



Theoretical and Experimental Simulation of Young Modulus Extraction of Breast MCF-10 Cells Using Atomic Force Microscope

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Taheri M.^{1*},
Mirzalou M.¹

How to cite this article

S..... Theoretical and Experimental Simulation of Young Modulus Extraction of Breast MCF-10 Cells Using Atomic Force Microscope. Modares Mechanical Engineering, 2022;22(01):37-45.

¹Department of Mechanical Engineering, Arak University, Arak, Iran.

*Correspondence

Address: Department of Mechanical Engineering, Arak University, Arak, Iran.
m-taheri@araku.ac.ir

Article History

Received: April 12, 2021
Accepted: August 06, 2021
ePublished: November 14, 2022

ABSTRACT

Mutations in DNA and the development of mutated genes that are inherited or acquired during a person's lifetime can cause cancer. This type of disease causes the loss of normal control of cell growth and proliferation. Breast cancer, with its prevalence in both men and women and the higher incidence of women in the female population, is one of the most important cancers in the medical community. Appearance changes in the breast, the presence of a lump, and discharge and bleeding from the nipple are signs of breast cancer. Targeted treatment of this disease reduces the complications of treatment methods. Also, recognizing the mechanical properties of the cell, such as Young's modulus, and examining the changes caused by cancer in these properties will make treatment more efficient and help the pharmaceutical sciences. For this purpose, in this paper, the MCF-10 breast cell has been studied using atomic force microscopy and the nanomanipulation method. Atomic force microscope is one of the efficient tools in the structural studies of biological particles with the possibility of producing images of soft tissues under different environmental conditions and in a non-destructive manner. Chung, Chen, and brake contact are the models used in the simulation. Finally, with the simulations performed, the Young modulus of 1200 Pa is considered for this cell. Also, considering the comparisons made with experimental work, the Chen contact model has been introduced as the optimal model for extracting cellular properties.

Keywords Young modulus, MCF-10 Cell, Atomic Force microscopy, Vontact Models, Breast Cancer.

CITATION LINKS

[1] Single-cell mechanical properties: label-free biomarkers for cell status evaluation. [2] Application of atomic force microscopy in cancer research. [3] Matrix and cellular mechanical properties are the driving factors for facilitating human cancer cell motility into 3D engineered matrices. [4] Optical deformability as an inherent cell marker for testing malignant transformation and metastatic competence. [5] Dielectrophoretic stretching of cells allows for characterization of their mechanical properties. [6] Evaluation of cancer cell deformability by microcavity array. [7] Modeling and simulation of three-dimensional manipulation of viscoelastic folded biological particles considering the nonlinear model of the cell by AFM. [8] Local-dependency of morphological and optical properties between breast cancer cell lines. [9] Design and Preparation of Photoluminescent Nanoparticles based on Chimeric Peptides-Graphene Quantum Dots for Nuclear Drug Delivery and Tracking. [10] Simulation of soft bacteria contact to be applied in nanomanipulation. [11] Design and expression of recombinant HER-2 antigen as a marker for detection of breast cancer. [12] Numerical modeling of breast cancer diagnosis with microwave thermo-acoustic imaging. [13] Atomic force microscopy-based microrheology reveals significant differences in the viscoelastic response between malign and benign cell lines. [14] An elastic-plastic model for the contact of rough surfaces. [15] Bacterial cell surface deformation under external loading. [16] An analytical elastic-perfectly plastic contact model. [17] Sensitivity analysis of nanoparticles pushing critical conditions in 2-D controlled nanomanipulation based on AFM. [18] Quantitative analysis of the cell-surface roughness and viscoelasticity for breast cancer cells discrimination using atomic force microscopy. [19] Experimental Characterization of MCF-10A Normal Cells Using AFM: Comparison with MCF-7 Cancer Cells.

شبیه‌سازی تئوری و تجربی استخراج مدول یانگ سلول MCF-10 سینه با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی

معین طاهری*

گروه مهندسی مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی اراک، دانشگاه اراک، اراک، ایران

مهدی میرزالی

گروه مهندسی مکانیک، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه اراک، اراک، ایران

چکیده

جهش در دی‌ان‌ای و ایجاد ژن‌های جهش‌یافته که به صورت ارثی یا اکتسابی که در طی زندگی فرد اتفاق می‌افتد، سبب بروز سرطان می‌شود. این نوع بیماری سبب از بین رفتن کنترل طبیعی رشد و تکثیر سلول می‌گردد. سرطان سینه با همه‌گیری در زنان و مردان و آمار مبتلایان بیشتر در جامعه زنان از جمله سرطان‌های مورد توجه در جامعه پزشکی می‌باشد. تغییرات ظاهری در سینه، وجود توده و ترشح و خونریزی از نوک سینه از نشانه‌های بروز سرطان سینه می‌باشد. درمان هدفمند این بیماری سبب کاهش عوارض ناشی از روش‌های درمان می‌گردد. همچنین شناخت ویژگی‌های مکانیکی سلول همچون مدول یانگ، و بررسی تغییرات ناشی از سرطان در این ویژگی‌ها سبب کارآمد شدن درمان و کمک به علوم دارویی خواهد شد. بدین منظور در این مقاله، سلول MCF-10 سینه با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی و با روش نانومنیپولیشن مورد مطالعه قرار گرفته است. میکروسکوپ نیروی اتمی با امکان تهیه تصاویر از بافت‌های نرم تحت شرایط محیطی متفاوت و با روشی غیر مخرب از ابزارهای کارآمد در مطالعات ساختاری ذرات بیولوژیکی محسوب می‌شود. مدل‌های تماسی chen, chung و brake از مدل‌های مورد استفاده در شبیه‌سازی انجام شده می‌باشند. در نهایت با شبیه‌سازی‌های صورت گرفته مدول یانگ ۱۲۰۰ پاسکال برای این سلول در نظر گرفته شده است. همچنین با در نظر گرفتن مقایسه‌های صورت گرفته با کار تجربی، مدل تماسی chen به عنوان مدل مطلوب برای استخراج خواص سلولی معرفی شده است.

کلیدواژه‌ها: مدول یانگ، سلول MCF-10، میکروسکوپ نیروی اتمی، مدل‌های تماسی، سرطان سینه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۵

*نویسنده مسئول: m-taheri@araku.ac.ir

۱- مقدمه

رشد غیرقابل کنترل سلول‌ها، عدم میرایی در طی چرخه طبیعی و محرومیت‌های سلول‌های مجاور تومور از مواد مغذی و انرژی، از علل پرخطر بودن بیماری سرطان نسبت به سایرین می‌باشد. سرطان سینه، بعد از سرطان ریه، بیش‌ترین آمار مرگ و میر انسانی را دربر می‌گیرد. گسترش این نوع سرطان از مجاری شیر و لوبول‌ها صورت می‌پذیرد. به منظور درمان و کنترل گسترش این بیماری، شناخت کامل سلول سالم و سرطانی از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. درک ارتباط بین سلول و ویژگی‌های مکانیکی سبب درمان کم‌خطرتر این بیماری می‌گردد. در علوم نوین، اندازه‌گیری

ویژگی‌های سلول با روش‌ها و ابزار گوناگون صورت می‌پذیرد. با در نظر گرفتن ذرات بیولوژیکی در حوزه نانو، نانومنیپولیشن ذرات با کمک میکروسکوپ نیروی اتمی می‌تواند از جمله روش‌های مؤثر در رسیدن به ساختار و ویژگی‌های سلول عمل کند.

چن و همکارانش^[1] به بررسی روش‌های کاملاً اثبات شده‌ای برای اندازه‌گیری خصوصیات مکانیکی سلول‌های منفرد، از جمله میکروسکوپ نیروی اتمی پرداخته‌اند. همچنین مزایا و محدودیت‌های هر تکنیک، مقایسه شده و فرصت‌های تحقیق در آینده را بررسی کرده‌اند. دنگ و همکارانش^[2] اصول کار و نکات فنی میکروسکوپ نیروی اتمی را در توصیف روند تحقیقات سرطان مرور کرده‌اند. همچنین توانایی جمع‌آوری اطلاعات توسط میکروسکوپ نیروی اتمی را در یک محیط فیزیولوژیکی مورد بحث قرار داده‌اند. فیسچر و همکارانش^[3] به بررسی ماتریس سلولی در سلول سرطانی و سالم سینه و رابطه آن با شکل‌گیری تومور و تغییرات ناشی از آن پرداخته‌اند. گاک و همکارانش^[4] در مورد رابطه بین اسکلت سلولی و خواص مکانیکی سلول در حالت طبیعی و در هنگام بروز سرطان پرداخته‌اند و به تغییرهای ناشی در اسکلت سلولی در هنگام بروز سرطان اشاره کرده‌اند. گایدو و همکارانش^[5] به بررسی رفتار سلول‌های سرطانی سینه MCF-7 و غیرسرطانی MCF-10 در هنگام کشش پرداخته و نتایج حاصل از تفاوت در خواص مکانیکی آن‌ها را مورد تحلیل قرار داده‌اند. یوشینو و همکارانش^[6] به ارائه سیستمی برای تجزیه و تحلیل تغییر شکل‌پذیری سلول‌های سرطانی پرداخته‌اند تا بتوانند، بینشی در مورد مکانیسم‌های بدخیمی سلول‌های توموری ایجاد کنند. کورایم و همکارانش^[7] عملکرد خزش ذرات بیولوژیکی را با استفاده از مدل‌های تماسی غیر خطی استخراج کرده‌اند. مدل‌سازی‌ها در فاز اول و تحت شرایط تماسی مدل تماسی جی‌کی‌آر و برای ذره استوانه‌ای شکل طراحی شده است. لی و همکارانش^[8] به منظور یافتن غلظت ترکیبات سلول‌های سرطانی و سالم سینه از روش‌های مختلفی همچون طیف سنجی رامان، میکروسکوپ نیروی اتمی و میکروسکوپ نوری استفاده کرده‌اند. موسس غفاری و همکارانش^[9] درباره محدودیت بیماری‌هایی همچون سرطان که دارای نقص ژنتیکی هستند که شامل انتقال ناکارآمد مولکو‌های دارویی و عدم توانایی آشکار نمودن و ردیابی داروی انتقال‌یافته به جایگاه هدف می‌شود، به تحقیق پرداخته‌اند. کورایم و همکارانش^[10] تماس الاستیک نانوباکتری‌ها را با دو مدل تماسی چانگ، چن و هرتز شبیه‌سازی کرده‌اند و نتایج آزمایشگاهی را با نتایج تئوری مقایسه کرده‌اند. همچنین به بررسی شعاع تماسی در مدل‌های تماسی الاستیک-پلاستیک و الاستیک پرداخته‌اند. کاظمی و همکارانش^[11] با توجه به شیوع بالای سرطان سینه به تحقیق درباره تولید پروتئین نوترکیب HER-2 برای تشخیص زودرس سلول‌های سرطانی پستان پرداخته‌اند. سلطانی و همکارانش^[12] تغییرات دمایی و فشاری ناشی از اعمال امواج

تماس الاستو-پلاستیک استفاده می‌شود. در این قسمت به معرفی تئوری‌های مورد استفاده در این تحقیق پرداخته شده است.

۳-۱-۱- مدل تماسی چانگ

چانگ و همکارانش مدل تماسی چند مرحله‌ای را به منظور شبیه‌سازی تماس با در نظر گرفتن عمق نفوذ بالا ارائه داده‌اند [14]. پارامتر عمق نفوذ بحرانی در رابطه‌ی شماره (۱) آورده شده است.

$$\delta_c = (\pi M h / 2 E^*)^2 R \quad (1)$$

که در این معادله، h سختی کره وابسته به تنش تسلیم، M ضریب سختی و وابسته به ضریب پواسون است و E^* همان مدول الاستیسیته کاهش یافته در تئوری هرترز می‌باشد.

الف) مرحله الاستیک

با توجه به تطابق تئوری چانگ با تئوری هرترز در این مرحله، رابطه نیرو بر حسب عمق نفوذ و همچنین رابطه‌ی سطح تماس بر حسب عمق نفوذ در روابط (۲) و (۳) بیان شده‌اند. پارامترهای مورد استفاده در معادلات (۲) و (۳) به صورت، δ مقدار عمق نفوذ، P مقدار نیروی الاستیک، A سطح تماس الاستیک، δ_c مقدار عمق نفوذ بحرانی و متناسب با بار بحرانی (P_c) ، A_c سطح تماس بحرانی و $K = \frac{4}{3} E^*$ در نظر گرفته شده‌اند.

$$\frac{\delta}{\delta_c} < 1 \quad \text{محدوده‌ی الاستیک} \quad (2)$$

$$P = KR^{0.5} \delta^{0.5} = P_c \left(\frac{\delta}{\delta_c}\right)^{1.5} \quad (2)$$

$$A = \pi \delta R = A_c \left(\frac{\delta}{\delta_c}\right)^{1.5} \quad (3)$$

ب) مرحله شروع تغییر پلاستیک

مرحله تغییر شکل پلاستیک با رسیدن به عمق نفوذ بحرانی آغاز می‌گردد.

$$\frac{\delta}{\delta_c} = 1 \quad \text{مرحله‌ی شروع تغییر شکل پلاستیک}$$

ج) مرحله‌ی الاستیک - پلاستیک کامل

با در نظر گرفتن میزان نسبت عمق نفوذ به عمق نفوذ بحرانی، روابط (۴) و (۵) به بررسی روابط بین نیرو و عمق نفوذ می‌پردازند. همچنین روابط (۶) و (۷) نیز رابطه بین سطح تماس عمق نفوذ را نمایش می‌دهند.

$$\frac{P}{P_c} = 1.03 \left(\frac{\delta}{\delta_c}\right)^{1.425}, \quad 1 < \frac{\delta}{\delta_c} < 6 \quad (4)$$

$$\frac{P}{P_c} = 1.4 \left(\frac{\delta}{\delta_c}\right)^{1.236}, \quad 6 < \frac{\delta}{\delta_c} < 110 \quad (5)$$

$$\frac{A}{A_c} = 0.93 \left(\frac{\delta}{\delta_c}\right)^{1.136}, \quad 1 < \frac{\delta}{\delta_c} < 6 \quad (6)$$

$$\frac{A}{A_c} = 0.94 \left(\frac{\delta}{\delta_c}\right)^{1.146}, \quad 6 < \frac{\delta}{\delta_c} < 110 \quad (7)$$

۳-۱-۲- مدل تماسی چن

چن و همکارانش به شبیه‌سازی مواد نرم با در نظر گرفتن یک استوانه در ناحیه تماس پرداخته‌اند [15]. رابطه (۸) نیروی تماسی (P) را بر حسب طول استوانه (L) و عمق نفوذ (δ) نمایش می‌دهد.

ماکروویو را بر روی سلول سینه حاوی تومور را مورد بررسی قرار داده‌اند. رادر و همکارانش [13] با استفاده از آزمایش‌های میکروتئولوژی مبتنی بر میکروسکوپ نیروی اتمی، به استخراج ویژگی‌های مکانیکی رده‌های سلولی پستان انسان با پتانسیل متاستاتیک متفاوت پرداخته‌اند.

با توجه به مطالعات پیشین صورت گرفته، مشخص می‌گردد که روش‌های مختلفی برای محاسبه مدول یانگ سلول‌ها و بافت‌های مختلف زیستی مورد استفاده قرار گرفته است، که یکی از مهم‌ترین آن‌ها استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی است. در این مقاله برای نخستین بار به عنوان یک نوآوری مهم به استخراج تجربی مدول یانگ سلول سینه MCF-10 با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی توسط مدل‌های الاستوپلاستیک شامل سه مدل chung, chen و brake پرداخته شده است. ترسیم نمودارهای شبیه‌سازی شده در نرم‌افزار متلب انجام شده است. جهت انجام کار تجربی یک بافت سلولی در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفته است و با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی در مکان‌های مختلف، پنج بار تست مورد نظر انجام شده است. همچنین تصاویر سلول‌ها، توپوگرافی سلول و کار تجربی با استفاده از نرم افزار DME-SPM انجام شده است.

۲- شرح مسئله

در این مقاله به منظور شناخت تفاوت‌های سلول سالم سینه با سلول سرطانی، به استخراج خواص سلول سینه MCF-10 با بهره‌گیری از روش نانومنیپولیشن مبتنی بر میکروسکوپ نیروی اتمی پرداخته شده است. شبیه‌سازی‌های تئوری با در نظر گرفتن مدل‌های تماسی chung, chen و brake صورت پذیرفته است. استخراج مدول یانگ سلول سینه نیز با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی پس از تهیه بافت سلولی انجام گرفته است. همچنین شبیه‌سازی‌های فاز اول نانومنیپولیشن در جهت یافتن نیرو و زمان بحرانی با در نظر گرفتن سه مدل تماسی ذکر شده صورت گرفته است. در این پژوهش برای بار نخست، خواص بافت سلولی سینه MCF-10 با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی و با در نظر گرفتن سه مدل تماسی الاستیک - پلاستیک متفاوت استخراج شده است.

۳- روش حل

در این بخش ابتدا به مدل‌سازی تماس سلول سینه و سپس فاز اول نانومنیپولیشن پرداخته شده است. در نهایت نیز به ارائه روند کار تجربی انجام شده، اشاره شده است.

۳-۱-۱- مدل تماسی

با توجه به قرارگیری ذرات زیستی در گروه ذرات نرم، برای بررسی تماس این ذرات طوری که به واقعیت نزدیک‌تر باشد، از تئوری‌های

اتمی می‌باشد. با تماس سوزن میکروسکوپ نیروی اتمی در مدهای تماسی گوناگون فرآیند منیبولیشن آغاز می‌گردد. فرآیند مورد نظر در دوفاز انجام گرفته و هر فاز هدف خاصی را دنبال می‌کند. فاز اول با هدف یافتن نیرو و زمان بحرانی قبل از شروع حرکت صورت می‌پذیرد. با شروع حرکت تمامی عواملی که رسیدن ذره به هدف را تحت تأثیر قرار می‌دهند، مورد بررسی قرار می‌گیرند. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با کاوش سطح مورد نظر و به منظور دریافت اطلاعات، نور لیزر به تیرک میکروسکوپ نیروی اتمی تابیده و توسط نور بازتاب شده به فتودیود به سیگنال‌های قابل فهم برای کامپیوتر تبدیل می‌شوند.

به منظور درک معادلات حاکم بر فاز اول، روابط زیر آورده شده‌اند. نیروهای وارد بر انتهای تیرک در راستاهای عمودی و افقی از روابط (۱۶) و (۱۷) و گشتاور وارد بر انتهای تیرک از رابطه (۱۸) به دست می‌آیند.

$$F_y = K_y y_p \quad (16)$$

$$F_z = K_z z_p \quad (17)$$

$$M_\theta = K_\theta \theta \quad (18)$$

در این معادلات F_y نیروی جانبی تیرک، F_z نیروی عمودی تیرک، M_θ گشتاور تیرک، K_y ضریب سختی جانبی تیرک، K_z ضریب سختی عمودی تیرک، K_θ ضریب سختی پیچشی تیرک، y_p موقعیت عرضی ذره، z_p موقعیت عمودی ذره و θ زاویه ذره می‌باشد. به منظور یافتن معادلات سینماتیکی تغییر شکل تیرک از روابط (۱۹) و (۲۰) استفاده شده است.

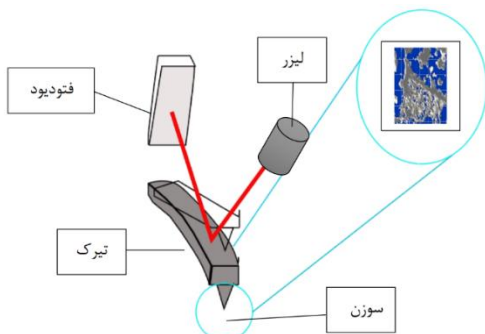
$$y_p = y_{sub} + (R_p - \delta_t) \sin \phi - H \sin \theta \quad (19)$$

$$z_p = y_{sub} + (R_p - \delta_t) \cos \phi + (R_p - \delta_s) - H \cos \theta \quad (20)$$

در این معادلات نیز، y_{sub} موقعیت عرضی صفحه‌ی مبنا، H موقعیت عمودی صفحه‌ی مبنا، R_p شعاع ذره، δ_t عمق نفوذ و H ارتفاع سوزن می‌باشند. همچنین معادلات دینامیکی در جهت y و z به علاوه گشتاور جانبی از معادلات تعادل در روابط (۲۱) و (۲۲) به دست می‌آیند.

$$\sum F_y = m \bar{a}_y = m \frac{\ddot{y}_T + \ddot{y}_P}{2} \quad (21)$$

$$\sum F_z = m \bar{a}_z = m \frac{\ddot{z}_T + \ddot{z}_P}{2} \quad (22)$$



شکل ۱) شماتیکی از میکروسکوپ نیروی اتمی

$$P = \pi R K \frac{L \delta}{L - \delta} \quad (8)$$

۳-۱-۳- مدل تماسی بریک

بریک با در نظر گرفتن سه ناحیه در فرمولاسیون جدید خود به ارائه تئوری جدیدی پرداخته است [16].

الف) مرحله‌ی الاستیک

با در نظر گرفتن تئوری کلاسیک هرتز، رابطه (۹) و (۱۰) نشان‌دهنده شعاع تماسی الاستیک و نیرو در ناحیه الاستیک می‌باشند.

$$a_y = \sqrt{R \delta_y} \quad (9)$$

$$F_y = \left(\frac{4E^*}{3}\right) \sqrt{R} \delta_y^{1.5} \quad (10)$$

در رابطه‌ی (۹)، a_y شعاع تماس ناحیه الاستیک، δ_y عمق نفوذ ناحیه الاستیک و در رابطه (۱۰)، F_y نیروی موجود در ناحیه الاستیک، E^* مدول الاستیسیته کاهش‌یافته و R شعاع معادل تعریف شده‌اند.

ب) ناحیه‌ی پلاستیک کامل

با در نظر گرفتن فرض‌های ثابت بودن فشار p_0 در تمام ناحیه و معادله‌ی خطی بین نیرو و جابه‌جایی، روابط (۱۱)، (۱۲) و (۱۳) برای محاسبه شعاع تماس (a_p)، نیرو (F_p) و عمق نفوذ (δ_p) در این ناحیه استفاده می‌شوند.

$$a_p = \frac{3\pi R p_0}{4E^*} \quad (11)$$

$$F_p = p_0 \pi a_p^2 \quad (12)$$

$$\delta_p = \left(\frac{p_0}{\sigma_y}\right)^2 \delta_y \quad (13)$$

روابط (۱۴) و (۱۵) نشان‌دهنده‌ی نیرو و شعاع تماس بر حسب عمق نفوذ در این ناحیه می‌باشند. F_y نیرو در ناحیه‌ی الاستیک و F_p نیرو در ناحیه پلاستیک می‌باشند.

$$F = (2F_y + 2F_p + (\delta_p - \delta_y)(F_y + F_p)) \left(\frac{\delta - \delta_y}{\delta_p - \delta_y}\right)^3 + (-3F_y + 3F_p + (\delta_p - \delta_y)(-2F_y - F_p)) \left(\frac{\delta - \delta_y}{\delta_p - \delta_y}\right)^2 + ((\delta_p - \delta_y)(F_y)) \left(\frac{\delta - \delta_y}{\delta_p - \delta_y}\right) + F_y \quad (14)$$

$$a = (2a_y - 2a_p + (\delta_p - \delta_y)(a_y + a_p)) \left(\frac{\delta - \delta_y}{\delta_p - \delta_y}\right)^3 + (-3a_y + 3a_p + (\delta_p - \delta_y)(-2a_y - a_p)) \left(\frac{\delta - \delta_y}{\delta_p - \delta_y}\right)^2 + ((\delta_p - \delta_y)(a_y)) \left(\frac{\delta - \delta_y}{\delta_p - \delta_y}\right) + a_y \quad (15)$$

به منظور درک کامل روابط می‌توان به مرجع [16] مراجعه نمود.

۳-۲- مدل سازی فاز اول نانومنیبولیشن

نانومنیبولیشن فرآیندی در ابعاد نانو و به منظور بدست آوردن اطلاعات لازم از طریق کاوش سطح توسط میکروسکوپ نیروی



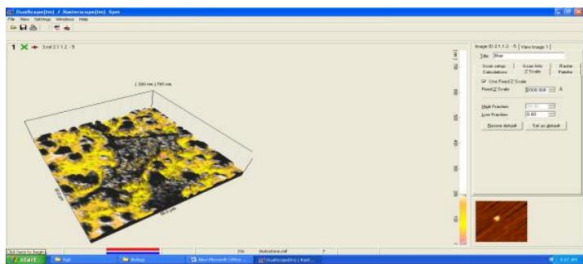
شکل ۳) مراحل کار تجربی

تصاویر پردازش شده توسط کامپیوتر ذخیره و ثبت می‌گردد. همانطور که در شکل ۴ قابل مشاهده است، تصویر سلول مورد نظر آورده شده است.

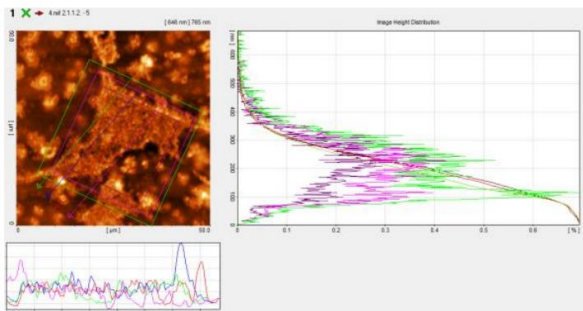
به‌منظور دست یافتن به هندسه دقیق سلول می‌توان در نرم‌افزار مورد استفاده، سطوح یا خطوطی را به‌منظور میانگین‌گیری از ارتفاع موجود تعریف کرد و شکل دقیق سلول را مشاهده نمود. شکل ۵ نمایانگر این موضوع می‌باشد.

۵- راستی‌سنجی نتایج

به منظور صحت سنجی نتایج به‌دست آمده، نتایج حاصل از پژوهش وانگ و همکارانش^[18] که به بررسی و مقایسه‌ی ساختار سطح نانو و خاصیت الاستیسیته سلول سالم و سرطانی سینه با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی و با در نظر گرفتن مدل تماسی هرتز، پرداخته‌اند و همچنین پژوهش حبیب‌نژاد کورایم و رستگار^[19] که به منظور مقایسه دقیق سلول‌های سرطانی سالم و بدخیم سینه، به بررسی ویژگی‌های مکانیکی سلول‌های MCF-10A مانند توپوگرافی، ماژول الاستیسیته، نیروی چسبندگی، مشخصات ویسکوالاستیک، خمش و استحکام محوری با فرض مدل تماسی هرتز، پرداخته‌اند با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مقایسه شده است.



شکل ۴) تصویر ثبت شده از سلول MCF-10 سینه



شکل ۵) تصویر دقیق سلول سینه

در این روابط \bar{a}_y شتاب جانبی ذره و \bar{a}_z شتاب عمودی ذره می‌باشند. روابط زیر با دوبار مشتق‌گیری از روابط (۱۹) و (۲۰) و جایگذاری مقادیر شتاب به‌دست آمده در معادلات (۲۱) و (۲۲) حاصل می‌شوند. نیروی وارده بر سوزن از روابط (۲۳) و (۲۴) در راستای عمودی (F_y) و افقی (F_z) حاصل شده‌اند. نیروی برآیند (F_T) نیز در معادله (۲۵) به‌دست آمده است.

$$F_y = F_y + \frac{m}{2} H \dot{\theta}^2 \sin \theta \quad (23)$$

$$F_z = F_z - \frac{m}{2} H \dot{\theta}^2 \cos \theta \quad (24)$$

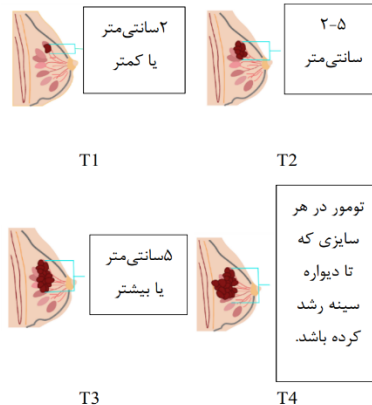
$$F_T = \sqrt{F_y^2 + F_z^2} \quad (25)$$

به‌منظور درک کامل روابط می‌توان به مرجع^[17] مراجعه نمود.

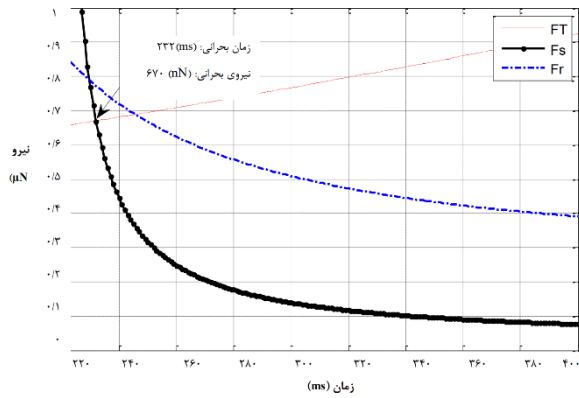
۴- آزمایش‌های تجربی

با توجه پرخطر بودن سرطان سینه در بین زنان، شناخت دقیق سلول سینه و مقایسه تفاوت‌های ایجاد شده پس از بروز سرطان سبب تشخیص زودهنگام و بهبود درمان این بیماری می‌شود. باید توجه داشت که روش‌های درمان همچون جراحی، هورمون درمانی، پرتودرمانی و سایر روش‌ها، نیز با توجه به مرحله سرطان انتخاب می‌شوند. شکل ۲ نشان‌دهنده طبقه‌بندی سایز تومور سینه می‌باشد.

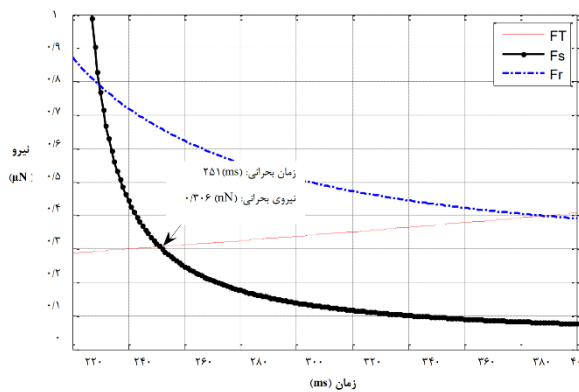
سرطان سینه براساس میزان رشد تومور در محل شکل‌گیری و تکثیر در سایر بافت‌های مجاور، غدد لنفاوی و سایر ارگان‌های بدن طبقه‌بندی شده است. در این بخش به بررسی و تصویربرداری از سلول MCF-10 سینه پرداخته شده است. مراحل انجام کار تجربی در شکل ۳ آورده شده است. پس از آماده سازی سلول مورد نظر و قرارگیری لام حاوی سلول بر روی میکروسکوپ نیروی اتمی، تنظیم ارتفاع انجام گرفته و فرآیند تصویربرداری از سلول مورد نظر آغاز می‌شود. کاوش سطح توسط سوزن میکروسکوپ نیروی اتمی سبب به‌دست آوردن اطلاعاتی همچون ناخالصی سطح، توزیع چسبندگی، هندسه‌ی سلول و سایر موارد می‌گردد. از جمله مزایای این ابزار امکان استفاده از آن برای تمامی محیط‌ها می‌باشد.



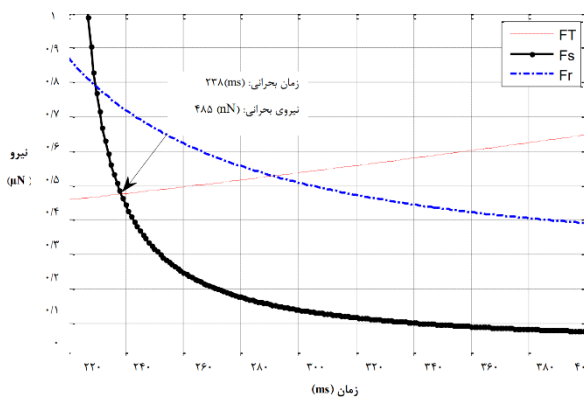
شکل ۲) طبقه بندی سایز تومور سینه



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۷ نتایج فاز اول نانومنیپولیشن با مدل‌های تماسی مختلف

متفاوت در نظر گرفته شده است. با اعمال مدول یانگ ۱۵۰۰ پاسکال در شکل ۸- الف نتایج شبیه‌سازی تئوری تطابق با نتایج حاصل از کار تجربی نداشته است. اعمال مدول یانگ ۹۰۰ پاسکال نیز باعث تطابق در نقاط اندکی در شکل ۸- ب شده است. با در نظر گرفتن مدول یانگ ۱۲۰۰ پاسکال برای سلول سینه، نتایج تجربی با نتایج حاصل از شبیه‌سازی با در نظر گرفتن مدل تماسی chen تطابق داشته است. همچنین در عمق نفوذ ثابت و با در نظر گرفتن مدل تماسی chen مقدار کمینه بارگذاری در طی فرآیند اعمال شده است.

شکل ۶ نمودارهای گرافیکی حاصل از مقایسه نتایج این سه تحقیق را نمایش می‌دهد. تفاوت‌های موجود در نتایج به عواملی مانند مدل تماسی انتخابی بستگی دارد.

۶- تفسیر و تحلیل نتایج

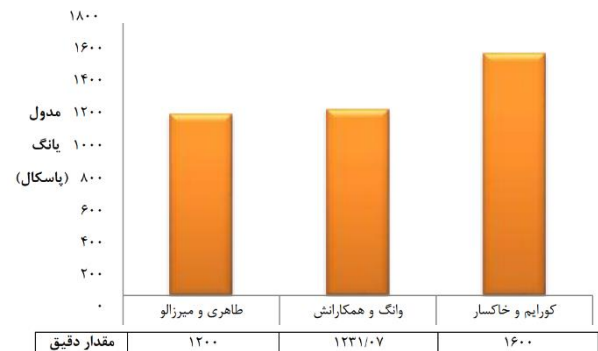
در این بخش به بررسی نتایج حاصل از شبیه‌سازی و مقایسه‌ی آن با نتایج حاصل کار تجربی پرداخته شده است. همچنین فاز اول نانومنیپولیشن سلول MCF-10 سینه مورد تحلیل قرار گرفته است.

۶-۱- نتایج فاز اول نانومنیپولیشن

تحلیل فاز اول نانومنیپولیشن در شکل ۷ صورت گرفته است. در تمامی نمودارهای ترسیم‌شده، FT نمایانگر برآیند نیروی مقاوم لغزشی Fs و نیروی مقاوم غلتشی Fr می‌باشد. به منظور شروع فاز دوم نانومنیپولیشن، نیروی وارده بر تیرک میکروسکوپ نیروی اتمی باید بر نیروی مقاوم برآیند غلبه کند. غلبه بر این نیرو در زمان بحرانی و با اعمال نیروی بحرانی رخ می‌دهد. با بررسی تمامی نمودارها و با در نظر گرفتن مدل‌های تماسی مختلف، می‌توان مشاهده کرد که نمودار نیروی لغزشی ابتدا با نمودار نیروی برآیند برخورد داشته و در نتیجه سبب لغزش ذره قبل از غلتیدن آن می‌گردد. محل این تقاطع در محور عمودی نمایش‌دهنده نیروی بحرانی و در محور افقی نمایانگر زمان بحرانی می‌باشد. کمترین نیروی بحرانی در شکل ۷- ب و با در نظر گرفتن مدل تماسی chen رخ داده است. با بررسی نمودار شکل ۷- الف نیز به کمترین مقدار زمان بحرانی می‌توان دست یافت. مدل تماسی مناسب در فاز اول با در نظر گرفتن شرایط سلول و عدم آسیب رساندن به بافت سلولی باید در کمترین نیرو و در بهترین زمان صورت گیرد.

۶-۲- نتایج حاصل از شبیه‌سازی تئوری و کارهای تجربی

نمودار تجربی با در نظر گرفتن میانگین برای نتایج حاصل از منیپولیشن سلول MCF-10 سینه و رسم نمودار در نرم‌افزار متلب ترسیم شده است. با در نظر گرفتن مدل‌سازی‌های انجام شده در فاز اول نانومنیپولیشن و اعمال شرایط تماسی در مدل‌های تماسی chen, chung و brakey و شبیه‌سازی منیپولیشن سلول سینه، نمودارهای تئوری ترسیم شده‌اند. محدوده اعمال مدول یانگ سلول سینه با توجه به تحقیق‌های صورت گرفته با روش‌های



شکل ۶ مقایسه‌ی مدول یانگ‌های مختلف

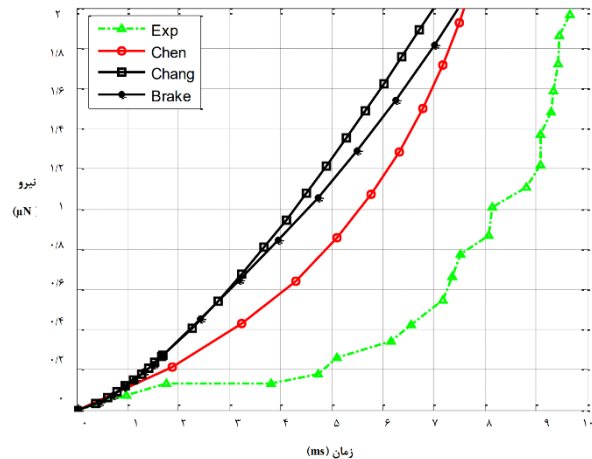
با دو مدل مذکور، در شبه‌سازی نیز متفاوت بوده و نتایج این مدل به نتایج تجربی نزدیک‌تر می‌باشد.

۷- نتیجه‌گیری

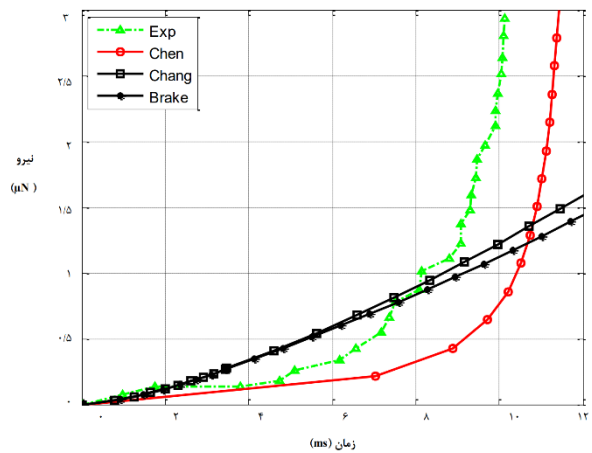
در این مقاله با توجه به اهمیت شناخت ویژگی‌های سلول سالم و توجه به تغییرات ایجاد شده پس از بروز سرطان، به استخراج مدول یانگ سلول MCF-10 سینه پرداخته شده است. میکروسکوپ نیروی اتمی از ابزارهای کارآمد برای رسیدن به این هدف می‌باشد. در این تحقیق ابتدا نتایج تجربی با کاوش سلول توسط میکروسکوپ نیروی اتمی به‌دست آمده است. با در نظر گرفتن مدل‌سازی‌های لازم در فرآیند نانومنیویلیشن و اعمال مدل‌های تماسی chen، chung، و brake شبیه‌سازی‌های لازم انجام شده و نتایج تئوری به‌صورت نمودارهای مختلف با مدول‌یانگ‌های انتخابی ترسیم شده است. با بررسی میزان تطابق نتایج تئوری و تجربی، مقدار ۱۲۰۰ پاسکال به عنوان مدول یانگ سلول سینه انتخاب شده است. همچنین مدل تماسی chen مطلوب‌ترین نتایج را در شبه‌سازی انجام شده و در روند مقایسه‌ای با نتایج تجربی دارا بوده است. در طی این تحقیق نیرو و زمان بحرانی با در نظر گرفتن مدل‌های تماسی انتخابی به‌دست آمده‌اند و با توجه به حساسیت‌های محیطی و شرایط اعمالی می‌توان از نتایج نمودارهای حاصل جهت استخراج خواص و کمینه کردن آسیب‌رسانی به بافت سلول استفاده نمود. روند مقایسه‌ای خواص سلول سالم و سرطانی می‌تواند در پژوهش‌های آتی انجام پذیرد. همچنین می‌توان از اطلاعات به‌دست آمده در علوم دارویی و در درمان‌های نوین سرطان استفاده نمود.

۸- فهرست علائم و اختصارات

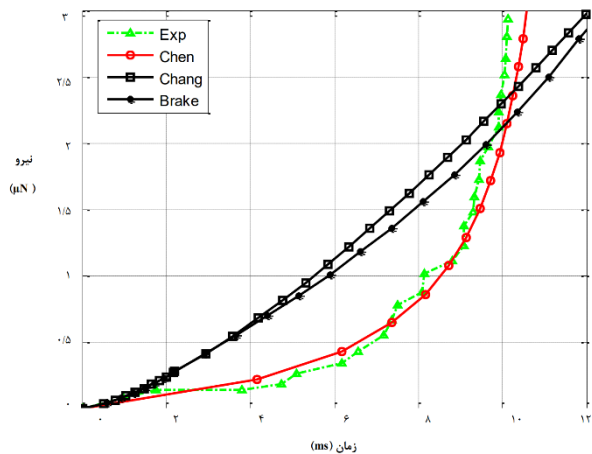
A	سطح تماس الاستیک
A_C	سطح تماس بحرانی
a_p	شعاع تماسی ناحیه پلاستیک
\dot{a}_p	پارامتر تماسی شعاع پلاستیک
a_y	شعاع تماسی ناحیه الاستیک
\dot{a}_y	پارامتر تماسی شعاع الاستیک
\bar{a}_y	شتاب جانبی ذره
\bar{a}_z	شتاب عمودی ذره
E^*	مدول الاستیسیته مؤثر
F_y	نیروی جانبی تیرک
F_z	نیروی عمودی تیرک
F_y	نیروی جانبی وارد بر ذره از طرف سوزن
F_z	نیروی عمودی وارد بر ذره از طرف سوزن
F_T	نیروی وارد بر ذره از طرف سوزن
H	ارتفاع سوزن
h	سختی کره
h_0	ضخامت پوسته نرم
K	ضریبی از مدول الاستیسیته مؤثر
k_y	ضریب سختی جانبی تیرک
k_z	ضریب سختی عمودی تیرک
L	طول استوانه



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۸) مقایسه‌ی تجربی و تئوری مدول یانگ سلول سرطانی سینه

تفاوت مدل‌های تماسی chen، chung و brake به‌دلیل اختلاف تئوری‌های موجود در این سه مدل می‌باشد، که مدل‌های تماسی brake و chung به‌دلیل نزدیک‌تر بودن از نظر تئوری به یک‌دیگر، در شبه‌سازی نیز مشابهت بیشتری به هم دارند. مدل تماسی chen به‌دلیل اختلاف موجود در تئوری، به‌ویژه در ابعاد ریزمقیاس

for facilitating human cancer cell motility into 3D engineered matrices. *Convergent Science Physical Oncology*. 2017 ;3(4):044003.

4- Guck J, Schinkinger S, Lincoln B, Wottawah F, Ebert S, Romeyke M, Lenz D, Erickson HM, Ananthakrishnan R, Mitchell D, Käs J. Optical deformability as an inherent cell marker for testing malignant transformation and metastatic competence. *Biophysical journal*. 2005 ;88(5):3689-98.

5- Guido I, Jaeger MS, Duschl C. Dielectrophoretic stretching of cells allows for characterization of their mechanical properties. *European Biophysics Journal*. 2011 ;40(3):281-8.

6- Yoshino T, Tanaka T, Nakamura S, Negishi R, Shionoiri N, Hosokawa M, Matsunaga T. Evaluation of cancer cell deformability by microcavity array. *Analytical biochemistry*. 2017 ;520:16-21.

7- Korayem MH, Vaez M, Rastegar Z. Modeling and simulation of three-dimensional manipulation of viscoelastic folded biological particles considering the nonlinear model of the cell by AFM. *Mechanics of Materials*. 2020 ;143:103342.

8 Lee SH, Kim OK, Lee S, Kim JK. Local-dependency of morphological and optical properties between breast cancer cell lines. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018 ;205:132-8.

9- Moasses Ghafary S, Nikkhah M, Hatamie S, Hosseinkhani S. Design and Preparation of Photoluminescent Nanoparticles based on Chimeric Peptides-Graphene Quantum Dots for Nuclear Drug Delivery and Tracking. *Modares Journal of Biotechnology*. 2019 ;10(1):45-51.

10- Habibejad Korayem M, Khaksar H, NouhiHefz Abad R, Taheri M. Simulation of soft bacteria contact to be applied in nanomanipulation. *Modares Mechanical Engineering*. 2015 ;14(14):227-34.

11- Kazemi M, Amani J, Salmanian AH, Forghanifard MM, Aghamollaei H. Design and expression of recombinant HER-2 antigen as a marker for detection of breast cancer. *Pathobiology Research*. 2015 ;17(4):88-99.

12- Soltani MA, Rahpeima R, Moradi Kashkooli F, Alipoor A, Torkaman P. Numerical modeling of breast cancer diagnosis with microwave thermo-acoustic imaging. *Modares Mechanical Engineering*. 2018 ;18(9):142-50.

13- Rother J, Nöding H, Mey I, Janshoff A. Atomic force microscopy-based microrheology reveals significant differences in the viscoelastic response between malign and benign cell lines. *Open biology*. 2014 ;4(5):140046.

14- Chang WR, Etsion I, Bogy DB. An elastic-plastic model for the contact of rough surfaces.

15- Chen Y, Norde W, van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial cell surface deformation under external loading. *MBio*. 2012 ;3(6):e00378-12.

16- Brake MR. An analytical elastic-perfectly plastic contact model. *International Journal of Solids and Structures*. 2012 ;49(22):3129-41.

17- Korayem MH, Zakeri M. Sensitivity analysis of nanoparticles pushing critical conditions in 2-D controlled nanomanipulation based on AFM. The

M	ضریب سختی
M_0	گشتاور تیرک
m	جرم
P	نیروی الاستیک
P_0	فشار ثابت
P_c	بار بحرانی
R	شعاع ذره
R_p	شعاع ذره
R_t	شعاع سوزن
w^*	ضریب چسبندگی مؤثر
y_p	موقعیت عرضی ذره
y_{sub}	موقعیت عرضی صفحه مبنا
y'_p	شتاب جانبی ذره
y'_t	شتاب جانبی سوزن
z_p	موقعیت عمودی ذره
z_{sub}	موقعیت عمودی صفحه مبنا
z'_p	شتاب عمودی ذره
z'_t	شتاب عمودی سوزن
δ	عمق نفوذ
δ_c	عمق نفوذ بحرانی

تشکر و قدردانی: تقدیم به ساحت مقدس شهدای مدافع سلامت.

تأییدیه اخلاقی: ما نویسندگان مقاله "استخراج مدول یانگ بافت سرطانی معده به روش تجربی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی" با اعلام موافقت خود مبنی بر ارسال این مقاله به نشریه مهندسی مکانیک مدرس تعهد می‌نماییم که این مقاله در زمان ارسال برای این نشریه در هیچ نشریه ایرانی یا غیرایرانی در حال بررسی نبوده و تا تعیین تکلیف قطعی در این نشریه برای هیچ نشریه ایرانی یا غیرایرانی دیگری ارسال نخواهد شد و آقای دکتر معین طاهری را (از نویسندگان) به عنوان نویسنده رابط معرفی نموده و وکالت تام ایشان در کلیه امور مرتبط با این مقاله (به ویژه انجام اصلاحات احتمالی) نزد نشریه مهندسی مکانیک مدرس را می‌پذیریم.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی اعم از مادی یا معنوی مابین نویسندگان مقاله به‌عنوان تنها منبع و مرجع تهیه و نگارش مقاله در ارسال مقاله اخیر به نشریه مهندسی مکانیک مدرس وجود ندارد.

سهم نویسندگان: سهم هریک از نویسندگان در مقاله اخیر مساوی و معادل (50٪ از کل) می‌باشد.

منابع مالی: هزینه‌های پژوهش منتج به این مقاله به صورت شخصی و بدون بهره‌گیری از کمک مادی و معنوی احدی صورت گرفته است.

منابع

1- Chen J, Huang SB, Xue C, Fan B, Chen D, Wang J, Wu MH. Single-cell mechanical properties: label-free biomarkers for cell status evaluation. In *Essentials of Single-Cell Analysis 2016* (pp. 213-234). Springer, Berlin, Heidelberg.

2- Deng X, Xiong F, Li X, Xiang B, Li Z, Wu X, Guo C, Li X, Li Y, Li G, Xiong W. Application of atomic force microscopy in cancer research. *Journal of nanobiotechnology*. 2018;16(1):1-5.

3- Fischer T, Wilharm N, Hayn A, Mierke CT. Matrix and cellular mechanical properties are the driving factors

International Journal of Advanced Manufacturing Technology. 2009 ;41(7):714-26.

18- Wang Y, Xu C, Jiang N, Zheng L, Zeng J, Qiu C, Yang H, Xie S. Quantitative analysis of the cell-surface roughness and viscoelasticity for breast cancer cells discrimination using atomic force microscopy. Scanning. 2016 ;38(6):558-63.

19- Korayem MH, Rastegar Z. Experimental Characterization of MCF-10A Normal Cells Using AFM: Comparison with MCF-7 Cancer Cells. Molecular & Cellular Biomechanics. 2019;16(2):109.