

Mechanical Analysis of Human Healthy and Cancerous Bone Cells Applying Atomic Force Microscope

Ali Jafari ^a, Ali Sadeghi*^a, Mansoureh Lafouti ^a

^a Department of Mechanical Engineering, Damavand branch, Islamic Azad University, Damavand, Tehran, Iran, 1647643471,

Original Article

Use your device to scan
and read the article online



Citation: Jafari A, Sadeghi A, Lafouti M. Mechanical Analysis of Human Healthy and Cancerous Bone Cells Applying Atomic Force Microscope. *Mechanics of Advanced and Smart Materials*. 2024;4(3):513-540.

 <https://10.61186/masm.4.3.513>

KEYWORDS

Elastic modulus,
Carcinomatous cell,
Chemo treated,
Plasma treated,
Atomic force microscope.

ABSTRACT

In the present investigation, the mechanical properties of mesenchymal stem cells (MSC) and carcinomatous cells of bone tissue (MG-63 and SAOS-2) has been studied applying AFM. Based on the sufficient similarity of mechanical characterizations of normal human osteoblast cells (NHOst) with mesenchymal stem cells (MSC), MSC have been applied instead to NHOst. Due to the outcomes, the elastic modules of MG-63 and SAOS-2 are lower than MSC. The elastic modulus of MG-63 and SOAS-2 cells were estimated before and after chemo and plasma treatment. MTT appraisal has been applied to define the convenient dosages for 24- and 48-h incubations due to the IC50 cell viability concentration. The elastic modules of MG-63 (917 Pa) and SAOS-2 (697 Pa) cell increase to 1.72 (1579 Pa) and 5.44 (4985 Pa) (after 24, 48 h) times compared to untreated MG-63 cell and 1.15 (802 Pa) and 7.49 (5225 Pa) (24, 48 h) times compared to untreated SAOS-2 cell. The plasma treatment increased the elastic modules of MG-63 and SAOS-2 cells. In the second section, the resonant frequencies and enlargement of the frequency response function of the AFM beam's motions have been analyzed using FEM and experimental procedures by AFM. The outcomes displayed that raising the specimens' hardness raises the resonant frequency. Lastly, the FEM and experimental outcomes have been evaluated and displayed the good agreement.

Extended Abstract

1. Introduction

The mechanical properties of cancerous cells differ from those of healthy cells. These differences include stiffness, viscoelasticity, and deformability [3, 4]. One way to detect the mechanical properties of cells is by using an Atomic Force Microscope (AFM), which can provide images with nanometer resolution [1, 3]. The object of this research is to study the influences of chemo-drugs and Cold Atmospheric Plasma (CAP) on the mechanical specifications of human bone cancerous cells (MG-63 and SAOS-2) and compare them to the mechanical specifications of healthy cell (MSC). Additionally, the effects of these two methods on cells have been compared with each other. During the next section the method and material are explained. Then the results of analysis were presented. Finally, the result obtains from this research highlight.

* Corresponding author. Tel.: +989123570693

E-mail address: a_sadeghi@damavandiau.ac.ir

DOI: <https://10.61186/masm.4.3.513>

Received: November 02, 2024; Received in revised form: November 26, 2024; Accepted: December 02, 2024.

© Author



2. Experimental Method

2.1. Materials

Mesenchymal stem cells (MSC) was produced from ROYAN institute of Iran. Carcinomatous bone cells were obtained from the Pasteur Institute of Iran (Tehran, Iran), containing MG-63 and SAOS-2 cell lines (Table 1

Table 1. Bone cells description

Cell line	Cell type	Cell explanation
MG-63	Carcinomatous	The osteoblast cell has been resulted from a 14-year-old white male patient with osteosarcoma. [26]
SAOS-2	Carcinomatous	The osteoblast cell has been resulted from an 11-year-old Caucasian female with osteogenic sarcoma [27]

2.2. Results and discussion for mechanical behavior of bone cells

Table 1 show the elastic modules of MSC, MG-63 and SAOS-2 before and after chemotherapy and plasma treatment, respectively. According to Table 2, the elastic modulus of MG-63 and SAOS-2 as a carcinomatous cell is smaller than MSC as normal cell. It is according to the expectation about cancer illness.

Table 2. Elasticity modules of bone cells for extend stroke

Cell line	Elasticity (Pa), min	Elasticity (Pa), max	Elasticity (Pa), mean
Mesenchymal Stem Cells (MSC)	200	2400	1898
MG-63	820	1020	917
SAOS-2	400	1100	697
MG-63, CT, 24h	1500	1700	1579
MG-63, CT, 48h	1000	7500	4985
SAOS-2, CT, 24h	600	1000	802
SAOS-2, CT, 48h	3000	8000	5225
MG-63, PT, 24h, 20s	0	14000	5192
MG-63, PT, 24h, 30s	1000	7000	4277
MG-63, PT, 24h, 60s	0	20000	3573
MG-63, PT, 48h, 20s	0	16000	6605
MG-63, PT, 48h, 30s	2000	20000	6938
SAOS-2, PT, 48h, 60s	3500	25000	8957
SAOS-2, PT, 24h, 20s	0	10000	3239
SAOS-2, PT, 24h, 30s	0	16000	3336
SAOS-2, PT, 24h, 60s	0	11000	3574
SAOS-2, PT, 48h, 20s	0	8000	3893
SAOS-2, PT, 48h, 30s	0	9000	4926
SAOS-2, PT, 48h, 60s	0	11000	9421

3. Results and discussion for Dynamic Behavior of AFM Beam

Table 3 compares the amounts of resonant frequencies and the amplitude of the FRF for the normal movement of the AFM cantilever applying FEM (by JPK AFM) methods. The comparison displays convenient agreement between the both methods.

Table 3. Evaluation for the resonant frequencies of AFM beam by assuming bone cells before and after treatment as the samples between the FEM and experimental procedures by AFM

Cell line	1 st Resonant Frequency, Hz	2 nd Resonant Frequency, Hz	3 rd Resonant Frequency, Hz
Mesenchymal Stem Cells (MSC)	9.96%	8.32%	4.91%
MG-63	2.29%	22.24%	1.98%
SAOS-2	2.44%	23.44%	1.17%
MG-63, CT, 24h	3.68%	11.49%	2.66%
MG-63, CT, 48h	0.8%	14.17%	5.98%
SAOS-2, CT, 24h	3.2%	17.49%	16.36%
SAOS-2, CT, 48h	0.36%	13.61%	5.87%
MG-63, PT, 24h, 20s	0.78%	14.11%	6.26%
MG-63, PT, 24h, 30s	0.24%	13.92%	5.76%
MG-63, PT, 24h, 60s	3.99%	11.05%	2.91%
MG-63, PT, 48h, 20s	0.19%	12.71%	6.21%
MG-63, PT, 48h, 30s	0.69%	13.08%	5.60%
MG-63, PT, 48h, 60s	0.42%	11.71%	0.2%

4. Conclusion

The mechanical behavior of human bone cells, involving MSC (healthy) and MG-63 and SAOS-2 (cancerous) cells, were studied in this investigation. Cancerous cells were treated with chemo (by Cisplatin drug and 24 and

48 h periods), and plasma treatments (24h [20, 30 and 60 s] and 48h [20, 30 and 60 s]. Based on the outcome, using the chemo and plasma treatments increase the young's modulus. During the second part of the investigation, the resonant frequencies and amplitude of the FRF of the AFM's beam with normal movement were studied applying the cells. The outcomes showed that the resonant frequencies of chemo and plasma treated cells were greater than control group. The comparison of the FEM and experimental outcomes showed a good agreement between them.



آنالیز مکانیکی سلول‌های سالم و سرطانی استخوانی انسان با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی

علی جعفری الف، علی صادقی ب*، منصوره لفوتی ج

الف دانشجوی دکترا، گروه مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دماوند، دماوند، تهران، ایران، alijafari2113@gmail.com

ب دانشیار، گروه مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دماوند، دماوند، تهران، ایران، a_sadeghi@damavandiau.ac.ir

ج استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دماوند، دماوند، تهران، ایران، m.jafooti@gmail.com

چکیده	واژگان کلیدی
در این مطالعه، خواص مکانیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) و سلول‌های سرطانی بافت استخوان (MG-63 و SAOS-2) با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بررسی شده است. به دلیل شباهت‌های قابل توجه ویژگی‌های مکانیکی سلول‌های استئوبلاست انسانی نرمال (NHOst) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC)، به جای NHOst از MSC استفاده شد. نتایج نشان داد که مدول الاستیسیته سلول‌های MG-63 و SAOS-2 نسبت به MSC کمتر است. مدول الاستیسیته این سلول‌ها، پیش و پس از درمان‌های شیمیایی و پلاسما اندازه‌گیری شد. برای تعیین دوزهای مناسب برای انکوبه‌سازی ۲۴ و ۴۸ ساعته، از سنجش MTT استفاده شد تا غلظت IC50 سلول‌ها مشخص گردد. نتایج نشان داد که مدول‌های الاستیک سلول‌های MG-63 (۹۱۷ پاسکال) به میزان ۱٫۷۲ (۱۵۷۹ پاسکال) و ۵٫۴۴ (۴۹۸۵ پاسکال) (پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت) نسبت به سلول‌های MG-63 درمان‌نشده و مدول‌های الاستیک سلول‌های SAOS-2 (۶۹۷ پاسکال) به میزان ۱٫۱۵ (۸۰۲ پاسکال) و ۷٫۴۹ (۵۲۲۵ پاسکال) (۲۴ و ۴۸ ساعت) نسبت به سلول‌های SAOS-2 درمان‌نشده افزایش پیدا کرده‌اند. درمان پلاسما باعث افزایش مدول‌های الاستیک سلول‌های MG-63 و SAOS-2 شد. در بخش بعدی، فرکانس‌های رزونانس و تغییرات تابع پاسخ فرکانسی حرکت‌های تیر AFM با استفاده از شبیه‌سازی‌های عددی (FEM) و آزمایش‌های تجربی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش سختی نمونه‌ها، فرکانس رزونانس را بالا می‌برد. در نهایت، نتایج عددی و تجربی با یکدیگر مقایسه شدند و توافق خوبی بین آن‌ها مشاهده شد.	مدول الاستیک، سلول سرطانی، درمان شیمی درمانی، درمان پلاسما، میکروسکوپ نیروی اتمی.
	تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۲
	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۹/۰۶
	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

۱- مقدمه

خواص مکانیکی در جنبه‌های مختلف زیست‌شناسی نقش اساسی دارند. در سطح سلولی، این خواص به‌عنوان واسطه‌هایی برای شبیه‌سازی و انتقال سیگنال‌های مکانیکی عمل می‌کنند. تغییرات در خواص مکانیکی در سطوح بافتی و اندامی ارتباط نزدیکی با بیماری‌ها دارند [۱، ۲]. خواص مکانیکی سلول‌های سرطانی با سلول‌های سالم متفاوت است و این تفاوت‌ها شامل ویژگی‌هایی مانند سختی، ویسکوالاستیسیته و تغییر شکل‌پذیری می‌باشند [۳، ۴]. به‌طور کلی، سلول‌های سرطانی نرم‌تر و انعطاف‌پذیرتر از سلول‌های سالم هستند. یکی از راه‌های شناسایی سلول‌های سرطانی در مراحل اولیه، بررسی خواص مکانیکی آن‌ها است.

* نویسنده مسئول؛ تلفن: +۹۸۹۱۲۳۵۷۰۶۹۳

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) ابزاری قدرتمند برای تحلیل خواص مکانیکی سلول‌ها است و قادر به ثبت تصاویری با وضوح نانومتری است [۵-۷]. این میکروسکوپ (شکل ۱) از یک کانتیلور یا تیرک با نوکی تیز در انتها تشکیل شده است. بسته به موقعیت تیپ نسبت به نمونه، می‌توان از حالت‌های مختلفی برای تحلیل استفاده کرد [۸]. رایج‌ترین حالت‌ها شامل حالت تماسی، حالت غیر تماسی و حالت ضربه‌ای هستند [۹، ۱۰]. این حالت‌ها به‌طور مستقیم به دینامیک نیروی بین تیپ و نمونه بستگی دارند و فاصله فضایی آن‌ها را در نظر می‌گیرند. برخی از محققان برای ساده‌سازی تحلیل، تعاملات چسبندگی بین تیپ و نمونه را نادیده می‌گیرند [۱۱]. همچنین، تحقیقات زیادی درباره حساسیت کانتیلور^۱ در مایعات مختلف انجام شده است [۱۲]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که خواص محیطی مواد تأثیر زیادی بر ارتعاشات کانتیلور دارند [۱۳، ۱۴].

در بخش بعدی، اطلاعات بیشتری درباره میکروسکوپ AFM ارائه خواهد شد. علاوه بر این، تحلیل داده‌های AFM می‌تواند به بررسی تأثیرات درمان‌های مختلف بر سلول‌های سرطانی کمک کند [۱۵-۱۷]. در بین روش‌های درمان سرطان، جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی متداول‌ترین روش‌ها هستند [۱۸-۱۹]. با این حال، این روش‌ها اغلب با عوارض جانبی قابل توجهی همراه هستند که محققان را به جستجوی درمان‌های نوین سوق داده است. شکل ۲ تغییرات نیرو بین تیر AFM و نمونه را در حین نزدیک شدن و دور شدن تیر نشان می‌دهد.

در سال‌های اخیر، استفاده از پلاسمای سرد اتمسفری (CAP) در درمان سرطان توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۲۰-۲۲]. یک گاز یونیزه است که در دمای اتاق عمل می‌کند و هیچ اثر سوختگی بر سلول‌ها ندارد. گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) تولیدشده در پلازما می‌توانند بدون آنکه آسیب جدی به سلول‌های سالم وارد کنند بر سلول‌های سرطانی اثر گذاشته و موجب تنش اکسیداتیو^۲ و آپوپتوز شوند [۲۳-۲۵]. این روش درمانی فاقد عوارض جانبی معمول شیمی‌درمانی مانند تهوع، استفراغ، ریزش مو و مقاومت دارویی است.

با توجه به تغییرات صورت گرفته ناشی از بیماری سرطان روی سلول‌های سالم، هدف از این تحقیق در وهله نخست برآورد تغییرات صورت گرفته ناشی از بیماری سرطان روی سلول‌های استخوان انسان می‌باشد. سپس بررسی تأثیر داروهای شیمی‌درمانی و پلاسمای سرد اتمسفری (CAP) بر خواص مکانیکی سلول‌های سرطانی استخوان انسان (MG-63 و SAOS-2) و مقایسه آن‌ها با خواص مکانیکی سلول‌های سالم (MSC) صورت گرفته است. همچنین، اثرات این دو روش درمانی بر سلول‌ها با یکدیگر مقایسه شده است. در بخش بعدی، روش‌ها و مواد استفاده‌شده توضیح داده شده و سپس نتایج تحلیل‌ها ارائه خواهند شد. در پایان، نتایج این تحقیق به‌طور برجسته معرفی می‌شود.

محدودیت‌های تحقیق شامل عدم کالیبره بودن کامل میکروسکوپ نیروی اتمی، عدم تعویض به موقع تیرک مورد استفاده در میکروسکوپ نیروی اتمی به علت هزینه بالا، عدم رعایت شرایط دمایی لازمه جهت سلول‌های زنده در هنگام انتقال سلول‌ها از آزمایشگاه سلولی به آزمایشگاه میکروسکوپ نیروی اتمی مخصوصاً در روزهای سردتر و درنهایت عدم وجود مهارت و تجربه کافی در برخی اپراتورها در هر دو آزمایشگاه سلولی و میکروسکوپ نیروی اتمی می‌باشد.

۲- روش آزمایشگاه

۲-۱- مواد

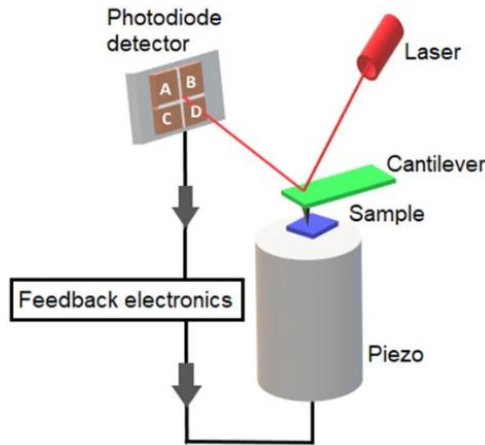
سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) از موسسه رویان ایران تهیه شد. سلول‌های سرطانی استخوان شامل رده سلول MG-63 و SAOS-2 نیز از موسسه پاستور ایران (تهران) به دست آمدند (جدول ۱).

¹ cantilever

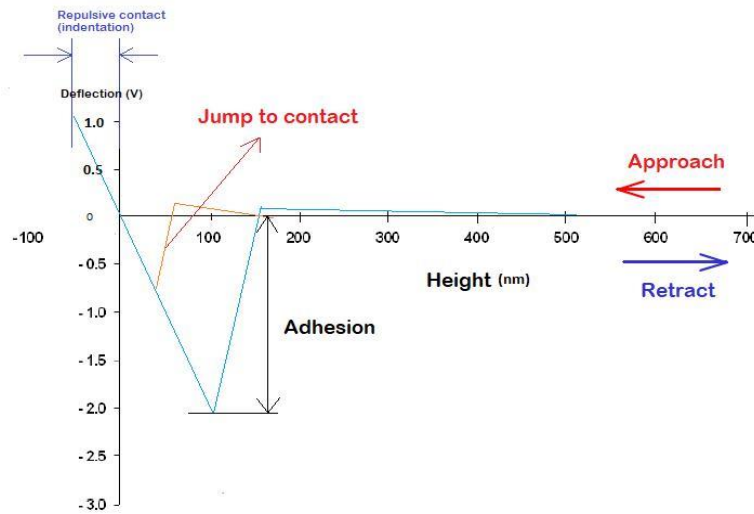
² oxidative

جدول ۱ شرح سلول‌های استخوانی

رده سلولی	نوع سلول	توضیحات سلول
MG-63	سرطانی	سلول استخوان‌ساز از بیمار ۱۴ ساله مرد سفیدپوست مبتلا به استئوسارکوم ^۳ (سرطان استخوان) به دست آمده است. [۲۶]
SAOS-2	سرطانی	سلول استخوان‌ساز از یک دختر ۱۱ ساله سفیدپوست مبتلا به سارکوم استخوان‌ساز (سرطان استخوان) به دست آمده است [۲۷]



شکل ۱ دستگاه AFM

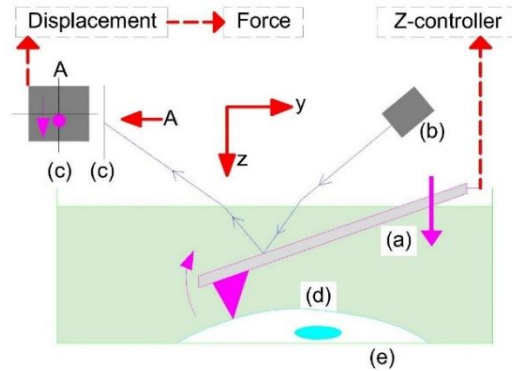


شکل ۲ تغییرات نیرو با در نظر گرفتن فاصله بین تیرک و نمونه

۲-۲- یافتن رفتار مکانیکی سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) دستگاهی است که نوک تیز آن به انتهای یک تیرک متصل است (شکل ۳). اصل کارکرد AFM بر پایه نیرویی است که بین اتم‌های نوک و نمونه وجود دارد و به نیروی واندروالس معروف است. این نیرو باعث انحراف تیرک می‌شود. این انحنا از طریق اندازه‌گیری انحراف پرتو لیزری که از قسمت پوشش‌دار پشت تیرک تابیده می‌شود و به سلول گیرنده یا همان گیرنده حساس به نور هدایت می‌شود، قابل شناسایی است.

³ osteosarcoma

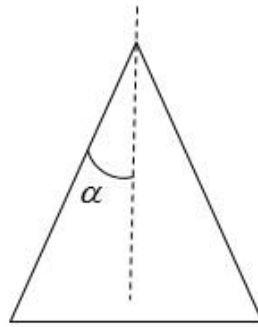


شکل ۳ شماتیک رویکردی AFM

به طور معمول، از نظریه هرتز برای توصیف نیروی بین حالات مختلف تیرک استفاده می‌شود. با توجه به شکل مخروطی نوک (شکل ۴)، این رابطه به صورت زیر نوشته می‌شود:

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

که در آن F و δ به ترتیب نشان‌دهنده نیرو و حرکت هستند.



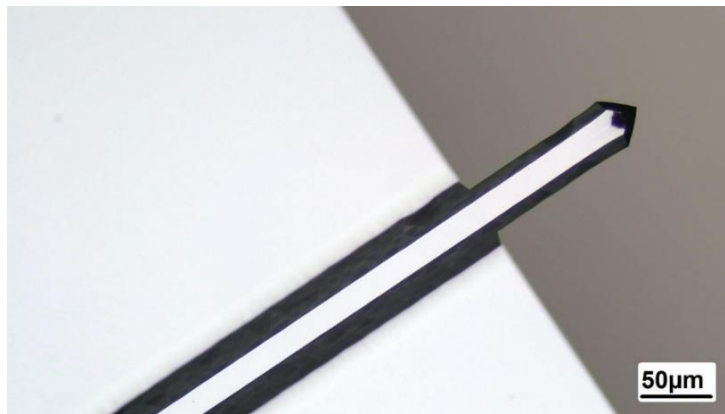
شکل ۴ شماتیک از نوک AFM

در این تحقیق از نانو اسکوپ نیروی اتمی مدل JPK Instruments-NanoWizard 3 AFM (شکل ۵) و تیرک MIKROMASH HQCSC17 (شکل ۶) با مشخصات ذیل استفاده شده است:

مشخصات تیر شامل طول $L = 450 \mu\text{m}$ ، عرض $b = 50 \mu\text{m}$ ، ضخامت $h = 2 \mu\text{m}$ ، چگالی جرمی $\rho = 2330 \text{kg/m}^3$ ، مدول یانگ $E = 1.5 \times 10^{11} \text{Pa}$ ، نسبت پواسون $\nu = 0.28$ ، شعاع تیپ $R = 10 \text{nm}$ ، $k_c = 0.145 \text{N/m}$ و $\alpha = 19.47^\circ$ است. علاوه بر این، برای تعیین خواص مکانیکی سلول‌ها از نرم‌افزاری تخصصی JPK Data Processing (نسخه ۰,۹۶، ۵) استفاده شد. در همین راستا، برای هر سلول از سه پتری دیش استفاده گردید. در انتخاب تیرک برای نمونه‌های بیولوژیک با توجه به عدم سختی نمونه‌ها معمولاً از بلندترین تیرک موجود در آزمایشگاه استفاده می‌شود چراکه طبق [16] در تیرک $k_c = 3EI/L^3$ با افزایش طول سختی بشدت کاهش می‌یابد و در عمل متناسب با سختی پایین نمونه خواهد شد. در نرم‌افزار تخصصی JPK Data Processing مشخصات فیزیکی و مادی تیرک به صورت کاملاً اتوماتیک وارد محیط نرم‌افزار می‌شوند و حتی سختی تیرک نیز اتوماتیک محاسبه شده و صرفاً نوع نوک مثلاً هرمی یا کروی و یا اشکال دیگر توسط اپراتور انتخاب می‌شوند. البته لازم به ذکر است انتخاب تیرک‌ها کاملاً متناسب با سختی نمونه و البته با توجه به تجربه اپراتور آزمایشگاه صورت می‌پذیرد.



شکل ۵ JPK Instruments-Nano Wizard 3 AFM



شکل ۶ تیرک مستطیلی AFM (مدل MIKROMASH HQCSC17)

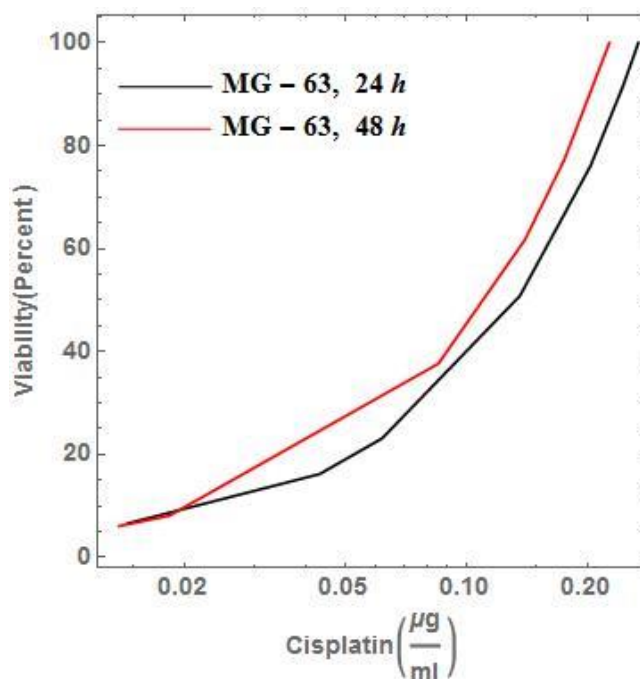
۲-۳- انجماد و محیط‌های کشت

تمام رده‌های سلولی با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱۰٪ دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) منجمد شدند. محیط کشت از Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) تشکیل شده است که با ۱۰٪ سرم جنین گاوی و ۲ میلی‌مول آل‌گلوتامین غنی شده‌اند. سلول‌ها در محیطی با ۵٪ دی‌اکسید کربن نگهداری شدند.

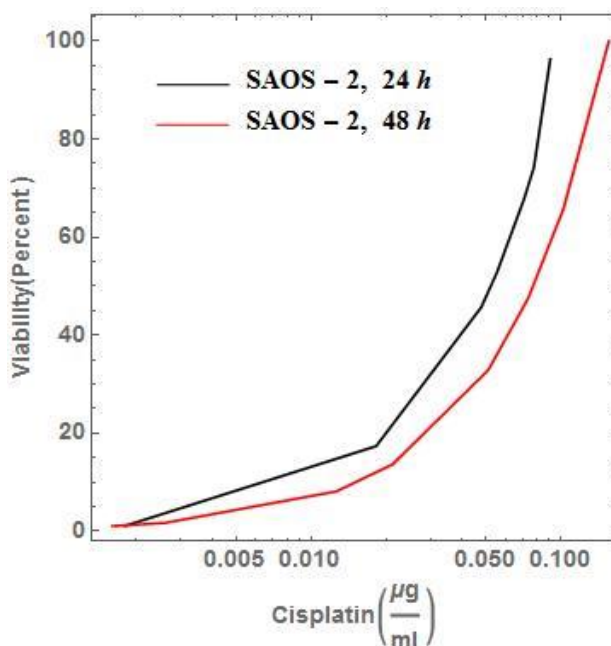
۲-۴- سنجش زیست‌پذیری سلول‌ها با آزمون MTT

برای بررسی زیست‌پذیری سلول‌ها، آزمون MTT انجام شد و غلظت IC_{50} به‌عنوان معیار مطالعه انتخاب گردید. سلول‌ها تا غلظت ۲۰،۰۰۰ تا ۱۰،۰۰۰ سلول در هر میلی‌لیتر رقیق‌شده و در ۹۶ پلیت استاندارد توزیع شدند. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند. بر اساس داده‌های شکل‌های ۷ و ۸ و معیارهای غلظت IC_{50} ، مقادیر داروی سیس‌پلاتین^۴ برای سلول‌های MG-63 و SAOS-2 به ترتیب ۰/۱۱۲ و ۰/۰۵۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر (برای انکوباسیون ۲۴ ساعته) و ۰/۱۳۲ و ۰/۰۷۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر (برای انکوباسیون ۴۸ ساعته) پیشنهاد شدند.

⁴ Cisplatin



شکل ۷ زنده مانی سلول های MG-63 بر اساس سنجش MTT با استفاده از داروی سیسپلاتین در زمان های دوز ۲۴ و ۴۸ ساعت



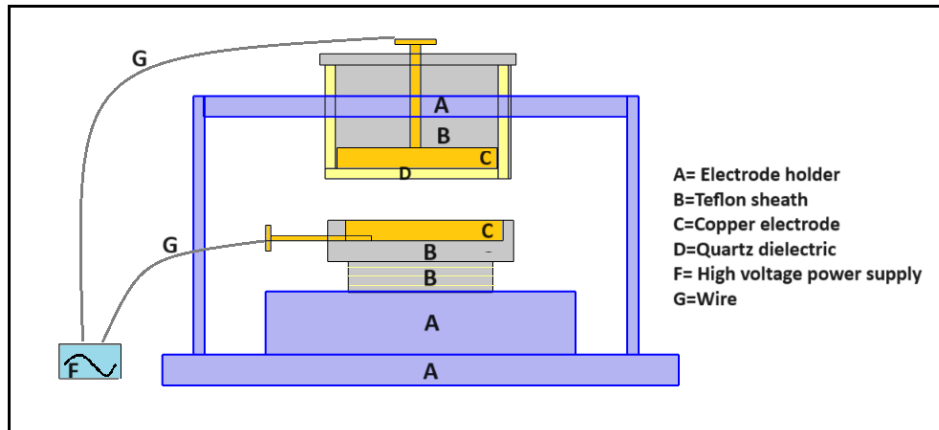
شکل ۸ زنده مانی سلول های SAOS-2 بر اساس سنجش MTT با داروی سیسپلاتین در زمان های دوز ۲۴ و ۴۸ ساعت

۲-۵- دستگاه DBD

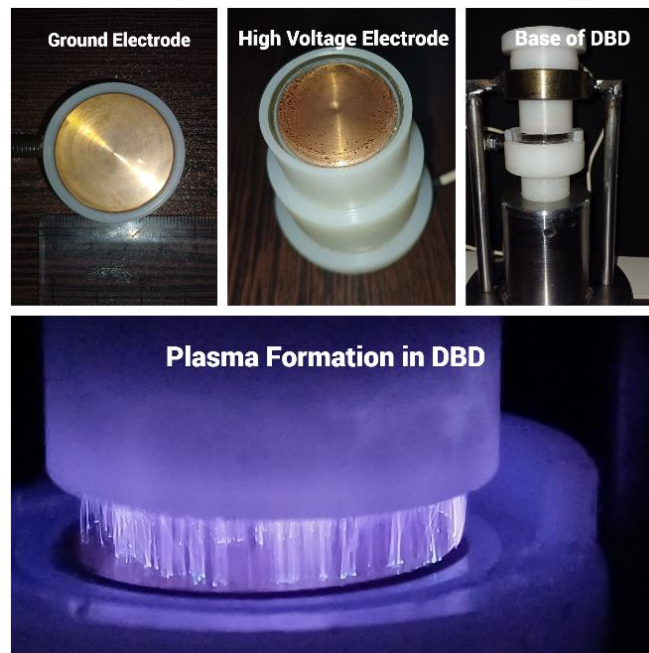
در این تحقیق، دستگاه تخلیه دی الکتریک باریر^۵ (شکل های ۹ و ۱۰) برای درمان سلول های سرطانی با استفاده از پلاسما ساخته شده است [۲۹، ۲۸]. این دستگاه شامل دو الکترود مسی است که هر کدام با قطر ۳ سانتی متر و ضخامت ۲ میلی متر ساخته شده اند. یکی از الکترودها با لایه ای از کوارتز به ضخامت ۰/۵۰ میلی متر پوشانده شده است تا از تشکیل قوس الکتریکی جلوگیری کند [۳۱، ۳۰]. الکترودها روی یک پایه نصب شده اند که در قسمت پایین آن مکانیزم بیچ تنظیم فاصله بین دو الکترود

⁵ Dielectric Barrier

قرار دارد. این سیستم به‌گونه‌ای طراحی شده که بدون اینکه الکترودها با نمونه تماس مستقیم پیدا کنند، فاصله دقیق بین الکترودها را تنظیم کرده و پلاسما بین آن‌ها ایجاد می‌شود. فاصله معمول بین الکترودها در حدود میلی‌متر است. برای ایجاد پلاسما، ولتاژ بالای کیلوولت به دو الکترودها اعمال می‌شود؛ به‌گونه‌ای که الکترودها بالایی به ولتاژ بالا و الکترودها پایینی به زمین متصل می‌شوند. نمونه در فاصله میان دو الکترودها قرار می‌گیرد. فاصله بین الکترودها، ولتاژ اعمال شده و مدت زمان تابش پلاسما به نمونه پارامترهایی هستند که دوز پلاسما را تعیین کرده و بر خواص مکانیکی سلول‌ها تأثیر می‌گذارند [۳۲]. در این تحقیق، مدت زمان تابش پلاسما به نمونه در دو حالت ۳۰ میلی‌ثانیه و ۶۰ میلی‌ثانیه با ولتاژ ثابت ۱۵ کیلوولت تنظیم شد و اثر این زمان‌ها بر پلاسما بررسی گردید. آزمایش در یک اتاق تمیز انجام شد تا از تأثیر آلودگی محیطی بر نتایج جلوگیری شود.



شکل ۹ دیگرام شماتیک سیستم DBD



شکل ۱۰ بخش‌های مختلف DBD و ایجاد پلاسما پس از راه‌اندازی سیستم

۲-۶- نتایج و بحث برای رفتار مکانیکی سلول‌های استخوانی

مدول یانگ نسبی E_R و چسبندگی نسبی Ad_R بین سلول‌های سالم و سرطانی به‌صورت زیر است:

$$E_R = \frac{E_{cancer}}{E_{MSC}} \quad (2)$$

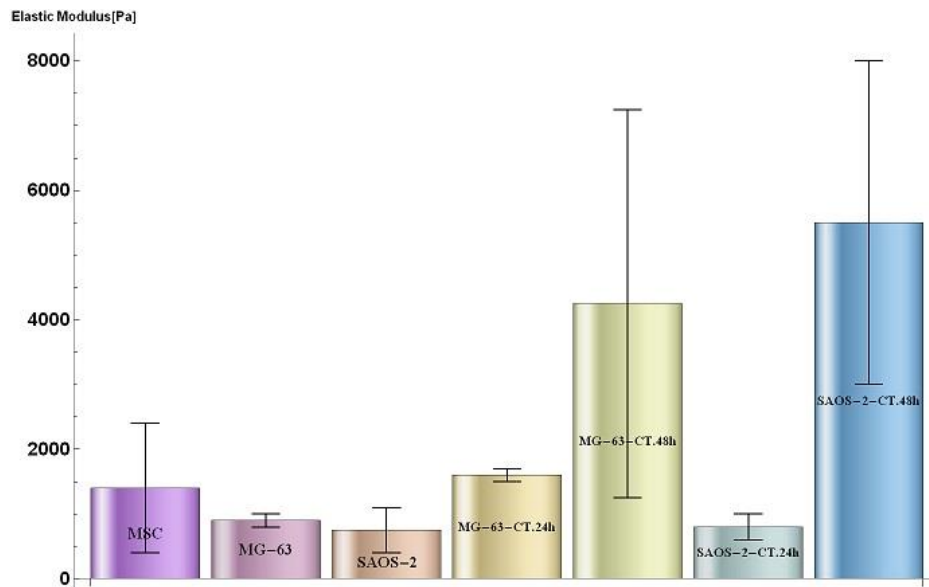
$$Ad_R = \frac{Ad_{cancer}}{Ad_{MSC}} \quad (3)$$

جدول ۲ و شکل های ۱۱، ۱۳ و ۱۴ مدول های الاستیک سلول های MSC، MG-63 و SAOS-2 را قبل و بعد از شیمی درمانی و پلاسما نشان می دهند. طبق جدول ۲، مدول الاستیک سلول های MG-63 و SAOS-2 که سلول های سرطانی هستند، کوچک تر از سلول های MSC (سلول های نرمال) است. این امر با پیش بینی های معمول در مورد بیماری های سرطانی مطابقت دارد. بر اساس جدول ۲، شیمی درمانی به ویژه در زمان های طولانی تر (۴۸ ساعت)، موجب افزایش مدول های الاستیک سلول ها می شود. پس از درمان ۴۸ ساعته با داروی سیس پلاتین، مدول الاستیک سلول های MG-63 و SAOS-2 به ترتیب به ۲/۶۲۶ و ۲/۷۵۲ برابر سلول های MSC می رسد. همچنین، طبق جدول ۲، درمان با پلاسما نیز مشابه با شیمی درمانی، مدول های الاستیک سلول های MG-63 و SAOS-2 را افزایش می دهد. درمان پلاسما در زمان های ۲۰، ۳۰ و ۶۰ ثانیه و در دو دوره ۲۴ و ۴۸ ساعته انجام شد. به طور کلی، درمان با پلاسما به سرعت مدول های الاستیک را برای هر دو نوع سلول و در تمامی دوره های زمانی افزایش می دهد، به طوری که برای تمام سلول های درمان شده با پلاسما، مدول الاستیک بیش از ۱/۷ برابر سلول های MSC است.

جدول ۳ و شکل های ۱۲، ۱۵ و ۱۶ تأثیر شیمی درمانی و درمان پلاسما بر چسبندگی سلول های MSC، MG-63 و SAOS-2 را نشان می دهند. نتایج نشان می دهند که با اعمال شیمی درمانی و درمان پلاسما، چسبندگی سلول های درمان شده کاهش یافته و نسبت به سلول های درمان نشده کمتر است؛ به عبارت دیگر، اثرات شیمی درمانی و درمان پلاسما بر مدول الاستیک و چسبندگی سلول ها در جهت های معکوس قرار دارد. در جدول ۴، مدول الاستیک سلول های MSC، MG-63 و SAOS-2 با نتایج به دست آمده از مراجع [۳۹] و [۴۰] مقایسه شده است.

جدول ۲ مدول های الاستیک سلول های استخوانی برای حرکت تقرب تیرک به سمت نمونه

E_R	نوع سلول	نوع	Elasticity (Pa), mean	Elasticity (Pa), max	Elasticity (Pa), min	رده سلولی
-----	نرمال	استخوان	1898	2400	200	Mesenchymal Stem Cells (MSC)
0.483	سرطانی	استخوان	917	1020	820	MG-63
0.367	سرطانی	استخوان	697	1100	400	SAOS-2
0.832	سرطانی	استخوان	1579	1700	1500	MG-63, CT, 24h
2.626	سرطانی	استخوان	4985	7500	1000	MG-63, CT, 48h
0.423	سرطانی	استخوان	802	1000	600	SAOS-2, CT, 24h
2.752	سرطانی	استخوان	5225	8000	3000	SAOS-2, CT, 48h
2.735	سرطانی	استخوان	5192	14000	0	MG-63, PT, 24h, 20s
2.253	سرطانی	استخوان	4277	7000	1000	MG-63, PT, 24h, 30s
1.882	سرطانی	استخوان	3573	20000	0	MG-63, PT, 24h, 60s
3.479	سرطانی	استخوان	6605	16000	0	MG-63, PT, 48h, 20s
3.655	سرطانی	استخوان	6938	20000	2000	MG-63, PT, 48h, 30s
4.719	سرطانی	استخوان	8957	25000	3500	SAOS-2, PT, 48h, 60s
1.706	سرطانی	استخوان	3239	10000	0	SAOS-2, PT, 24h, 20s
1.757	سرطانی	استخوان	3336	16000	0	SAOS-2, PT, 24h, 30s
1.883	سرطانی	استخوان	3574	11000	0	SAOS-2, PT, 24h, 60s
2.051	سرطانی	استخوان	3893	8000	0	SAOS-2, PT, 48h, 20s
2.595	سرطانی	استخوان	4926	9000	0	SAOS-2, PT, 48h, 30s
4.963	سرطانی	استخوان	9421	11000	0	SAOS-2, PT, 48h, 60s



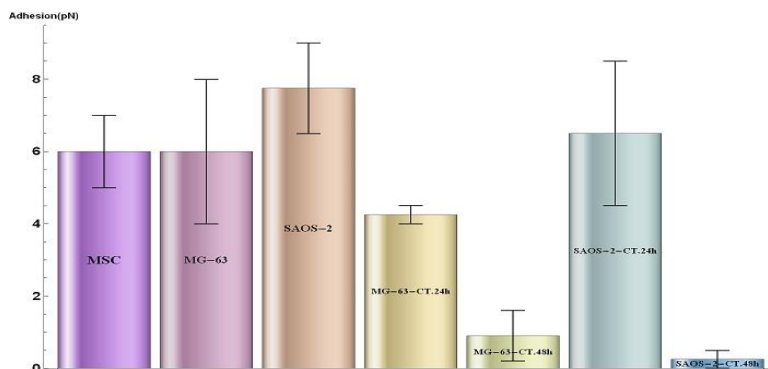
شکل ۱۱ مدول‌های الاستیک سلول‌های MSC، MG-63 و SAOS-2 پیش و پس از درمان شیمی درمانی

جدول ۳ چسبندگی سلول‌های استخوانی برای حرکت بازگشتی تیرک از نمونه

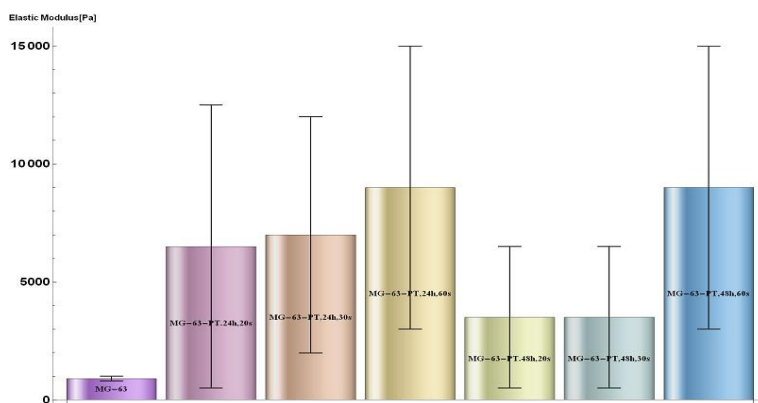
Ad_R	نوع سلول	نوع	Adhesion (nN), mean	Adhesion (nN), max	Adhesion (nN), min	رده سلولی
----	نرمال	استخوان	6.02	7	5	Mesenchymal Stem Cells (MSC)
1.059	سرطانی	استخوان	6.379	8.5	4	MG-63
1.257	سرطانی	استخوان	7.565	9	6.5	SAOS-2
0.707	سرطانی	استخوان	4.254	4.45	4	MG-63, CT, 24h
0.145	سرطانی	استخوان	0.875	1.6	0.2	MG-63, CT, 48h
1.075	سرطانی	استخوان	6.47	8.6	4.4	SAOS-2, CT, 24h
0.042	سرطانی	استخوان	0.25	0.5	0	SAOS-2, CT, 48h
0.372	سرطانی	استخوان	2.24	4	1	MG-63, PT, 24h, 20s
0.368	سرطانی	استخوان	2.22	2.8	1.7	MG-63, PT, 24h, 30s
0.239	سرطانی	استخوان	1.44	3	0	MG-63, PT, 24h, 60s
0.703	سرطانی	استخوان	4.234	6	2	MG-63, PT, 48h, 20s
0.891	سرطانی	استخوان	5.36	9	1	MG-63, PT, 48h, 30s
1.017	سرطانی	استخوان	6.12	11	1	MG-63, PT, 48h, 60s
0.224	سرطانی	استخوان	1.35	3.5	1	SAOS-2, PT, 24h, 20s
0.2	سرطانی	استخوان	1.21	3	1	SAOS-2, PT, 24h, 30s
0.186	سرطانی	استخوان	1.12	3	1	SAOS-2, PT, 24h, 60s
0.163	سرطانی	استخوان	0.98	2.5	0	SAOS-2, PT, 48h, 20s
0.144	سرطانی	استخوان	0.87	2	0	SAOS-2, PT, 48h, 30s
0.119	سرطانی	استخوان	0.72	1.5	0	SAOS-2, PT, 48h, 60s

جدول ۴ مقایسه مدول‌های الاستیک به دست آمده از سلول‌های استخوانی در تحقیق حاضر و مقایسه آن با مراجع

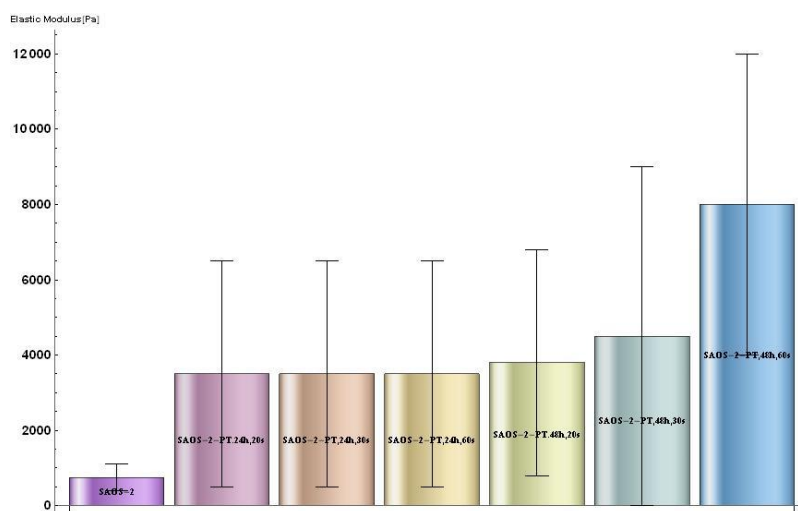
رده سلولی	مدول الاستیک (پاسکال) بر اساس مراجع	مدول الاستیک (پاسکال) بر اساس تحقیق حاضر	تفاوت بین تحقیق حاضر و مراجع مربوطه
Mesenchymal Stem Cells (MSC)	2080 [39]	1898	8.75% [39]
MG-63	820 [39]	917	10.58% [39]
SAOS-2	950 [40]	697	27.38% [40]



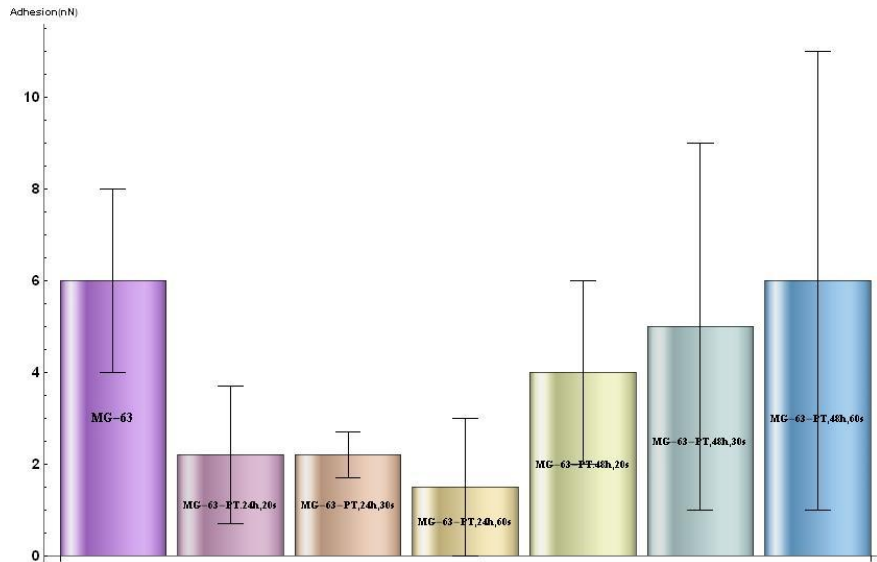
شکل ۱۲ چسبندگی سلول‌های MSC، MG-63 و SAOS-2 پیش و پس از درمان شیمی درمانی



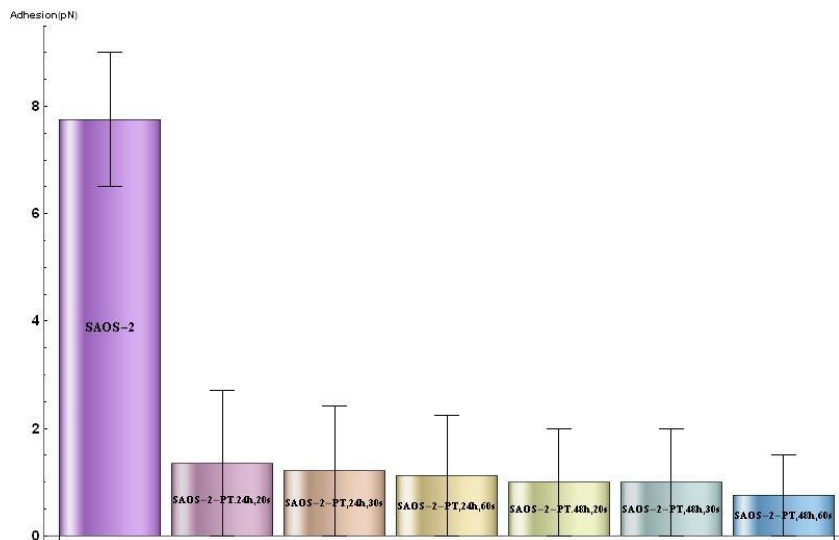
شکل ۱۳ مدول‌های الاستیک سلول‌های MG-63 قبل و بعد از درمان پلاسما



شکل ۱۴ مدول‌های الاستیک سلول‌های SAOS-2 قبل و بعد از درمان پلاسما



شکل ۱۵ چسبندگی سلول‌های MG-63 قبل و بعد از درمان پلاسما



شکل ۱۶ چسبندگی سلول‌های SAOS-2 قبل و بعد از درمان پلاسما

۳- مشخصات ارتعاشی تیر مستطیلی AFM

۳-۱- مدل تئوری

شکل ۱۷ و ۱۸ یک تیرک AFM را نشان می‌دهد. با توجه به تئوری تیر تیموشنکو، معادلات دیفرانسیل حاکم بر جابه‌جایی تیر به شکل زیر نوشته شده است [۳۳]:

$$\frac{\partial}{\partial x} \left[kGA \left(\frac{\partial w(x,t)}{\partial x} - \varphi(x,t) \right) \right] - \rho A \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2} = 0 \quad (۴)$$

$$\frac{\partial}{\partial x} \left[EI \left(\frac{\partial \varphi}{\partial x} \right) \right] + kGA \left(\frac{\partial w}{\partial x} - \varphi \right) - \rho I \frac{\partial^2 \varphi}{\partial t^2} = 0 \quad (۵)$$

که ρ چگالی جرم، A مساحت و I ممان مقطع را نشان می‌دهد. علاوه بر این، E مدول یانگ، G مدول برشی و $k = \frac{5(1+\nu)}{6+5\nu}$ ضریب برش و ν ضریب پواسون هستند. جابه‌جایی عمودی تیرک w و چرخشی φ ارائه شده است. نیروی اثر متقابل نرمال طبق مدل DMT به صورت زیر نوشته می‌شود [۳۴]:

$$f_n = \begin{cases} \frac{-H_A R}{6d_n^2} d_n > a_0 \\ \frac{-H_A R}{6a_0^2} + f_c d_n \leq a_0 \end{cases} \quad (6)$$

که در آن $d_n = D + w$ ، نیروی تماسی نرمال $f_c = \frac{4}{3} E^* \sqrt{R} (a_0 - d_n)^{3/2}$ و $\frac{1}{E^*} = \frac{1-\nu_s^2}{E_s} + \frac{1-\nu_t^2}{E_t}$ می باشد و D فاصله تعادل مابین تیپ و نمونه است. با فرض مدل تماسی هر تیز، نیرو جانبی بیان می شود [۳۵]:

$$f_t = \begin{cases} 0 & d_n > a_0 \\ -8G^* \left(\frac{3Rf_c}{4E^*} \right)^{1/3} & wd_n \leq a_0 \end{cases} \quad (7)$$

که $\frac{1}{G^*} = \frac{2-\nu_s}{G_s} + \frac{2-\nu_t}{G_t}$ با استفاده از مدل DMT و اعمال بسط سری تیلور مرتبه سوم [۳۴] و [۳۵]، سختی غیرخطی تماس به صورت زیر نوشته می شود:

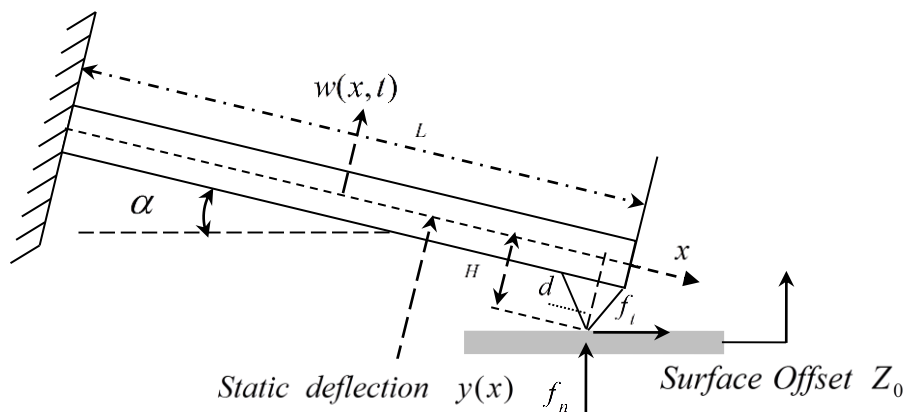
$$f_n = \left(k_n - k_{n1} \frac{w(0,t) \cos(\alpha)}{\delta_0} - k_{n2} \frac{(w(0,t) \cos(\alpha))^2}{\delta_0^2} \right) (w(0,t) \cos(\alpha) - H\varphi(0,t) \sin(\alpha)), \quad (8)$$

$$k_n = \frac{3}{2} K_0 \delta^{1/2}, k_{n1} = \frac{1}{4} k_n, k_{n2} = \frac{1}{24} k_n, K_0 = \frac{4}{3} E^* \sqrt{R_t}, \delta_0 = Z_0 - D$$

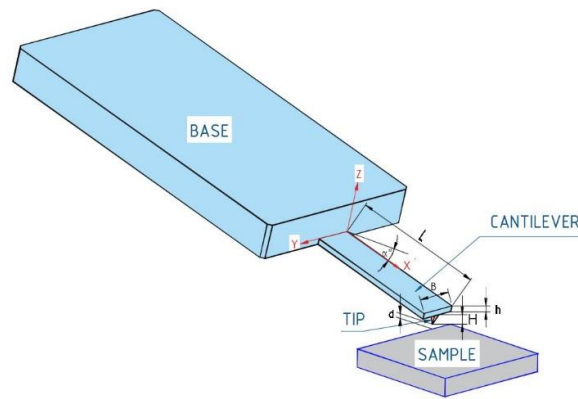
$$f_t = \left(k_t - k_{t1} \left(\frac{w(0,t) \cos(\alpha)}{\delta_0} \right) - k_{t2} \left(\frac{w(0,t) \cos(\alpha)}{\delta_0} \right)^2 \right) (w(0,t) \sin(\alpha) + H\varphi(0,t) \cos(\alpha)), \quad (9)$$

$$k_t = 8G_0 \delta_0^{1/2}, k_{t1} = \frac{1}{2} k_t, k_{t2} = \frac{1}{8} k_t, G_0 = G^* \sqrt{R_t}$$

که ν_s و ν_t ، E_s ، E_t مدول یانگ و ضریب پواسون از تیپ و نمونه را به ترتیب نشان می دهد. علاوه بر این، δ_0 و Z_0 به ترتیب تغییر شکل استاتیک و جابه جایی سطح را نشان می دهد و k_n, k_{n1}, k_{n2} و k_t, k_{t1}, k_{t2} به ترتیب سختی نرمال و جانبی است.



شکل ۱۷ تیز مستطیلی AFM



شکل ۱۸ تیر سه‌بعدی AFM

شرایط مرزی برای تیر AFM به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$w(0, t) = 0 \quad (10)$$

$$\varphi(0, t) = 0 \quad (11)$$

$$EI_y \frac{\partial \varphi(0, t)}{\partial x} = (-f_t \cos(\alpha) + f_n \sin(\alpha))H - m_{tip} d^2 \frac{\partial^2 \varphi(0, t)}{\partial t^2} \\ = \left(-\frac{H_A R}{6a_0^2} + k_n(w(0, t) \cos(\alpha) - H\varphi(0, t) \sin(\alpha)) \right) H \sin(\alpha) \\ - k_t(w(0, t) \sin(\alpha) + H\varphi(0, t) \cos(\alpha)) H \cos(\alpha) \quad (12)$$

$$kGA \left(\varphi(0, t) - \frac{\partial w(0, t)}{\partial x} \right) = (f_t \sin(\alpha) + f_n \cos(\alpha)) + m_{tip} \frac{\partial^2 w(0, t)}{\partial t^2} \\ = k_t(w(0, t) \sin(\alpha) + H\varphi(0, t) \cos(\alpha)) \sin(\alpha) \\ + \left(-\frac{H_A R}{6a_0^2} + k_n(w(0, t) \cos(\alpha) - H\varphi(0, t) \sin(\alpha)) \right) \cos(\alpha) \\ + m_{tip} \frac{\partial^2 w(0, t)}{\partial t^2} \quad (13)$$

۳-۲- روش اجزا محدود (FEM)

با فرض حرکت هارمونیک نگاه‌دارنده، جابه‌جایی کلی تیر به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$d(t) = w(t) + I_z q_z(t) \quad (14)$$

عناصر ماتریس I_z که به حرکت نرمال مربوط می‌شوند، برای $d(t)$ برابر با ۱ هستند و در غیر این صورت صفر می‌باشند [۳۶].

معادلات FEM حرکت تیرک با فرض حرکت نگاه‌دارنده و نیروهای هیدرودینامیکی به صورت زیر بیان می‌شوند:

$$M\ddot{w} + C\dot{w} + Kw = F_{ts} - MI_z \ddot{q}_z(t) \quad (15)$$

که در آن F_{ts} نمایانگر نیروی نوک-نمونه است. با فرض نیروها در نقطه تماس (f_{ts}) ، نیرو به صورت زیر بیان می‌شود:

$$F_{ts} = G_t^T f_{ts}^C = -K_{T-S} w \quad (16)$$

$$f_{ts} = \{f_y^C, M_z^C\}^T \quad (17)$$

که در آن G_t^T ماتریس کروئکر است و اطلاعات مربوط به موقعیت حرکت گره‌ای در گره C را در بردار حرکت گلوبال نمایش می‌دهد. علاوه بر این، K_{T-S} ضریب سختی ماتریس است.

$$f_y^C = f_t \sin(\alpha) + f_n \cos(\alpha), M_z^C = H(-f_t \cos(\alpha) + f_n \sin(\alpha)) \quad (18)$$

اگر تیرک به طور حداقلی حرکت کند، می توان اثر متقابل را خطی کرد [۳۷].

$$\begin{bmatrix} f_y \\ M_z \end{bmatrix} = -[k_{ts}] \begin{bmatrix} W \\ \varphi \end{bmatrix} \quad (19)$$

$$[k_{ts}] = \begin{bmatrix} k_n \cos^2(\alpha) + k_t \sin^2(\alpha) & H \cos(\alpha) \sin(\alpha) (k_t - k_n) \\ H \cos(\alpha) \sin(\alpha) (k_t - k_n) & H^2 (k_n \sin^2(\alpha) + k_t \cos^2(\alpha)) \end{bmatrix} \quad (20)$$

با فرض حرکت هارمونیک برای نگه دارنده $q_z(t) = h_q e^{i\omega t}$ و حرکت هارمونیک برای تیرک $w(t) = W e^{i\omega t}$ معادله FEM به صورت زیر ارائه می شود [۳۷]:

$$((K + K_{T-S}) - M\omega^2)W = M\omega^2 I_z h_q - K_{T-S} I_z h_q \quad (21)$$

در اینجا، بردار FRF تیرک را می توان به صورت زیر ارائه کرد:

$$FRF(\omega)|_{ContactMode} = \frac{W}{h_q} = ((K + K_{T-S}) - M\omega^2)^{-1} (M\omega^2 - K_{T-S}) I_z \quad (22)$$

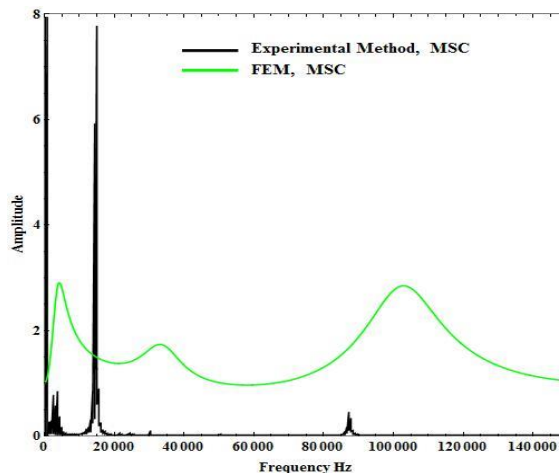
$$FRF(\omega)|_{Non-ContactMode} = \frac{W}{h_q} = (K + i\omega \leftrightarrow C - M\omega^2)^{-1} (M\omega^2) I_z \quad (23)$$

ماتریس های اینرسی و سختی در ضمایم ارائه شده اند.

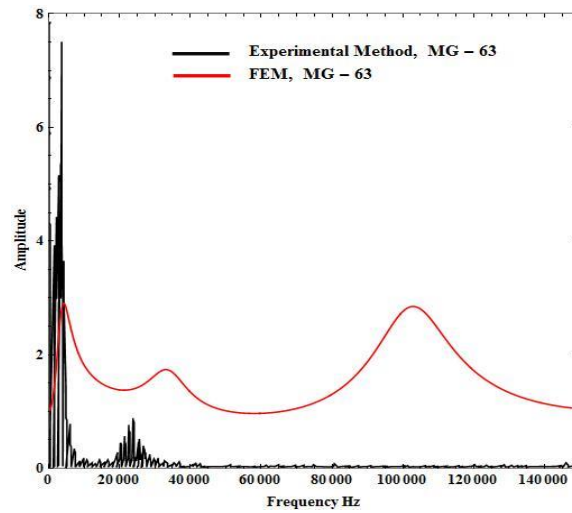
۴- نتایج برای اندازه از بردار جابه جایی و فرکانس رزونانسی

در این مقاله، دامنه حرکتی توابع پاسخ فرکانسی (FRF)، جابجایی عمودی و فرکانس های رزونانسی محاسبه شده و از تیر میکروماش MIKROMASH HQSC17 به عنوان تیر AFM استفاده شده است. همچنین، مقادیر $\alpha = 15^\circ$ و $H = 15 \mu m$ برای نمونه ها در نظر گرفته شده اند.

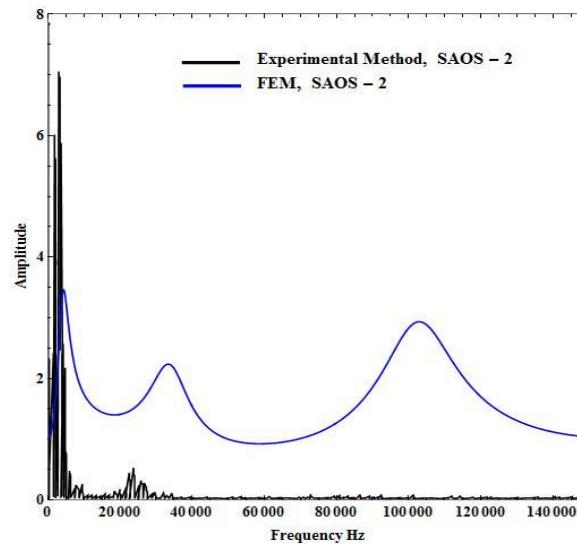
سلول های MG-63، SAOS-2 و MSC قبل و بعد از شیمی درمانی و درمان پلاسما به عنوان نمونه انتخاب شده اند. شکل های ۱۹ تا ۳۷ و جدول های ۵ و ۶ فرکانس های رزونانسی و دامنه FRF حرکت عمودی تیرک AFM را با در نظر گرفتن نمونه های مختلف و استفاده از روش FEM و روش تجربی (AFM JPK) نشان می دهند. با افزایش مدول یانگ نمونه ها، فرکانس رزونانسی تیرک افزایش می یابد. جدول ۷، مقادیر فرکانس های رزونانسی و دامنه FRF برای حرکت نرمال تیرک AFM را با استفاده از روش های تئوریک و تجربی مقایسه می کند؛ این مقایسه تطابق خوبی را بین این دو روش نشان می دهد.



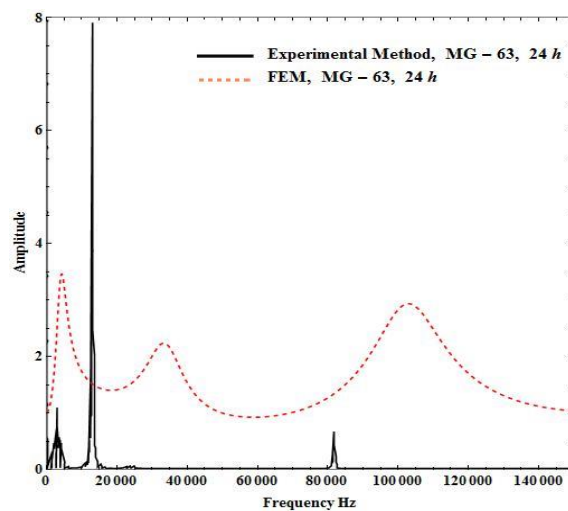
شکل ۲۹ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش های FEM و تجربی با در نظر گرفتن سلول های بنیادی مزانشیمی (MSC) به عنوان نمونه



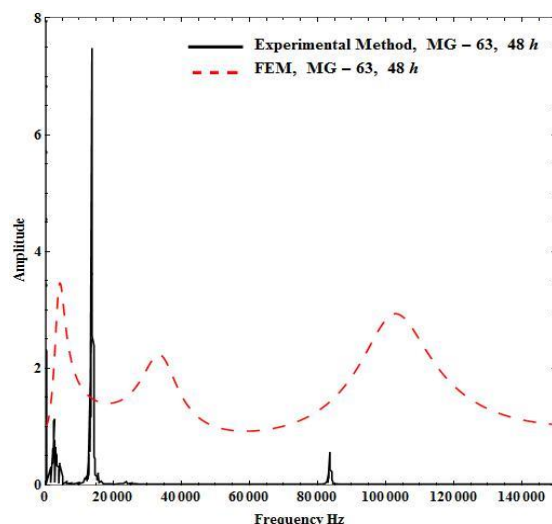
شکل ۲۰ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 به‌عنوان نمونه



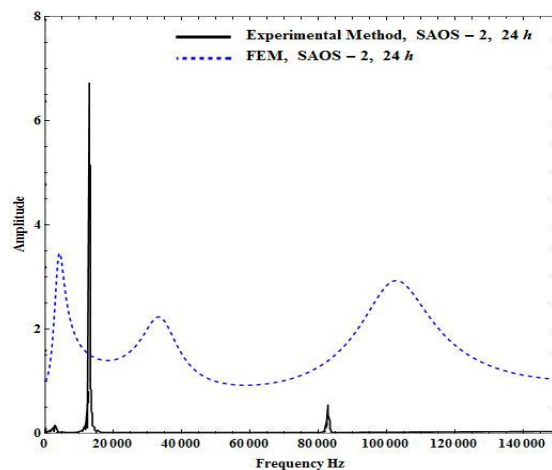
شکل ۲۱ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 به‌عنوان نمونه



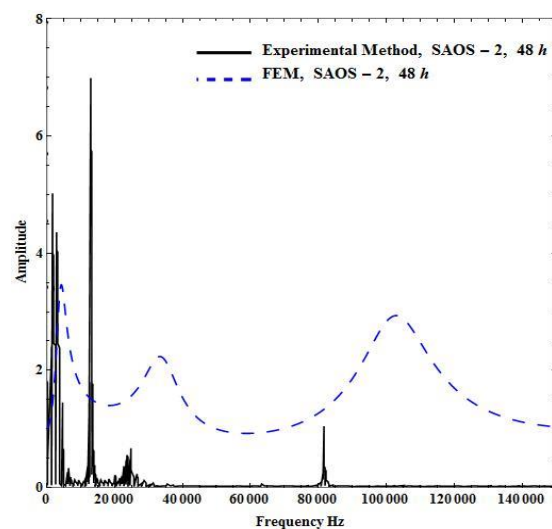
شکل ۲۲ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان شیمی‌درمانی با داروی ضدسرطان سیسپلاتین (دوره ۲۴ ساعته) به‌عنوان نمونه



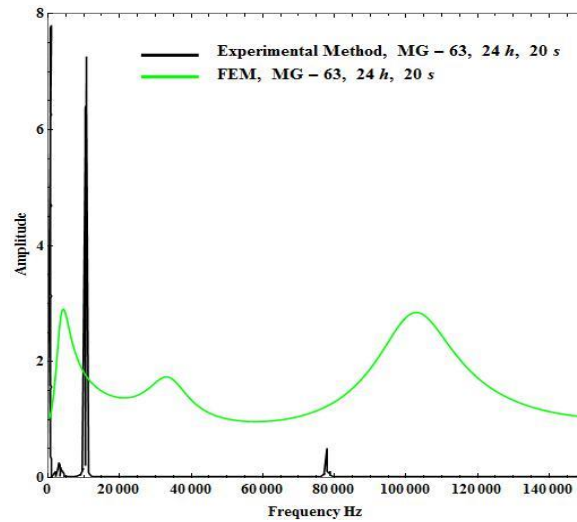
شکل ۲۳ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان شیمی درمانی با داروی ضدسرطان سیسپلاتین (دوره ۴۸ ساعته) به‌عنوان نمونه



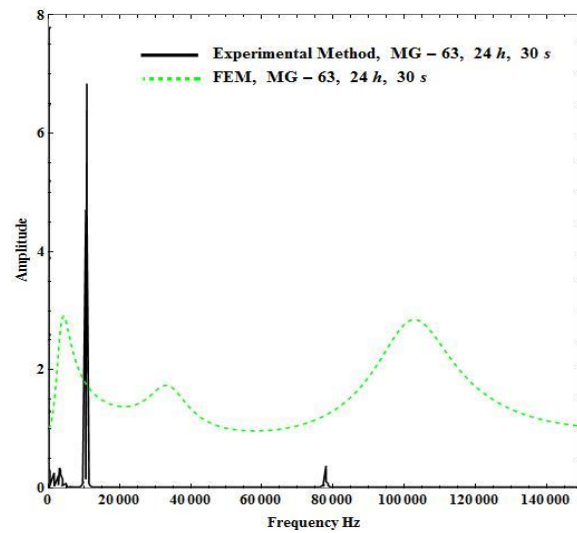
شکل ۲۴ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان شیمی درمانی با داروی ضدسرطان سیسپلاتین (دوره ۲۴ ساعته) به‌عنوان نمونه



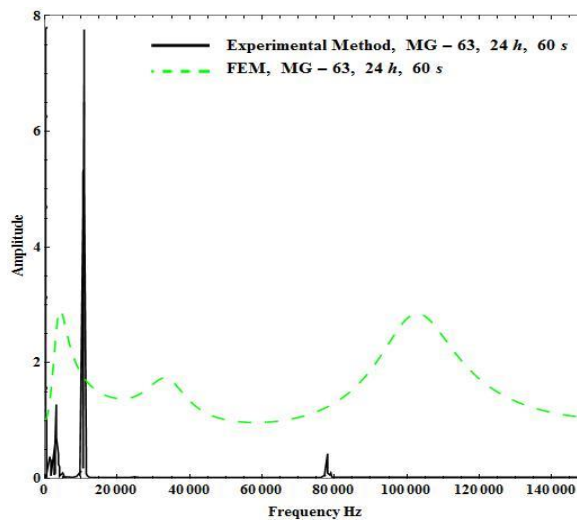
شکل ۲۵ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM با استفاده از روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان شیمی درمانی با داروی ضدسرطان سیسپلاتین (دوره ۴۸ ساعته) به‌عنوان نمونه



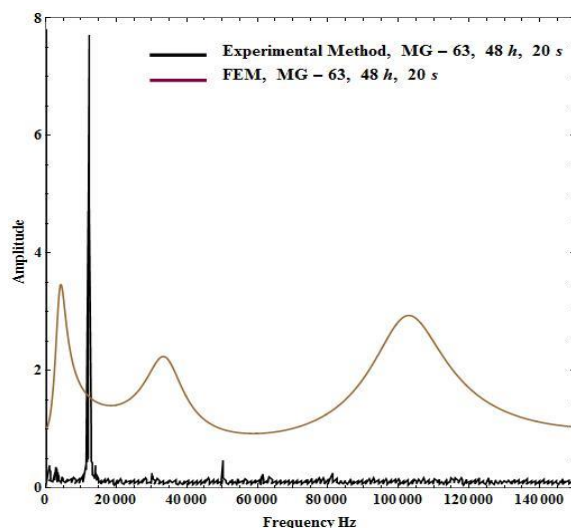
شکل ۲۶ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۲۰ ثانیه و ۲۴ ساعت) به‌عنوان مدل



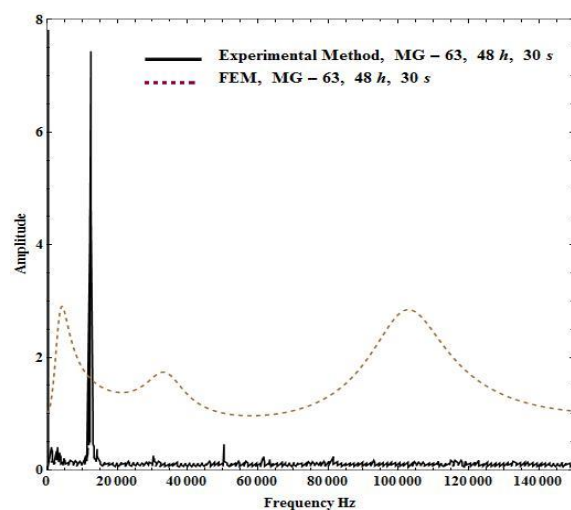
شکل ۲۷ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۳۰ ثانیه و ۲۴ ساعت) به‌عنوان مدل



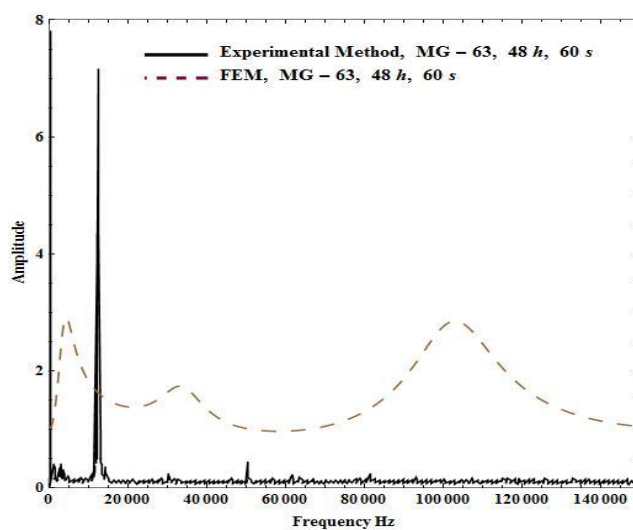
شکل ۲۸ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۶۰ ثانیه و ۲۴ ساعت) به‌عنوان مدل



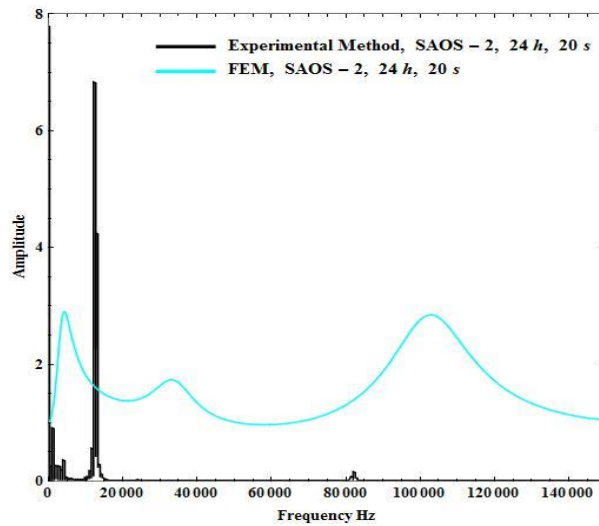
شکل ۲۹ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۲۰ ثانیه و ۴۸ ساعت) به‌عنوان مدل



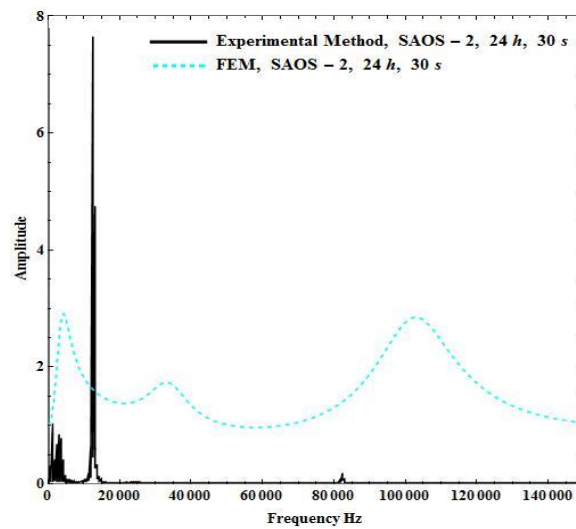
شکل ۳۰ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۳۰ ثانیه و ۴۸ ساعت) به‌عنوان مدل



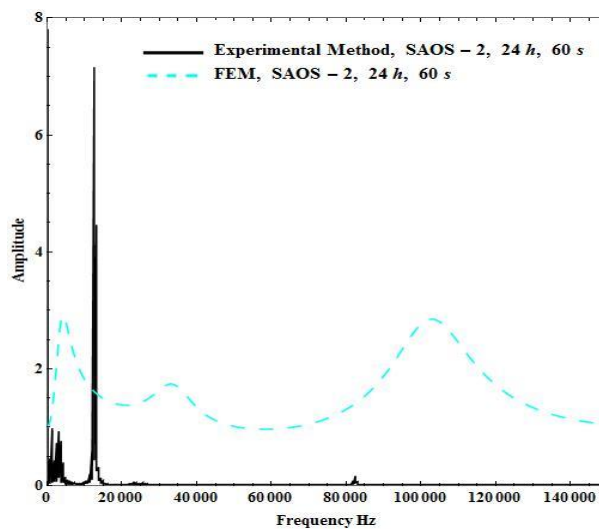
شکل ۳۱ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های MG-63 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۶۰ ثانیه و ۴۸ ساعت) به‌عنوان مدل



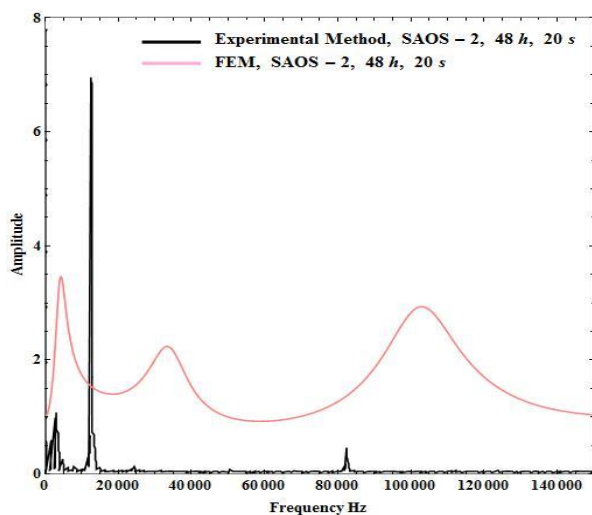
شکل ۳۲ مقایسه دامنه FRF حرکت عمودی کانتیلیور AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۲۰ ثانیه و ۲۴ ساعت) به‌عنوان مدل



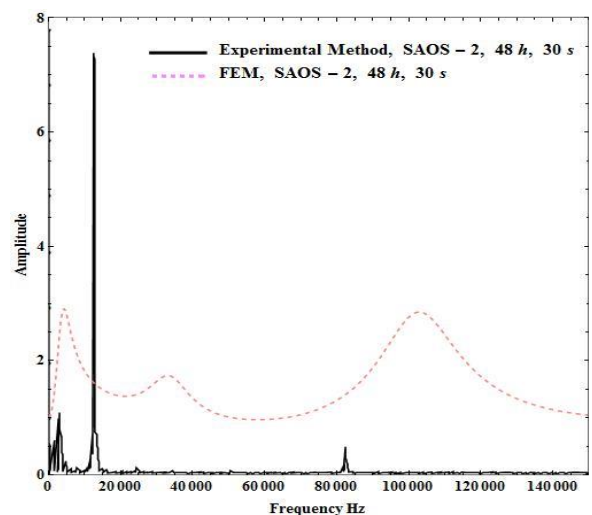
شکل ۳۳ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۳۰ ثانیه و ۲۴ ساعت) به‌عنوان نمونه



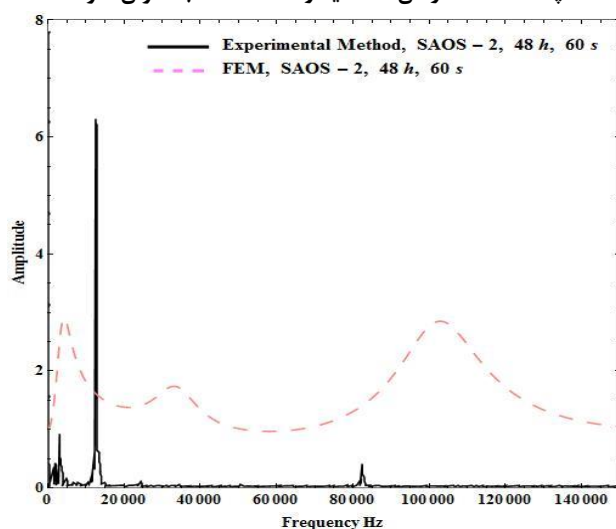
شکل ۳۴ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۶۰ ثانیه و ۲۴ ساعت) به‌عنوان نمونه



شکل ۳۵ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۲۰ ثانیه و ۴۸ ساعت) به‌عنوان نمونه



شکل ۳۶ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۳۰ ثانیه و ۴۸ ساعت) به‌عنوان نمونه



شکل ۳۷ مقایسه دامنه FRF جابجایی نرمال تیر AFM بین روش‌های FEM و تجربی، با در نظر گرفتن سلول‌های SAOS-2 پس از درمان پلاسما (مدت زمان ۶۰ ثانیه و ۴۸ ساعت) به‌عنوان نمونه

جدول ۵ فرکانس‌های رزونانسی تیر AFM با فرض سلول‌های استخوانی پیش و پس از درمان به‌عنوان نمونه و با استفاده از روش

FEM			
3 rd Resonant Frequency, Hz	2 nd Resonant Frequency, Hz	1 st Resonant Frequency, Hz	رده سلولی
102893.67	33104.22	4257.39	Mesenchymal Stem Cells (MSC)
102457.25	33000.14	4214.21	MG-63
102349.54	32901.25	4185.32	SAOS-2
102785.31	33059.37	4250.23	MG-63, CT, 24h
103654.53	33324.51	4385.27	MG-63, CT, 48h
102327.84	32987.59	4200.58	SAOS-2, CT, 24h
104127.26	33395.33	4403.69	SAOS-2, CT, 48h
104000.12	33312.63	4389.21	MG-63, PT, 24h, 20s
103385.29	33185.34	4324.65	MG-63, PT, 24h, 30s
103102.15	32901.54	4251.23	MG-63, PT, 24h, 60s
104875.37	33501.65	4601.84	MG-63, PT, 48h, 20s
105211.68	33704.35	4687.65	MG-63, PT, 48h, 30s
106654.12	34158.64	4910.65	MG-63, PT, 48h, 60s

جدول ۶ فرکانس‌های رزونانسی تیر AFM با فرض سلول‌های استخوانی پیش و پس از درمان به‌عنوان نمونه و با استفاده از روش

تجربی با روش AFM			
3 rd Resonant Frequency, Hz	2 nd Resonant Frequency, Hz	1 st Resonant Frequency, Hz	رده سلولی
97845	30351	3833	Mesenchymal Stem Cells (MSC)
100422	25660	4118	MG-63
101152	25187	4083	SAOS-2
100054	29258	4421	MG-63, CT, 24h
97458	28601	4350	MG-63, CT, 48h
85587	27215	4066	SAOS-2, CT, 24h
98010	28850	4388	SAOS-2, CT, 48h
97483	28612	4355	MG-63, PT, 24h, 20s
97424	28564	4314	MG-63, PT, 24h, 30s
100099	29267	4428	MG-63, PT, 24h, 60s
98360	29241	4593	MG-63, PT, 48h, 20s
99314	29295	4655	MG-63, PT, 48h, 30s
106870	30158	4890	MG-63, PT, 48h, 60s

جدول ۷ مقایسه فرکانس‌های رزونانسی تیر AFM با فرض سلول‌های استخوانی پیش و پس از درمان به‌عنوان نمونه، بین روش‌های

FEM و تجربی با استفاده از AFM			
3 rd Resonant Frequency, Hz	2 nd Resonant Frequency, Hz	1 st Resonant Frequency, Hz	رده سلولی
4.91%	8.32%	9.96%	Mesenchymal Stem Cells (MSC)
1.98%	22.24%	2.29%	MG-63
1.17%	23.44%	2.44%	SAOS-2
2.66%	11.49%	3.68%	MG-63, CT, 24h
5.98%	14.17%	0.8%	MG-63, CT, 48h
16.36%	17.49%	3.2%	SAOS-2, CT, 24h
5.87%	13.61%	0.36%	SAOS-2, CT, 48h
6.26%	14.11%	0.78%	MG-63, PT, 24h, 20s
5.76%	13.92%	0.24%	MG-63, PT, 24h, 30s
2.91%	11.05%	3.99%	MG-63, PT, 24h, 60s
6.21%	12.71%	0.19%	MG-63, PT, 48h, 20s
5.60%	13.08%	0.69%	MG-63, PT, 48h, 30s
0.2%	11.71%	0.42%	MG-63, PT, 48h, 60s

۵- نتیجه‌گیری

در این تحقیق، رفتار مکانیکی سلول‌های استخوان انسان، شامل سلول‌های MSC (سالم) و MG-63 و SAOS-2 (سرطانی)

Authorship Contribution Statement

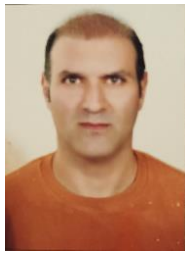
Mohammad Reza Amin Far



Biography: Ms.C Graduated in biomechanical engineering, Department of Mechanical Engineering, Damavand branch, Islamic Azad University, Damavand, Tehran, Iran.

Contribution Statement: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Software, Visualization.

Dr. Ali Sadeghi



Biography: Associate professor in mechanical engineering, Department of Mechanical Engineering, Damavand branch, Islamic Azad University, Damavand, Tehran, Iran.

Contribution Statement: Conceptualization, Resources, Supervision, Project administration, Investigation

Dr. Mansoureh Lafouti



Biography: Assistant professor in physics, Department of Mechanical Engineering, Damavand branch, Islamic Azad University, Damavand, Tehran, Iran.

Contribution Statement: Methodology, Validation, Formal analysis, review & editing.

۷- مراجع

- [1] Anand P, et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical research*. 2008;25:2097-2116.
- [2] Dorak M. T, and Karpuzoglu E. Gender differences in cancer susceptibility: an inadequately addressed issue. *Frontiers in genetics*. 2012;3:268.
- [3] Lorenc E, et al. Correlation between biological and mechanical properties of extracellular matrix from colorectal peritoneal metastases in human tissues. *Scientific Reports*. 2023;13:12175.
- [4] Zou W, et al. Biomechanical properties of metastatic breast cancer cells in high glucose and hyperosmolarity environment. *Applied Physics Letters*. 2023;122:113703.
- [5] Najera J, R. Rosenberger M, and Datta M. Atomic Force Microscopy Methods to Measure Tumor Mechanical Properties. *Cancers*. 2023;15:3285.
- [6] Kerdegari S, et al. Insights in cell biomechanics through atomic force microscopy. *Materials*. 2023;16:2980.
- [7] Pérez-Domínguez S, et al. Reliable, standardized measurements for cell mechanical properties. *Nanoscale*. 2023;15:16371-16380.
- [8] Trache A, and Meininger G A. Atomic force microscopy (AFM). *Current protocols in microbiology*. 2008; 8: 2C-2.

- [9] Moreno-Herrero F., et al. Atomic force microscopy contact, tapping, and jumping modes for imaging biological samples in liquids. *Physical Review E*. 2004;69: 031915.
- [10] Yang Ch -W, et al. Imaging of soft matter with tapping-mode atomic force microscopy and non-contact-mode atomic force microscopy. *Nanotechnology*. 2007;18:084009.
- [11] Eslami S, and Jalili N. A comprehensive modeling and vibration analysis of AFM microcantilevers subjected to nonlinear tip-sample interaction forces. *Ultramicroscopy*. 2012;117:31-45.
- [12] Payam A F. Sensitivity of flexural vibration mode of the rectangular atomic force microscope micro cantilevers in liquid to the surface stiffness variations. *Ultramicroscopy*. 2013;135:84-88.
- [13] Rezaei I, and Sadeghi A. Vibrational behavior of atomic force microscope beam via different polymers and immersion environments. *The European Physical Journal Plus*. 2021;137:72.
- [14] Shao M, et al. Effects of Time- Varying Fluid on Dynamical Characteristics of Cantilever Beams: Numerical Simulations and Experimental Measurements. *Mathematical Problems in Engineering*. 2020; 2020:6679443.
- [15] Najera J, R. Rosenberger M, and Datta M. Atomic Force Microscopy Methods to Measure Tumor Mechanical Properties. *Cancers*. 2023;15:3285.
- [16] Jafari A, Sadeghi A, and Lafouti M. Mechanical properties of human kidney cells and their effects on the atomic force microscope beam vibrations. *Microscopy Research and Technique*. 2024.
- [17] Maleki Zadeh N, Sadeghi A, and Lafouti M. Mechanical Properties of Mouse Lung Cells and Their Effects on the Atomic Force Microscope Beam Vibrations. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2024: 1-21.
- [18] Kaur R, Bhardwaj A, and Gupta S. Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers. *Molecular biology reports*. 2023;50:9663-9676.
- [19] Anand U, et al. Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes & Diseases*. 2023;10:1367-1401.
- [20] Chupradit S, et al. Recent advances in cold atmospheric plasma (CAP) for breast cancer therapy. *Cell Biology International*. 2023;47:327-340.
- [21] Dai X, and Zhu K. Cold atmospheric plasma: Novel opportunities for tumor microenvironment targeting. *Cancer Medicine*. 2023;12:7189-7206.
- [22] Koga-Ito C Y, et al. Cold atmospheric plasma as a therapeutic tool in medicine and dentistry. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2024;44:1393-1429.
- [23] Rauf A, et al. Reactive oxygen species in biological systems: Pathways, associated diseases, and potential inhibitors—A review. *Food Science & Nutrition*. 2024;12:675-693.
- [24] Glorieux Ch, et al. Targeting ROS in cancer: rationale and strategies. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2024: 1-24.
- [25] Toyokuni Sh. The origin and future of oxidative stress pathology: from the recognition of carcinogenesis as an iron addiction with ferroptosis resistance to non-thermal plasma therapy. *Pathology international*. 66;2016: 245-259.
- [26] Billiau, A., Edy, V. G., Heremans, H., Van Damme, J., Desmyter, J., Georgiades, J. A. and De Somer, P., Human Interferon: Mass Production in a Newly Established Cell Line, MG-63, *J. Antimicrob Agents Chemother*, 1977;12:11-15.

- [27] Foogh, J., Wright, W. C. and Loveless, J. D., Absence of HeLa cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors, *J. National Cancer Institute*. 1977;58: 209-14.
- [28] Akan T, and Durmuş Ç. A surface dielectric barrier discharge reactor for biological treatments. *Journal of Electrostatics*. 2023;126:103863.
- [29] Lin A, et al. Characterization of non-thermal dielectric barrier discharges for plasma medicine: from plastic well plates to skin surfaces. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2023;43:1587-1612.
- [30] Anghel, S. D., A. Simon, and T. Frentiu. Spectroscopic investigations on a low power atmospheric pressure capacitively coupled helium plasma. *Plasma Sources Science and Technology*. 2008;17:045016.
- [31] Weltmann, K-D, et al. Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (APPJs). *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2008;41:194008.
- [32] Hink, R., Pipa, A. V., Schäfer, J., Caspari, R., Weichwald, R., Foest, R., & Brandenburg, R. Influence of dielectric thickness and electrode structure on the ion wind generation by micro fabricated plasma actuators. *Journal of Applied Physics*. 2020;40: 405201.
- [33] Timoshenko S P, Goodier J N, *Theory of Elasticity*; McGraw- Hill, New York, 1951.
- [34] Derjaguin, B.V., Muller, V.M., Toporov Y.P. Adhesion of Spheres: Effect of Contact Deformations on the Adhesion of Particles, *Journal of Colloid and Interface Science*. 1975;53:314-326.
- [35] Turner, J.A. Non-linear Vibrations of a Beam with Cantilever- Hertzian Contact Boundary Conditions, *Journal of Sound and Vibration*. 2004;2751:177-191.
- [36] Reddy, J.N. *An Introduction to the Finite Element Method*; McGraw-Hill, New York, 2005.
- [37] Korayem, A. H., Alipour, A., Younesian, D., Vibration suppression of atomic-force microscopy cantilevers covered by a piezoelectric layer with tensile force, *J. Mech. Sci. Technol*. 2018;32:4135–4144.
- [38] Lin, Y. H. Vibration analysis of Timoshenko beams traversed by moving loads, *Journal of Marine Science and Technology*, 1994;2: 25-35.
- [39] Almeida, N. D., Klein, A. L., Hogan, E. A., Terhaar, S. J., Kedda, J., Uppal, P., and Sherman, J. H. Cold atmospheric plasma as an adjunct to immunotherapy for glioblastoma multiforme. *World Neurosurgery J*. 2019; 130: 369-376.
- [40] Shimizu, Y., Kihara, T., Haghparast, S. M. A., Yuba, S. and Miyake, J., Simple Display System of Mechanical Properties of Cells and Their Dispersion, *PLOS ONE J*. 2012; 7: e34305.