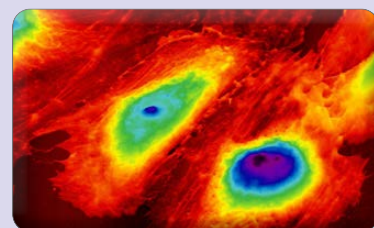


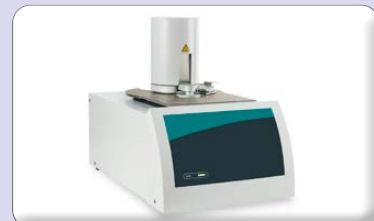
دانش آزمایشگاهی ایران

سال سیزدهم ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۴ ■ شماره پیاپی ۴۹

ISSN 2538-3450



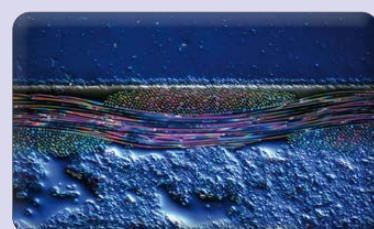
کاربرد میکروسکوپ نیروی اتمی در تحقیقات زیستی؛ با مروری بر کاربرد آن در دندانپزشکی محافظه کارانه و اندودنتیکس



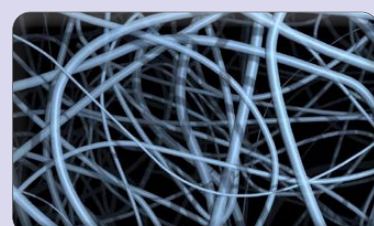
گرماسنجی روبشی تفاضلی - تجزیه گرمایی روش‌هایی برای تشخیص‌یابی بسیار



چگونه انتخاب کنید، کیفیت تصاویر TEM را تعیین می‌کند؟



روش‌های استفاده از رنگ و معرف‌های رنگی در آماده‌سازی نمونه‌های متالوگرافی



تهیه ابرجاذب پلیمری پلی‌اکریلیک اسید/ پلی‌وینیل الکل به روش الکتروریسی بدون نازل و بررسی عوامل موثر دستگاهی بر مورفولوژی آن

کاربردهای میکروسکوپ
الکترونی عبوری به همراه
هوش مصنوعی در حوزه‌های
علمی و صنعتی مختلف

اعتبار ویژه حمایتی شبکه آزمایشگاهی برای شرکت‌های دانش‌بنیان نوپا

پیگیری توسعه شبکه‌سازی آزمایشگاه‌ها در برنامه‌های جمعی

نویسندگان

فاطمه بهرامی^۱، منا مختارپور^۱سیده مهدیه هاشمی^{۲*}

۱. آزمایشگاه جامع تحقیقات شمال کشور، دانشگاه علوم

پزشکی مازندران

۲. مدیر آزمایشگاه جامع تحقیقات شمال کشور، دانشگاه

علوم پزشکی مازندران

*hashemi325@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۱

کاربرد میکروسکوپ نیروی اتمی در تحقیقات زیستی؛ با مروری بر کاربرد آن در دندانپزشکی محافظه کارانه و اندودنتیکس

چکیده

میکروسکوپ نیروی اتمی به یکی از پرکاربردترین ابزارهای تصویربرداری در حوزه‌های فیزیک، زیست‌شناسی و علوم مواد تبدیل شده‌است. این روش مبتنی بر نقشه‌برداری از میدان نیروی اتمی روی سطح مواد با استفاده از پروب‌های غیرمخرب است و امکان بررسی دقیق توپوگرافی و ایجاد تصویر سه‌بعدی از سطح نمونه را فراهم می‌کند. یکی از مزایای اصلی میکروسکوپ نیروی اتمی انعطاف‌پذیری شرایط استفاده از آن است، به‌طوری که تصویربرداری با این روش هم در محیط معمولی و هم در مایع با کمترین کاهش در وضوح انجام می‌شود. میکروسکوپ نیروی اتمی یک روش توپولوژیکی سه‌بعدی با وضوح اتمی بالا برای سنجش سختی سطح و همچنین نوعی میکروسکوپ پروب روبشی است و روش میدان نزدیک آن براساس تعامل بین یک پروب و اتم‌های سطح نمونه عمل می‌کند. روش‌های متعددی برای اصلاح پروب این میکروسکوپ وجود دارد که به بررسی ویژگی‌های سطحی از جمله اندازه‌گیری اصطکاک، نیروهای چسبندگی، خواص ویسکوالاستیک، تعیین مدول یانگ و تصویربرداری از خواص مغناطیسی یا الکترواستاتیکی کمک می‌کند. این روش قادر است هر نوع نمونه‌ای به‌عنوان مثال، پلیمرها، مولکول‌های جذب شده، فیلم‌ها، الیاف و پودرها را در هوا،

در یک محیط کنترل شده و یا در یک محیط مایع تحلیل کند. در دهه گذشته، میکروسکوپ نیروی اتمی به‌عنوان ابزاری قدرتمند برای دستیابی به جزئیات نانو ساختاری و خواص زیست‌مکانیکی نمونه‌های زیستی مانند مولکول‌های زیستی و سلول‌ها ظهور کرده است.

واژه‌های کلیدی

میکروسکوپ نیروی اتمی، دندانپزشکی محافظه کارانه، اندودنتیکس، دندانپزشکی، فیلم زیستی، توپوگرافی سطح.

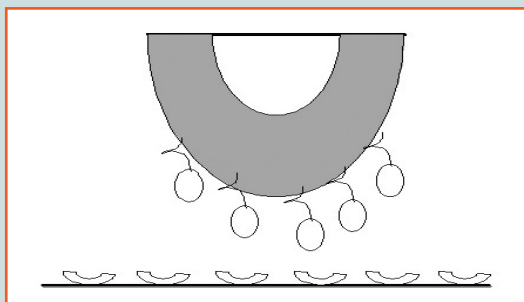
میکروسکوپ نیروی اتمی^۱ یک فناوری تصویربرداری چندکاره است که به مشاهده نمونه‌های زیستی از مولکول‌های منفرد تا سلول‌های زنده کمک می‌کند. AFM نوعی میکروسکوپ پویشگر با وضوح بسیار بالا محسوب می‌شود. این ابزار را می‌توان برای مطالعه، بررسی و تحلیل هر نوع سطحی از جمله پلیمرها، سرامیک‌ها، کامپوزیت‌ها، شیشه و نمونه‌های زیستی به کار برد. این روش به‌عنوان یک روش تصویربرداری غیر نوری سه‌بعدی توپوگرافیک توسعه یافت و اولین بار توسط بینینگ و گویت در سال ۱۹۸۶ ارائه شد [۱]. طی دهه‌های گذشته، میکروسکوپ نیروی اتمی به‌عنوان ابزاری برای بررسی جزئیات نانو ساختاری و ویژگی‌های زیست‌مکانیکی نمونه‌های زیستی مختلف ظهور کرده است. AFM می‌تواند برای مطالعه و اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی غشای سلول‌ها، سفتی سلولی، چسبندگی و ویسکوالاستیسیته (خواص رئولوژیکی سلول) مورد استفاده قرار گیرد. میکروسکوپ نیروی اتمی به‌طور گسترده برای بررسی سازوکار تراکم DNA و تحلیل ژن استفاده شده است. داده‌های اخیر نشان می‌دهند که از AFM در تحقیقات و تشخیص سرطان و همچنین برای بررسی ساختار فوق‌ریز سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود [۲].

AFM کاربردهای گسترده‌ای در رشته دندانپزشکی دارد و می‌تواند برای تحلیل توپوگرافی سطح دندان استفاده شود؛ به‌عنوان مثال، برای بررسی شیمی مینای دندان، عاج و مواد مختلف دندانی به کار می‌روند. بررسی توپوگرافی ضایعات غیر پوسیده با AFM به ما کمک می‌کند تا خواص مکانیکی و ویسکوالاستیک انواع ضایعات غیر پوسیده را بهتر درک کنیم. همچنین این روش می‌تواند برای تحلیل توپوگرافی سطح مواد مختلف دندانی به کار رود. میکروسکوپ نیروی اتمی می‌تواند برای بررسی نمونه‌های زیست‌فیلم دندانی استفاده شود؛ که در نتیجه، به ارزیابی مورفولوژی (ریخت‌شناسی) سلول‌های باکتریایی، برهم‌کنش‌ها و دینامیک آن‌ها به‌عنوان فیلم زیستی کمک می‌کند [۳].

میکروسکوپ نیروی اتمی نوعی میکروسکوپ پروبی اسکن کننده است که به جای استفاده از الکترون‌ها یا پرتو نور، از یک پروب بسیار ظریف برای بررسی سطح استفاده می‌کند (شکل (۱)).



شکل (۱): میکروسکوپ نیروی اتمی برای اندازه‌گیری کشسانی [۴].



شکل (۲): پروب اصلاح شده میکروسکوپ نیروی اتمی [۴].

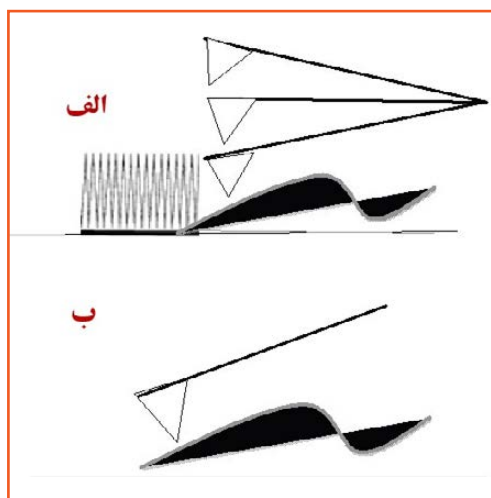
این نوع میکروسکوپ، نقشه‌های سه‌بعدی از سطوح ارائه می‌دهد. AFM دارای یک پروب (سوزن) است که می‌توان آن را به روش‌های مختلف تغییر داد تا خواص سطح را بررسی کند؛ بنابراین، نسخه‌ای پیشرفته‌تر از میکروسکوپ تونلی روبشی^۲ محسوب می‌شود که قادر است به‌طور تقریبی هر نوع سطحی را در مقیاس نانو تصویربرداری کند (شکل (۲)) [۴].

□ اصول AFM

به سطح نزدیک‌تر است. این حالت برای بهبود وضوح جانبی نمونه‌های نرم شناخته شده است.

♦ مدولاسیون نیرو: در این حالت، شیب منحنی به صورت نیرو - فاصله اندازه‌گیری می‌شود که به کشسانی نمونه مربوط می‌شود.

♦ تصویربرداری فازی: در این حالت، تغییر فاز نوسان کانتیلور نسبت به سیگنال محرک اندازه‌گیری می‌شود. این تغییر فاز می‌تواند با ویژگی‌های خاص مواد که بر تعامل نوک/نمونه تأثیر می‌گذارند، مرتبط شود. تغییر فاز می‌تواند برای تمایز نواحی مختلف روی نمونه با ویژگی‌های متفاوت مانند اصطکاک، چسبندگی، ویسکوزیته و کشسانی استفاده شود [۸].



شکل (۳): مقایسه بین دو نوع میکروسکوپ نیروی اتمی اسکن کننده: (الف): حالت ضربه زنده، (ب): حالت تماسی. به‌طور معمول نوع اول، تغییر فرم نمونه را کاهش می‌دهد [۴].

□ مزایای AFM در زیست‌شناسی و ژنتیک

در دهه گذشته، میکروسکوپ نیروی اتمی به‌عنوان ابزاری قدرتمند برای بررسی جزئیات نانوساختاری و ویژگی‌های زیست‌مکانیکی نمونه‌های زیستی شامل مولکول‌های زیستی و سلول‌ها ظهور کرده است [۹ تا ۱۲]. این دستگاه می‌تواند تغییرات در خواص مکانیکی غشای سلولی [۱۰]، سفتی سلول [۱۱] و ویسکوالاستیسیته سلول [۱۲] را اندازه‌گیری کند. همچنین، طیف‌سنجی نیروی مبتنی بر AFM به‌ویژه برای ارزیابی چسبندگی سلولی [۱۳] مناسب است و می‌تواند سلول‌ها را کشش دهد، به این ترتیب امکان اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی آنها را فراهم می‌کند (شکل (۴)). مهم‌ترین مزیت روش AFM در زیست‌شناسی، مطالعه نمونه‌های زیستی به‌طور مستقیم در محیط طبیعی آنهاست، به‌ویژه در محلول‌های بافر در شرایط محیط آزمایشگاهی^۵، محیط طبیعی^۶ و حتی در بدن موجود زنده^۷ بدون نیاز به آماده‌سازی نمونه، که قبلاً کاری زمان‌بر بود [۱۴]. این دستگاه همچنین می‌تواند سطح سلول‌های زنده را تا نیروهای مولکولی تک در زمینه زیست‌شناسی سلولی تشخیص دهد. علاوه بر این، هیچ

سازوکار میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) براساس تشخیص نیروهایی است که بین یک پروب تیز و سطح نمونه عمل می‌کنند. این پروب که به‌عنوان سوزن AFM یا حسگر AFM شناخته می‌شود، به یک کانتیلور (نگهدارنده پروب) بسیار انعطاف‌پذیر متصل است. روش‌های مختلفی برای تشخیص حرکت کانتیلور وجود دارد و امروزه بیشتر AFM‌ها از سیستم نوری تشخیص پرتو لیزر استفاده می‌کنند. در این روش، نور لیزر از کانتیلور منعکس شده و به یک آشکارساز موقعیت حساس (فتو دیود) می‌تابد. نوک‌های AFM و کانتیلورها با استفاده از فناوری‌های میکرومکانیکی از سیلیکا یا نیتريد سیلیکون ساخته می‌شوند که باید با سطح مورد نظر در تماس یا نزدیک تماس باشند. نیروهای بسیار کوچکی بین پروب و سطح ایجاد می‌شوند که از طریق پروب به سطح منتقل شده و این نیروها امکان ثبت انحراف کانتیلور توسط دستگاه AFM را فراهم می‌کنند. انحراف کانتیلور به‌عنوان «سختی کانتیلور» شناخته می‌شود که با قانون هوک قابل اندازه‌گیری است. این سختی به‌صورت بصری ثبت شده و در زمان واقعی روی کامپیوتر قابل مشاهده است [۵].

□ حالت‌های عملکرد AFM

♦ حالت تماس: این حالت به‌طور گسترده‌ای در بین روش‌های مختلف میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) استفاده می‌شود. در این حالت، سوزن AFM به‌طور واقعی با سطح نمونه در تماس است (شکل (۳)) [۶].

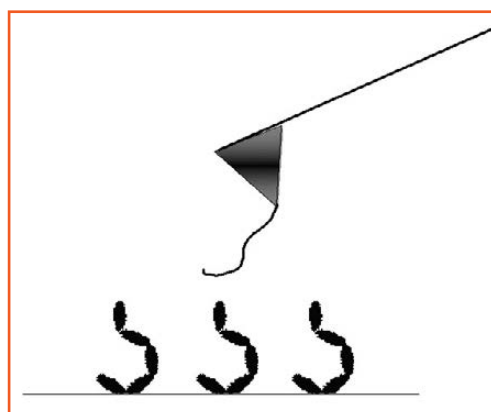
♦ نیروی میکروسکوپی جانبی^۳ به‌عنوان یکی از حالت‌های تصویربرداری در میکروسکوپی نیروی اتمی (AFM) شناخته می‌شود. در این روش، نواحی با نیروهای اصطکاکی بالا و پایین اندازه‌گیری می‌شوند. این روش، خمیدگی جانبی کانتیلور را که ناشی از نیروهای اصطکاکی میان نوک پروب و سطح نمونه است، ثبت می‌کند. به همین دلیل، این روش گاهی به‌عنوان میکروسکوپ نیروی اصطکاکی^۴ نیز شناخته می‌شود.

♦ در حالت نانوتماس، کانتیلور در فاصله‌ای بالاتر از سطح نمونه نوسان می‌کند که در این حالت، نوک کانتیلور دیگر در نظام دفعی نیروهای بین مولکولی قرار ندارد بلکه در نظام جذبی قرار دارد. عملکرد تصویربرداری نانوتماس در شرایط محیطی بسیار دشوار است، زیرا یک لایه نازک آب روی نوک کانتیلور و سطح نمونه وجود دارد. هنگامی که نوک کانتیلور به سطح نمونه نزدیک می‌شود، یک پل مویین کوچک بین نوک و نمونه ایجاد و باعث می‌شود نوک پروب به سطح «پرش کند» و تماس برقرار شود (شکل (۳)) [۷].

♦ نیروی پویا/تماس متناوب: این روش به‌عنوان حالت تپشی (تپینگ) نیز شناخته می‌شود. سوزن AFM به سطح می‌زند و یا آن را لمس می‌کند و نسبت به حالت نانوتماس

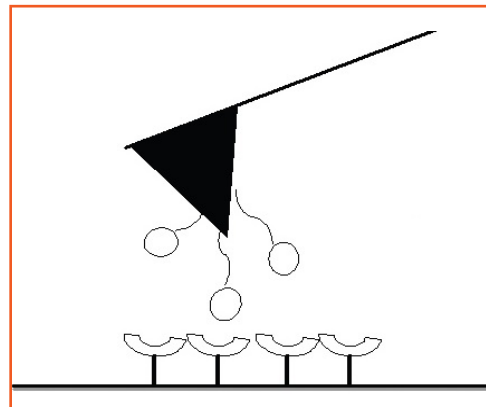
از هیدرولیز آنزیمی می‌تواند با استفاده از حالت تصویربرداری فازی میکروسکوپ نیروی اتمی انجام شود؛ با این حال، در پژوهش انجام شده توسط لیو و همکاران، هیدرولیز سلولز با استفاده از AFM تعیین شد [۲۹]. مشاهده مستقیم فعالیت آنزیم با میکروسکوپ نیروی اتمی امکان‌پذیر است. در یک مطالعه، نوسانات ارتفاع در سطح پروتئین لیزوزیم که روی سطح میکا جذب شده بود، به صورت محلی با AFM در حالت ضربه‌ای و در محیط مایع اندازه‌گیری شد. این نوسانات ارتفاع که اندازه‌ای حدود ۱ نانومتر داشتند و حدود ۵۰ میلی‌ثانیه طول می‌کشیدند، در حضور یک بستر آماده مانند پلی‌گلیکوزیدها روی مولکول‌های لیزوزیم مشاهده شدند. در حضور بازدارنده‌ای مانند چیتوبیوز، این نوسانات ارتفاع به سطحی کاهش یافتند که مشابه حالتی بود که پلی‌گلیکوزید وجود نداشت. ساده‌ترین تفسیر از این نتایج این است که نوسانات ارتفاع مربوط به تغییرات ساختاری لیزوزیم در حین هیدرولیز هستند [۲۹].

تعامل بین میکروب‌ها و تشکیل فیلم‌های زیستی روی سطوح، پیامدهای گسترده‌ای در پزشکی و دندانپزشکی دارد. تشخیص یا شناسایی سطوح میکروبی و اندازه‌گیری مستقیم نیروهای مولکولی و خواص فیزیکی از دیگر کاربردهای پزشکی میکروسکوپ نیروی اتمی هستند. سطح میکروبی، موضوع تحقیقات گسترده علمی بوده است؛ با این حال، این فناوری به تازگی امکان مطالعه کمی تعاملات مولکولی را فراهم کرده است. بنابراین، AFM نه تنها تصویربرداری با وضوح بالا از سطوح میکروبی را ممکن می‌سازد، بلکه اندازه‌گیری مستقیم نیروهای مولکولی و خواص فیزیکی موجود در سطح میکروبی مورد نظر را نیز ارائه می‌دهد [۳۰]. همچنین AFM به لطف نانوپروب خود در ژنتیک برای شناسایی mRNA در سلول‌های زنده استفاده می‌شود. اونوسورگ^{۱۰} و همکارانش^{۱۱} با استفاده از AFM در حالت دینامیک، ویروس‌های پاکس، سلول‌های زنده و mRNA مربوط به هسته آنها را مطالعه کردند [۳۱]. دانلاپ و همکارانش فرآیندهای دینامیکی سازوکار تشکیل تراکم DNA را مورد مطالعه قرار دادند تا دیدگاه بهتری نسبت به سینتیک این فرآیند ارائه دهند [۳۲]. این تحقیق می‌تواند به درک مهمی در زمینه انتقال ژن منجر شود (شکل (۵)).



شکل (۵): مطالعه DNA با میکروسکوپ نیروی اتمی [۴].

محدودیتی در انتخاب نوع محیط، چه آبی و چه غیرآبی، دمای نمونه یا ترکیب شیمیایی نمونه وجود ندارد. مدولیت AFM تنها محدودیت را برای برخی از محیط‌های شفاف دارد که ممکن است نور لیزر را از خود عبور دهد [۱۵ تا ۱۹].



شکل (۴): برهم‌کنش‌های مولکولی از طریق پروب میکروسکوپ نیروی اتمی [۴].

AFM موفقیت‌هایی را در مطالعه ساختارهای DNA در مقیاس نانو نشان داده است که می‌تواند در توسعه ابزار انتقال ژن موثرتر شود. محققان از بسیاری از مزایای AFM استفاده می‌کنند؛ به عنوان مثال، وضوح بالا، آماده‌سازی ساده نمونه، بررسی سریع، تصویربرداری غیر مخرب و همچنین توانایی عملکرد در مایعات و بررسی سازوکارهای تراکم DNA و مواد مختلف بسته‌بندی ژن [۲۰ و ۲۱]. بسیاری از روش‌های تعیین بیان mRNA نیاز به استخراج RNA تام یا تثبیت سلولی دارند که مشکلاتی را در بررسی بیان mRNA در سلول‌های زنده بدون ایجاد مرگ سلولی ایجاد می‌کند. استفاده از روش AFM برای استخراج mRNA از مرگ سلولی جلوگیری می‌کند [۲۲]. لنفوسیت‌ها سلول‌های دفاعی بدن هستند. تجزیه و تحلیل نانو ساختار و نانومکانیک لنفوسیت‌ها با استفاده از روش AFM از حالت استراحت و فعال شدن تا آپوپتوز به محققان در انجام مطالعات ایمنی‌شناسی کمک می‌کند [۲۳].

□ کاربردهای پزشکی و دارویی با روش AFM

AFM روشی نوین برای تشخیص ویژگی‌های غشاهای زیستی است که در دهه گذشته به طور گسترده در تحقیقات زیستی استفاده شده است. توانایی AFM در اسکن تعامل بین لایه‌های دوگانه لیپیدی پشتیبانی شده^۸ و دارو مزیت ویژه روش AFM است [۲۴ و ۲۵]. لکرک^۹ و همکاران تعامل بین آزیترومايسين (به عنوان یک آنتی‌بیوتیک) و SLBs را که روی میکا پشتیبانی شده بود با استفاده از AFM تصویربرداری کردند [۲۶] و گوانگ یانگ و همکاران پروتئین‌های غشایی را که نقش ویژه‌ای در غشای سلولی دارند، مطالعه کردند [۲۷]. بررسی پروتئین‌های غشایی با استفاده از AFM یک زمینه تحقیقاتی جدید برای مطالعه تعاملات بین مولکول‌ها در سطح مولکولی باز کرده است [۲۸]. تصویربرداری

به دلیل تثبیت و خشک کردن نمونه‌ها در میکروسکوپ الکترونی روبشی رخ می‌دهد جلوگیری می‌کند. هانینگ و همکارانش مطالعه‌ای با AFM طراحی کردند تا سطح لایه جذب شده پروتئین‌های بزاقی (پلیکول بزاقی) را که به طور زنده روی مینای دندان و سطوح شیشه‌ای تشکیل می‌شود، بررسی کنند [۳۸].

اسید اچ روشی است که برای ایجاد تخلخل‌های ریز در سطح مینا و عاج دندان استفاده می‌شود تا چسبندگی میکرومکانیکی کامپوزیت‌ها را بهبود بخشد (باعث ایجاد فضاهای میکروسکوپی در مینای دندان و افزایش زبری سطح می‌شود). در مطالعه‌ای جدید که توسط سانچزیا^{۱۲} و همکاران انجام شده‌است، مشخصات مینا و عاج گاوی پس از حکاکی با اسید با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی تصویربرداری شد [۳۹]. الفینیاتا^{۱۳} و همکاران از حالت تپشی AFM برای مطالعه انحلال و تغییر شکل کلژن دندانی استفاده کردند [۴۰]. از بین رفتن مواد معدنی در مینای انسان باعث ایجاد پوسیدگی دندانی می‌شود. ویژگی‌های مکانیکی مینای انسان که در محل از بین رفته است را می‌توان با استفاده از نانوذره‌زنی AFM اندازه‌گیری کرد [۴۱]. درمان با فلوراید یک روش حفاظتی برای جلوگیری از پوسیدگی دندانی در کودکان است. تأثیرات درمان با فلوراید بر حکاکی با اسید فسفریک در دندان‌های شیری توسط چوت^{۱۴} و همکاران با استفاده از حالت تماسی AFM مورد مطالعه قرار گرفته است [۴۲].

یکی از مهم‌ترین زمینه‌های دندانپزشکی مدرن، ایمپلنتولوژی است که می‌توان AFM را به‌عنوان ابزاری برای آزمایش زیست‌سازگاری مواد ایمپلنت با بررسی رفتار چسبندگی سلول‌های استئوبلاست در محیط آزمایشگاهی به کار گرفت. این روش امکان بررسی ریخت‌شناسی سلولی و خواص سیتومکانیکی سلول‌های زنده در مقیاس نانو را فراهم می‌کند. دومک^{۱۵} و همکاران به بررسی کاربرد مواد مختلف در ایمپلنتولوژی و کشسانی سلول‌های زنده پرداختند [۴۳]. همچنین یونگکا^{۱۶} و همکاران از یک نوع خاص از پروب AFM استفاده کردند که براساس رزونانس پلاسمون ذرات نانومتری طلا برای تشخیص زودهنگام کارسینوم سلول‌های سنگفرشی بود [۴۴]. رزونانس ذرات نانومتری می‌تواند تغییرات ریخت‌شناسی و مکانیکی را در مراحل بسیار اولیه تشخیص دهد. مقایسه مکانیک سلول‌های طبیعی و توموری می‌تواند اطلاعات جدیدی در مورد سازوکارهای تبدیل بدخیم ارائه دهد. همچنین به درک چگونگی تهاجم مکانیکی سلول‌ها به بافت طبیعی کمک می‌کند [۴۵]. در حال حاضر، تعداد کمی از مطالعات در این زمینه انجام شده‌است.

■ کاربردهای میکروسکوپ نیروی اتمی در دندانپزشکی ترمیمی

تحقیقات اخیر، از AFM به‌عنوان ابزار تحقیقاتی برای

یکی از کاربردهای دیگر روش میکروسکوپ نیروی اتمی در قلب‌شناسی است. افزایش سن باعث افزایش سختی سلول‌های عضله قلب می‌شود و این تغییرات می‌توانند با استفاده از فرورفتگی نانو در AFM اندازه‌گیری شوند. ساموئل و همکارانش با استفاده از AFM، تغییرات خواص مکانیکی سلولی را در مقیاس نانو در سلول‌های عضله قلب بررسی کردند [۳۳]. همچنین، اسکن اپتیلوم کلیه با AFM می‌تواند برای تشخیص زودهنگام بیماری‌های کلیوی مفید باشد [۳۴]. علاوه بر این، AFM در زمینه ارتوپدی نیز قابل استفاده است و تغییرات در توپولوژی سطح سلول‌های غضروفی که در معرض نیروهای مکانیکی قرار گرفته‌اند را می‌توان با این روش ارزیابی کرد. غضروف، متشکل از کندروسیت‌هایی است که در ماتریکسی از فیبرهای کلژن و در شبکه‌ای از پروتئوگلیکان‌ها قرار دارند که در طول حرکت عادی مفصل، به‌طور دائم در معرض نیروهای زیست‌مکانیکی قرار می‌گیرند. مشخص کردن مورفولوژی سطح، ساختار اسکلت سلولی، چسبندگی و خواص الاستیک این سلول‌های حساس به سازوکار در درک اثرات نیروهای مکانیکی اطراف یک سلول و چگونگی واکنش سلول به تغییرات محیط فیزیکی آن بسیار مهم است. داده‌های AFM نشان داده‌اند که تغییرات مشخصی در توپولوژی سطح سلول و آرایش اسکلت سلولی در سلول‌ها پس از درمان با نیروهای مکانیکی وجود دارد. تصویربرداری AFM و نیروهای کششی پویا ممکن است به غلبه بر اثر عوامل التهابی بر پاسخ غضروفی کمک کند [۳۵].

■ کاربرد AFM در دندانپزشکی

میکروسکوپ‌ها دریچه جدیدی را در حوزه علوم دندانپزشکی باز کرده‌اند. در میان آنها، AFM روش جدیدی است که می‌تواند نه تنها سطوح غیر زنده، بلکه سلول‌های زنده و محیط‌های پویا را نیز تصویر کند. در حال حاضر، بیماری‌های اندودنتیک بسیار شایع هستند. در زمینه درمان ریشه دندان، مناسب بودن جایگیری گوتا پرکا در دیواره‌های کانال بسیار مهم است. از AFM می‌توان برای مطالعه توپوگرافی نوک مخروط گوتا پرکا و به‌عنوان ابزاری قدرتمند و جدید برای ارزیابی مشخصات مستقیم سطوح مخروط گوتا پرکا به کار گرفته شود. کارولین و همکاران توپوگرافی بخش آپیکال چهار نوع مختلف گوتا پرکا را با استفاده از حالت نیروی جانبی AFM مورد مطالعه قرار دادند [۳۶].

پوسیدگی دندان یکی از بیماری‌های بسیار شایع امروزی است. این بیماری به دلیل تشکیل فیلم‌زیستی و کلونیزاسیون باکتری‌ها، (به‌طور عمده استرپتوکوک موتانس)، در پلاک‌های دندانی رخ می‌دهد. سارا و همکارانش عملکرد سطحی استرپتوکوک موتانس، که عامل اصلی ایجاد پوسیدگی دندان در انسان است، مورد مطالعه قرار دادند [۳۷].

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) ابزاری قدرتمند برای بررسی ساختار سطحی لایه بزاقی (پلیکول بزاقی) در حالت طبیعی و مرطوب آن است. این روش از ایجاد خطاهایی که

پرکا با ارائه ساختار سه بعدی نمونه، مورد استفاده قرار می گیرد [۳۶]. AFM برای اندازه گیری زبری سطح و قابلیت تر شوندگی دنتین کانال ریشه عاج دندان که تحت تأثیر محلول های شستشوی رایج اندودانتیکی مانند هیپوکلریت سدیم قرار گرفته است، استفاده می شود. همچنین، خواص ویسکوالاستیک عاج دندان پس از درمان با مواد شستشوی مختلف اندودانتیکی از طریق فناوری AFM قابل ارزیابی است [۵۱ و ۵۲]. AFM به طور گسترده برای ارزیابی توپوگرافی سطحی کیفی و کمی نیکل - تیتانیوم دستگاه های اندو (روتاری) استفاده می شود. تغییرات ویژگی های سطح روی نیکل - تیتانیوم دستگاه پس از مواجهه با مواد شستشو مختلف را می توان با میکروسکوپ نیروی اتمی بررسی کرد. این فناوری، اطلاعات دقیقی با عوامل قابل اندازه گیری درباره تغییرات و بی نظمی های احتمالی موجود در سطح ابزار ارائه می دهد. همچنین، تجزیه و تحلیل سطح NiTi ابزارهایی که در معرض عملیات های مختلف سطحی مانند سرما درمانی (کرایوتراپی)، پوشش اکسید و درمان های حرارتی قرار می گیرند موجب بهبود خواص عملکردی این ابزارها در اندودانتیکس می شوند [۵۳].

میکروسکوپی نیروی اتمی با مدولاسیون دامنه AM-AFM^{۱۷}، که به عنوان حالت ضربه ای AFM نیز شناخته می شود، یکی از انواع میکروسکوپی پروب اسکن است. AM-AFM توانایی اندازه گیری هم زمان مورفولوژی سطح و تغییرات ترکیبی سطح نقشه برداری شده را دارد. این نوع از AFM می تواند برای تحلیل قدرت چسبندگی مواد و همچنین برای شناسایی نانوذرات مورد استفاده قرار گیرد. نانوذرات، محبوبیت زیادی در زمینه اندودانتیکس برای ضد عفونی کردن کانال های ریشه دارند.

مطالعه فرسایش مینا و فرآیند دمنیرالیزاسیون (کاهش مواد معدنی مینای دندان) عاج استفاده می کنند. AFM می تواند برای تحلیل تغییرات توپوگرافیک و اثر محافظتی ناشی از عوامل بازمینرالیزه کننده (معدنی سازی مجدد دندان) جدید توسعه یافته به کار رود [۴۶]. میکروسکوپ نیروی اتمی امکان مشاهده میکرو مورفولوژی ضایعات سرویکال غیرپوسیدگی و همچنین پهنای عملکرد محل اتصال عاج و مینا در تاج آناتومیکی دندان را فراهم می کند. بررسی سطح عاج، لوله های عاجی و شبکه کلاژن در مقیاس نانو می تواند منجر به پیشرفت هایی در زمینه دندانپزشکی ترمیمی شود و مسیری برای اصلاح زیستی عاج فراهم کند [۴۷ و ۴۸]. میکروسکوپ نیروی اتمی امکان درک برهم کنش بین چسب های دندانی و بافت های سخت دندان، به عنوان مثال، مشخصه سازی لایه هیبریدی را فراهم می کند. از AFM می توان برای نانومشخصه سازی و تحلیل توپوگرافیک مواد دندانی جدید مانند ویژگی های ویسکوالاستیک (گرانروی کشسانی) و ویژگی های سطحی استفاده کرد [۴۹]. AFM ابزاری حیاتی برای بررسی فراساختار (ساختار بسیار ریز پروتوپلاسم) زیست فیلم ها و خواص زیست فیزیکی سطح سلول های باکتریایی یا کل سلول میکروبی است. این روش می تواند برای تحلیل چسبندگی باکتری ها به سایر میکروب ها، به ویژه بررسی دینامیک برهم کنش های بین گیرنده های سطحی و لیگاند های آنها به کار رود [۵۰].

□ کاربردهای AFM در حوزه اندودانتیکس

AFM در اندودانتیکس برای تحلیل ویژگی های سطحی گوتا

نتیجه گیری

فناوری AFM یک روش توپوگرافی سه بعدی با وضوح اتمی بالا برای اندازه گیری سختی و زبری است. نه تنها AFM می تواند اطلاعات جدیدی در مورد خواص سطح سلول مانند اندازه گیری نیروهای اصطکاک و چسبندگی و خواص ویسکوالاستیک ارائه دهد، بلکه می تواند مدول یانگ را تعیین و خواص مغناطیسی یا الکترواستاتیکی را تصویربرداری کند. علاوه بر این، AFM می تواند هر نوع نمونه را در هر محیطی تجزیه و تحلیل کند. در واقع، ویژگی برجسته AFM این است که می تواند هر نوع نمونه را به طور مستقیم در محیط طبیعی خود بدون نیاز به آماده سازی نمونه که زمان بر بوده و ممکن است خواص سطح را تغییر دهد، مطالعه کند. AFM ابزاری منحصر به فرد برای ارزیابی سطوح سلول های زنده و مرده در مقیاس نانو است و به این ترتیب دریچه جدیدی را برای مطالعه زمینه های مختلف مانند زیست شناسی سلولی، تشخیص تک مولکولی سطح، کیفیت مواد دندانی، تعامل مولکولی، درمان های پیشگیرانه دندانی و سازگاری زیستی ایمپلنت ها باز کرده است. توسعه بیشتر روش AFM رازهای تعاملات سلولی و مولکولی، سازوکارها و مکانیک ها را روشن خواهد کرد. میکروسکوپ نیروی اتمی به عنوان ابزاری مؤثر و همه کاره برای تحلیل توپوگرافی سطحی دندان و مواد مختلف دندانی در نظر گرفته می شود. تحقیقات انجام شده با استفاده از این روش می تواند به انتخاب مواد مناسب برای استفاده بالینی و بهبود روش های بالینی موجود کمک کند. افزایش روزافزون تعداد پژوهش ها در زمینه کاربرد میکروسکوپ نیروی اتمی در دندان پزشکی، نشان دهنده سودمندی و اثربخشی آن است.

پی‌نوشت

- | | |
|--|---|
| 1. Atomic Force Microscope (AFM) | 10. Ohnesorge |
| 2. scanning tunneling microscope (STM) | 11. Dunlap et al |
| 3. Lateral Force Microscopy (LFM) | 12. Sanchesea |
| 4. Friction force microscopy (FFM) | 13. ElFeninata |
| 5. in vitro | 14. Chot |
| 6. in situ | 15. Domek |
| 7. in vivo | 16. Yongkah |
| 8. Supported lipid bilayers (SLBs) | 17. Amplitude-Modulation Atomic Force Microscopy (AM-AFM) |
| 9. Lecrecq | |

مرجع

- [1] Binnig, G., C.F. Quate, and C. Gerber, Atomic force microscope. *Phys Rev Lett*, 1986. 56(9): p. 930-933.
- [2] Jayakumar, S., Application of atomic force microscopy in conservative dentistry and endodontics - A short review. *IP Indian Journal of Conservative and Endodontics*, 2023. 7: p. 160-162.
- [3] Silikas, N., et al., AFM as a tool in dental research. *Microscopy and Analysis*, 2001. 82: p. 19-21.
- [4] Vahabi, S., B. Nazemi Salman, and A. Javanmard, Atomic force microscopy application in biological research: a review study. *Iran J Med Sci*, 2013. 38(2): p. 76-83.
- [5] McClelland, G.M., R. Erlandsson, and S. Chiang. Atomic Force Microscopy: General Principles and a New Implementation. in *Review of Progress in Quantitative Nondestructive Evaluation*. 1987. Boston, MA: Springer US.
- [6] Wiesendanger, R., *Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy. Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy*, by Roland Wiesendanger, pp. 659. ISBN 0521418100. Cambridge, UK: Cambridge University Press, November 1994., 1994.
- [7] Piner, R.D., et al., "Dip-Pen" nanolithography. *Science*, 1999. 283(5402): p. 661-3.
- [8] Xia, Y. and G.M. Whitesides, Extending Microcontact Printing as a Microlithographic Technique. *Langmuir*, 1997. 13(7): p. 2059-2067.
- [9] Pelling, A.E., et al., Local nanomechanical motion of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Science*, 2004. 305(5687): p. 1147-50.
- [10] Hörber, J.K. and M.J. Miles, Scanning probe evolution in biology. *Science*, 2003. 302(5647): p. 1002-5.
- [11] Greenleaf, W.J., M.T. Woodside, and S.M. Block, High-resolution, single-molecule measurements of biomolecular motion. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2007. 36: p. 171-90.
- [12] Charras, G.T. and M.A. Horton, Single cell mechanotransduction and its modulation analyzed by atomic force microscope indentation. *Biophys J*, 2002. 82(6): p. 2970-81.
- [13] Dufrêne, Y.F., Using nanotechniques to explore microbial surfaces. *Nat Rev Microbiol*, 2004. 2(6): p. 451-60.
- [14] Jiang, Y., et al., Preparation and Characterization of Hollow Spheres with Cubic Mesoporous Shell. *Advanced Materials Research*, 2013. 785-786: p. 382-385.
- [15] Rabinovich, Y., et al., Atomic force microscopy measurement of the elastic properties of the kidney epithelial cells. *J Colloid Interface Sci*, 2005. 285(1): p. 125-35.
- [16] Mathur, A.B., G.A. Truskey, and W.M. Reichert, Atomic force and total internal reflection fluorescence micros-

copy for the study of force transmission in endothelial cells. *Biophys J*, 2000. 78(4): p. 1725-35.

[17] Hoh, J.H. and C.A. Schoenenberger, Surface morphology and mechanical properties of MDCK monolayers by atomic force microscopy. *J Cell Sci*, 1994. 107 (Pt 5): p. 1105-14.

[18] Berdyyeva TK, Woodworth CD, Sokolov I. Human epithelial cells increase their rigidity with ageing in vitro: direct measurements. *Phys Med Biol*. 2005;50:81-92.

[19] Zhao, L., D. Schaefer, and M.R. Marten, Assessment of elasticity and topography of *Aspergillus nidulans* spores via atomic force microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 2005. 71(2): p. 955-60.

[20] Osada, T., et al., Clinical laboratory implications of single living cell mRNA analysis. *Adv Clin Chem*, 2004. 38: p. 239-57.

[21] Uehara H, Osada T, Ikai A. Quantitative measurement of mRNA at different loci within an individual living cell. *Ultramicroscopy*. 2004;100:197-201.

[22] Uehara, H., et al., mRNA detection of individual cells with the single cell nanoprobe method compared with in situ hybridization. *J Nanobiotechnology*, 2007. 5: p. 7.

[23] Hu, M., et al., Nanostructure and nanomechanics analysis of lymphocyte using AFM: From resting, activated to apoptosis. *Journal of Biomechanics*, 2009. 42(10): p. 1513-1519.

[24] Firtel M, Henderson G, Sokolov I. Nanosurgery: observation of peptidoglycan strands in *Lactobacillus helveticus* cell walls. *Ultramicroscopy*. 2004;101:105-9.

[25] Muller, D.J., AFM: a nanotool in membrane biology. *Biochemistry*, 2008. 47(31): p. 7986-98.

[26] Mingeot-Leclercq, M.P., et al., Atomic force microscopy of supported lipid bilayers. *Nat Protoc*, 2008. 3(10): p. 1654-9.

[27] Li, G., N. Xi, and D.H. Wang, Probing membrane proteins using atomic force microscopy. *J Cell Biochem*, 2006. 97(6): p. 1191-7.

[28] Oberleithner, H., et al., Visualizing life on biomembranes by atomic force microscopy. *Kidney Int*, 1995. 48(4): p. 923-9.

[29] Liu, H., et al., Visualization of enzymatic hydrolysis of cellulose using AFM phase imaging. *Enzyme and Microbial Technology*, 2009. 45(4): p. 274-281.

[30] Wright, C. and I. Armstrong, The application of atomic force microscopy force measurements to the characterisation of microbial surfaces. *Surface and Interface Analysis*, 2006. 38: p. 1419-1428.

[31] Ohnesorge, F.M., et al., AFM review study on pox viruses and living cells. *Biophys J*, 1997. 73(4): p. 2183-94.

[32] Dunlap, D.D., et al., Nanoscopic structure of DNA condensed for gene delivery. *Nucleic Acids Res*, 1997. 25(15): p. 3095-101.

[33] Lieber, S.C., et al., Aging increases stiffness of cardiac myocytes measured by atomic force microscopy nanoindentation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004. 287(2): p. H645- 51.

[34] Oberleithner, H., et al., Viewing the renal epithelium with the atomic force microscope. *Kidney Blood Press Res*, 1996. 19(3-4): p. 142-7.

[35] Iscru, D.F., et al., Changes in surface topologies of chondrocytes subjected to mechanical forces: an AFM analysis. *J Struct Biol*, 2008. 162(3): p. 397-403.

[36] Valois, C.R., et al., Atomic force microscopy study of gutta-percha cone topography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004. 98(2): p. 250-5.

- [37] Cross, S.E., et al., Atomic force microscopy study of the structure-function relationships of the biofilm-forming bacterium *Streptococcus mutans*. *Nanotechnology*, 2006. 17(4): p. S1-7.
- [38] Hannig, M., et al., Atomic force microscopy study of salivary pellicles formed on enamel and glass in vivo. *Colloid & Polymer Science*, 2001. 279: p. 479-483.
- [39] Sanches, R.P., et al., AFM characterization of bovine enamel and dentine after acid-etching. *Micron*, 2009. 40(4): p. 502-6.
- [40] El Feninat, F., et al., A tapping mode AFM study of collapse and denaturation in dentinal collagen. *Dent Mater*, 2001. 17(4): p. 284-8.
- [41] Finke, M., et al., Mechanical properties of in situ demineralised human enamel measured by AFM nanoindentation. *Surface Science*, 2001. 491: p. 456-467.
- [42] Choi, S., et al., Effects of fluoride treatment on phosphoric acid-etching in primary teeth: an AFM observation. *Micron*, 2010. 41(5): p. 498-506.
- [43] Domke, J., et al., Substrate dependent differences in morphology and elasticity of living osteoblasts investigated by atomic force microscopy. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2000. 19(4): p. 367-379.
- [44] Kah, J.C., et al., Early diagnosis of oral cancer based on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles. *Int J Nanomedicine*, 2007. 2(4): p. 785-98.
- [45] Docheva, D., et al., Researching into the cellular shape, volume and elasticity of mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteosarcoma cells by atomic force microscopy. *J Cell Mol Med*, 2008. 12(2): p. 537-52.
- [46] Zapletalová, Z., et al., Examination of dentin surface using AFM (our experience). *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2004. 47(4): p. 343-6.
- [47] Brauer, D.S., et al., Nano- and micromechanical properties of dentine: Investigation of differences with tooth side. *J Biomech*, 2011. 44(8): p. 1626-9.
- [48] Poggio, C., et al., Analysis of dentin/enamel remineralization by a CPP-ACP paste: AFM and SEM study. *Scanning*, 2013. 35(6): p. 366-74.
- [49] Giacomelli, L., et al., Surface roughness of commercial composites after different polishing protocols: an analysis with atomic force microscopy. *Open Dent J*, 2010. 4: p. 191-4.
- [50] Germano, F., et al., Atomic force microscopy of bacteria from periodontal subgingival biofilm: Preliminary study results. *Eur J Dent*, 2013. 7(2): p. 152-158.
- [51] Hu, X., J. Ling, and Y. Gao, Effects of irrigation solutions on dentin wettability and roughness. *J Endod*, 2010. 36(6): p. 1064-7.
- [52] Patil, C.R. and V. Uppin, Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: an in vitro study. *Indian J Dent Res*, 2011;22(11):22_7.
- [53] Fatma, Y. and U. Ozgur, Evaluation of surface topography changes in three NiTi file systems using rotary and reciprocal motion: An atomic force microscopy study. *Microsc Res Tech*, 2014. 77(3): p. 177-82.

Authors

Fateme Bahrami¹
Mona Mokhtarpour¹

Seyedeh Mahdieh Hashemi^{2*}

*k1.ebh95@gmail.com

1. Central Research Laboratory, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran

2. Manager of the Central Research Laboratory, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran

Application of atomic force microscopy in biological research; with a review of its application in conservative dentistry and endodontics.

Abstract

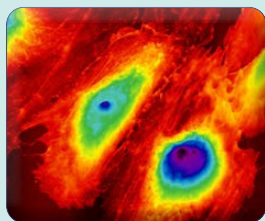
Atomic Force Microscopy (AFM) has become one of the most widely used imaging tools in the fields of physics, biology, and materials science. This technique is based on mapping atomic force fields over material surfaces using non-destructive probes, enabling high-resolution topographical analysis and three-dimensional surface imaging. A key advantage of AFM is its operational flexibility, allowing imaging in both ambient and liquid environments with minimal compromise in resolution. AFM functions as a three-dimensional topological method with atomic-scale resolution for surface hardness measurement and also serves as a type of scanning probe microscopy. Its near-field approach relies on the interaction between a probe and the surface atoms of the sample. Various probe modification techniques have been developed to facilitate the analysis of surface properties, including friction measurement, adhesion forces, viscoelastic properties, Young's modulus determination, and magnetic or electrostatic property imaging. AFM is capable of analyzing a wide range of samples such as polymers, adsorbed molecules, films, fibers, and powders in air, controlled environments, or liquid media. Over the past decade, AFM has emerged as a powerful tool for probing nanoscale structural details and biomechanical properties of biological specimens, including biomolecules and cells.

Keywords

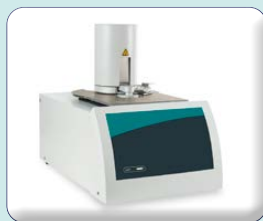
Atomic force microscopy, conservative dentistry, endodontics, dentistry, biofilm, surface topography.



Investigation of Key Factors Affecting DLS Results and Error Reduction Strategies



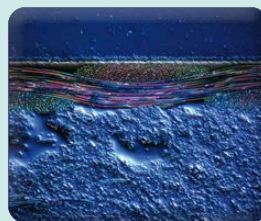
Application of atomic force microscopy in biological research; with a review of its application in conservative dentistry and endodontics.



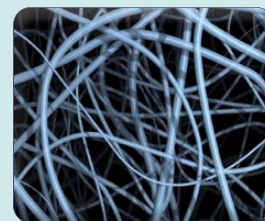
Differential Scanning Calorimetry- Thermal Fractionation Techniques for Polymer Characterization



How Grid Selection Determines the Quality of TEM Images



Investigating the effect of color and color reagents in metallography



Preparation of Polyacrylic acid/ Polyvinyl alcohol Polymer Superabsorbent Using Needleless Electrospinning and Investigation of Effective Device Parameters on Its Morphology