناسب، بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

سلول دریافت و به داخل سلول منتقل می‌شود. سپس این تحریک به درون سلول و به سمت گیرنده هدف منتقل می‌شود. به نظر می‌رسد سلول‌ها از راه‌های شیمیایی یا اسکلت سلولی خود برای انتقال تحریک استفاده می‌نمایند. در نهایت بخش هدف باید فعال شود تا فعالیت مورد نظر (مثلاً بیان یک ژن) انجام گیرد [۲۰، ۲۱]. گیرنده‌های مکانیکی شناخته شده که در فضای بین داخل و خارج سلول قرار دارد، شامل اینتگرین‌ها (Integrins)، کانال‌های یونی حساس به کشش و پروتئین‌های سطح سلول است. انتقال تحریک نیز به دو روش از طریق اسکلت سلولی و به صورت بیوشیمیایی انجام می‌شود [۱۶، ۲۰-۲۳]. انتقال یک تحریک مکانیکی به صورت انتشار موج مکانیکی بسیار سریع‌تر از انتقال تحریک به صورت شیمیایی است. طبق نتایج ارائه شده، انتقال تحریک از طریق انتشار مکانیکی در حدود ۱ تا ۵ میلی‌ثانیه به طول می‌انجامد و این در حالی است که انتقال شیمیایی آن از طریق نفوذ یا جابه‌جایی در حدود ۵ تا ۱۰ ثانیه زمان نیاز دارد. بنابراین مسیرهای شیمیایی تنها مسیر انتقال تحریک مکانیکی به سمت هسته نیست و انتقال از طریق انتشار موج مکانیکی و تبدیل آن به تحریک شیمیایی در سطح هسته می‌تواند مسیر دیگری برای این انتقال در نظر گرفته شود [۲۰]. با وجود مطالعات زیادی که در زمینه بررسی مسیرهای دریافت، انتقال و تبدیل تحریک‌های مکانیکی انجام شده است، مکانیسم دقیق این فرایند همچنان ناشناخته است [۲۰]. تا به حال انواع سلول‌های بنیادی انسانی و جانوری تحت تحریک مکانیکی قرار گرفته که در بیشتر موارد سلول‌های مزانشیمال خرگوشی، انسانی، گاوی و موشی و سلول‌های بنیادی جنینی موش مطالعه شده است [۱۰، ۱۷، ۲۴، ۲۵].

در بررسی‌های تحریک مکانیکی سلول، سلول‌ها به صورت تک سلول یا گروه سلولی تحت تحریک مکانیکی قرار می‌گیرند. تحریک تک سلول عموماً به منظور مدل‌سازی، تشخیص بیماری از روی خواص مکانیکی سلول و نیز پی بردن به مکانیسم انتقال تحریک مکانیکی در سلول و تأثیر آن بر رفتار سلول به کار می‌رود اما در حالت تحریک گروه

سلولی، دو حالت مورد بررسی قرار می‌گیرد: ۱- سلول‌ها به صورت تک لایه تحت یک نوع تنش خاص قرار می‌گیرند [۲۶] و ۲- سلول‌ها درون یک داربست سه بعدی بررسی می‌شوند [۱۰، ۱۱، ۲۴، ۲۷-۲۹]. در حالت اول یعنی تحریک تک لایه‌ای از سلول‌ها، تأثیر داربست بر سلول به حداقل مقدار خود می‌رسد، این در حالی است که در حالت سه بعدی، در واقع کامپوزیت (Composite) داربست- سلول ارزیابی می‌شود.

تحریک مکانیکی تک سلول با دو هدف اصلی انجام می‌گیرد: مدل‌سازی سلول [۳۰] و بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر رفتار سلول [۳۰-۳۲]. هدف از مدل‌سازی سلول، ارائه مدل مناسبی از سلول و بررسی خواص مکانیکی آن است. این مطالعات می‌تواند روش مناسبی برای تشخیص سلول سالم از ناسالم و نیز مدل مناسبی از سلول در مراحل مختلف رشد، تکثیر، تمایز و مهاجرت سلول با حذف آثار تماس سلول‌ها با یکدیگر و نیز محیط اطراف فراهم آورد. هدف دیگر بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر تک سلول، مطالعه رفتار تک سلول در اثر تحریک مکانیکی است.

روش‌های متداول تحریک تک سلول شامل استفاده از دستگاه AFM (Atomic Force Microscopy)، گبره نوری، میکرورنومتری گلوله مغناطیسی (Microrheometry of Magnetic Bead) و استفاده از میکروپیت است [۳۰-۳۳]. شکل ۱ انواع روش‌های مورد استفاده برای تحریک تک سلول را به صورت شماتیک نمایش می‌دهد [۳۰]. البته امروزه ریز تراشه نیز برای به دام انداختن سلول بدون آسیب رساندن به آن طراحی و ساخته شده‌است که معمولاً با استفاده از میدان‌های جریان سیال ایجاد شده در آن‌ها می‌توان سلول را در محل مورد نظر به دام انداخت. سپس با قرارگیری سلول در محل تعیین شده و چسبیدن آن به بستر، می‌توان تحریک مورد نظر را به آن وارد کرده و تأثیرات آن را مشاهده نمود [۳۱، ۳۲].

تا به حال مدل‌های مکانیکی مختلفی برای سلول و ساختار درون آن معرفی شده که هر یک از جنبه خاصی به سلول نگاه کرده است. اما از آن‌جا که سلول یک ساختار کامپوزیتی بسیار

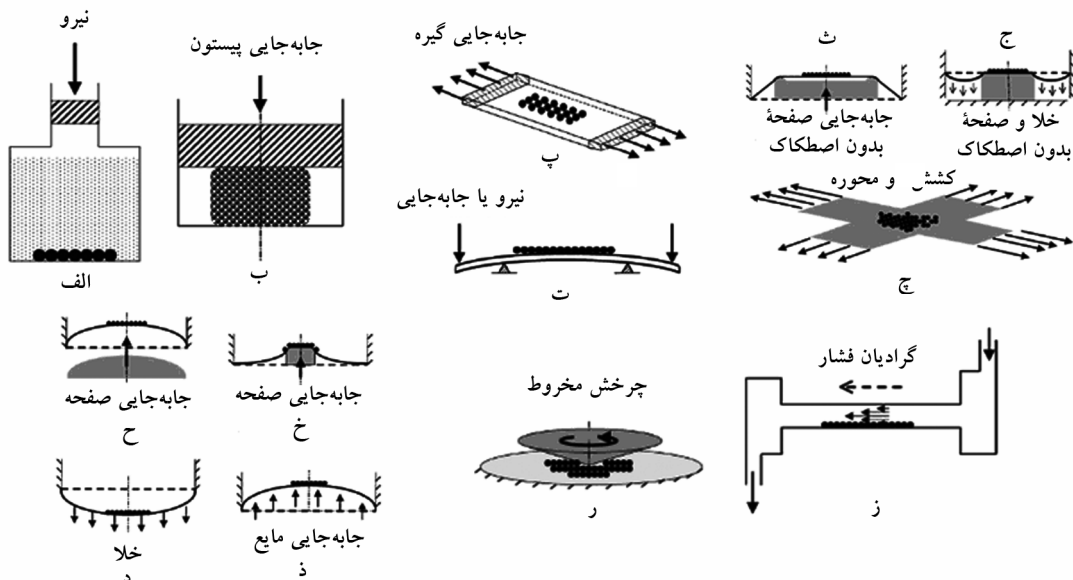
## تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

در مورد تحریک سلول‌ها به صورت گروهی نیز روش‌های مختلفی ارائه شده که مهم‌ترین این روش‌ها در شکل ۲ خلاصه شده است [۵، ۱۶، ۱۷]. اکثر بافت‌های طبیعی بدن تحت ترکیبی از این تحریک‌ها قرار دارند. در مطالعات صورت گرفته در زمینه بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر سرنوشت سلول‌های بنیادی، گاهی تنها یکی از این روش‌ها بررسی شده که در این حالت معمولاً تأثیر زمان بارگذاری، فرکانس، دامنه یا الگوی تکرار فرآیند بارگذاری مورد توجه بوده است [۱۰، ۱۱، ۱۳، ۲۶، ۳۸]. اما در برخی دیگر از مقالات بیشتر به تأثیر ترکیب بارگذاری‌ها توجه شده که ترکیب دو یا چند روش به طور همزمان با حالتی که تنها یک تحریک اعمال می‌شود مقایسه شده است [۱۰، ۱۱]. راکتورهای زیستی مورد استفاده برای تحریک سلول را می‌توان به دو دسته کلی میکروراکتورهای زیستی [۲۶، ۳۹-۴۱] و ماکروراکتورهای زیستی [۱۰، ۱۱، ۲۷، ۳۸، ۴۱] تقسیم نمود. هر یک از این راکتورهای زیستی خواصی دارد که در مطالعات مربوط به آن‌ها توجه شده است.

پیچیده است، هنوز مدل کاملی از رفتار مکانیکی آن ارائه نشده است [۳۴-۳۶]. بعضی از مدل‌های ساده، برخی از رفتارهای سلول را توجیه می‌کنند اما قادر به توجیه سایر رفتارها نیست [۱۶، ۳۰، ۳۴، ۳۷].

روش اعمال تحریک مکانیکی	شرح شماتیک تحریک
استفاده از میکروپیت	
گیره نوری	
استفاده از چرخش گلوله مغناطیسی	
استفاده از AFM	
استفاده از جریان مایع	

شکل ۱ نمایش انواع روش‌های اعمال تحریک مکانیکی به تک سلول [۳۰]



شکل ۲ روش‌های مختلف اعمال تحریک مکانیکی به سلول؛ (الف) فشار هیدرواستاتیک، (ب) استفاده از یک صفحه برای اعمال تنش فشاری روی ماتریس سلولی، (پ) کشش تک محوره، (ت) خمش ۴ نقطه‌ای، (ث) کرنش همزمان شعاعی و محیطی با حرکت صفحه بدون اصطکاک، (ج) دستیابی به کرنش بستر شعاعی و محیطی به وسیله یک بخش ثابت و ایجاد خلأ در اطراف آن، (چ) کشش دو محوره، (ح) جابه‌جایی منحنی شکل، (خ) کشش به وسیله حرکت یک زائده به سمت بالا، (د) جابه‌جایی بستر به وسیله ایجاد خلأ در زیر آن، (ذ) جابه‌جایی بستر به کمک فشار مایع در زیر آن، (ر) صفحه و مخروط به منظور تولید تنش برشی ناشی از سیال، (ز) محفظه تولید جریان موازی صفحه [۵]

ماکروراکتورهای زیستی با داشتن خواصی نظیر تبادل مواد غذایی و گازی بهتر، فرآیند طراحی و ساخت آسان‌تر، امکان استفاده از محرک‌های متداول برای اعمال تحریک‌ها و نیز توانایی اعمال تنش‌های با دامنه‌های زیاد مورد توجه است. اما اشغال حجم زیادی از آزمایشگاه، اشغال کامل انکوباتور یا عدم امکان قرارگیری در انکوباتور (به دلیل حجم بزرگ آن)، نیاز به محیط کشت و عامل رشد بیشتر، نیاز به تعداد سلول بیشتر برای هر آزمایش (در نتیجه عدم امکان استفاده از یک گروه سلولی برای چندین آزمایش) و در نهایت افزایش هزینه آزمایش‌ها با محدودیت‌هایی مواجه است. در ادامه ماکروراکتورهای زیستی مورد استفاده برای تحریک مکانیکی سلول‌ها به منظور تمایز به سمت بافت‌های هدف متفاوت بررسی می‌شود.

عمر پیدایش میکروراکتورهای زیستی کمتر از ماکرو-راکتورهای زیستی است و پیدایش آن‌ها تقریباً به یک دهه گذشته باز می‌گردد. میکروراکتورهای زیستی با داشتن خواصی نظیر هزینه ساخت کمتر، یک‌بار مصرف بودن [۴۰]، دقت اعمال تحریک بالاتر، قابلیت استفاده از یک گروه سلولی در چندین آزمایش (با توجه به نیاز به تعداد سلول کمتر برای هر آزمایش)، قابلیت اعمال تحریک کنترل شده، نسبت سطح به حجم بالاتر، حجم کوچک و قابلیت قرارگیری در انکوباتور و نیز اشغال فضای کمی از آزمایشگاه، مصرف انرژی کمتر و نیاز به حجم مواد شیمیایی کمتر، امروزه مورد توجه قرار گرفته است. اما مشکلات مربوط به طراحی و ساخت، نیاز به محرک‌های خاص و عدم تبادل مناسب مواد غذایی و گازها، استفاده از این ریز تراشه‌ها را تا حدی با محدودیت مواجه کرده است. میکروراکتورهای زیستی زیادی برای کارهای سلولی با هدف‌های مختلفی طراحی و ساخته شده است. برای مثال گروه وو (Wu) یک سیستم ریز سیالیتی با قابلیت اعمال تحریک شیمیایی و مکانیکی طراحی نموده است. بافت هدف مورد نظر آن‌ها سلول‌های چربی بوده است. این دستگاه با داشتن محفظه‌های رقیق‌سازی می‌تواند غلظت مواد شیمیایی در محیط کشت را کنترل نماید؛ همچنین قادر است سلول‌ها را تحت تنش

فشاری قرار دهد [۳۹].

با توجه به این‌که اکثر پژوهش‌های انجام گرفته در زمینه بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر سرنوشت سلول‌های بنیادی روی بافت هدف خاصی متمرکز شده است، در این مقاله نیز با توجه به بافت‌های هدف مختلف، رژیم‌های بارگذاری (شامل دامنه، فرکانس و مدت زمان اعمال تحریک)، نوع سلول اولیه، داربست مورد استفاده و راکتور زیستی مورد استفاده برای هر بافت بررسی خواهد شد.

## تحریک‌های مکانیکی و تمایز به سمت سلول‌های استخوان

۵ نوع راکتور زیستی تجاری که برای بافت‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد، شامل اسپینر فلاسک‌ها (Spinner Flask: SF)، راکتورهای زیستی پرفیوژن (Perfusion)، راکتورهای زیستی با چرخش دیواره‌ای (Rotating Wall Vessel: RWV)، راکتور زیستی ZRP [یک نوع راکتور زیستی با قابلیت چرخش بستر (Rotating Bed Bioreactor)] و راکتور زیستی با قابلیت چرخش دو محوره (Biaxial Rotating: BXR) است (شکل ۳). اگرچه مقایسه‌های زیادی بین این راکتورهای زیستی انجام شده اما مقایسه‌های سیستماتیک کمی بین آن‌ها صورت گرفته است. این راکتورهای زیستی علاوه بر اعمال تنش‌های برشی ناشی از جریان سیال، با انتقال جرم مناسب، رشد و تکثیر سلول‌های درون داربست را بهبود می‌بخشد [۱۲، ۲۷].

یکی از مقایسه‌های سیستماتیک بین این راکتورهای زیستی توسط ژانگ (Zhang) و همکاران انجام شده است. این گروه، ۴ نوع بیوراکتور پرفیوژن، SF، RWV و راکتور زیستی BXR را با هم مقایسه نموده‌اند. داربست‌های مورد استفاده توسط این گروه از جنس PCL-TCP (پلی کاپرولاکتون-تری کلسیم فسفات: Polycaprolactone-Tricalcium Phosphate) بوده و همه بیوراکتورها ابتدا تحت یک آزمایش اولیه به منظور یافتن شرایط بهینه قرار گرفت و سپس در آزمایش بعدی، تأثیر نوع نفوذ و

## تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

استخوان روی یک بستر انعطاف‌ناپذیر کشت داده شد و ۲ بار در روز و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه، تحت فشار هوای ۵ کیلوپاسکال و فرکانس ۱ هرتز قرار گرفت و این کار به مدت یک هفته ادامه یافت. در این تحقیق به منظور مقایسه نتایج، سلول‌های گروه کنترل درون همان چیپ قرار داده شد، با این تفاوت که سلول‌های این گروه، تحت تحریک مکانیکی قرار نمی‌گرفت. در این آزمایش‌ها از محیط رشد استخوان، بدون عوامل رشد استفاده شد تا تنها اثر تحریک مکانیکی بر سلول‌ها بررسی شود. هدف این گروه، علاوه بر بررسی امکان استفاده از این ریز تراشه برای تمایز سلول‌های بنیادی، بررسی تأثیر دامنه‌های بارگذاری متفاوت بر سرنوشت سلول نیز بوده است. نتایج این گروه نشان داد که با رژیم بارگذاری انتخاب شده توسط آن‌ها، سرعت تکثیر سلول‌ها در گروه تحت تحریک ۱/۵ برابر بیشتر از سلول‌های گروه کنترل بوده اما در کل نسبت به حالت استفاده از ماکروراکتورهای زیستی سرعت تکثیر کاهش یافته است. یکی از دلایل آن می‌تواند کاهش انتقال گاز و مواد غذایی باشد. به علاوه نتایج کار آن‌ها نشان دهنده آن است که استفاده از این ریز تراشه تحت این رژیم بارگذاری القای مراحل اولیه تولید بافت استخوان را سبب می‌شود [۲۶].

گروه ون‌گریسنون (vanGriensven) از سلول‌های بنیادی به‌دست آمده از مغز استخوان انسان و سلول‌های بنیادی به‌دست آمده از بافت چربی برای تحقیق خود استفاده نمودند. در این پژوهش سلول‌ها روی ظروف سیلیکونی کشت داده شده و تحت کرنش دروه‌ای ۵ درصد با فرکانس ۱ هرتز قرار گرفتند. هدف این پژوهش بررسی تأثیر زمان بارگذاری و تکرار فرآیند بر رفتار سلول‌های بنیادی بوده است. به همین دلیل سلول‌ها به مدت زمان‌های ۱۵ دقیقه، ۶۰ دقیقه و ۲ ساعت تحت تحریک مکانیکی قرار گرفتند. هر یک از این رژیم‌های بارگذاری ۳ مرتبه تکرار شد و هر بار نتایج بارگذاری‌ها بررسی شد. در کل می‌توان نتیجه گرفت که اگر چه افزایش زمان هر دوره بارگذاری می‌تواند باعث آسیب رسیدن به سلول‌ها شود اما می‌تواند بیان نشانگرها را افزایش دهد. همچنین این نتایج نشان

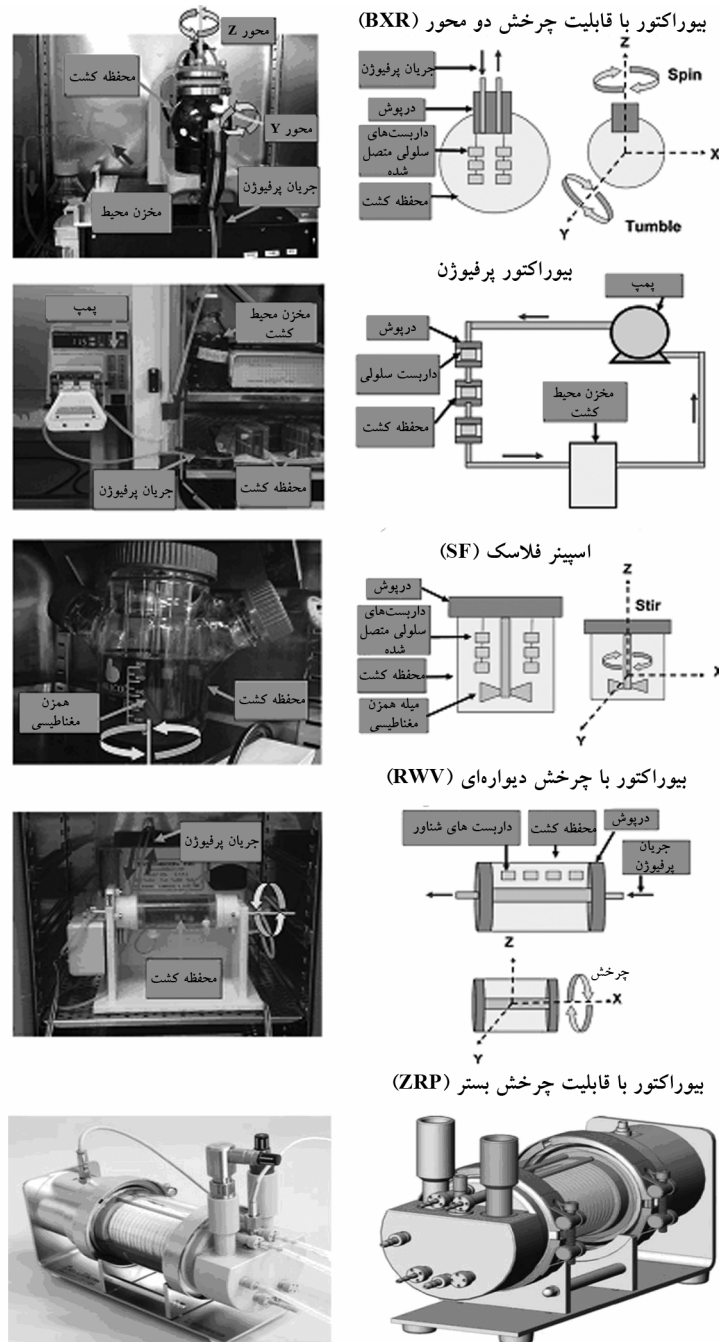
بارگذاری بر تکثیر و تمایز سلول‌ها بررسی شد [۲۴، ۲۷، ۲۹]. طبق نتایج حاصل از این بررسی‌ها، ساختار متخلخل داربست‌های درون راکتور زیستی BXR، کاملاً توسط بافت جدید پر شد، در حالی که در سایر راکتورهای زیستی این حالت مشاهده نشد. همچنین سطح رسوب نمک‌های کلسیم فسفات در داربست‌های درون راکتور زیستی BXR نسبت به سایر راکتورهای زیستی بالاتر بود و بعد از آن به ترتیب راکتورهای زیستی پرفیوژن، SF و RWV قرار داشت. با توجه به این داده‌ها می‌توان دریافت که BXR با حالت چرخش دو محوره خود بیشترین توزیع سلولی، کمترین آسیب سلولی، بیشترین درصد تمایز و بیشترین مقدار رشد را به دنبال داشته است [۲۴، ۲۷، ۲۹]. در مورد القای تمایز به سمت بافت استخوان، راکتور زیستی BXR بیشترین مقدار تمایز و بعد از آن به ترتیب راکتورهای زیستی SF، پرفیوژن و RWV قرار داشته‌است. این نتیجه با نتایج کار سیکاویتساس (Sikavitsas) و همکاران که نشان داده‌اند بیوراکتور SF بهتر از RWV تکثیر و تمایز به سمت بافت استخوان را القا می‌کند، هم‌راستا بوده اما با نتایج کار گروه مینل (Meinel) در تناقض است [۲۷، ۴۲، ۴۳].

مقایسه‌های دیگری نیز بین این راکتورهای زیستی انجام شده است که برخی از آن‌ها نتایجی مغایر با یکدیگر را نشان داده‌است. برای مثال نتایج پژوهش مینل و همکاران بیان می‌کند که راکتور زیستی SF نسبت به راکتور زیستی پرفیوژن برای تمایز به سمت بافت استخوان مناسب‌تر است و این موضوع با نتایج کار گولدستین (Goldstein) و همکاران در تناقض است. این تناقض‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع سلول‌های مورد استفاده در هر آزمایش، اندازه داربست‌های به کار برده شده، میزان و اندازه تخلخل‌ها، ماده مورد استفاده برای داربست‌ها و نوع و زمان بارگذاری‌های متفاوت باشد [۲۷، ۴۲، ۴۳].

سیم (Sim) و همکاران با طراحی یک ریز تراشه بادی (Pneumatic) به بررسی تأثیر تنش فشاری بر سرنوشت سلول‌های بنیادی مزانشیمال انسانی پرداخته‌اند. برای این منظور، سلول‌های بنیادی مزانشیمال انسانی به‌دست آمده از مغز

همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است کشت تک محوره، کشت دو محوره و تنش فشاری به تمایز سلول‌های بنیادی به سمت سلول‌های استخوانی کمک می‌کند.

داد که تکرار فرآیند باعث تطابق سلول‌ها با تحریک مکانیکی شده و آسیب سلولی را کاهش می‌دهد اما باعث کاهش سرعت بیان نشانگرها نیز می‌شود [۱۲].



شکل ۳ طراحی و الگوی کار سیستم‌های راکتور زیستی [۲۷، ۱۲]



## تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

جدول ۱ خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت سلول‌های استخوان

مرجع	خلاصه نتایج	شرایط بارگذاری	نوع بارگذاری	نوع سلول مورد استفاده
[۳۵]	افزایش بیان ژن‌های ALP و OCN، cBfa1	۳ درصد، ۸ ساعت	کشش یکسان دو محوره دوره‌ای	سلول بنیادی مزانشیم انسانی (hMSC)
[۴۴]	افزایش بیان ژن cBfa1 و افزایش فعالیت ALP	۸ درصد و ۵ درصد، ۶ ساعت	کشش یکسان دو محوره	رده سلول بنیادی مغز استخوان موش، ST-12
[۴۵]	افزایش بیان ژن‌های ALP، OCN، Bfa1، کلاژن نوع ۱ و ۳	۸ درصد، ۳ روز	کشش تک محوره دوره‌ای	hMSC
[۱۲]	در BMSCها پس از کرنش ۶۰ دقیقه‌ای معدنی‌سازی به طور معنی‌داری افزایش یافت اما در گروه کنترل و گروه تحت کرنش ۱۵ دقیقه‌ای معدنی‌سازی مشاهده نشد. در مورد AdMSCها: گروه تحت کرنش ۱۵ دقیقه‌ای: یک‌بار تحریک افزایش بیان کلاژن نوع ۳ نسبت به گروه کنترل، ۳ بار تکرار تحریک افزایش بیان استئوپونین (Osteopontin) و BMP-2 نسبت به گروه کنترل گروه تحت کرنش ۶۰ دقیقه‌ای: یک دوره تحریک افزایش بیان آلکالین فسفات، استئوپونین، استئوکلسین (Osteocalcin)، BMP-2، BMP-4 افزایش بیش از حد کلاژن نوع ۳؛ با تکرار تحریک مقدار کلاژن نوع ۳ نسبت به یک بار تحریک کاهش پیدا کرد. کرنش ۲ ساعته: افزایش جزئی استئوکلسین، استئوپونین و BMP-2 نسبت به گروه کنترل اما تکرار تحریک چنین تأثیری را نداشته است.	۵ درصد، فرکانس ۱ هرتز، ۱۵ دقیقه، ۶۰ دقیقه و ۲ ساعت	کشش تک محوره دوره‌ای	سلول بنیادی مزانشیمال مغز استخوان و چربی انسان (hMSC و hASC)
[۴۶]	افزایش بیان ژن‌های cBfa1، Ets-1 و ALP، افزایش تکثیر	۲۰۰۰ میکرواپسیلون، ۴۰ دقیقه	کشش تک محوره دوره‌ای	BMSC موشی
[۴۷]	افزایش سطح BMP-2 و mRNA	۱۰ درصد و ۱۲ درصد، ۴ ساعت در روز به مدت ۷ و ۱۴ روز درون ماتریس کلاژن	کشش تک محوره دوره‌ای	hMSC
[۲۶]	افزایش فعالیت ALP، افزایش بیان CD-90 و عدم تغییر در بیان CD-105 و CD-29	۵ کیلوپاسکال، فرکانس ۱ هرتز، ۲ بار در روز و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه، ۱ هفته	تنش فشاری دوره‌ای	hMSC

(hASC=human adipose derived stem cell، hBMSC=human bone marrow derived stem cell، hMSC=human mesenchymal stem cell)

شیمیایی و ترکیب این دو تحریک بر سلول‌های بنیادی به‌دست آمده از بافت چربی انسان پرداختند. راکتور زیستی ساخته شده توسط این گروه قادر است تنش هیدرواستاتیک تا ۸ مگاپاسکال را به سلول‌ها اعمال نماید، اما رژیم بارگذاری انتخاب شده

## تحریک‌های مکانیکی و تمایز به سمت سلول‌های

### غضروف

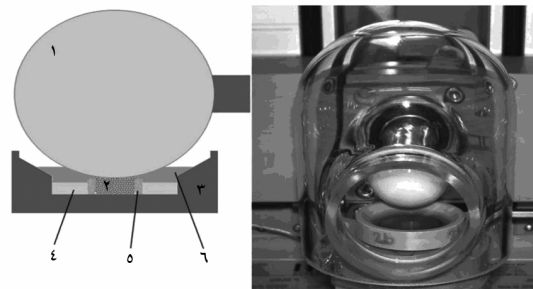
صفت‌شکن و همکاران به مقایسه تأثیر تحریک مکانیکی،

گوی سرامیکی به قطر ۳۲ میلی‌متر و مکانی برای قرارگیری داربست در زیر آن تشکیل شده است. این دستگاه قادر است تنش فشاری و برشی را بر داربست و سلول‌های درون آن اعمال کند. با حرکت عمودی گوی سرامیکی به سمت داربست، کامپوزیت سلول- داربست تحت تنش فشاری تک محوره قرار می‌گیرد و با چرخش گوی، تنش برشی بر داربست و سلول‌ها اعمال می‌شود. این دستگاه قادر است هر دو نوع تنش فشاری و برشی را به صورت استاتیکی یا دینامیکی به طور همزمان و یا به صورت جداگانه به داربست اعمال نماید (شکل ۴) [۴۹]. دو گروه مختلف به سرپرستی لی (Li) و اسکاتی (Schatti) با استفاده از این راکتور زیستی به بررسی تأثیر تحریک مکانیکی بر تمایز سلول‌های بنیادی به سمت بافت غضروف پرداخته‌اند [۱۰، ۱۱].

لی و همکاران تأثیر ترکیب فشار دوره‌ای تک محوره و تنش برشی سطحی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمال انسانی را درون داربست فیبرین- پلی‌یورتان (Fibrin-Polyurethane) مطالعه نموده‌اند. هدف اصلی آن‌ها اعمال دامنه و فرکانس‌های بارگذاری متفاوت بوده است تا بتوانند رژیم بارگذاری مناسب برای تمایز به سمت رده غضروف را به دست آورند. فرکانس‌های ۰/۱ هرتز و ۱ هرتز و دامنه کرنش ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد برای تحریک سلول‌ها انتخاب شد. بارگذاری مکانیکی، ۱ ساعت در روز و به مدت ۷ روز بر سلول‌ها اعمال شد. نتایج مطالعه نشان داد که کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمال انسانی در داربست سه بعدی در محیط آزمایشگاه توسط فرکانس و دامنه بارگذاری فشاری و برشی تنظیم می‌شود. بین بازه‌های بارگذاری انتخاب شده، رژیم‌های ۰/۱ هرتز و ۲۰ درصد، ۱ هرتز و ۱۰ درصد، و ۱ هرتز و ۲۰ درصد بیشترین تأثیر را بر تمایز به سمت بافت غضروف داشته‌است [۱۰].

میزان تولید Glycosaminoglycan (GAG) یکی از پارامترهای مهم تمایز به سمت بافت غضروف است. به علاوه زمانی که سلول‌های بنیادی مزانشیمال (Mesenchymal Stem

برای این آزمایش‌ها به صورت تنش ۵ مگاپاسکال با فرکانس ۰/۵ هرتز است. این گروه سلول‌ها را در ۴ دسته با یکدیگر مقایسه نمودند. سلول‌های گروه اول تحت هیچ تحریک مکانیکی و شیمیایی قرار نداشتند (گروه کنترل منفی)، گروه دوم تنها تحت تنش مکانیکی، گروه سوم تنها تحریک شیمیایی و گروه چهارم تحت ترکیبی از تحریک‌های شیمیایی و مکانیکی قرار داشتند. همچنین بافت غضروف مفصل آرنج انسان به عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته شد. در این تحقیق سلول‌ها به مدت ۷ روز تحت تنش هیدرواستاتیکی ۵ مگاپاسکال با فرکانس ۰/۵ هرتز و به مدت ۴ ساعت در روز قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تحریک مکانیکی قادر است باعث تمایز سلول‌های بنیادی به سمت بافت غضروف شود اما اعمال تحریک مکانیکی در محیط تولید غضروف، بیان نشانگرهای غضروفی (Collagen II, Sox9) و Aggrecan) را افزایش می‌دهد و در این حالت بیان نشانگرها، بیشتر از سایر گروه‌ها به نشانگرهای بیان شده در غضروف انسان نزدیک است [۴۸].



شکل ۴ راکتور زیستی طراحی شده با الهام از حرکت غضروف مفصلی؛ (۱) گوی سرامیکی، (۲) کامپوزیت سلول- داربست، (۳) محل نگهداری داربست و محیط کشت، (۴) حلقه نگهدارنده، (۵) رینگ نگهدارنده داربست، (۶) محیط کشت [۱۱]

یکی از راکتورهای زیستی مکانیکی که با الهام از بارگذاری طبیعی غضروف مفصلی، طراحی و ساخته شده است، از یک

## تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

متفاوت (۱۳ تا ۱۰۳ کیلوپاسکال یا به صورت مرحله‌ای ۱۳ به ۵۴ به ۱۰۳ کیلوپاسکال) قرار گرفتند. این گروه نشان داد که سطوح پایین تنش (۱۳ کیلوپاسکال و ۰/۳ هرتز) به طور معنی‌داری تولید بافت غضروف را نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد اما سطوح بالای تنش (۱۰۳ کیلوپاسکال و ۰/۳ هرتز) از تولید بافت غضروفی ممانعت می‌کند. این نتایج با نتایج به‌دست آمده توسط گروه لی، مغایرت دارد که این تناقض می‌تواند به دلیل تفاوت در روش آزمایش، داربست و سلول‌های مورد استفاده باشد [۵۰، ۱۰].

لی (Lee) و همکاران با استفاده از راکتور زیستی خود به بررسی تأثیر LIUS (امواج مافوق صوت با شدت کم: Low Intensity Ultrasound) بر تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمال خرگوش کشت داده شده در داربست آلژینات (Alginate) پرداختند. سلول‌ها هر ۱۲ ساعت یک بار، در یک دوره ۱۰ دقیقه‌ای، به مدت ۱ یا ۲ هفته، تحت LIUS قرار گرفتند. فرکانس و شدت مورد مطالعه با توجه به کارهای پیشین، به ترتیب برابر ۱ و ۲۰۰ مگاهرتز انتخاب شد. بر طبق این بررسی‌ها استفاده از LIUS برای تحریک سلول، باعث افزایش تشکیل ماتریس سلولی، بیان نشانگرهای غضروفی نظیر کلاژن نوع ۲، اگریکان و SOX-9 و ایجاد ظرفیت حفظ فنوتایپ غضروفی سلول‌ها در یک تک لایه سلولی می‌شود. با توجه به این‌که نتایج به‌دست آمده، بدون استفاده از TGF- $\beta$ 1 حاصل شده‌است، این روش مقرون به صرفه بوده و برای تمایز سلول‌های بنیادی به سمت بافت غضروف مناسب است [۵۱].

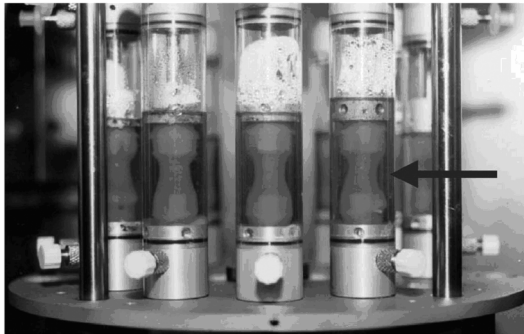
با توجه به جدول ۲، بارگذاری‌های وارد بر انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت بافت غضروف شامل استفاده از امواج مافوق صوت با شدت کم، تنش فشاری دوره‌ای، فشار هیدرواستاتیک، ترکیب تنش برشی و فشاری و تنش برشی ناشی از جریان سیال است. در این جدول شرایط بارگذاری و سلول‌های بنیادی اولیه‌ای که به منظور تمایز به سمت بافت غضروف مورد مطالعه قرار گرفته‌اند به صورت خلاصه بیان شده‌است.

Cell) به فنوتایپ غضروفی خود دست یافتند، باید از هایپرتروفی (Hypertrophy) آن‌ها جلوگیری شود که این حالت با کاهش ترشح GAG همراه است. طبق نتایج ارایه شده توسط اسکاتی و همکاران، با توجه به میزان GAG موجود در محیط کشت در مراحل مختلف، برای گروه تحت تنش فشاری و برشی، میزان GAG موجود در محیط کشت در مراحل مختلف ثابت بوده است اما در گروه‌های دیگر کاهش میزان GAG مشاهده شده است و این موضوع نشان‌دهنده حفظ فنوتایپ غضروفی سلول‌ها در حالت استفاده از ترکیب تنش‌ها است. به علاوه، نتایج کار این گروه نشان دهنده آن است که با استفاده از ترکیب تنش فشاری و برشی می‌توان به سلول‌های غضروفی با خلوص بالا دست یافت. به علاوه، نشانگرهای مربوط به سلول‌های استخوان و سلول‌های هایپرتروفی شده در این گروه مشاهده نشده است. همچنین بیان نشانگرهای سلول‌های غضروف که SOX9، COMP، AGG، col2 و SOX9 است، در گروه تحت ترکیب تنش برشی و فشاری به طور معنی‌داری بیشتر بوده است. مطالعات قبلی نشان‌دهنده آن است که استفاده از TGF- $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor Beta 1) قبل از بارگذاری، بهتر از کاربرد مستقیم TGF- $\beta$ 1 حین بارگذاری است. با توجه به یافته‌های موجود در این پژوهش و یافته‌های قبلی، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از عوامل رشد به تنهایی یا استفاده از تنش برشی علاوه بر تنش فشاری، قبل از اعمال تنش تک محوره برای تمایز به سمت بافت غضروف لازم است. به همین دلیل شرایط مکانیکی محیطی (در جایی که عامل رشد حضور ندارد) در تعیین فنوتایپ سلول هدف تأثیرگذار است [۱۱].

موکهرجی (Mukherjee) و همکاران به بررسی تأثیر تنش فشاری سیال دینامیکی بر سلول‌های به‌دست آمده از ضریع استخوان پرداختند. برای این کار، نمونه‌ها در آگارز قرار داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در روز، ۴ ساعت در روز و ۲۴ ساعت در روز با فرکانس ۰/۳ هرتز تحت تنش‌های با دامنه‌های

جدول ۲ خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت سلول‌های غضروف (rBMSC= rat BMSC)

مرجع	خلاصه نتایج	شرایط بارگذاری	نوع بارگذاری	نوع سلول مورد استفاده
[۴۸]	افزایش بیان کلاژن نوع ۲، آگریکان (Aggrecan) و Sox-9	تنش هیدرواستاتیک ۵ مگاپاسکال، فرکانس ۰/۵ هرتز، ۴ ساعت در روز و به مدت ۷ روز	تنش هیدرواستاتیک متناوب	hASC
[۵۱]	بیان نشانگرهای Sox-9، آگریکان، کلاژن نوع ۲ و TIMP-2 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases)	فرکانس ۱ مگاهرتز، شدت موج ۲۰۰ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع، هر ۱۲ ساعت یک بار به مدت ۱۰ دقیقه به مدت ۱ یا ۲ هفته	استفاده از امواج مسافوق صوت با شدت کم	MSC خرگوشی
[۵۲]	عدم تفاوت معنی‌دار در محتوای DNA، افزایش معنی‌دار کلاژن و GAG در گروه تحت تحریک، افزایش ترشح ECM و استحکام سلول‌های تحت تحریک گروه تحت تحریک ۲۰ دقیقه در روز؛ عدم تفاوت معنی‌دار در محتوای پروتئوگلیکین (Proteoglycan) و کلاژن حین تمایز؛ کاهش بیان نشانگرهای غضروفی گروه تحت تحریک ۴۰ دقیقه در روز؛ تفاوت معنی‌دار در بیان پروتئوگلیکین و کلاژن ۲۱ روز بعد از کشت؛ افزایش بیان نشانگرهای غضروفی	فرکانس ۰/۸ مگاهرتز، شدت موج ۲۰۰ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع، ۱۰ دقیقه در روز و به مدت ۴ هفته	استفاده از امواج مسافوق صوت با شدت کم	rBMSC
[۵۳]	کلاژن حین تمایز؛ کاهش بیان نشانگرهای غضروفی گروه تحت تحریک ۴۰ دقیقه در روز؛ تفاوت معنی‌دار در بیان پروتئوگلیکین و کلاژن ۲۱ روز بعد از کشت؛ افزایش بیان نشانگرهای غضروفی	تنش فشاری ۱۳ تا ۱۰۳ کیلوپاسکال یا به صورت مرحله‌ای ۱۳ به ۵۴ به ۱۰۳ کیلوپاسکال، ۳۰ دقیقه در روز، ۴ ساعت در روز و ۲۴ ساعت در روز، فرکانس ۰/۳ هرتز	استفاده از امواج مسافوق صوت با شدت کم	hBMSC
[۵۰]	گروه تحت تحریک ۱۰۳ کیلوپاسکال از تولید بافت غضروف ممانعت کرده است. افزایش بیان پروتئوگلیکین و کلاژن نوع ۲ در گروه تحت تنش ۱۳ کیلوپاسکال	فرکانس ۰/۱ و ۱ هرتز، دامنه کرنش ۵ درصد، ۱۰ درصد و ۲۰ درصد، ۱ ساعت در روز، به مدت ۷ روز، رژیم‌های ۰/۱ هرتز و ۲۰ درصد، ۱ هرتز و ۱۰ درصد و ۱ هرتز و ۲۰ درصد بیشترین تأثیر را بر تمایز به سمت غضروف داشته است.	تنش فشاری دوره‌ای	سلول‌های به دست آمده از ضریع استخوان
[۱۰]	افزایش بیان ژن Col-2 و AGG و افزایش تولید GAG	۱ هرتز، جابه‌جایی عمودی ۰/۴ میلی‌متر و جابه‌جایی چرخشی ۲۵ درجه به صورت جداگانه و همزمان	تنش فشاری دوره‌ای	hMSC
[۱۱]	در گروه تحت جابه‌جایی عمودی و چرخشی افزایش بیان Col-2، Col-1، ALP، COMP، AGG، Sox-9 و عدم بیان	۷۹۹۴ پاسکال، ۰/۳۳ هرتز به مدت ۷ روز	تنش فشاری دوره‌ای	hBMSC
[۵۴]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان	کرنش ۱۰ درصد به مدت ۱۴ روز	تنش فشاری دوره‌ای	BMSC خرگوشی
[۵۵]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان	کرنش ۱۰ درصد به مدت ۱۶ روز	تنش فشاری دوره‌ای	BMSC گاو
[۵۶]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان	کرنش ۱۵ درصد، فرکانس ۱ هرتز، ۴ ساعت در روز به مدت ۲ روز	تنش فشاری دوره‌ای	BMSC خرگوشی
[۵۸، ۵۷]	افزایش بیان ژن Sox-9 و آگریکان افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲	۰/۱ مگاپاسکال به مدت ۱۴ روز ۱۰ مگاپاسکال به مدت ۱۴ روز	تنش فشاری متناوب	hMSC
[۵۹]	افزایش بیان ژن آگریکان در همه فرکانس‌ها، افزایش کلاژن نوع ۲ تنها در فرکانس ۱ هرتز	کرنش ۱۰ درصد، فرکانس ۰/۱، ۰/۵ و ۱ هرتز، ۸ ساعت در روز به مدت ۲ روز	تنش فشاری دوره‌ای	hMSC
[۳۴]	افزایش گذرا در بیان ژن Sox-9 با هر دو نوع بارگذاری، عدم تغییر در بیان کلاژن نوع ۲ و آگریکان	روز اول ۱ مگاپاسکال و روزهای بعد هر روز ۰/۵ مگاپاسکال به آن اضافه شده است و به میزان ۴ ساعت در روز، بعد از ۱۴ روز به دامنه ۷/۵ مگاپاسکال رسیده و سپس به مدت ۱۴ روز با همین دامنه، فرکانس ۱ هرتز و ۴ ساعت در روز تحریک انجام شده است.	تنش هیدرواستاتیک دوره‌ای	hMSC
[۶۰]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲، آگریکان، Sox-9 و کلاژن نوع ۱؛ افزایش انباشتگی پروتئوگلیکین، عدم تغییر در سطح Runx2 (Runx2-Related Transcription Factor mRNA) و (2)	۱ مگاپاسکال، فرکانس ۱ هرتز، ۴ ساعت در روز به مدت ۱۰ روز	تنش هیدرواستاتیک متناوب	hMSC



شکل ۵ نمایش محفظه‌های جداگانه راکتور زیستی که در دستگاه مکانیکی قرار گرفته‌است. فلش نشان دهنده ژل کلاژن قرار گرفته بین دو گیره استخوانی است که تحت کرنش طولی و پیچشی قرار می‌گیرد [۶۱].

جانکوزا-ملوین (Juncosa-Melvin) و همکاران با توجه به مطالعات گذشته خود به این موضوع پی بردند که تحریک مکانیکی می‌تواند سختی ساختار اسفنجی سلول بنیادی-کلاژن را در عرض ۱۴ روز در شرایط کشت افزایش دهد و به دنبال آن بعد از گذشت ۱۲ هفته از جراحی تاندون پتالار (Patellar Tendon) خرگوش، باعث ترمیم آن شود. این گروه برای تعیین ژن‌های مؤثر در افزایش سختی، سلول‌های بنیادی مزانشیمال خرگوش را در داربست اسفنجی کلاژن نوع ۱، تحت کشش قرار داده و بیان ژن‌ها را بررسی کردند. ساختار سلول-داربست هر ۵ دقیقه یک بار، ۸ ساعت در روز، به مدت ۲ هفته، تحت کرنش ۲/۴ درصد قرار گرفت و سلول‌های گروه کنترل بدون تحریک مکانیکی در انکوباتور قرار داده شدند [۶۲]. نتایج نشان می‌دهد که دو هفته تحریک مکانیکی در محیط آزمایشگاه، بیان ژن‌های کلاژن نوع ۱ و ۳ را به طور معنی‌دار افزایش داده است. همچنین ساختار تحت تحریک، استحکام خطی را ۲/۵ برابر و مدول خطی را ۴ برابر نسبت به گروه بدون تحریک افزایش داده است.

جدول ۳ بیان‌کننده خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری وارد بر انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت رده سلول‌های بافت لیگامنت و تاندون است.

## تحریک‌های مکانیکی و تمایز به سمت سلول‌های تاندون (Tendon) و لیگامنت (Ligament)

آلتمن (Altman) و همکاران با استفاده از یک راکتور زیستی که قادر به اعمال کرنش طولی و پیچشی به سلول‌های قرار داده شده در ژل کلاژن است، این رژیم‌های بارگذاری را بررسی نمودند (شکل ۵). این گروه از هیچ‌گونه عامل رشد یا عامل تمایزی در محیط کشت استفاده نکردند تا تنها اثر تحریک مکانیکی را بر سرنوشت سلول بررسی کنند. کرنش طولی ۱۰ درصد (۲ میلی‌متر جابه‌جایی) و کرنش چرخشی ۲۵ درصد (۹۰ درجه) به صورت همزمان و با فرکانس ۰/۰۱۶۷ هرتز به سلول‌های بنیادی به دست آمده از مغز استخوان (انسان و گاو) که در ژل کلاژن کشت داده شده بودند، اعمال شد. سلول‌های گروه کنترل بدون قرارگیری تحت تحریک مکانیکی، درون راکتور زیستی مشابهی قرار داده شدند تا با سلول‌های تحت تحریک مقایسه شوند [۶۱]. سازمان‌یافتگی هلیکال (Helical) فیبرهای کلاژن در گروه تحت تحریک مکانیکی، ویژگی است که در گروه کنترل مشاهده نشد. سلول‌های به دست آمده از مغز استخوان انسان و گاو که تحت تحریک مکانیکی قرار داشتند، ریخت‌شناسی کشیده سلول‌های شبه لیگامنت را به خود گرفتند و در جهت بارگذاری جهت‌گیری نمودند. این در حالی بود که در گروه کنترل، شکل گرد و جهت‌گیری تصادفی در سلول‌ها مشاهده شد. کلاژن نوع ۱ و ۳ و فیبرونکتین (Fibronectin) (نشانگرهای ماتریس خارج سلولی لیگامنت) همگی در گروه تحت تحریک مکانیکی بیان شد در حالی که این نشانگرها برای گروه کنترل بیان نشد. همچنین mRNAهای استوکلسین و استئوپوننتین که بیان‌کننده تمایز سلول‌های اجدادی به سمت رده استخوان است، در گروه تحت تحریک مکانیکی بیان نشد. این نتایج نیز نشان‌دهنده تمایز اختصاصی به سمت بافت لیگامنت است و می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از این رژیم بارگذاری، تمایز انتخابی سلول‌های اجدادی مزانشیمال به سمت سلول‌های لیگامنت را سبب می‌شود.

جدول ۳ خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت سلول‌های لیگامنت و تاندون

مرجع	خلاصه نتایج	شرایط بارگذاری	نوع بارگذاری	نوع سلول مورد استفاده
[۶۱]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۱ و ۳، tenascin-C، افزایش جهت‌گیری سلولی، چگالی و تشکیل فیبرهای کلاژن جهت‌دار	کرنش طولی ۱۰ درصد و کرنش پیچشی ۲۵ درصد، فرکانس ۰/۰۱۶۷ هرتز	کرنش طولی و پیچشی دوره‌ای	BMSC انسانی و گاوی
[۶۲]	افزایش بیان کلاژن نوع ۱ و ۳	کرنش ۲/۴ درصد، ۸ ساعت در روز، ۲ هفته	کشش دوره‌ای	MSC خرگوش
[۶۳]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و ۳	کرنش ۴ درصد، ۸ ساعت در روز، ۲ هفته	کشش دوره‌ای	MSC خرگوش
[۳۵]	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۱، ۳، و tenascin-C	۸ درصد، ۴۸ ساعت	کشش دو محوره دوره‌ای	hMSC

جدول ۴ خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت سلول‌های عضله صاف

مرجع	خلاصه نتایج	شرایط بارگذاری	نوع بارگذاری	نوع سلول مورد استفاده
[۶۶]	افزایش گذرا در بیان SM-22a و a-SMA و کلاژن نوع ۱ در حالت کشش تک محوره	۱۰ درصد، ۱ هرتز، ۱ تا ۳ روز	کشش تک محوره و دو محوره دوره‌ای	hMSC
[۶۷]	افزایش در بیان ژن و پروتئین a-SMA و SMMHC، اثر هم‌افزایی (Synergetic) با TGF-B1	۱۰ درصد، ۱ هرتز، ۶ روز	کشش دو محوره دوره‌ای	سلول اجدادی جنینی موش
[۶۸]	افزایش بیان ژن و پروتئین نشانگرهای SM-MHC و a-SMA، VSMC	۲، ۴، ۸، و ۱۲ درصد، ۱ هرتز، ۲۴ ساعت	کشش تک محوره دوره‌ای	سلول بنیادی جنینی موش
[۶۹]	افزایش بیان ژن نشانگر عضله صاف calponin 1، کاهش بیان ژن نشانگرهای ماتریس غضروفی (COMP، biglycan)، کلاژن نوع XIa و XIa1	۵ درصد، ۱ هرتز، ۲ تا ۴ روز	کشش تک محوره دوره‌ای	hMSC
[۷۰]	افزایش بیان ژن‌های MyoD، Myf5، MyoG، Myf6	۱۰ درصد، ۱ هرتز، ۲۴ ساعت	کشش تک محوره دوره‌ای	hMSC

## تحریک‌های مکانیکی و تمایز به سمت سلول‌های عضله صاف

نیپونیک (Nieponice) و همکاران با استفاده از یک راکتور زیستی با قابلیت اعمال کشش تک محوره، تأثیر این رژیم بارگذاری بر سرنوشت سلول‌های اجدادی به دست آمده از مغز استخوان را بررسی کردند. این گروه سلول‌های اجدادی

به دست آمده از مغز استخوان را درون ماتریس سه بعدی ژل فیبرینی کشت دادند و تحت کشش دوره‌ای تک محوره با فرکانس ۱ هرتز با دامنه ۱۰ درصد و به مدت ۶ روز قرار دادند. در این پژوهش از دو گروه کنترل استفاده شد. یک گروه تحت هیچ‌گونه تنش‌ی قرار نگرفت و گروه دیگر تحت کشش استاتیک واقع شدند تا بتوان بین این حالت‌ها نیز مقایسه‌ای انجام داد. بافت هدف این گروه سلول‌های عضله صاف بود که

## تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

اجدادی مزانشیمال جنینی موش اعمال نمودند. این گروه سلول‌ها را تحت تنش برشی ۱۵ دین بر سانتی‌متر مربع و به مدت ۶ و ۱۲ ساعت قرار دادند. نتایج نشان داد که نشانگرهای سلول‌های اندوتلیال بالغ نظیر CD31 و عامل ون ویلبرند (Von Willebrand) بیان شد. همچنین تنش برشی باعث افزایش عملکرد سلول‌های اندوتلیال شده و رگ‌زایی را نیز افزایش داده است. در مقابل نشانگرهای مربوط به سلول‌های عضله صاف بیان نشدند که این امر نشان‌دهنده تمایز اختصاصی سلول‌ها است [۷۱].

گروه یاماموتو (Yamamoto) نیز از جریان سیال برای اعمال تنش برشی به سلول‌ها استفاده نمودند. راکتور زیستی مورد استفاده توسط این گروه از یک محفظه برای کشت سلول، یک ورودی و خروجی تشکیل شده است. در قسمت ورودی یک مخزن محیط کشت وجود دارد که تحت یک فشار ثابت قرار دارد، به همین دلیل یک جریان سیال پایدار از ورودی راکتور زیستی به سمت خروجی تشکیل می‌شود. در این مطالعه سلول‌ها تحت تنش‌های ۱/۵ تا ۱۰ دین بر سانتی‌متر مربع و به مدت ۱ تا ۳ روز قرار گرفتند. نتایج حاصل از کار این گروه نشان داد که سلول‌های تحت تنش برشی نسبت به گروه کنترل (که تحت هیچ‌گونه تنش برشی قرار نداشتند) سرعت تکثیر بیشتری داشتند و تنش برشی می‌تواند باعث تمایز سلول‌های بنیادی به سمت رده سلول‌های اندوتلیال شود. از آن‌جا که جریان سیال علاوه بر اعمال نیروی مکانیکی به سلول‌ها باعث افزایش انتقال مواد غذایی و گازها می‌شود، این گروه از دو سیال با وسکوزیته (Viscosity) متفاوت استفاده نمودند تا بتوانند تنها اثر تحریک مکانیکی را به صورت مستقل از انتقال مواد غذایی بررسی کنند. نتایج این آزمایش‌ها نیز نشان داد که حساسیت سلول‌های بنیادی به جریان سیال بیشتر تحت تأثیر تحریک مکانیکی ناشی از آن است و انتقال موادی نظیر عوامل رشد [برای مثال VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)] تأثیر کمتری بر تکثیر و تمایز ناشی از جریان سیال دارد [۷۲].

شجاعی و همکاران توسط دستگاه طراحی شده توانستند تنش برشی و کشش دوره‌ای را به طور مجزا و همچنین به طور

با الهام از حالت طبیعی بدن، این رژیم بارگذاری انتخاب شد. بر اساس مطالعه‌ای که تحت نظر نیپونیک انجام گرفت، تنش استاتیک ایجاد شده در اثر فشردگی ژل فیبرین، باعث تغییر در ریخت‌شناسی و بیان ژن‌های سلول‌های عضله صاف شد. این تأثیر با اعمال کرنش ۱۰ درصد افزایش یافت. بر خلاف مطالعات قبلی این گروه که BMSC‌های (Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell) کشت شده به صورت تک لایه، تمایل داشتند در جهت عمود بر کرنش اعمال شده جهت‌گیری کنند، در این پژوهش محور طولی BMSC‌ها در جهت موازی با کرنش در ژل سه بعدی جهت‌گیری نمود [۲۵، ۶۴]. عدم بیان نشانگر CD31 نشان دهنده عدم حضور نشانگرهای اندوتلیال است که این امر نشان دهنده تمایز اختصاصی با این روش است. همچنین تولید کلاژن در حالت مقید و مقید تحت کشش افزایش یافته است. مطابق با مطالعه قبلی این گروه، با استفاده از تک لایه سلول‌ها، کشش دوره‌ای تک محوره باعث کاهش تکثیر BMSC‌ها می‌شود. با وجود این که BMSC‌ها به کمک عوامل شیمیایی می‌توانند به SMC (Smooth Muscle Cell) تبدیل شوند، با این حال مشاهدات نشان داده‌اند که تحریک‌های مکانیکی برای حفظ فنوتایپ انقباضی SMC‌ها لازم است و عوامل شیمیایی به تنهایی برای تمایز BMSC‌ها به سمت SMC‌های با عملکرد مناسب کافی نیست [۲۵].

تحریک مکانیکی نقش مهمی در جهت‌گیری ECM (Extracellular matrix) و تغییر ریخت‌شناسی BMSC‌های متمایز شده به سمت SMC‌ها و نیز SMC‌های کشت داده شده ایفا می‌کند [۲۵، ۶۴، ۶۵]. در جدول ۴ خلاصه‌ای از انواع بارگذاری‌های انجام شده روی انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت رده سلول‌های عضله صاف ارائه شده است.

## تحریک‌های مکانیکی و تمایز به سمت سلول‌های اندوتلیال

وانگ (Wang) و همکاران با استفاده از جریان صفحات موازی، تنش برشی ناشی از جریان سیال را به رده سلول‌های

و VE-cadherin (vascular endothelial Cadherin) افزایش یافت. اعمال کشش دوره‌ای به تنهایی و اعمال همزمان تنش برشی و کشش دوره‌ای توانست تغییر محسوسی در میزان بیان ژن VE-cadherin داشته باشد [۷۳].

جدول ۵ خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری وارد بر سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت سلول‌های اندوتلیال را نشان می‌دهد.

همزمان بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از بافت چربی انسان اعمال نمایند. کشش دوره‌ای ۱۰ درصد با فرکانس ۱ هرتز، در مدت زمان ۲۴ ساعت و تنش برشی ۰ تا ۲/۵ دین بر سانتی‌متر مربع با فرکانس ۱ هرتز نیز در مدت زمان ۲۴ ساعت به طور جداگانه و هم زمان بر سلول‌ها وارد شد. نتایج نشان داد که با اعمال تنش برشی میزان بیان ژن‌های تمایزی اندوتلیال FLK-1 (Fetal Liver Kinase 1)، vWF (von Willebrand Factor)

جدول ۵ خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به منظور تمایز به سمت سلول‌های اندوتلیال

مرجع	خلاصه نتایج	شرایط بارگذاری	نوع بارگذاری	نوع سلول مورد استفاده
[۷۱]	افزایش بیان ژن و پروتئین‌های CD31، VEcadherin، vWF؛ افزایش بیان ژن عوامل رشد رگ‌سازی، VEGF، VEGFR؛ کاهش بیان عوامل رشد مرتبط با سلول‌های عضله صاف (TGF-b، PDGFR و PDGFb)	۱۵ دین بر سانتی‌متر مربع، ۶ و ۱۲ ساعت	تنش برشی ناشی از جریان پایدار مایع	سلول اجدادی جنینی موش
[۷۲]	افزایش بیان ژن و پروتئین‌های Flt-1، Flk-1، PECAM-1 و VEcadherin	۱ تا ۱۰ دین بر سانتی‌متر مربع، ۳ روز	تنش برشی ناشی از جریان سیال	سلول بنیادی جنینی موش
[۷۴]	افزایش بیشتر بیان ژن‌های vWF، FLK-1 و VE-cadherin در سلول‌های استخراجی بافت رحم نسبت به بافت چربی	۱۰ درصد، ۱ هرتز، ۱۲ ساعت ۰-۲/۵ دین بر سانتی‌متر مربع، ۱ هرتز، ۱۲ ساعت	تنش برشی و کشش دوره‌ای	hASC و سلول بنیادی مزانشیمی از بافت پوششی رحم انسان

جدول ۶ نتایج حاصل از کار ماول و همکاران؛ دو علامت پیکان نشان دهنده تأثیر معنی‌دار فیزیولوژیک و آماری، یک پیکان نشان دهنده تأثیر کمتر و پیکان افقی به معنای تغییرات بسیار ناچیز در آن بخش است [۳۸].

گروه ژن	فشار دوره‌ای (ساعت)		تنش برشی (ساعت)		کشش دوره‌ای (ساعت)	
	۷۲	۲۴	۷۲	۲۴	۷۲	۲۴
عضله	↓	↓	↓	↓	↑	↑
اندوتلیال	↑	↑	↑	↑	↔	↔
استخوان	↑	↔	↔	↔	↑	↑
غضروف	↑	↑	↔	↔	↑	↑
چربی	↔	↔	↑	↔	↔	↔
ECM	↑	↑	↑	↑	↑	↑
تکتیر	↔	↔	↔	↔	↑	↑

با طراحی یک سیستم مکانیکی که قادر به اعمال هر سه نوع تنش فشاری، کششی و برشی است به مقایسه اثر این تحریک‌ها پرداختند. در این سیستم هر بخش مسئول اعمال یک

در مطالعات تحریک مکانیکی سلول کمتر مقاله‌ای یافت می‌شود که به مقایسه تأثیر سه نوع تحریک مکانیکی پرداخته باشد. ماول (Maul) و همکاران یکی از گروه‌هایی هستند که



## تحریک مکانیکی و سلول‌های بنیادی

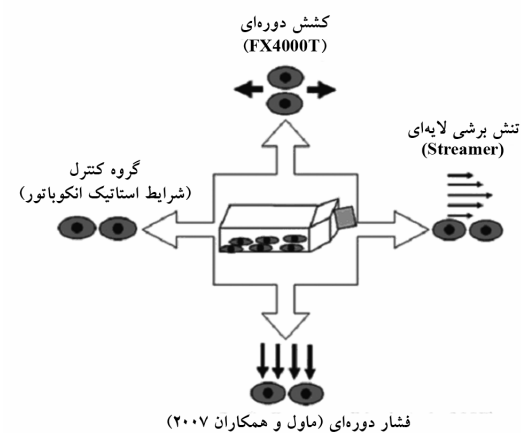
طراحی راکتورهای زیستی است.

اگر چه تمایل به استفاده از سیستم‌های میکروفلوییدیک (Microfluidic) به دلیل دقت بالا و هزینه نسبتاً کم، امروزه در بخش‌های مختلف مهندسی بافت و مطالعات دارویی استفاده می‌شود [۷۶، ۷۷] اما در بخش‌های تکثیر و تمایز سلولی با استفاده از تحریک مکانیکی با محدودیت‌هایی روبه‌رو است [۲۶]. در صورتی که بتوان از چنین میکروراکتورهای زیستی به منظور تحریک مکانیکی سلول‌ها استفاده نمود، می‌توان هزینه آزمایش‌ها و زمان لازم برای انجام آزمایش‌ها را به حداقل رساند و با این کار با سرعت بیشتری به پارامترهای بهینه برای تحریک سلول‌ها دست یافت.

متأسفانه هنوز مکانیسم‌های دقیقی برای چگونگی دریافت، انتقال و تبدیل تحریک‌های مکانیکی در بدن به طور کامل شناخته نشده است [۲۱، ۷۸]؛ بنابراین بررسی اثر تحریک مکانیکی بر سرنوشت سلول‌های بنیادی با چالش‌های زیادی از جمله نوع و رژیم بارگذاری، شرایط بارگذاری و تأثیر هر یک از آن‌ها روبه‌رو است. اگرچه مطالعات زیادی در این زمینه انجام شده است، اما همچنان رژیم بارگذاری خاصی برای ایجاد یک تمایز خاص شناخته نشده است. مقایسه بین نتایج حاصل از پژوهش‌ها در این زمینه عموماً امکان‌پذیر نیست زیرا نوع داربست، نوع سلول، سن سلول، رژیم بارگذاری و عوامل شیمیایی در مطالعات گروه‌های مختلف متفاوت بوده است. این امر وجود نتایج متناقض در برخی مقالات را توجیه می‌کند [۱۰، ۱۱، ۴۶] و بهینه‌سازی پارامترها را با چالش مواجه می‌کند. برای مثال نتایج حاصل از پژوهش اسکاتی و همکاران نشان داد که ترکیب تنش فشاری و برشی برای تمایز سلول‌های بنیادی انسان به سلول‌های غضروف لازم است، اما نتایج بسیاری از گروه‌ها نشان داده است که با استفاده از تنش فشاری به تنهایی نیز می‌توان برای تمایز سلول‌های بنیادی انسان به سمت سلول‌های غضروف استفاده نمود [۱۰، ۴۸، ۵۴].

یکی دیگر از نکات قابل تأمل در بحث تأثیر تحریک‌های مکانیکی بر رفتار سلول‌ها، نوع بارگذاری انتخاب شده برای

نوع تنش خاص است. تنش برشی ناشی از جریان سیال توسط دستگاه Streamer، تنش کششی توسط دستگاه FX400T و تنش فشاری از طریق دستگاه ساخته شده توسط این گروه [۷۴] اعمال شد (شکل ۶). در گروه کنترل، سلول‌های مزانشیمال انسانی تحت هیچ تنشی قرار نگرفت تا برای مقایسه و سنجش استفاده شود. نتایج مقایسه ماژول و همکاران به صورت کیفی در جدول ۶ ارائه شده است.



شکل ۶ تحریک مکانیکی به طور خاص به صورت موازی به جمعیت سلول‌ها وارد می‌شود تا پاسخ تمایزی به هر تحریک را نشان دهد [۳۸].

## نتیجه‌گیری

مطالعات انجام شده نشان داده‌است که استفاده از تحریک مکانیکی می‌تواند به تمایز اختصاصی، انتخابی و با سرعت بالاتر سلول‌های بنیادی کمک کند. همچنین استفاده از تحریک مکانیکی برای تمایز انواع سلول‌های بنیادی به رده‌های مختلف سلول‌های بدن از قبیل سلول‌های استخوانی، غضروف، لیگامنت و تاندون، عضله صاف و اندوتلیال مطالعه شده‌است و تقریباً تمام نتایج نشان دهنده تأثیرگذاری این روش بوده است. تأثیر متقابل تنش‌های مکانیکی می‌تواند بر پاسخ سلول به یک تحریک، تأثیرگذار باشد و نتیجه حاصل تنها ناشی از تنش مورد نظر و تحت کنترل نباشد [۷۵]. بنابراین داشتن سیستم بازخورد مناسب در راکتورهای زیستی یکی از چالش‌های

بارگذاری و شکل موج می‌تواند باعث تغییر رفتار مطلوب در سلول‌ها شود. اما در صورتی که هر یک از این پارامترها در محدوده مناسب خود نباشد، نمی‌تواند رفتار مطلوب را به سلول القا کند و حتی می‌تواند باعث مرگ و آسیب به سلول شود [۷۹]؛ بنابراین بهینه‌سازی پارامترهای مکانیکی بسیار اهمیت دارد.

مطالعات انجام شده تا به امروز، بیشتر در بازه تنش‌های مکانیکی موجود در بدن بوده است. این در حالی است که هدف مهندسی بافت، افزایش سرعت تکثیر، رشد و تمایز سلول‌ها نسبت به حالت فیزیولوژیک بدن است؛ بنابراین شاید استفاده از تنش‌هایی خارج از این بازه، بازده استفاده از این روش را بیشتر نماید.

سلول‌های گونه‌های مختلف است. برای مثال دامنه بارگذاری یکسان ( کرنش ۱۰ درصد) اعمال شده به سلول‌های بنیادی گاو، خرگوش و انسان توانسته است باعث تمایز این سلول‌ها به سلول‌های غضروفی شود؛ هر چند فرکانس و مدت زمان بارگذاری متفاوت بوده است [۵۵، ۵۶، ۵۹]؛ بنابراین می‌توان انتظار داشت که یک پارامتر مکانیکی به تنهایی نمی‌تواند تعیین کننده رفتار سلول‌ها شود.

تحریک‌های مکانیکی در بدن می‌تواند باعث تغییر در عملکرد بافت شود که می‌تواند مثبت (مثل بهبود خواص مکانیکی استخوان) یا منفی (مثل آسیب به دیواره رگ یا گسترش سرطان به واسطه تغییر خواص ECM) باشد [۷۸]. انتخاب بهینه پارامترهایی نظیر دامنه، فرکانس، مدت زمان

## منابع

- [1] Lanza R, Langer R, Vacanti J. Principles of tissue engineering. 3<sup>rd</sup> Edition, Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press, 2007; p: 135-50, 550-65.
- [2] Freed LE, Guilak F, Guo XE, Gray ML, Tranquillo R, Holmes JW, Radisic M, Sefton MV, Kaplan D, Vunjak-Novakovic G. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Eng* 2006; 12(12): 3285-305.
- [3] Goldstein LSB, Schneider M. Stem cells for dummies. Hoboken, NJ: Wiley Publishing, Inc, 2010; p: 19-25, 99-119.
- [4] Li S, L'Heureux N, Elisseeff J. Stem cell and tissue engineering. Singapore: World Scientific, 2011; p: 1-10.
- [5] Kim JH, Cho CS, Choung YH, Lim KT, Son HM, Seonwoo H, Baik SJ, Jeon SH, Park JY, Choung PH, Chung JH. Mechanical stimulation of mesenchymal stem cells for tissue engineering. *TERM* 2009; 6(1): 199-206.
- [6] Wang JH, Thampatty BP. Mechanobiology of adult and stem cells. *Int Rev Cell Mol Biol* 2008; 271: 301-46.
- [7] Li D, Zhou J, Chowdhury F, Cheng J, Wang N, Wang F. Role of mechanical factors in fate decisions of stem cells. *Regen Med* 2011; 6(2): 229-40.
- [8] Clause KC, Liu LJ, Tobita K. Directed stem cell differentiation: the role of physical forces. *Cell Commun Adhes* 2010; 17(2): 48-54.
- [9] Ikada Y. Tissue engineering: fundamentals and applications. Amsterdam; Boston: Academic Press/ Elsevier, 2006; p: 51-65.
- [10] Li Z, Yao SJ, Alini M, Stoddart MJ. Chondrogenesis of human bone marrow mesenchymal stem cells in fibrin-polyurethane composites is modulated by frequency and amplitude of dynamic compression and shear stress. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(2): 575-84.

- [11] Schätti O, Grad S, Goldhahn J, Salzmann G, Li Z, Alini M, Stoddart MJ. A combination of shear and dynamic compression leads to mechanically induced chondrogenesis of human mesenchymal stem cells. *Eur Cell Mater* 2011; 22: 214-25.
- [12] Kasper C, Griensven M, Portner R, Al-Rubeai M. *Bioreactor systems for tissue engineering*. Berlin: Springer, 2009; p: 95-125.
- [13] Carter DR. Mechanical loading histories and cortical bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 1984; 36 Suppl 1: S19-24.
- [14] Skedros JG, Brand RA. Biographical sketch: Georg Hermann von Meyer (1815-1892). *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469(11): 3072-6.
- [15] Phillips ATM. Structural optimisation: biomechanics of the femur. *Eng Comput Mech* 2012; 165: 147-54.
- [16] Ethier CR, Simmons CA. *Introductory biomechanics: from cells to organisms* (Cambridge Text in Biomedical Engineering). Cambridge University Press; 2007; 35-90.
- [17] Brown TD. Techniques for mechanical stimulation of cells in vitro: a review. *J Biomech* 2000; 33(1): 3-14.
- [18] Brown TD. Techniques for cell and tissue culture mechanostimulation: historical and contemporary design considerations. *Iowa Orthop J* 1995; 15: 112-7.
- [19] Orr AW, Helmke BP, Blackman BR, Schwartz MA. Mechanisms of mechanotransduction. *Dev Cell* 2006; 10(1): 11-20.
- [20] Wang N, Tytell JD, Ingber DE. Mechanotransduction at a distance: mechanically coupling the extracellular matrix with the nucleus. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(1): 75-82.
- [21] Stolberg S, McCloskey KE. Can shear stress direct stem cell fate? *Biotechnol Prog* 2009; 25(1): 10-9.
- [22] Huang H, Kamm RD, Lee RT. Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287(1): C1-11.
- [23] Matthews BD, Overby DR, Mannix R, Ingber DE. Cellular adaptation to mechanical stress: role of integrins, Rho, cytoskeletal tension and mechanosensitive ion channels. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 3): 508-18.
- [24] Zhang ZY, Teoh SH, Chong WS, Foo TT, Chng YC, Choolani M, Chan J. A biaxial rotating bioreactor for the culture of fetal mesenchymal stem cells for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2009; 30(14): 2694-704.
- [25] Nieponice A, Maul TM, Cumer JM, Soletti L, Vorp DA. Mechanical stimulation induces morphological and phenotypic changes in bone marrow-derived progenitor cells within a three-dimensional fibrin matrix. *J Biomed Mater Res A* 2007; 81(3): 523-30.
- [26] Sim WY, Park SW, Park SH, Min BH, Park SR, Yang SS. A pneumatic micro cell chip for the differentiation of human mesenchymal stem cells under mechanical stimulation. *Lab Chip* 2007; 7(12): 1775-82.
- [27] Zhang ZY, Teoh SH, Teo EY, Khoo Chong MS, Shin CW, Tien FT, Choolani MA, Chan JK. A comparison of bioreactors for culture of fetal mesenchymal stem cells for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2010; 31(33): 8684-95.
- [28] Waldman SD, Couto DC, Grynepas MD, Pilliar RM, Kandel RA. A single application of cyclic

- loading can accelerate matrix deposition and enhance the properties of tissue-engineered cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14(4): 323-30.
- [29] Singh H, Teoh SH, Low HT, Hutmacher DW. Flow modelling within a scaffold under the influence of uni-axial and bi-axial bioreactor rotation. *J Biotechnol* 2005; 119(2): 181-96.
- [30] Lim CT, Zhou EH, Quek ST. Mechanical models for living cells--a review. *J Biomech* 2006; 39(2): 195-216.
- [31] Kim TK, Jeong OC. Fabrication of a pneumatically driven single-cell trap. *Microelectron Eng* 2011; 88(8): 1768-71.
- [32] Kim TK, Jeong OC. Effect of mechanical stimuli on live cells in a pneumatically driven cell trap. *Microelectron Eng* 2012; 97: 324-8.
- [33] Lee DA, Knight MM, Campbell JJ, Bader DL. Stem cell mechanobiology. *J Cell Biochem* 2011; 112(1): 1-9.
- [34] Finger AR, Sargent CY, Dulaney KO, Bernacki SH, Lobo EG. Differential effects on messenger ribonucleic acid expression by bone marrow-derived human mesenchymal stem cells seeded in agarose constructs due to ramped and steady applications of cyclic hydrostatic pressure. *Tissue Eng* 2007; 13(6): 1151-8.
- [35] Chen YJ, Huang CH, Lee IC, Lee YT, Chen MH, Young TH. 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* 2008; 49(1): 7-14.
- [36] Huang CY, Reuben PM, Cheung HS. Temporal expression patterns and corresponding protein inductions of early responsive genes in rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells under cyclic compressive loading. *Stem Cells* 2005; 23(8): 1113-21.
- [37] Cohen DM, Chen CS. Mechanical control of stem cell differentiation. *StemBook* [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008; Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20614621>.
- [38] Maul TM, Chew DW, Nieponice A, Vorp DA. Mechanical stimuli differentially control stem cell behavior: morphology, proliferation, and differentiation. *Biomech Model Mechanobiol* 2011; 10(6): 939-53.
- [39] Wu HW, Lin CC, Hwang SM, Chang YJ, Lee GB. A microfluidic device for chemical and mechanical stimulation of mesenchymal stem cells. *Microfluid Nanofluid* 2011; 11(5): 545-56.
- [40] Lee HL, Boccazzi P, Ram RJ, Sinskey AJ. Microbioreactor arrays with integrated mixers and fluid injectors for high-throughput experimentation with pH and dissolved oxygen control. *Lab Chip* 2006; 6(9): 1229-35.
- [41] Chen HC, Hu YC. Bioreactors for tissue engineering. *Biotechnol Lett* 2006; 28(18): 1415-23.
- [42] Meinel L, Karageorgiou V, Hofmann S, Fajardo R, Snyder B, Li C, Zichner L, Langer R, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Engineering bone-like tissue in vitro using human bone marrow stem cells and silk scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2004; 71(1): 25-34.
- [43] Goldstein AS, Juarez TM, Helmke CD, Gustin MC, Mikos AG. Effect of convection on

- osteoblastic cell growth and function in biodegradable polymer foam scaffolds. *Biomaterials* 2001; 22(11): 1279-88.
- [44] Koike M, Shimokawa H, Kanno Z, Ohya K, Soma K. Effects of mechanical strain on proliferation and differentiation of bone marrow stromal cell line ST2. *J Bone Miner Metab* 2005; 23(3): 219-25.
- [45] 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* 2004; 7: 35-41.
- [46] Qi MC, Hu J, Zou SJ, Chen HQ, Zhou HX, Han LC. Mechanical strain induces osteogenic differentiation: Cbfa1 and Ets-1 expression in stretched rat mesenchymal stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008; 37(5): 453-8.
- [47] Sumanasinghe RD, Bernacki SH, Lobo EG. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in collagen matrices: effect of uniaxial cyclic tensile strain on bone morphogenetic protein (BMP-2) mRNA expression. *Tissue Eng* 2006; 12(12): 3459-65.
- [48] Safshekan F, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA, Haghighipour N, Mahdian R, Hemmati A. Intermittent hydrostatic pressure enhances growth factor-induced chondroinduction of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Artif Organs* 2012; 36(12): 1065-71.
- [49] Wimmer MA, Grad S, Kaup T, Hänni M, Schneider E, Gogolewski S, Alini M. Tribology approach to the engineering and study of articular cartilage. *Tissue Eng* 2004; 10(9-10): 1436-45.
- [50] Mukherjee N, Saris DB, Schultz FM, Berglund LJ, An KN, O' Driscoll SW. The enhancement of periosteal chondrogenesis in organ culture by dynamic fluid pressure. *J Orthop Res* 2001; 19(4): 524-30.
- [51] Lee HJ, Choi BH, Min BH, Son YS, Park SR. Low-intensity ultrasound stimulation enhances chondrogenic differentiation in alginate culture of mesenchymal stem cells. *Artif Organs* 2006; 30(9): 707-15.
- [52] Cui JH, Park K, Park SR, Min BH. Effects of low-intensity ultrasound on chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells embedded in polyglycolic acid: an in vivo study. *Tissue Eng* 2006; 12(1): 75-82.
- [53] Schumann D, Kujat R, Zellner J, Angele MK, Nerlich M, Mayr E, Angele P. Treatment of human mesenchymal stem cells with pulsed low intensity ultrasound enhances the chondrogenic phenotype in vitro. *Biorheology* 2006; 43(3-4): 431-43.
- [54] Angele P, Schumann D, Angele M, Kinner B, Englert C, Hente R, Füchtmeier B, Nerlich M, Neumann C, Kujat R. Cyclic, mechanical compression enhances chondrogenesis of mesenchymal progenitor cells in tissue engineering scaffolds. *Biorheology* 2004; 41(3-4): 335-46.
- [55] Huang CY, Hagar KL, Frost LE, Sun Y, Cheung HS. Effects of cyclic compressive loading on chondrogenesis of rabbit bone-marrow derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2004; 22(3): 313-23.
- [56] Mouw JK, Connelly JT, Wilson CG, Michael KE, Levenston ME. Dynamic compression regulates the expression and synthesis of

- chondrocyte-specific matrix molecules in bone marrow stromal cells. *Stem Cells* 2007; 25(3): 655-63.
- [57] Miyanishi K, Trindade MC, Lindsey DP, Beaupré GS, Carter DR, Goodman SB, Schurman DJ, Smith RL. Effects of hydrostatic pressure and transforming growth factor-beta 3 on adult human mesenchymal stem cell chondrogenesis in vitro. *Tissue Eng* 2006; 12(6): 1419-28.
- [58] Miyanishi K, Trindade MC, Lindsey DP, Beaupré GS, Carter DR, Goodman SB, Schurman DJ, Smith RL. Dose- and time-dependent effects of cyclic hydrostatic pressure on transforming growth factor-beta3-induced chondrogenesis by adult human mesenchymal stem cells in vitro. *Tissue Eng* 2006; 12(8): 2253-62.
- [59] Pelaez D, Huang CY, Cheung HS. Cyclic compression maintains viability and induces chondrogenesis of human mesenchymal stem cells in fibrin gel scaffolds. *Stem Cells Dev* 2009; 18(1): 93-102.
- [60] Wagner DR, Lindsey DP, Li KW, Tummala P, Chandran SE, Smith RL, Longaker MT, Carter DR, Beaupre GS. Hydrostatic pressure enhances chondrogenic differentiation of human bone marrow stromal cells in osteochondrogenic medium. *Ann Biomed Eng* 2008; 36(5): 813-20.
- [61] Altman GH, Horan RL, Martin I, Farhadi J, Stark PR, Volloch V, Richmond JC, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Cell differentiation by mechanical stress. *FASEB J* 2002; 16(2): 270-2.
- [62] Juncosa-Melvin N, Matlin KS, Holdcraft RW, Nirmalanandhan VS, Butler DL. Mechanical stimulation increases collagen type I and collagen type III gene expression of stem cell-collagen sponge constructs for patellar tendon repair. *Tissue Eng* 2007; 13(6): 1219-26.
- [63] Juncosa-Melvin N, Shearn JT, Boivin GP, Gooch C, Galloway MT, West JR, Nirmalanandhan VS, Bradica G, Butler DL. Effects of mechanical stimulation on the biomechanics and histology of stem cell-collagen sponge constructs for rabbit patellar tendon repair. *Tissue Eng* 2006; 12(8): 2291-300.
- [64] Kanda K, Matsuda T. Mechanical stress-induced orientation and ultrastructural change of smooth muscle cells cultured in three-dimensional collagen lattices. *Cell Transplant* 1994; 3(6): 481-92.
- [65] Grenier G, Rémy-Zolghadri M, Larouche D, Gauvin R, Baker K, Bergeron F, Dupuis D, Langelier E, Rancourt D, Auger FA, Germain L. Tissue reorganization in response to mechanical load increases functionality. *Tissue Eng* 2005; 11(1-2): 90-100.
- [66] Park JS, Chu JS, Cheng C, Chen F, Chen D, Li S. Differential effects of equiaxial and uniaxial strain on mesenchymal stem cells. *Biotechnol Bioeng* 2004; 88(3): 359-68.
- [67] Riha GM, Wang X, Wang H, Chai H, Mu H, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, Chen C. Cyclic strain induces vascular smooth muscle cell differentiation from murine embryonic mesenchymal progenitor cells. *Surgery* 2007; 141(3): 394-402.
- [68] Shimizu N, Yamamoto K, Obi S, Kumagaya S, Masumura T, Shimano Y, Naruse K,

- Yamashita JK, Igarashi T, Ando J. Cyclic strain induces mouse embryonic stem cell differentiation into vascular smooth muscle cells by activating PDGF receptor beta. *J Appl Physiol* (1985) 2008; 104(3): 766-72.
- [69] Kurpinski K, Chu J, Hashi C, Li S. Anisotropic mechanosensing by mesenchymal stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(44): 16095-100.
- [70] Haghhighipour N, Heidarian S, Shokrgozar MA, Amirizadeh N. Differential effects of cyclic uniaxial stretch on human mesenchymal stem cell into skeletal muscle cell. *Cell Biol Int* 2012; 36(7): 669-75.
- [71] Wang H, Riha GM, Yan S, Li M, Chai H, Yang H, Yao Q, Chen C. Shear stress induces endothelial differentiation from a murine embryonic mesenchymal progenitor cell line. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(9): 1817-23.
- [72] Yamamoto K, Sokabe T, Watabe T, Miyazono K, Yamashita JK, Obi S, Ohura N, Matsushita A, Kamiya A, Ando J. Fluid shear stress induces differentiation of Flk-1-positive embryonic stem cells into vascular endothelial cells in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288(4): H1915-24.
- [73] Shojaei S, Tafazzoli-Shahdpour M, Shokrgozar MA, Haghhighipour N. Effects of mechanical and chemical stimuli on differentiation of human adipose-derived stem cells into endothelial cells. *Int J Artif Organs* 2013; 36(9): 663-73.
- [74] Maul TM, Hamilton DW, Nieponice A, Soletti L, Vorp DA. A new experimental system for the extended application of cyclic hydrostatic pressure to cell culture. *J Biomech Eng* 2007; 129(1): 110-6.
- [75] Van Dyke WS, Sun X, Richard AB, Nauman EA, Akkus O. Novel mechanical bioreactor for concomitant fluid shear stress and substrate strain. *J Biomech* 2012; 45(7): 1323-7.
- [76] Xu F, Wu J, Wang S, Durmus NG, Gurkan UA, Demirci U. Microengineering methods for cell-based microarrays and high-throughput drug-screening applications. *Biofabrication* 2011; 3(3): 034101.
- [77] Chung BG, Kang L, Khademhosseini A. Micro- and nanoscale technologies for tissue engineering and drug discovery applications. *Expert Opin Drug Discov* 2007; 2(12): 1653-68.
- [78] Ross TD, Coon BG, Yun S, Baeyens N, Tanaka K, Ouyang M, Schwartz MA. Integrins in mechanotransduction. *Curr Opin Cell Biol* 2013; 25(5): 613-8.
- [79] Haghhighipour N, Tafazzoli-Shahdpour M, Shokrgozar MA, Amini S. Effects of cyclic stretch waveform on endothelial cell morphology using fractal analysis. *Artif Organs* 2010; 34(6): 481-90.