تحلیل بعد فرکتال و نقشه‌برداری توپوگرافی سطحی به منظور بررسی اثرات درمانی پرتوهای لیزر کم‌توان بر رفتار فیزیکی سلول‌های استئوسارکوما رده MG-63

امین براتی شورچه [۱](M.Sc)، علیرضا محمدکریم [۱*](Ph.D)، مجید جدیدی [۱](Ph.D)، مرجان بهرامی نسب [۲و۳](Ph.D)، حمیدرضا ثامنی [۳](Ph.D)

۱- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳-۳۳۶۱۱۵۸۷ mohammadkarim.medphys@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۱

چکیده

هدف: مطالعات گذشته نشان داده‌اند پرتوهای لیزر کم‌توان در مدولاسیون رفتار سلول‌های استئوسارکومای انسانی نقش ایفا نموده و منجر به تغییراتی در تکثیر، تمایز و چسبندگی سلول‌ها می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر پرتوهای لیزر کم‌توان بر رفتار فیزیکی سلول‌های استئوسارکوما مبتنی بر توپوگرافی سطح و تحلیل بعد فرکتال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های استئوسارکوما رده MG-63 در محیط DMEM-F12 حاوی ٪۱۰ FBS کشت داده شدند و پس از رسیدن به تراکم ٪۸۰ در چهارمین پاساژ تابش لیزر انجام گردید. لیزرهای ۵۳۲ نانومتر با توان ۲۵ میلی‌وات، ۶۵۰ نانومتر با توان‌های ۳ و ۱۵۰ میلی‌وات و ۷۸۰ نانومتر با توان ۷۰ میلی‌وات به مدت ۸ دقیقه بهره‌برداری شدند و پس از ۷۲ ساعت تکثیر سلول‌ها بررسی شد. با نقشه‌برداری توپوگرافی سطح توسط میکروسکوپ نیروی اتمی و تصویربرداری کانفوکال تغییرات ابعاد سلول‌ها در سه بعد تعیین گردید و با پردازش تصاویر کانفوکال، آنالیز بعد فرکتال انجام شد.

یافته‌ها: تابش لیزر تغییرات معناداری در پارامترهای تکثیر، ارتفاع، محیط و مساحت سلول‌ها ایجاد می‌نماید. هم‌چنین در بعد فرکتال سلول‌ها در تمامی لیزرها به غیر از توان ۳ میلی‌وات نسبت به سلول‌های گروه کنترل تغییر معناداری ایجاد به وجود می‌آید.

نتیجه‌گیری: تحلیل طیف فرکتال در کنار بررسی سه بعدی تغییرات ابعاد سلول‌ها می‌تواند به عنوان یک شاخص کمکی در پیش‌بینی پاسخ سلول‌های استئوسارکوما به درمان با پرتوهای لیزری کم‌توان ارزیابی شود.

واژه‌های کلیدی: درمان با لیزر کم توان، استئوسارکوما، نقشه‌برداری توپوگرافی سطحی، فرکتال

مقدمه

پرتوهای لیزر کم‌توان در جنبه‌های پزشکی چون روش‌های تشخیصی و درمانی کاربردهای فراوانی دارند [۱]. از کاربردهای درمانی این پرتوها می‌توان به آنژیوپلاستی [۲]، جراحی پلاستیک [۳]، برش و سوزاندن بافت [۴]، تصویربرداری از اجرای پروتکل‌های درمانی [۵] و درمان سلول‌های سرطانی [۶،۷] اشاره نمود. فرآیند درمان با پرتوهای لیزری کم‌توان (LLLT)باعث مدوله کردن مکانیسم سلول‌ها می‌شود که این امر موجب تغییر در روند تکثیر آن‌ها می‌گردد. گزارش‌ها نشان داده‌اند که پارامترهای فیزیکی لیزر مانند طول موج، زمان تابش، سطح انرژی، نوع پرتو و چگالی انرژی در پاسخ زیستی سلول‌ها به پرتو تاثیرگذار است [۸]. مشاهداتی مبنی بر این‌که این پرتوها باعث ایجاد تحریک زیستی بر سلول‌های تومور می‌شوند وجود دارد. ولی با توجه به تنوع رده‌های سلولی آزمایش شده، شرایط متفاوت کشت سلولی و زمان تابش‌دهی‌ها، یافته‌ها روند ثابتی را گزارش نمی‌کنند [۹]. به طور کلی مکانیسم دقیق تاثیر آن‌ها بر سلول‌های استئوسارکوما در بسیاری از مدالیته‌های درمانی بحث‌برانگیز است [۱۰] و حتی استفاده از نانوذرات نیز اخیراً در بهبود کارآیی مدالیته‌های مختلف درمانی پیشنهاد گردیده [۱۱] که این امر به طور ویژه در درمان استئوسارکوما معطوف به استفاده از نانوذرات ساماریوم به دلیل دارا بودن خواص پارامغناطیسی می‌باشد [۱۲].

از آثار اعمال پرتوهای لیزر کم‌توان بر سلول‌های استخوانی، تعدیل (مدوله کردن) التهاب [۱۳]، تغییر تکثیر سلول‌ها [۱۴]، افزایش شکل‌گیری گره‌های استخوانی و فعالیت آلکالین فسفات [۱۵]، بیان ژن استئوکلسین [۱۶،۱۷] و ایجاد التیام [۱۸-۲۱] را

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]

می‌توان نام برد. اصولاً تابش لیزر گستره متنوعی از آثار بیولوژیکی را در استئوبلاست ایجاد می‌نماید [۲۲]. برخی مطالعات افزایش در تکثیر سلولی را از پیامدهای تابش لیزر بر استئوبلاست گزارش کرده‌اند [۲۴،۲۳] و برخی دیگر نتایجی مغایر با آن را برای لیزرهای دیگری گزارش داده‌اند [۲۵–۲۷]. لیکن اثبات گردیده LLLT بر روی استئوبلاست هایپوکسیک باعث تحریک در تمایز و تکثیر از طریق افزایش بیان پروتئین مورفوژنتیک استخوان MP-2، استئوکلسین (مهم‌ترین پروتئین غیرکلاژنی استخوان) و فاکتور رشد TGF-ß1 می‌شود [۲۸]. همچنین قابلیت ترمیم در بازسازی استخوان از طریق اثر تحریک زیستی روی استئوبلاست‌ها در پی تابش پرتوهای لیزری گزارش شده است [۲۹]. علاوه بر نتایج مثبت LLLT که باعث میتوز سلولی می‌شود، ایجاد تکثیر سلول‌های سرطانی نیز به عنوان یک اثر نامطلوب ناشی از تابش‌گیری پیش‌تر گزارش گردیده است [۳۰].

امروزه بررسی پارامترهای بیوفیزیکی مبتنی بر ریخت‌شناسی سلول‌های سرطانی به عنوان پیش‌آهنگ قابل اعتمادی در بررسی فرآیندهای بیولوژیکی شناخته شده‌اند [۳۱]. از پارامترهای مهمی که امروزه در بررسی ریخت‌شناسی هندسی سلول‌ها در کنار یک‌دیگر مورد بررسی قرار می‌گیرد، پارامتر مربوط به بعد فرکتال می‌باشد. بعد فرکتال که با پردازش مجموعه‌ای از تصاویر رنگ‌آمیزی شده یک مجموعه سلولی حاصل می‌گردد، بیانگر هم‌ترازی و منظم بودن پیکربندی استقرار سلول‌ها در کنار یک‌دیگر است و تعیین مقدار این کمیت از روش‌های مرسوم در هندسه اقلیدسی امکان‌پذیر نمی‌باشد و به کمک آنالیز طیف فرکتال انجام می‌پذیرد و مقدار کمی این کمیت همواره مابین ۱ و ۲ است. هر چه میزان بعد فرکتال به عدد ۱ نزدیک‌تر باشد، ساختار قرارگیری سلول‌ها در تصویر به سمت نظم بیش‌تر و خط مستقیم تمایل دارد و هر چه این کمیت به عدد ۲ میل کند، مجموعه تصویر سلول‌ها به سمت نامنظمی بیش‌تر و اصطلاحاً تصویر یک مربع تو پر تمایل خواهد داشت [۳۲].

ویژگی‌های برجسته میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) همانند رزولوشن فضایی بالا، قابلیت کنترل اعمال نیرو و جهت نیروهای وارد شده، ایجاد آسیب جزیی بر نمونه‌ها و قابلیت تصویربرداری سلول‌ها در شرایط زنده این ابزار را به عنوان تکنیک مناسبی جهت ارزیابی پارامترهای بیوفیزیکی سلول‌ها مبتنی بر توپوگرافی سطحی معرفی نموده است [۳۱]. توپوگرافی سطحی بر مبنای حرکت یک تیپ مستقر در انتهای کانتیلور متحرک انجام می‌شود که به سطح سلول‌ها نزدیک شده و آن را مبتنی بر نیروهای واندروالسی و الکترواستاتیکی سطح روبش می‌کند. از این‌رو نقشه‌برداری توپوگرافی سطحی با استفاده از مکانیسم فیدبک از انحراف کانتی لیور نقشه سه بعدی از سطح نمونه را با مقیاسی در محدوده ابعاد نانومتر فراهم می‌سازد و پروفایل ارتفاع سطح نمونه را آشکار می‌سازد. از قابلیت‌های جانبی توپوگرافی سطحی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی می‌توان به امکان محاسبه پارامتر زبری نمونه مبتنی بر فرکانس عملکرد میکروسکوپ اشاره نمود [۳۴،۳۳]. پیش‌تر در مطالعه Györgyey و همکاران [۳۵] نشان داد که میزان زبری سلول‌ها در پی تابش پرتوهای لیزری کم‌توان به صورت معناداری تغییر می‌نمایند که این امر با تغییر رفتار ریخت‌شناسی سلول‌های تیمار شده همراه است. همچنین در مطالعه دیگری Incerti و همکاران [۳۶] نشان دادند پرتوهای لیزر کم‌توان منجر به تغییرات معناداری در زیست‌پذیری (حفظ رفتارهای زیستی) سلول‌های استئوسارکوما پس از گذشت سه روز از تابش‌دهی‌ها می‌شود که این امر با تغییر در پارامترهای ریخت‌شناسی سلول‌ها همراه است. در ادامه Teng و همکاران [۳۷] نشان دادند میزان زبری سلول‌ها در پی تابش‌های لیزری افزایش می‌یابد که این امر با افزایش تمایز سلول‌های استئوبلاست به استئوسیت همراه است.

هدف از انجام مطالعه حاضر آن است که با مطالعه اثر پرتوهای لیزر کم‌توان با طول موج‌های مختلف و توان‌های متفاوت بر رفتار بیوفیزیکی سلول‌های استئوسارکومای انسانی و ارزیابی پاسخ آن‌ها، قابلیت ارائه پارامترهای معرفی شده به عنوان شاخص‌های تشخیصی مکمل در بررسی روند درمان سلول‌ها مورد ارزیابی و تحلیل واقع شود.

مواد و روش‌ها

کشت سلولی. پس از اخذ کد اخلاق به شماره IR.SEMUMS.1398.185 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان، این مطالعه بر روی سلول‌های استئوسارکومای انسانی رده MG-63 که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده‌اند، انجام شد و مراحل دفریز، کشت و پاساژ سلول طبق پروتکل‌های مربوط به سلول‌های چسبنده انجام پذیرفت. برای این منظور محیط کشت DMEM-F12 حاوی میزان ۱۰درصد FBS و ۱درصد آنتی‌بیوتیک جهت کشت سلول مورد استفاده قرار گرفت و نگهداری سلول‌ها در انکوباتور تحت دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵٪ دی اکسید کربن و ۹۵٪ رطوبت صورت پذیرفت. در این روند، سلول‌ها بین ۲ تا ۳ روز در محیط کشت تغذیه نموده و سپس نیاز به تعویض محیط کشت پیدا می‌کنند. برای این منظور ابتدا محیط کشت قدیم را دور ریخته و کف ظرف توسط PBS شست و شو داده شد. سپس با اضافه نمودن

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]

محیط کشت جدید سلول‌ها به انکوباتور منتقل می‌شوند. هنگامی که تراکم سلول‌ها در کف فلاسک به ۸۰٪ رسید، می‌بایست پاساژ انجام شود. برای این امر جداسازی سلول‌های چسبیده توسط تریپسین انجام می‌شود. سپس برای خنثی کردن اثر تریپسین محیط کشت حاوی FBS به محلول اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه انجام گردید. در ادامه پس از پیپتاژ، محتویات مربوطه به پلیت‌های مجزا تقسیم گردیده و با اضافه نمودن محیط کشت حاوی FBS به هر بخش فرآیند پاساژ به اتمام رسید. سلول‌ها بعد از چهارمین پاساژ جهت تابش‌دهی با پرتوهای لیزر کم‌توان و انجام آزمایش‌های بعدی در پلیت‌های ۲۴ خانه آماده شدند.

تابش‌دهی. در این مطالعه از ۴ لیزر موثر شناخته شده در مطالعات سلولی با مشخصات فیزیکی زیر استفاده شد: لیزر ۵۳۲ نانومتر با توان ۲۵ میلی‌وات، لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۳ و ۱۵۰ میلی‌وات، لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۱۵۰ میلی‌وات و لیزر ۷۸۰ نانومتر با توان ۷۰ میلی‌وات. نحوه تابش بدین صورت انجام گرفت که لیزرها در فاصله ۲۰ سانتی‌متری از سطح سلول‌ها قرار گرفتند و هر یک از خانه‌ها به مدت ۸ دقیقه تحت تابش لیزر به شعاع یک سانتی‌متر قرار گرفتند (شکل ۱ (الف)). لازم به ذکر است با توجه به این که عدسی محدب در مسیر تابش لیزرها به منظور واگرا نمودن باریکه قرار می‌گیرد، لذا قطر پرتوهای تابشی پس از انتشار در محیط افزایش می‌یابد. از این‌رو فاصله ۲۰ سانتی‌متری ذکر شده بین منبع لیزر با کف هر پلیت بر مبنای محاسبه فاصله بهینه به هنگام به‌کارگیری عدسی محدب پیش از اجرای مراحل پژوهش انتخاب گردید. به گونه‌ای که کل سطح مقطع کف پلیت توسط قطر باریکه لیزری پوشش داده شود. هم‌چنین پیش از هر مرحله آزمایش با استفاده از دستگاه توان‌سنج لیزری که در فاصله بهینه محاسبه شده از منبع لیزر قرر داده شده است، فرایند کالیبراسیون برای هر لیزر صورت پذیرفت و میزان توان هر یک از لیزرهای ذکر شده تعیین شد و از آن‌جایی که توان‌های به دست آمده با توان نامی لیزرها یکسان بودند، شرایط تابش‌دهی تایید نهایی شد. لازم به ذکر است که کالیبراسیون طول موج نیز به تفکیک توسط دستگاه توان‌سنج لیزری به روش فوق برای هر لیزر پیش از انجام آزمایش‌ها صورت پذیرفت. پس از گذشت ۷۲ ساعت از زمان تابش، سلول‌ها جهت انجام آزمون‌های مربوطه آماده شدند.

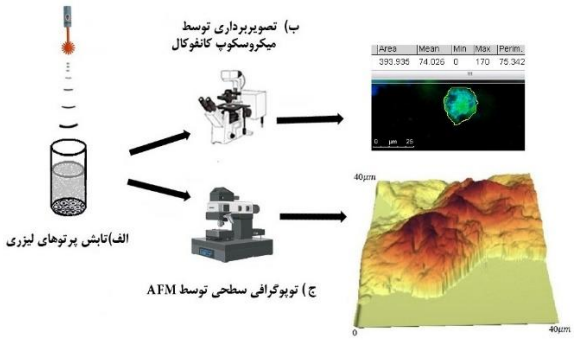
تکثیرپذیری. در ابتدا به منظور انجام سنجش میزان تکثیر سلولی آزمون MTT بر اساس پروتکل مربوطه اجرا شد. در این مرحله در ابتدا سلول‌ها توسط PBS مورد شست و شو قرار گرفتند و سپس با اضافه کردن محیط کشت فاقد FBS به همراه محلول MTT (0.5 mg/mL, Sigma-Aldrich) به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. پس از گذشت این زمان با اضافه کردن DMSO (dimethyl sulphoxide) به سلول‌ها و گذشت ۳۰ دقیقه، پلیت‌ها توسط قرائتگر الایزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر مورد بررسی قرار داده شدند و مقادیر خوانش شده نسبت مستقیم با تکثیرپذیری سلول‌ها دارد.

رنگ‌آمیزی فلئورسانس و تصویربرداری کانفوکال. در پی فیکس کردن سلول‌ها توسط پارافرمالدهید، بررسی ساختار اسکلت سلولی به کمک رنگ‌آمیزی غشاء سلولی با استفاده از ماده فالوئیدین ۴۸۸ (Invitrogen، آمریکا) طبق پروتکل اجرا شده در مقالات پیشین انجام پذیرفت [۳۹،۳۸]. در ادامه تصویربرداری از سلول‌های رنگ‌آمیزی شده به کمک میکروسکوپ کانفوکال TCS SP5 Leica Microsystem)، آلمان) انجام گردید. سپس با به‌کارگیری نرم‌افزار ImageJ پارامترهای محیط و مساحت سلول‌های هر گروه محاسبه شد (شکل ۱(ب)).

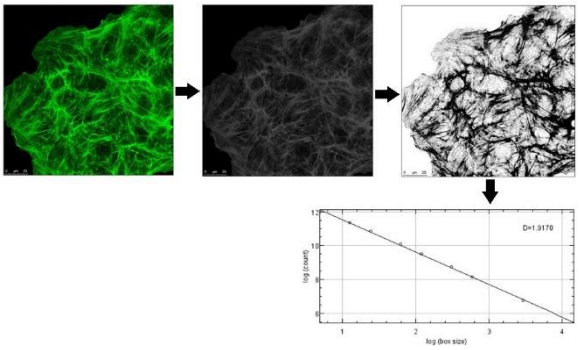
نقشه‌برداری توپوگرافی سطح سلول‌ها. توپوگرافی سطح سلول با استفاده از مد تماسی میکروسکوپ نیروی اتمی آرا پژوهش انجام شد و در نهایت تصاویر سه بعدی از سطح نمونه‌های سلولی حاصل شدند. به منظور محاسبه ارتفاع سلول‌ها از نرم‌افزار Imager بهره گرفته شد است و برآورد ابعاد سلول‌های هر گروه در راستای ارتفاع به صورت میانگین نقاط مختلف از تصویر سه بعدی مربوطه حاصل گردید (شکل ۱ (ج)).

آنالیز طیف فرکتال. پس از تهیه تصاویر کانفوکال از مجموعه سلول‌ها در هر گروه، با استفاده از باکس مربوط به پردازش تصاویر در نرم‌افزار ImageJ سنجش بعد فرکتال به منظور تعیین نظم‌پذیری سلول‌ها در پی تابش پرتوهای لیزر کم‌توان برای تصاویر مختلف در هر گروه انجام گردید. برای تعیین مقادیر مربوط به بعد طیف فرکتال، در ابتدا هر تصویر پس از تبدیل به حالت ۸ بیتی به کمک دستور مربوطه در بسته نرم‌افزاری به فرم باینری منتقل شد. از خواص تصاویر باینری آن است که می‌توان آنالیز فرکتال بر روی آن‌ها انجام داد. در مرحله بعد با استفاده از ابزار مربوطه در محیط نرم‌افزار، برای هر تصویر از کلونی‌های سلولی ضریب بعد فرکتال بر مبنای شیب منحنی لگاریتمی مستخرج از آنالیز طیف فرکتال استخراج گردید. نمونه‌ای از مراحل انجام این فرآیند برای یک تصویر در شکل ۲ به نمایش گذاشته شده است.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]



شکل ۱. فلوچارت مراحل برآورد ابعاد سلول‌های استئوسارکومای تابش یافته با پرتوهای لیزر کم توان در سه بعد: محیط و مساحت سلول ها مبتنی بر رنگ آمیزی فلئورسانس و تصویربرداری کانفوکال و ارتفاع آنها بر مبنای نقشه برداری توپوگرافی سطح توسط AFM به دست می آید.

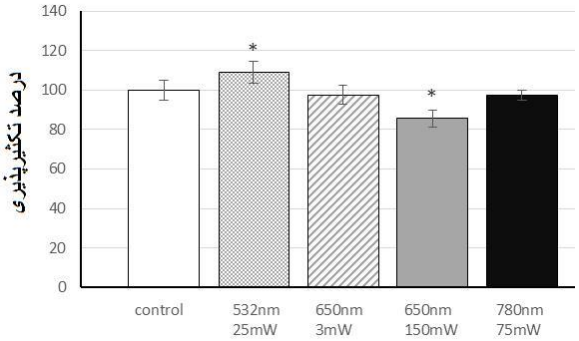


شکل ۲. نمایی از مراحل اجرای پروتکل پردازش تصاویر کانفوکال به منظور تعیین بعد فرکتال که شامل تبدیل تصاویر به حالت هشت بیتی، باینری و تحلیل فرکتال می باشد.

برآورد نمونه و تحلیل آماری. به منظور انجام هر مرحله از آزمایش، در ابتدا ۵ نمونه به صورت pilot در هر گروه به منظور بررسی میزان هم‌بستگی نتایج انتخاب گردید و در ادامه برآورد نمونه به کمک آنالیز آماری Anova با سطح معناداری ۰/۹۵ و توان آزمون ۰/۹۰ انجام گردید. لازم به ذکر است به منظور دستیابی به صحت بالاتر، در تمامی گروه‌ها تا حد امکان بیش از تعداد نمونه‌های برآورد شده جهت بررسی‌ها انتخاب گردیدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز (one-way Anova (analysis of variance توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد و مقایسه نتایج آماری گروه‌های تابش‌دیده و کنترل برای هر پارامتر با کمک آنالیز LSD تعیین گردید. نتایج به صورت انحراف استاندارد ± میانگین ارائه شدند و اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شده برای داده‌ها در محدوده $P<۰/۰۵$ گزارش شد.

نتایج

به منظور سنجش میزان تکثیر سلول‌های استئوسارکوما پس از گذشت ۷۲ از تابش پرتوهای لیزر کم‌توان از آزمون MTT استفاده شد و نتایج این بخش تمایز معناداری را بین گروه‌های مختلف نشان دادند ($P<۰/۰۵$). بر اساس نتایج مندرج در شکل ۳، با تابش لیزر ۵۳۲ نانومتر میزان تکثیر سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های تابش ندیده به طور میانگین ۱۴٪ افزایش پیدا می‌کند. حال آن با تابش لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۱۵۰ میلی‌وات میزان تکثیر سلول‌ها به صورت میانگین با کاهش ۱۵ درصدی همراه است.

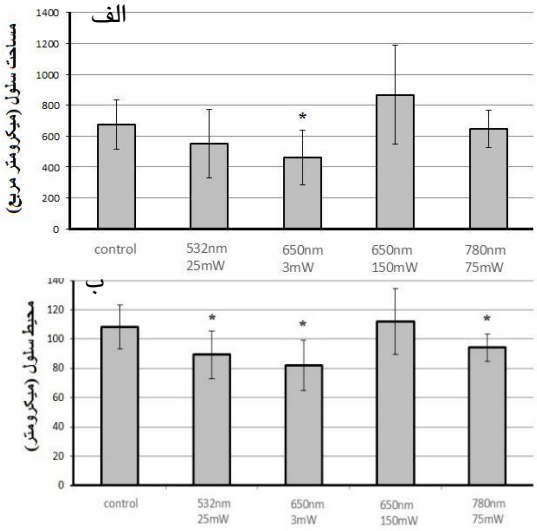


شکل ۳. نتایج تحلیل درصد تکثیرپذیری سلول های MG-63 ۷۲ ساعت پس از تابش لیزرهای کم توان. در این جا علامت * به معنای تمایز معنادار آماری بین گروه تابش لیزری با گروه کنترل می باشد

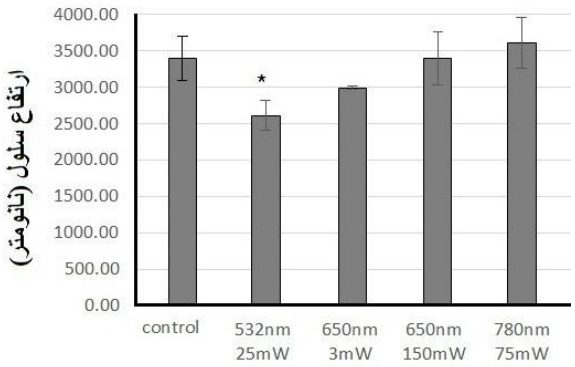
هم‌چنین تجزیه و تحلیل آماری نتایج مرتبط با ابعاد سلول‌های رنگ‌آمیزی شده ایجاد تغییرات معناداری را در پارامترهای محیط و مساحت سلول‌های استئوسارکوما رده MG-63 طی گذشت ۷۲ ساعت از قرار گرفتن در معرض پرتوهای لیزری به نمایش گذاشت ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج شکل ۴ (الف)، با تابش لیزرهای ۵۳۲ نانومتر، ۶۵۰ نانومتر با توان ۳ میلی‌وات و ۷۸۰ نانومتر، محیط سلول‌های استئوسارکوما ۷۲ ساعت بعد از تابش‌دهی در مقایسه با سلول‌های گروه کنترل به طور میانگین ۱۸، ۲۴ و ۱۳٪ کاهش پیدا می‌کند. هم‌چنین کاهش معنادار ۶ درصدی میانگین مساحت سلول‌های استئوسارکوما ۷۲ ساعت بعد از تابش با لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۳ میلی‌وات در مقایسه با سلول‌های گروه کنترل مشاهده گردید (شکل ۴ (ب)). در سایر گروه‌های رنگ‌آمیزی شده تغییر معناداری در ابعاد سلول‌های تحت تابش در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد.

تحلیل آماری نتایج حاصل از توپوگرافی سطح سلول‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد پارامتر ارتفاع سلول پس از گذشت ۷۲ ساعت از قرار گرفتن در معرض پرتوهای لیزری به صورت معناداری تغییر می‌نماید ($P<۰/۰۵$). لیکن مطابق شکل ۵، تنها ارتفاع سلول‌ها بعد از تابش لیزر ۵۳۲ نانومتر در مقایسه با گروه تابش ندیده به شکل معناداری با میانگین ۲۳٪ کاهش یافت و سایر گروه‌های تابش‌دیده در مقایسه با گروه کنترل تغییر معناداری در این پارامتر از خود نشان ندادند.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]



شکل ۴. نتایج تحلیل ابعاد سلول های MG-63 رنگ آمیزی شده ۷۲ ساعت پس از تابش لیزرهای کم توان: الف) محیط سلول ها ب) مساحت سلول ها. در این جا علامت * به معنای تمایز معنادار آماری بین گروه تابش لیزری با گروه کنترل می باشد.



شکل ۵. نتایج تحلیل ارتفاع سلول های MG-63 رنگ آمیزی شده ۷۲ ساعت پس از تابش لیزرهای کم توان. در این جا علامت * به معنای تمایز معنادار آماری بین گروه تابش لیزری با گروه کنترل می باشد.

در پی اجرای پروتکل پردازش تصاویر آنالیز طیف فرکتال برای سلول‌های تجمیع‌یافته در هر گروه، پارامتر بعد فرکتال به کمک نرم‌افزار مربوطه استخراج گردید و نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. یافته‌های حاصله افزایش معنادار پارامتر بعد فرکتال سلول‌ها را در پی اعمال سه لیزر ۵۳۲ نانومتر، ۷۸۰ نانومتر و ۶۵۰ نانومتر با توان ۱۵۰ میلی‌وات در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند.

جدول ۱. نتایج تحلیل بعد فرکتال سلول های MG-63 رنگ آمیزی شده ۷۲ ساعت پس از تابش لیزرهای کم توان. در این جا علامت † به معنای تمایز معنادار آماری بین گروه تابش لیزری با گروه کنترل می باشد.

گروه مطالعه	گروه کنترل	۵۳۲ نانومتر (۲۵ میلی وات)	۶۵۰ نانومتر (۳ میلی وات)	۶۵۰ نانومتر (۱۵۰ میلی وات)	۷۸۰ نانومتر (۷۰ میلی وات)	P-عدد
بعد فرکتال	۱/۷۱±۰/۰۶	†۱/۸۱±۰/۰۷	۱/۸۲±۰/۱۱	†۱/۸۴±۰/۰۹	†۱/۸۹±۰/۰۲	۰/۰۲۱

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات انجام شده بر روی سلول‌های استئوسارکوما اغلب به بررسی پارامترهای بیولوژیک و زیستی نظیر تکثیرپذیری، تمایز، میزان سمیت و ارزیابی بیان ژن در پی تابش پرتوهای لیزر کم‌توان پرداخته‌اند [۴۰،۳۷،۲۲]. در مطالعه پیش رو در کنار ارزیابی پارامتر زیستی تکثیرپذیری به بررسی پارامترهای بیوفیزیکی این سلول‌ها نظیر محیط، مساحت، ارتفاع سلولی و بُعد فرکتال بر اساس پس از تابش پرتوهای لیزر کم‌توان پرداخته شده است.

در این پژوهش، تکثیرپذیری سلول‌های استئوسارکوما متعاقب تابش لیزرهای ۵۳۲ نانومتر با افزایش معناداری در مقایسه با سلول‌های تابش‌ندیده همراه گردید که این امر هم‌سو با نتایج مطالعه دیگری است که در سال ۲۰۱۶ ارائه شده است [۴۰]. بر خلاف لیزر ۵۳۲ نانومتر، لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۱۵۰ میلی‌وات موجب کاهش میزان تکثیرپذیری سلول‌های استئوسارکوما پس از ۷۲ ساعت شد. لازم به ذکر است نتایج مطالعات مشابه بعد از ۲۴ ساعت از تابش‌دهی، روند متفاوتی شامل افزایش تکثیر [۴۱،۸] و عدم تأثیر لیزر بر تکثیر [۴۱،۸] را در سلول‌های استئوسارکومای انسانی در پی تابانیدن این طول موج لیزر با توان‌های مختلف گزارش داده‌اند. این اختلاف در نتایج می‌تواند ناشی از اثرات بیولوژیکی پرتوهای لیزر در بازه زمانی بین ۲۴ تا ۷۲ ساعت پس از قرارگیری در معرض تابش بر رفتار بلندمدت سلول‌ها باشد. آن‌جایی که رده سلولی به کار گرفته شده در این مطالعه از نوع سرطانی می‌باشد، افزایش در میزان تکثیر جهت کاربردهای درمانی نامطلوب تلقی گردیده و لیزر ۵۳۲ نانومتر تأثیر مثبتی در روند درمانی نخواهد داشت. در حالی که طبق نتایج به دست آمده لیزر ۶۵۰ با توان ۱۵۰ میلی‌وات نظر به ایجاد کاهش در تکثیر سلولی می‌تواند در کاربردهای درمانی مفید باشد.

در بررسی پارامترهای بیوفیزیکی سلول‌ها پس از تابش لیزر با کمک تکنیک تصویربرداری کانفوکال از ساختار رنگ‌آمیزی شده اسکلت سلول‌ها، یافته‌های به دست آمده کاهش معنادار پارامترهای محیط را در سه گروه تابش‌گیری و مساحت سلول را در یک گروه تابش‌گیری نسبت به گروه

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]

سلول‌های تابش‌ندیده از خود به نمایش گذاشتند. هم‌چنین با نقشه‌برداری توپوگرافی سطح، در پارامتر ارتفاع سلول در پی تابش یک لیزر کاهش معناداری نسبت به سلول‌های تابش‌ندیده کاهش معناداری به لحاظ آماری ایجاد شد. با تحلیل این نتایج مشخص شد که از طرفی تابش لیزرهای کم‌توان صرفاً می‌تواند کاهش ابعاد فیزیکی سلول‌ها را در سه راستا در مقایسه با قبل از تابش‌دهی ایجاد نماید. از طرف دیگر تنها بعد از تابش لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۱۵۰ میلی‌وات کاهش ابعاد فیزیکی سلول در هیچ راستایی مشاهده نشد که این امر ممکن است با توان بالای این لیزر در مقایسه با سایر لیزرها در ارتباط باشد. اگر چه همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، این لیزر نیز کاهش تکثیر سلول‌های استئوسارکوما را سبب می‌شود.

مطالعات گذشته [۳۹،۳۸] نشان داده‌اند مساحت سلول‌ها بعد از تابش پرتوهای یونیزان به صورت معناداری در مقایسه با سلول‌های گروه کنترل افزایش می‌یابد. لیکن این امر در ارتباط با تابش پرتوهای لیزری در تحقیق حاضر در هیچ یک از گروه‌های سلولی مشاهده نشد که این امر می‌تواند ناشی از تفاوت مکانیسم‌های ایجاد آثار زیست‌شناختی در پرتوهای یونیزان و غیریونیزان باشد. نتایج این پژوهش نشان دادند تغییر معنادار مساحت صرفاً پس از تابش لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۳ میلی‌وات ایجاد با روند کاهشی می‌شود. از طرفی در این پژوهش آنالیز پارامتر محیط سلول‌های تابش‌دیده با سه لیزر نیز کاهش معنادار را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. لذا می‌توان نتیجه‌گیری نمود که بر خلاف پرتوهای یونیزان که افزایش محیط و ابعاد سلول‌ها را در تصاویر کانفوکال به نمایش می‌گذارند، تابش لیزرهای کم‌توان منجر به ایجاد رفتار بیوفیزیکی متفاوتی در سلول‌های سرطانی می‌شود. از طرفی مزیت دیگر این مطالعه در مقایسه با پژوهش‌های مشابه آنالیز نتایج در سه بعد و لحاظ نمودن راستای ارتفاع سلول مبتنی بر توپوگرافی سطح است که پیش‌تر از آن غفلت شده بود.

تجزیه و تحلیل نتایج طیف فرکتال نشان داد مجموعه در اغلب گروه‌های تحت درمان لیزرهای کم‌توان بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تابش‌دهی از منظر هندسه غیراقلیدسی به سمت نامنظم شدن در چیدمان تمایل پیدا می‌کنند که این امر در دو بعد یک مربع پر شده را در مقایسه با یک خط به ذهن متبادر می‌سازد. البته در این میان تنها بعد فرکتال سلول‌های تحت تابش لیزر ۶۵۰ نانومتر با توان ۳ میلی‌وات با سلول‌های گروه کنترل تمایز معناداری نداشت که این امر ممکن است با توان کم‌تر این لیزر در مقایسه با سایر لیزرها در ارتباط باشد و جالب آن که تابش لیزر فوق در درصد تکثیر سلول‌ها نیز تغییر معناداری ایجاد نکرده است. با مقایسه نتایج آنالیز طیف فرکتال با نتایج تغییر در اندازه سلول‌های استئوسارکومای درمان شده با لیزرهای کم‌توان به نظر می‌رسد که حساسیت پاسخ پارامتر بعد فرکتال نسبت به سایر پارامترها که برآمده از هندسه اقلیدسی هستند در تشخیص تغییرات در پیکربندی چینش سلول‌ها بیش‌تر است. از این‌رو از منظر فیزیک پزشکی این پارامتر را می‌توان به عنوان شاخصی مکمل در کنار سایر مولفه‌های علوم زیستی جهت پیش‌بینی روند درمانی سلول‌های استئوسارکومای انسانی با پرتوهای لیزری کم‌توان مطرح نمود.

طی مطالعه‌ای مشابه Guz و همکاران [۴۲] با انجام مقایسه تطبیقی بین بعد فرکتال سلول‌های اپیتلیال انسانی سالم و سرطانی به کمک میکروسکوپ نیروی اتمی استنتاج نمودند که مقدار عددی بعد فرکتال سلول‌های سرطانی و در نتیجه عدم نظم‌پذیری در استقرار آن‌ها به صورت معناداری در مقایسه با سلول‌های سالم بیش‌تر است. از طرفی نتایج پژوهش حاضر نشان داد با اعمال مولفه درمانی لیزر بر سلول‌های سرطانی عدم نظم بیش‌تری نیز در چیدمان سلول‌های سرطانی ایجاد می‌شود. هم‌چنین مطالعه Betancourt-Mar و همکاران [۴۳] نشان داد روند معناداری میان تغییر بعد فرکتال و میزان رشد سلول‌های توموری انسانی با رفتار دینامیکی آن‌ها وجود دارد. از این‌رو بر اساس نتایج مطالعه ذکر شده و پژوهش حاضر پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی هم‌بستگی میان تغییر بعد فرکتال و میزان رشد سلول‌های سرطانی انسانی با رفتار دینامیکی آن‌ها در پی درمان با پرتوهای لیزر کم‌توان نیز مورد بررسی و تحلیل قرار گیرند.

روند اجرای مطالعه حاضر با دو محدودیت همراه بود. محدودیت اول آن که افزایش ناچیز دما با تابش پیوسته پرتوهای لیزر اجتناب‌ناپذیر است که تاثیر آن در فرآیند تحلیل تصاویر کانفوکال قابل بررسی نیست. محدودیت دوم نیز معطوف به خطاهای احتمالی در کانتور دستی سلول‌ها به منظور تعیین محیط و مساحت است که این امر با حداقل سه بار تکرار در اندازه‌گیری‌ها، دقت مضاعف در هر مرحله اندازه‌گیری و گزارش نمودن میانگین نتایج برای هر سلول قابل صرف نظر می‌باشد.

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و افزایش تعداد مطالعاتی که امروزه قابلیت درمان سلول‌های سرطانی استئوسارکوما توسط تابش‌دهی با پرتوهای لیزر کم‌توان را مطرح نموده و موفقیت فرآیند درمان را ناشی از پدید آمدن اختلالاتی در روند تکثیر این سلول‌ها معرفی نموده‌اند، برآورد تغییر پارامترهای فیزیکی برآمده از هندسه اقلیدسی و غیراقلیدسی مبتنی بر پردازش تصاویر نیز به عنوان یک معیار پیش‌آهنگ کمکی در کنار تعیین رفتار زیستی و ژنتیکی سلول‌ها برای بررسی‌های آتی پیشنهاد می‌شود.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]

تشکر و قدردانی

این تحقیق توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان به عنوان طرح مصوب به شماره ۱۷۰۹ مورد حمایت قرار گرفت و بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیک پزشکی آقای امین براتی شورچه می‌باشد.

منابع

[1] Duarte FJ, Hillman LW. Dye laser principles: With applications. Boston, Mass: Academic Press; 1990.
[2] Duarte FJ. Tunable laser Applications. 2016. https://doi.org/10.1201/b19508
[3] Feliks Przylipiak A, Galicka E, Donejko M, Niczyporuk M, Przylipiak J. Acomparative study of internal laser-assisted and conventional liposuction: A look at the influence of drugs and major surgery on laboratory postoperative values. Drug Des Dev Ther 2013; 7: 1195-1200. https://doi.org/10.2147/DDDT.S50828
[4] Lasers for medical applications: Woodhead Publishing Limited; 2013.
[5] Duarte FJ. Tunable laser Applications. 2009. https://doi.org/10.1201/9781420060584
[6] Peng Q, Juzeniene A, Chen J, Svaasand L, Warloe T, Giercksky KE, Moan J. Lasers Medicine. Rep Prog Phys 2008; 71: 05670. https://doi.org/10.1088/0034-4885/71/5/056701
[7] Duarte FJ, Hillman LW, Liao PF, Kelley P. Dye Laser Principles: With Applications. 2014.
[8] Ateş GB, Ak A, Garipcan B, Yüksel Ş, Gülsoy M, editors. Controversial effects of low level laser irradiation on the proliferation of human osteoblasts. Mechanisms for Low-Light Therapy X; International Society for Optics and Photonics 2015.
[9] Sonis ST, Hashemi S, Epstein JB, Nair RG, Raber-Durlacher JE. Could the biological robustness of low level laser therapy (Photobiomodulation) impact its use in the management of mucositis in head and neck cancer patients. Oral Oncol 2016; 54: 7-14. https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2016.01.005
[10] Laakso L, Claudia Renno A, McDonnell P, Parizotto N. The effects of laser irradiation on proliferation in osteosarcoma cell lines (MG63 and U2OS). 2007.
[11] Shamsi F. Nanotechnology application in cancer treatment. Koomesh 2019; 21: 579-589. (Persian).
[12] Ghodrati Z, Divsalar A. Biological properties, therapeutic and diagnostic applications of Samarium and Samarium nanoparticles. Koomesh 2021; 23: 20-38. (Persian). https://doi.org/10.29252/koomesh.23.1.20
[13] Lizarelli RF, Lamano-Carvalho TL, Brentegani LG. Histometrical evaluation of the healing of the dental alveolus in rats after irradiation with a low-powered GaAlAs laser. International Soc Opt Photo 1999; 3593: 49-56. https://doi.org/10.1117/12.348360
[14] Ueda Y, Shimizu N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. J Clin Laser Med Surg 2003; 21: 271-277. https://doi.org/10.1089/104454703322564479
[15] Ozawa Y, Shimizu N, Mishima H, Kariya G, Yamaguchi M, Takiguchi H, et al. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone formation in vitro. Int Soc Opt Photo 1995; pp: 281-288. https://doi.org/10.1117/12.207040
[16] Renno AC, McDonnell PA, Crovace MC, Zanotto ED, Laakso L. Effect of 830 nm laser phototherapy on osteoblasts grown in vitro on Biosilicate scaffolds. Photomed Laser Surg 2010; 28: 131-133. https://doi.org/10.1089/pho.2009.2487
[17] Amid R, Kadkhodazadeh M, Ahsaie MG, Hakakzadeh A. Effect of low level laser therapy on proliferation and differentiation of the cells contributing in bone regeneration. J Lasers Med Sci 2014; 5: 70-163.
[18] Khadra M, Rønold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanæs HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: An experimental study in rabbits. Clin Oral Implant Res 2004; 15: 325-332. https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2004.00994.x
[19] Silva Júnior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Pedreira Ramalho LM, Amadei Nicolau R. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: An experimental animal study. J Clin Laser Med Surg 2002; 20: 70-83. https://doi.org/10.1089/104454702753768061
[20] Torricelli P, Giavaresi G, Fini M, Guzzardella GA, Morrone G, Carpi A, Giardino R. Laser biostimulation of cartilage: In vitro evaluation. Biomed Pharmacother 2001; 55: 117-120. https://doi.org/10.1016/S0753-3322(00)00025-1
[21] Ueda Y, Shimizu N. Pulse irradiation of low-power laser stimulates bone nodule formation. J Oral Sci 2001; 43: 55-60. https://doi.org/10.2334/josnusd.43.55
[22] Crisan L, Soritau O, Baciut M, Baciut G, Crisan BV. The influence of laser radiation on human osteoblasts cultured on nanostructured composite substrates. Clujul Med 2015; 88: 224-32. https://doi.org/10.15386/cjmed-433
[23] Huertas RM, Luna-Bertos ED, Ramos-Torrecillas J, Leyva FM, Ruiz C, Garcia-Martinez O. Effect and clinical implications of the low-energy diode laser on bone cell proliferation. Biol Res Nurs 2014; 16: 191-196. https://doi.org/10.1177/1099800413482695
[24] Bloise N, Ceccarelli G, Minzioni P, Vercellino M, Benedetti L, De Angelis MG, et al. Investigation of low-level laser therapy potentiality on proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells in the absence/presence of osteogenic factors. J Biomedical Opt 2013; 18: 128-136. https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.12.128006
[25] Bayram H, Kenar H, Tasar F, Hasirci V. Effect of low level laser therapy and zoledronate on the viability and ALP activity of Saos-2 cells. Int J Oral Maxillofacial Surg 2013; 42: 140-146. https://doi.org/10.1016/j.ijom.2012.03.026
[26] Stein E, Koehn J, Sutter W, Schmidl C, Lezaic V, Wendtlandt G, et al. Phenothiazine chloride and soft laser light have a biostimulatory effect on human osteoblastic cells. Photomed Laser Surg 2009; 27: 71-77. https://doi.org/10.1089/pho.2008.2265
[27] Chellini F, Sassoli C, Nosi D, Deledda C, Tonelli P, Zecchi-Orlandini S, et al. Low pulse energy Nd:YAG laser irradiation exerts a biostimulative effect on different cells of the oral microenvironment: "an in vitro study". Lasers Surg Med 2010; 42: 527-539. https://doi.org/10.1002/lsm.20861
[28] Pyo SJ, Song WW, Kim IR, Park BS, Kim CH, Shin SH, et al. Low-level laser therapy induces the expressions of BMP-2, osteocalcin, and TGF-beta1 in hypoxic-cultured human osteoblasts. Lasers Med Sci 2013; 28: 543-550. https://doi.org/10.1007/s10103-012-1109-0
[29] Medina-Huertas R, Manzano-Moreno FJ, De Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, Garcia-Martinez O, Ruiz C. The effects of low-level diode laser irradiation on differentiation, antigenic profile, and phagocytic capacity of osteoblast-like cells (MG-63). Laser Med Sci 2014; 29: 1479-1484. https://doi.org/10.1007/s10103-014-1557-9
[30] Kara C, Selamet H, Gökmenoğlu C, Kara N. Low level laser therapy induces increased viability and proliferation in isolated cancer cells. Cell Prolif 2018; 51: e12417. https://doi.org/10.1111/cpr.12417
[31] Guo Q, Xia Y, Sandig M, Yang J. Characterization of cell elasticity correlated with cell morphology by atomic force microscope. J Biomech 2012; 45: 304-309. https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.10.031
[32] Ghazanfari S, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA. Effects of cyclic stretch on proliferation of mesenchymal stem cells and their differentiation to smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 2009; 388: 601-605. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.08.072

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]

[33] García R, Pérez R. Dynamic atomic force microscopy methods. Surf Sci Rep 2002; 47: 197-301. https://doi.org/10.1016/S0167-5729(02)00077-8

[34] Rubin E, Davis S, Bucher I. Multidimensional topography sensing simulating an AFM. Sens Actuat A: Physical 2020; 303: 111690. https://doi.org/10.1016/j.sna.2019.111690

[35] Györgyey Á, Ungvári K, Kecskeméti G, Kopniczky J, Hopp B, Oszkó A, et al. Attachment and proliferation of human osteoblast-like cells (MG-63) on laser-ablated titanium implant material. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2013; 33: 4251-4259. https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.06.020

[36] Incerti Parenti S, Checchi L, Fini M, Tschon M. Different doses of low-level laser irradiation modulate the in vitro response of osteoblast-like cells. J Biomed Opt 2014; 19: 108002. https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.10.108002

[37] Mikami R, Mizutani K, Aoki A, Tamura Y, Aoki K, Izumi Y. Low-level ultrahigh-frequency and ultrashort-pulse blue laser irradiation enhances osteoblast extracellular calcification by upregulating proliferation and differentiation via transient receptor potential vanilloid 1. Lasers Surg Med 2018; 50: 340-352. https://doi.org/10.1002/lsm.22775

[38] Mohammadkarim A, Mokhtari-Dizaji M, Kazemian A, Saberi H, Khani MM, Bakhshandeh. Dose-dependent 60Co γ-radiation effects on human endothelial cell mechanical properties. Cell Biochem Biophys 2019; 77: 179-186. https://doi.org/10.1007/s12013-018-0864-3

[39] Mohammadkarim A, Mokhtari-Dizaji M, Kazemian A, Saberi H, Khani MM, Bakhshandeh. The mechanical characteristics of human endothelial cells in response to single ionizing radiation by using micropipette aspiration technique. MCB Mol Cell Biomech 2019; 16: 275-287. https://doi.org/10.32604/mcb.2019.06280

[40] Merigo E, Bouvet-Gerbettaz S, Boukhechba F, Rocca JP, Fornaini C, Rochet NJ, Biology PB. Green laser light irradiation enhances differentiation and matrix mineralization of osteogenic cells. J Photochem Photobiol B 2016; 155: 130-136. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.12.005

[41] Schwartz-Filho HO, Reimer AC, Marcantonio C, Marcantonio E Jr., Marcantonio RA. Effects of low-level laser therapy (685 nm) at different doses in osteogenic cell cultures. Lasers Med Sci 2011; 26: 539-543. https://doi.org/10.1007/s10103-011-0902-5

[42] Guz NV, Dokukin ME, Woodworth CD, Cardin A, Sokolov I. Towards early detection of cervical cancer: Fractal dimension of AFM images of human cervical epithelial cells at different stages of progression to cancer. Nanomedicine 2015; 11: 1667-1675. https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.04.012

[43] Betancourt-Mar JA, Llanos-Pérez JA, Cocho G, Mansilla R, Martin RR, Montero S, Nieto-Villar JM. Phase transitions in tumor growth: IV relationship between metabolic rate and fractal dimension of human tumor cells. Phys A Stat Mechanic Appl 2017; 473: 344-351. https://doi.org/10.1016/j.physa.2016.12.089

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]

Koomesh -Volume 23, Issue 5 (September and October 2021), 548-555

Fractal dimension analysis and surface topography mapping to investigate the effects of low-level laser therapy on the physical behavior of osteosarcoma MG-63 cells

Amin Barati Shoorche (M.Sc)[1], Alireza Mohammadkarim (Ph.D)[*1], Majid Jadidi (Ph.D)[1], Marjan Bahraminasab (Ph.D)[2,3], Hamidreza Sameni (Ph.D)[3]

1 – Dept. of Medical Physics, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 - Nervous System Stem Cells Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3- Dept. of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 23 33611587 mohammadkarim.medphys@gmail.com Received: 4 Jan 2021; Accepted: 11 May 2021

***Introduction**:* Previous studies indicated that the low-level laser therapy has an effective role in modulation behavior of human osteosarcoma cells, which leads to change of cell proliferation, differentiation and adhesion. The aim of this study was to evaluate the effects of low-level laser therapy on the biophysical behavior of osteosarcomas based on the surface topographic mapping and fractal dimension analysis.

***Materials and Methods**:* Human osteosarcoma MG-63 Cells were cultured in DMEM-F12 with 10% FBS and were exposed by laser beams after reaching to confluence of 80% in the fourth passage. The lasers with characteristics of 532nm with the power of 25mW, 650nm with powers of 3mW and 150mw and 780nm with the power of 70mW were implemented for irradiation within 8 minutes and cell proliferation was assessed 72h after exposure time. In the next step, cell size changes in three dimensions were evaluated by using surface topographic mapping with atomic force microscopy and confocal imaging and fractal dimension analysis was performed by using the processing of confocal images.

Results: The laser irradiation causes significant changes in proliferation, height, perimeter and area of osteosarcomas. Moreover, except 3mW laser, all of them create significant changes in fractal dimension compared with the non-irradiated cells.

Conclusion: Assessing the fractal dimension besides the evaluation of three-dimensional cell sizes can be considered as a reliable index for the prognosis of the osteosarcomas response to low-level laser therapy.

***Keywords**:* Low-Level Laser Therapy, Osteosarcoma, Surface Topography Mapping, Fractal.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.5.548]