

УДК: 577.35

## Идентификация параметров вязкоупругих моделей клетки на основе силовых кривых и вейвлет-преобразования

А. С. Никитюк

Институт механики сплошных сред УрО РАН,  
Россия, 614013, г. Пермь, ул. Академика Королёва, д. 1

E-mail: nas@icmm.ru

*Получено 30.09.2023, после доработки — 20.11.2023.  
Принято к публикации 20.11.2023.*

Механические свойства клеток эукариот играют важную роль в условиях жизненного цикла и при развитии патологических процессов. В работе обсуждается проблема идентификации и верификации параметров вязкоупругих конститутивных моделей на основе данных силовой спектроскопии клеток эукариот. Предлагается использовать одномерное непрерывное вейвлет-преобразование для расчета ядра релаксации. Приводятся аналитические выкладки и результаты численных расчетов, позволяющие на основе экспериментально установленных силовых кривых и теоретических зависимостей «напряжение – деформация» с применением алгоритмов вейвлет-дифференцирования получать аналогичные друг другу функции релаксации. Анализируются тестовые примеры, демонстрирующие корректности программной реализации предложенных алгоритмов. Рассматриваются модели клетки, на примере которых демонстрируется применение предложенной процедуры идентификации и верификации их параметров. Среди них структурно-механическая модель с параллельно соединенными дробными элементами, которая является на данный момент наиболее адекватной с точки зрения соответствия данным атомно-силовой микроскопии широкого класса клеток, и новая статистико-термодинамическая модель, которая не уступает в описательных возможностях моделям с дробными производными, но имеет более ясный физический смысл. Для статистико-термодинамической модели подробно описывается процедура ее построения, которая в себя включает следующее: введение структурной переменной, параметра порядка, для описания ориентационных свойств цитоскелета клетки; постановку и решение статистической задачи для ансамбля актиновых филаментов представительного объема клетки относительно данной переменной; установление вида свободной энергии, зависящей от параметра порядка, температуры и внешней нагрузки. Также предложено в качестве модели представительного элемента клетки использовать ориентационно-вязкоупругое тело. Согласно теории линейной термодинамики получены эволюционные уравнения, описывающие механическое поведение представительного объема клетки, которые удовлетворяют основным термодинамическим законам. Также поставлена и решена задача оптимизации параметров статистико-термодинамической модели клетки, которая может сопоставляться как с экспериментальными данными, так и с результатами симуляций на основе других математических моделей. Определены вязкоупругие характеристики клеток на основе сопоставления с литературными данными.

**Ключевые слова:** вязкоупругость, механика клетки, вейвлет-преобразование, реологические модели с дробными операторами, статистическая термодинамика, ядро релаксации

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственный контракт № АААА-А19-119013090021-5), а также поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (№ МК-44.2022.1.1).

UDC: 577.35

## Parameter identification of viscoelastic cell models based on force curves and wavelet transform

A. S. Nikitiuk

Institute of Continuous Media Mechanics UB RAS,  
1 Akademika Koroleva st., Perm, 614013, Russia

E-mail: nas@icmm.ru

*Received 30.09.2023, after completion — 20.11.2023.  
Accepted for publication 20.11.2023.*

Mechanical properties of eukaryotic cells play an important role in life cycle conditions and in the development of pathological processes. In this paper we discuss the problem of parameters identification and verification of viscoelastic constitutive models based on force spectroscopy data of living cells. It is proposed to use one-dimensional continuous wavelet transform to calculate the relaxation function. Analytical calculations and the results of numerical simulation are given, which allow to obtain relaxation functions similar to each other on the basis of experimentally determined force curves and theoretical stress-strain relationships using wavelet differentiation algorithms. Test examples demonstrating correctness of software implementation of the proposed algorithms are analyzed. The cell models are considered, on the example of which the application of the proposed procedure of identification and verification of their parameters is demonstrated. Among them are a structural-mechanical model with parallel connected fractional elements, which is currently the most adequate in terms of compliance with atomic force microscopy data of a wide class of cells, and a new statistical-thermodynamic model, which is not inferior in descriptive capabilities to models with fractional derivatives, but has a clearer physical meaning. For the statistical-thermodynamic model, the procedure of its construction is described in detail, which includes the following. Introduction of a structural variable, the order parameter, to describe the orientation properties of the cell cytoskeleton. Setting and solving the statistical problem for the ensemble of actin filaments of a representative cell volume with respect to this variable. Establishment of the type of free energy depending on the order parameter, temperature and external load. It is also proposed to use an oriented-viscous-elastic body as a model of a representative element of the cell. Following the theory of linear thermodynamics, evolutionary equations describing the mechanical behavior of the representative volume of the cell are obtained, which satisfy the basic thermodynamic laws. The problem of optimizing the parameters of the statistical-thermodynamic model of the cell, which can be compared both with experimental data and with the results of simulations based on other mathematical models, is also posed and solved. The viscoelastic characteristics of cells are determined on the basis of comparison with literature data.

**Keywords:** viscoelasticity, cell mechanics, wavelet transform, rheological models with fractional order operators, statistical thermodynamics, relaxation function

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2023, vol. 15, no. 6, pp. 1653–1672 (Russian).

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Government contract No. AAAA-A19-119013090021-5) and the Grant of the President of the Russian Federation for State support of young Russian scientists No. MK-44.2022.1.1 (Agreement No. 075-15-2022-362).

## 1. Введение

В настоящее время активно ведутся исследования механических свойств клеток эукариот в контексте решения проблем разделения фенотипов, выявления патологических заболеваний и их причин, а также создания новых терапевтических стратегий.

Как известно, клетки ведут себя как упругим, так и вязким образом в условиях внешнего механического воздействия [Cheng, Cheng, 2004; Garcia, Garcia, 2018a]. Существует большое количество экспериментальных работ, в которых были получены доказательства проявления вязких свойств внутри клетки [Alcaraz et al., 2003; Garcia, Guerrero, Garcia, 2017; Kollmannsberger, Fabry, 2011; Moeendarbary, Harris, 2014; Roduit et al., 2009]. Данные эксперименты подчеркивают значимость диссипации энергии в процессе жизнедеятельности клеток. Также недавно было предложено использовать вязкоупругие характеристики в качестве маркеров для отслеживания динамических изменений актинового цитоскелета [Garcia, Guerrero, Garcia, 2017] и для получения информации о метастатическом потенциале клеточных линий.

Одним из традиционных способов изучения упругих свойств живых клеток является оценка силовых кривых, регистрируемых в режиме подвода и внедрения в биологический объект индентора, располагающегося на кантилевере, атомно-силового микроскопа (АСМ). АСМ сочетает в себе высокую чувствительность приложения и измерения сил, высокую точность позиционирования наконечника индентора относительно образца во всех трех измерениях, возможность работы в жидкостях, особенно в физиологических средах, и, следовательно, способность отслеживать биологические процессы *in situ*. Технически данный тип микроскопии клеток был впервые реализован на основе метода модуляции силы, описанного в работе [Radmacher, Tillmann, Gaub, 1993]. Для количественного и воспроизводимого определения упругих свойств мягких материалов в дальнейшем была реализована возможность регистрации силовых кривых (force curves) [Radmacher, Fritz, Hansma, 1995] в зависимости от положения клетки [Radmacher et al., 1996]. В настоящее время уже изучены механические свойства многих различных типов клеток [Li et al., 2017], включая глиальные клетки, тромбоциты, кардиоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки, фибробласты, клетки мочевого пузыря и остеобласты. Помимо упругих характеристик, с помощью АСМ можно изучать также и вязкие свойства мягких материалов, которые могут быть извлечены из силовых кривых при использовании той или иной вязкоупругой конститутивной модели [Efremov et al., 2017; Efremov, Okajima, Raman, 2019].

Поведение вязкоупругих материалов, как правило, исследуется в линейном приближении с использованием механических аналогов, состоящих из единичных или связанных между собой упругих (гуковская пружина), вязких (ньютоновский поршень) и дробных элементов [Shitikova, 2022]. При этом линейные вязкоупругие конститутивные модели накладывают ряд ограничений на объект исследования и рассматриваемые процессы. Одним из них, в частности, является то, что линейное приближение справедливо только при малых деформациях. При этом мягкие вязкоупругие материалы, к коим относятся клетки, способны испытывать большие или конечные деформации. Данное обстоятельство требует разработки, как вариант, новых нелинейных моделей клетки, для которых до сих пор остается нерешенным вопрос об извлечении, из тех же силовых кривых, вязкоупругих параметров, в частности функции релаксации (или ядра релаксации). Проблема обусловлена сложностью сравнения регистрируемых экспериментально зависимостей «сила – глубина индентирования» (force-indentation curves) с теоретическими зависимостями «напряжение – деформация» (stress-strain curves), полученными согласно той или иной нелинейной конститутивной модели.

В цикле работ [Digiuni et al., 2015; Laperrousaz et al., 2016a; Laperrousaz et al., 2016b; Polizzi et al., 2018] для установления функции релаксации предлагается использовать вейвлет-преобразование в контексте исследования закономерностей упругого, пластического и хрупкого

поведения клеток различного происхождения. Данная идея может быть полезна при решении задачи сопоставления силовых кривых, регистрируемых в эксперименте при помощи атомно-силового микроскопа, с зависимостями «напряжение – деформация», которые вычисляются на основе исследуемой нелинейной вязкоупругой конститутивной модели.

Поэтому целью работы является разработка метода идентификации и верификации параметров вязкоупругих моделей клетки на основе сопоставления ядер релаксации, полученных из экспериментальных силовых кривых и теоретических кривых «напряжение – деформация» с применением вейвлет-преобразования. Статья построена следующим образом. В § 2 обсуждается метод анализа силовых кривых на основе вейвлет-преобразования, позволяющий получить функцию релаксации. Применение данного метода к анализу кривых «напряжение – деформация», полученных на основе произвольной (в том числе нелинейной) конститутивной модели, приводится в § 3. В § 4 рассматриваются вязкоупругие модели, которые приводятся в качестве примеров апробации метода получения функции релаксации. Среди них структурно-механическая модель с дробными элементами, которая является на данный момент наиболее адекватной с точки зрения описания механического поведения клеток, и оригинальная статистико-термодинамическая модель клетки, которая не уступает в описательных возможностях моделям с дробными производными, но имеет более ясный физический смысл. Применение вейвлет-преобразования для расчета ядер релаксации описанных в предыдущем разделе моделей, приводится в § 5. В заключении обсуждаются результаты и перспективы исследования.

## 2. Анализ силовых кривых на основе вейвлет-преобразования

Применительно к исследованиям биологических объектов атомно-силовая микроскопия часто используется в качестве инструмента силовой спектроскопии, в частности для получения зависимости силы от глубины вдавливания индентора в образец. Подобные измерения называют силовыми кривыми и с их помощью можно оценивать механические свойства клеток. Согласно теории вязкоупругости связь силы и глубины вдавливания инденторов конической или пирамидальной формы имеет вид [Cheng, Cheng, 2004]

$$F(t) = \kappa \int_0^t f_{BEC}(\delta(\xi)) R(t - \xi) \frac{d(\delta(\xi))^2}{d\xi} d\xi, \quad (1)$$

где  $F$  – сила,  $t$ ,  $\xi$  – время,  $\kappa$  – параметр, определяющий геометрию индентора,  $f_{BEC}$  – поправочный коэффициент, зависящий от геометрии индентора и отвечающий за учет влияния твердой подложки на размещенный на ней образец конечной толщины [Garcia, Garcia, 2018b],  $R$  – функция релаксации,  $\delta$  – глубина индентирования. Заметим, что коэффициент  $f_{BEC}$  в соотношении (1) не зависит от времени, и им можно пренебречь, если толщина образца значительно больше площади контакта наконечника с образцом. В качестве примера укажем, что для инденторов конической формы параметр, определяющий его геометрию, соответствует следующему соотношению:

$$\kappa = \frac{4 \tan(\theta)}{\pi(1 - \nu)},$$

где  $\theta$  – угол,  $\nu$  – коэффициент Пуассона.

Примем предположение, что толщина образца значительно больше площади контакта. Тогда соотношение (1) можно преобразовать к виду

$$F(t) = \kappa \int_0^t R(t - \xi) \frac{d(\delta(\xi))^2}{d\xi} d\xi. \quad (2)$$

Исходя из соотношения (2) для конического (пирамидального) индентора, вводя условие постоянной скорости индентирования:

$$\delta(\xi) = v_0 \xi,$$

получаем

$$F(t) = 2\kappa v_0^2 \int_0^t R(t - \xi) \xi d\xi, \quad (3)$$

где  $v_0$  — скорость индентирования.

Тогда, воспользовавшись правилом интегрирования Лейбница, а затем проинтегрировав по частям и учитывая, что  $R(0) = 0$ , преобразуем (3) следующим образом:

$$\frac{dF(t)}{dt} = 2\kappa v_0^2 \int_0^t \frac{dR(t - \xi)}{dt} \xi d\xi = -2\kappa v_0^2 \int_0^t R(t - \xi) d\xi. \quad (4)$$

Согласно соотношению (4) найдем выражение для функции релаксации  $R(t)$ :

$$R(t) = \frac{1}{2\kappa v_0^2} \frac{d^2 F(t)}{dt^2}, \quad (5)$$

которое можно переписать через глубину индентирования как

$$R(\delta) = \frac{1}{2\kappa} \frac{d^2 F(\delta)}{d\delta^2}. \quad (6)$$

В соответствии с работой [Digiuni et al., 2015] можно получить ядро релаксации непосредственно из второй производной силовой кривой, определяемой либо соотношением (5), либо соотношением (6), без предположения *a priori* о конкретной вязкоупругой модели клетки. Вторую производную в данной работе предлагается рассчитывать на основе вейвлет-преобразования. Известно, что задача регуляризации процедуры дифференцирования зашумленных данных естественным образом формулируется на языке вейвлет-представления сигналов, которое позволяет совместить преимущества работы в физическом пространстве и фурье-пространстве. Для расчета  $R(t)$  из силовой кривой используется одномерное непрерывное вейвлет-преобразование с  $L^1$ -нормой:

$$T_{g^{(0)}}[F](b, s) = \frac{1}{s} \int_{-\infty}^{\infty} F(x) \bar{g}^{(0)}\left(\frac{x-b}{s}\right) dx, \quad (7)$$

где  $b$  — параметр сдвига и  $s$  — масштаб вейвлет-функции. Множитель  $\frac{1}{s}$  нужен для амплитудной нормировки вейвлетов ( $L^1$ -норма), т. е. амплитуда вейвлета должна быть одной и той же для различных значений масштаба  $s$ . В качестве анализирующих вейвлетов для расчета производных различных порядков предлагаются соответствующие производные функции Гаусса  $g(z)$ . Функция Гаусса, ее первая и вторая производные определяются следующими соотношениями:

$$\begin{aligned} g^{(0)}(z) &= \exp\left(-\frac{z^2}{2}\right), \\ g^{(1)}(z) &= -\frac{d}{dz} g^{(0)}(z) = z \exp\left(-\frac{z^2}{2}\right), \\ g^{(2)}(z) &= -\frac{d}{dz} g^{(1)}(z) = (1 - z^2) \exp\left(-\frac{z^2}{2}\right). \end{aligned}$$

Используя в качестве анализирующих вейвлетов данные функции, можно определить сглаженные в гауссовом окне производные  $\frac{dF}{dt}$  и  $\frac{d^2F}{dt^2}$  как

$$T_{g^{(1)}}[F](b, s) = \frac{d}{db} T_{g^{(0)}}[F](b, s), \quad (8)$$

$$T_{g^{(2)}}[F](b, s) = \frac{d^2}{db^2} T_{g^{(0)}}[F](b, s). \quad (9)$$

Тогда функция релаксации при учете (9) в (5) определяется как

$$R(t) = \frac{1}{\kappa v_0^2} T_{g^{(2)}}[F](t, s). \quad (10)$$

Для демонстрации метода разложения кривых «сила – глубина индентирования» и «напряжение – деформация», а также корректности программной реализации расчетного алгоритма рассмотрим кусочно-заданную линейную функцию  $F$  (см. рис. 1, а, черная сплошная линия).

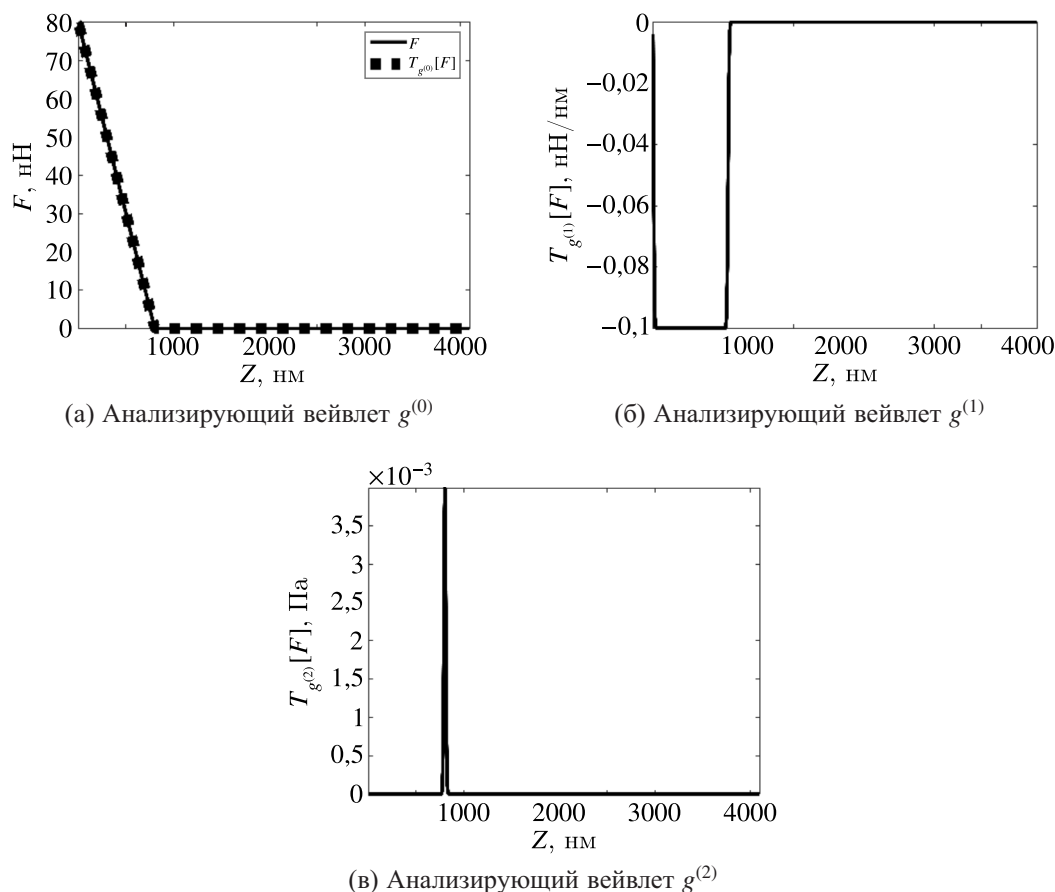


Рис. 1. Вейвлет-преобразование кусочно-заданной линейной функции  $F$ , рассчитанное для  $s = 10$  нм

Пусть при  $Z < 800$  функция  $F$  определяется выражением  $kZ$ , где  $k = -0,1$ . При  $Z \geq 800$   $F(Z) = 0$ . Данная функция является непрерывной, однако у ее первой производной есть разрыв в точке 800, а вторая производная совпадает с видом дельта-функции Дирака. На рис. 1 изображены результаты применения непрерывного вейвлет-преобразования функции  $F$  с различными анализирующими вейвлетами семейства производных функции Гаусса. В качестве масштаба рассмотрения  $s$  выбрано значение 10 нм. Скачок первой производной и пик у второй производной



(соответствующий максимальному значению функции Дирака) сглаженной функции  $F$  в окне шириной 10 нм совпадают с теоретическими оценками, которые могут быть получены аналитически. Заметим, что на рис. 1, б слева имеется еще один скачок значений от 0 до  $-0,1$ . Причиной этого скачка является краевой эффект вейвлет-преобразования.

Согласно соотношению (10) функция релаксации прямо пропорциональна значениям вейвлет-коэффициентов вдоль линии максимумов (см. рис. 2). Это следует из смысла линий локальных экстремумов поверхности  $T(t, s)$  или так называемого скелетона/хребта (skeleton/ridges). В скелетоне фактически содержится основная информация о вейвлет-преобразовании без лишних деталей, с помощью которой можно восстановить «истинную» амплитудно-временную характеристику анализируемого сигнала. По функции релаксации, как отмечается в [Digiuni et al., 2015], можно выполнить оценки показателя Гёльдера, характеризующего регулярность (т. е. количественно характеризуюя сингулярности и степень дифференцируемости) сигнала.

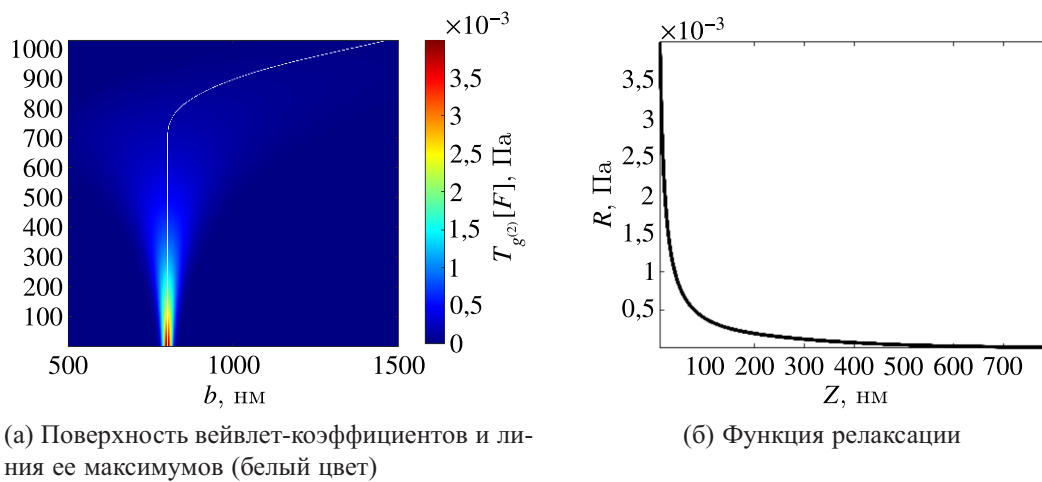


Рис. 2. Функция релаксации, извлеченная из максимумов поверхности вейвлет-коэффициентов

Стоит отметить, что использование вейвлет-преобразования для расчета функции релаксации на основе силовых кривых имеет два важных преимущества. Первое преимущество заключается в использовании одной и той же функции сглаживания для фильтрации фонового шума и последующем вычислении производных профильтрованных сигналов более высокого порядка. Второе преимущество: вейвлет-преобразование позволяет обнаруживать и характеризовать локальные сингулярности, в частности точку контакта индентора и клетки. В данной работе автор не ставил перед собой задачу демонстрации приведенных выше преимуществ, так как это не является целью исследования. Однако подробный анализ силовых кривых с характерными экспериментальными шумами, а также с доказательством возможности определения точки контакта индентора и клетки в зашумленных условиях приведен в работах [Digiuni et al., 2015; Laperrousaz et al., 2016b; Polizzi et al., 2018].

### 3. Применение вейвлетов для декомпозиции зависимостей напряжения от деформации

Распространим описанный выше метод определения ядра релаксации на случай анализа той или иной конститутивной модели. Определяющие соотношения для установленного теоретически напряженно-деформированного состояния с применением определенной вязкоупругой модели имеют вид

$$\sigma(t) = \int_0^t R(t-\xi) \frac{d\varepsilon(\xi)}{d\xi} d\xi, \quad (11)$$

где  $\sigma$  — расчетные напряжения,  $\varepsilon$  — заданная деформация. Как и для силовых кривых, определим условие постоянной скорости деформирования:

$$\varepsilon(\xi) = v_0 \xi. \quad (12)$$

Подставив (12) в (11), получаем интеграл вида

$$\sigma(t) = v_0 \int_0^t R(t - \xi) d\xi.$$

Решая данный интеграл, можно получить выражение для функции релаксации:

$$R(t) = \frac{1}{v_0} \frac{d\sigma(t)}{dt}. \quad (13)$$

Как видно, в соотношение (13) входит первая производная зависимости напряжения от времени. Это означает, что, воспользовавшись (8), можно модифицировать (13) в следующую форму:

$$R(t) = \frac{1}{v_0} T_{g^{(1)}}[\sigma](t, s). \quad (14)$$

Таким образом, можно предложить следующую процедуру идентификации и верификации параметров вязкоупругих моделей: 1) на основе экспериментально измеренной силовой кривой рассчитать функцию релаксации согласно соотношениям (7), (9) и (10); 2) для исследуемой вязкоупругой модели выполнить расчет напряженно-деформированного состояния в условиях одноосного деформирования с постоянной скоростью (совпадающей со скоростью индентирования); 3) выполнить декомпозицию зависимости напряжения от деформации, полученной на шаге 2, с применением вейвлетов, соотношения (8) и (14); 4) решить задачу оптимизации относительно параметров исследуемой вязкоупругой модели и сравнивая рассчитанные на шагах 1 и 3 ядра релаксации.

## 4. Модели для описания вязкоупругого деформирования клетки

Рассмотрим модели клетки, на примере которых будет проиллюстрировано применение предложенной процедуры идентификации и верификации параметров вязкоупругих моделей на основе силовых кривых и вейвлет-преобразования. Среди них структурно-механическая модель с дробными элементами, которая является на данный момент наиболее адекватной с точки зрения соответствия экспериментальным данным, и новая статистико-термодинамическая модель клетки, которая не уступает в описательных возможностях моделям с дробными производными, но имеет более ясный физический смысл. При этом вторая модель будет описана подробнее, так как она была предложена недавно и, соответственно, является менее распространенной.

### 4.1. Структурно-механическая модель с дробными элементами

Согласно последним исследованиям [Gittes et al., 1997; de Sousa et al., 2020; Ziemann, Rädler, Sackmann, 1994], для широкого класса клеток характерен двойной степенной закон вязкоупругой релаксации напряжений, у которого первый и второй показатель степени описывает так называемые быструю и медленную динамическую реакцию клетки (the fast and the slow dynamic response of the cell) соответственно. Как отмечается в [de Sousa et al., 2020], медленная реакция клетки объясняется стеклоподобным режимом динамики цитоскелета, который, в отличие от инертных стеклообразных систем, может изменяться под действием биологических функций,



таких как миграция, цитокинез и механотрансдукция. Происхождение быстрой реакции клетки в литературе связывается с энтропийным откликом ансамбля F-актиновых волокон.

Двойной степенной закон вязкоупругой релаксации живых клеток достаточно хорошо описывается структурной моделью с двумя дробными элементами, которые соединены параллельно (представление Кельвина – Фойгта). На рис. 3, а представлена схема данной модели.

Определяющее соотношение для модели с двумя дробными элементами в представлении Кельвина – Фойгта имеет вид

$$\sigma(t) = E\tau^\alpha \frac{d^\alpha \varepsilon(t)}{dt^\alpha} + E\tau^\beta \frac{d^\beta \varepsilon(t)}{dt^\beta}, \quad (15)$$

где  $E$  – модуль упругости,  $\tau$  – время релаксации,  $\alpha$  и  $\beta$  – показатели степени дробных производных, варьирующиеся в диапазоне от 0 до 1.

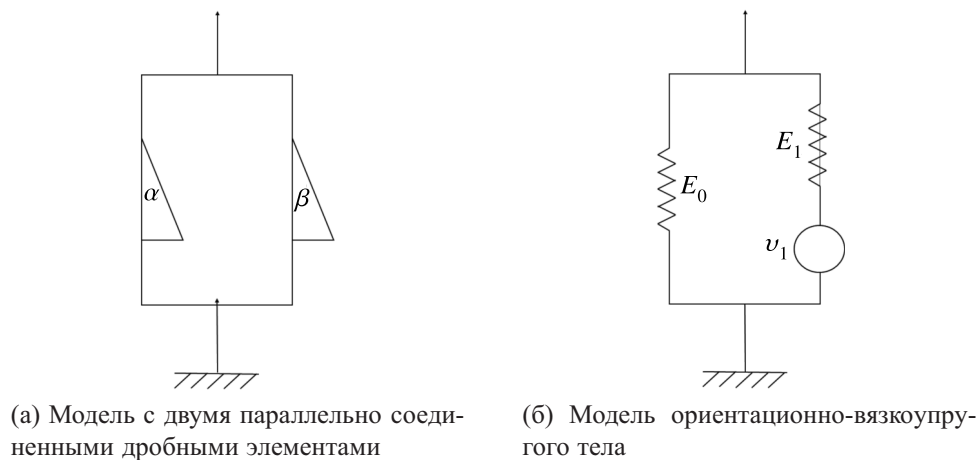


Рис. 3. Схематические изображения структурных схем механических моделей, где  $\alpha$  и  $\beta$  – это степени дробных производных,  $E_0$ ,  $E_1$ ,  $\nu_1$  – модули упругости и коэффициент вязкости соответственно

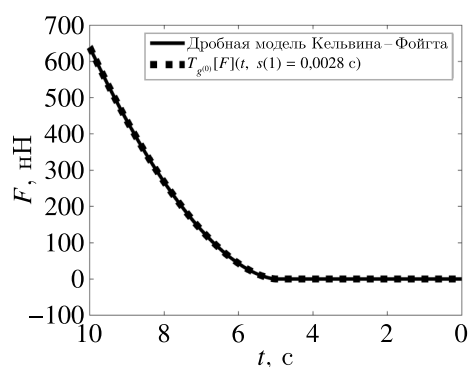
За быструю и медленную реакцию клетки отвечают параметры  $\alpha$  и  $\beta$  при условии  $\alpha > \beta$ , которые естественным образом соответствуют экспоненциальным показателям двойного степенного закона вязкоупругой релаксации напряжений. Воспользовавшись прямым и обратным преобразованием Лапласа для (11) и (15) [Darling, Zauscher, Guilak, 2006], можно получить вид функции релаксации для структурной модели с дробными элементами:

$$R(t) = \frac{E}{\Gamma(1-\alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha} + \frac{E}{\Gamma(1-\beta)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta}, \quad (16)$$

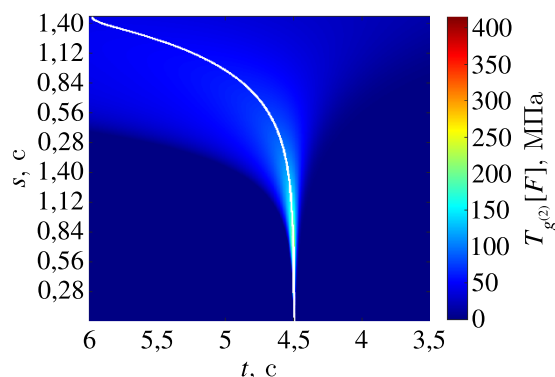
где  $\Gamma(\cdot)$  – это гамма-функция. Тогда аналитическое решение соотношения (2) при учете (16) может быть определено в следующей форме:

$$F(t) = E\Gamma(3) \left(\frac{t}{\tau}\right)^2 \left[ \frac{1}{\Gamma(3-\alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha} + \frac{1}{\Gamma(3-\beta)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} \right]. \quad (17)$$

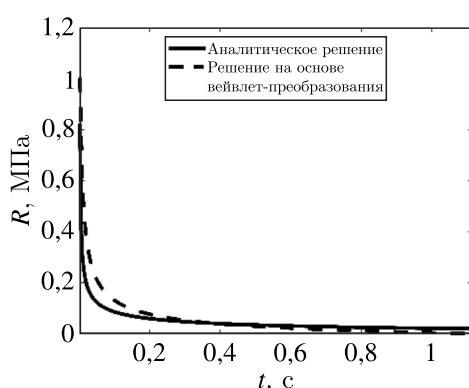
На рис. 4 представлены результаты аналитических расчетов силовой кривой (17) и функции релаксации (16) на основе модели с параллельно соединенными двумя дробными элементами, а также вейвлет-декомпозиция функции  $F$ , определяемой в соответствии с соотношением (17). Видно, что результаты применения вейвлет-дифференцирования позволяют получить ядро релаксации  $R$ , в основном совпадающее с аналитической зависимостью. Существенная разница наблюдается только для малых значений функции релаксации (стремящихся к нулю),



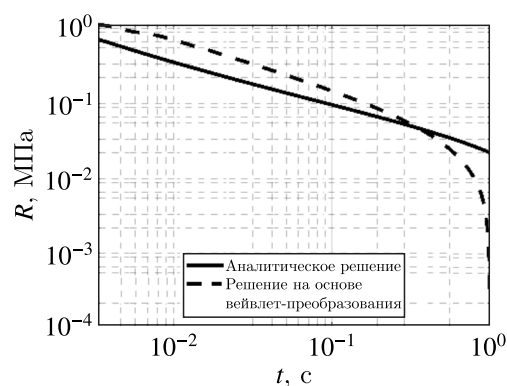
(а) Вейвлет-преобразование силовой кривой  $F$ , рассчитанной на основе дробной модели, с анализирующим вейвлетом  $g^{(0)}$



(б) Поверхность вейвлет-коэффициентов и линия ее максимумов (белый цвет)



(в) Функции релаксации в линейных координатах



(г) Функции релаксации в логарифмических координатах

Рис. 4. Визуализация расчета функции релаксации для структурной модели с двумя параллельно соединенными дробными элементами

которые не представляют практической пользы при анализе поведения вязкоупругих материалов. Далее в данной работе функция релаксации, рассчитанная на основе вейвлет-разложения силовой кривой дробной модели, используется как аналог экспериментальных силовых кривых клеток, которые получаются с применением атомно-силовой микроскопии. Данная структурная модель на данный момент является наиболее адекватной с точки зрения описания широкомасштабных закономерностей механического поведения клеток эукариот [de Sousa et al., 2020].

Отметим, что в пределе одного дробного элемента, у которого соответствующий показатель степени дробной производной равен нулю, модель для силовой кривой в режиме внедрения в клетку индентора совпадает с хорошо известной моделью Герца для чисто упругих материалов, часто используемой для расчета механических характеристик клетки в экспериментах на атомно-силовом микроскопе. При показателе степени дробной производной, равном единице, модель соответствует модели Ньютона. Также стоит упомянуть, что для исследования клеток используется и сочетание дробного элемента с упругим или вязким элементами в представлении Кельвина – Фойгта [Efremov, Kotova, Timashev, 2020].

#### 4.2. Статистико-термодинамическая модель

Определение независимых переменных, характеризующих механический отклик клетки на внешнее воздействие, до сих пор является актуальной проблемой. В ряде работ [Nikitiuk et al.,

2018; Spinelli, Zaganjor, 2022; Wang, Qin, Chen, 2021; Yu et al., 2022] отмечается, что деформационные свойства единичных клеток определяются движением ее компонентов, ядра и актинового цитоскелета, поэтому необходимо ввести структурные переменные, определяющие термодинамическое состояние клетки. Основной органеллой, отвечающей за механобиологические свойства клеток, является цитоскелет, который состоит из актиновых и промежуточных филаментов, а также микротрубочек. При описании поведения цитоскелета необходимо определить форму микроскопических и макроскопических параметров, учитывающих локальные изменения симметрии, обусловленные ориентационными свойствами филаментов, а также форму зависимости термодинамического потенциала от структурных переменных, характеризующих их.

Структурные переменные, связанные с филаментами, были введены в работе [Nikitiuk et al., 2023] по аналогии со структурными переменными, используемыми в теории жидких кристаллов [de Gennes, Prost, Pelcovits, 1995] и при описании деформационных свойств твердых полимеров [Shliomos, Raikher, 1978]. Ориентационная полимеризация и деполимеризация ансамбля актиновых филаментов определяются характером симметрии параметра порядка, бесследовым тензором второго ранга  $\eta_o$ , который есть среднее от «микроскопической» величины

$$s_o = \frac{3}{2} \left( \mathbf{v}\mathbf{v} - \frac{1}{3}\mathbf{I} \right),$$

где  $\mathbf{v}$  — единичный вектор вдоль оси сегмента,  $\mathbf{I}$  — единичный тензор. Данный тензор характеризует ориентацию сегмента актинового филамента. «Макроскопический» параметр порядка  $\eta_o$  получается путем усреднения тензора  $s_o$  по малому представительному объему, содержащему большое число филаментов. При этом масштаб представительного объема намного меньше, чем размеры клетки.

Тогда макроскопический параметр порядка определяется соотношением

$$\eta_o = \langle s_o \rangle = \frac{3}{2} \eta_o \left( \mathbf{n}\mathbf{n} - \frac{1}{3}\mathbf{I} \right), \quad (18)$$

где  $\mathbf{n}$  — это директор,  $\eta_o$  — параметр анизотропии, который варьируется от 0 (соответствует изотропному распределению филаментов) до 1 (достигается при полной ориентации всех сегментов в направлении  $\mathbf{n}$ ). Нормировка в соотношении (18) выбрана так, что в системе координат, где  $\mathbf{n} = (0, 0, 1)$ , имеем  $\eta_{33} = \eta_o$ . В результате параметр порядка может находиться в диапазоне от  $-\frac{1}{2}$  (плоскостная изотропия с директором  $\mathbf{n}$  ортогональным плоскости) до 1. Известно, что в полимерных системах процесс ориентирования волокон приводит к деформации материала. Тогда введем коэффициент  $\zeta$ , который переводит параметр порядка в деформацию, и запишем связь деформации  $\epsilon_o$ , обусловленной ориентационными эффектами актиновых филаментов клетки эукариот, и параметра порядка  $\eta_o$  как

$$\epsilon_o = \zeta \eta_o.$$

Далее, считается, что ориентирующее воздействие, испытываемое отдельным упорядочивающимся «микроскопическим» элементом, определяется девиатором тензора напряжений  $\sigma_o$  и уже достигнутой степенью ориентации  $\eta_o$ , что обусловлено биохимией процесса [Deshpande, McMeeking, Evans, 2006]. Тогда, как и в вейссовской теории ферромагнетизма, можно ввести «эффективное поле», действующее на сегмент актинового филамента:

$$\mathbf{H} = \gamma \sigma_o + \lambda \epsilon_o,$$

где  $\gamma$  — параметр вещества,  $\lambda$  — константа молекулярного поля. Данные параметры в общем случае являются тензорами четвертого ранга, однако в данной работе учитываются только первые скалярные члены разложений соответствующих тензорных коэффициентов. Коэффициент  $\gamma$

характеризует «ориентационную восприимчивость» сегментов филамента по отношению к напряжению и имеет размерность объема. Предположим, что величина  $\gamma$  определяется объемом элементарной структурной единицы рассматриваемой системы.

Ориентационная часть энергии сегмента актинового филамента  $E$  определяется соотношением

$$E = -\mathbf{H} : \zeta \mathbf{s}_o.$$

Если предположить настолько медленное ориентирование сегментов, что в каждый момент времени в представительном объемном элементе клетки успевает установиться состояние термодинамического равновесия, соответствующее внешним условиям, то вероятность различных ориентаций в представительном объеме клетки соответствует распределению Больцмана – Гибса и задается в виде

$$\begin{aligned} W &= Z^{-1} \exp\left(-\frac{E}{\Theta}\right), \\ Z &= \int_{\Omega} \exp\left(-\frac{E}{\Theta}\right) d\Omega, \end{aligned} \quad (19)$$

где  $\Theta$  – эффективный температурный фактор,  $\Omega$  – пространство возможных ориентаций сегментов филаментов, а соотношение (19) определяет нормировку распределения. Другими словами, используется гипотеза локального термодинамического равновесия. Это предположение позволяет использовать параметр порядка для описания поведения неравновесной системы.

Используя метод самосогласованного поля, можно вывести уравнение самосогласования микро- и макроскопического параметров порядка

$$\varepsilon_o = N \int_{\Omega} \zeta \mathbf{s}_o W d\Omega, \quad (20)$$

где  $N$  – количество возможных ориентаций сегментов актиновых филаментов.

Соотношение (20) при рассмотрении случая одноосного деформирования клетки и с учетом замены  $\xi = \frac{3}{2\Theta}(\gamma\sigma_o + \lambda\varepsilon_o)$  численно разрешается в следующем виде:

$$\xi = \frac{3}{2\Theta}(\gamma\sigma_o + \lambda\varepsilon_o) = -20 \left( \frac{8 \cdot 10^3}{9 \cdot 10^4 - \varepsilon_o} + \frac{0,08}{1 - \varepsilon_o} + \frac{0,09}{-0,6 - \varepsilon_o} \right).$$

Отсюда определяется феноменологическое представление ориентационной части свободной энергии Гельмгольца клетки  $F_o$  в виде

$$F_o = -\frac{2\Theta}{3\gamma}(1600 \ln(9000 - \varepsilon_o) + 1,6 \ln(1 - \varepsilon_o) + 1,8 \ln(-0,6 - \varepsilon_o)) - \frac{\lambda \varepsilon_o^2}{\gamma 2}. \quad (21)$$

Помимо актиновых филаментов, на механику цитоскелета также влияют промежуточные филаменты и микротрубочки. Будем считать, что их действие описывается линейным упругим законом. Кроме того, линейным упругим законом будем представлять характер поведения таких органелл, как ядро и плазматическая мембрана, которые действуют параллельно цитоскелету клетки. Тогда введем механический аналог представительного объемного элемента клетки, соответствующий структурно-механической схеме ориентационно-вязкоупругого тела, визуализированной на рис. 3, б. Круглый элемент на схеме соответствует актиновым волокнам, свободная энергия которых определяется соотношением (21). На рис. 5 также приводится схематичный набросок клетки с рассматриваемыми элементами цитоскелета и ориентационно-вязкоупругим

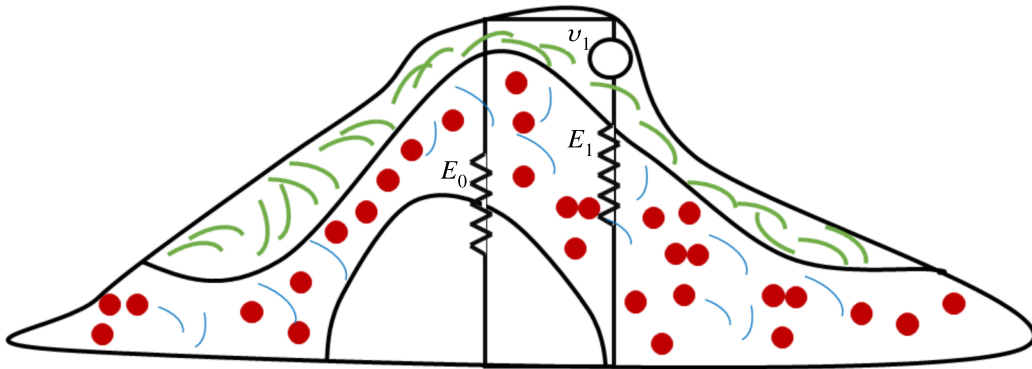


Рис. 5. Схематическое представление клетки как ориентационно-вязкоупругого тела. Зеленым цветом обозначен актиновый кортекс, синим цветом — промежуточные филаменты и красным цветом — микротрубочки.  $E_0$ ,  $E_1$ ,  $\nu_1$  — модули упругости и коэффициент вязкости соответственно

телом, с указанием соответствия элементов механического аналога компонентам клетки. Из данного представления видно, что актиновые филаменты дают вклад в модули Юнга принятых выше линейных упругих законов. Это допущение обусловлено тем, что разрушение актина ведет к уменьшению модуля упругости клеток, вплоть до десятикратного.

Из второго закона термодинамики следует, что диссипация энергии может быть представлена как

$$T\dot{S} = \left( \sigma_o - \frac{\partial F_o}{\partial \varepsilon_o} \right) : \dot{\varepsilon}_o \geq 0, \quad (22)$$

где  $T$  — температура,  $S$  — энтропия.

Аналогично исследованию [Nikitiuk, Bayandin, Naimark, 2022], согласно гипотезе о линейной связи термодинамических сил и потоков, а также принципу Онзагера, из (22) вытекают следующее конститутивное соотношение для представительного объема клетки:

$$\frac{\nu_1}{E_1} \dot{\sigma} + \sigma = \frac{\nu_1(E_0 + E_1)}{E_1} \dot{\varepsilon} + E_0 \varepsilon + w \left( \varepsilon - \frac{\sigma - E_0 \varepsilon}{E_1} \right), \quad (23)$$

$$w(\varepsilon_o) \equiv \frac{\partial F_o}{\partial \varepsilon_o} = -\frac{2\Theta}{3\gamma} \xi(\varepsilon_o) - \frac{\lambda}{\gamma} \varepsilon_o, \quad (24)$$

где  $E_0$ ,  $E_1$  — модули упругости систем «промежуточные филаменты – микротрубочки» и «ядро – плазматическая мембрана»,  $\nu_1$  — вязкость актиновых филаментов, которая прямо пропорциональна времени релаксации  $\tau^{\text{stat}}$ .

На рис. 6, а изображены зависимости  $F_o(\varepsilon_o) - \sigma_o \varepsilon_o$  при фиксированном эффективном температурном факторе и различных значениях безразмерных напряжений  $\Pi$ . Для заданного значения  $\Theta$  актиновые филаменты ориентируются спонтанно. Об этом свидетельствуют минимумы на кривой, обозначенной сплошной линией на рис. 6, а. Наибольший минимум, находящийся в области  $\varepsilon_o > 0$ , отвечает состоянию типа «легкая ось». В области  $\varepsilon_o < 0$  наблюдается метастабильное состояние, которое еще называют «легкая плоскость». Растяжение повышает устойчивость структуры с положительной ориентацией: главная потенциальная яма становится глубже, и точка минимума смещается вправо. Одновременно устойчивость метастабильного состояния понижается, и при достаточно большом растяжении (сплошная линия) минимум в области  $\varepsilon_o < 0$  исчезает. Сжимающее напряжение (штриховая линия), напротив, способствует метастабильной ориентации, так что состояния с  $\varepsilon_o > 0$  и  $\varepsilon_o < 0$  при сильном сжатии меняются устойчивостью.

На рис. 6, б указаны различные сценарии эволюции напряжений в зависимости от деформации при постоянной скорости одноосного деформирования и при различных температурных

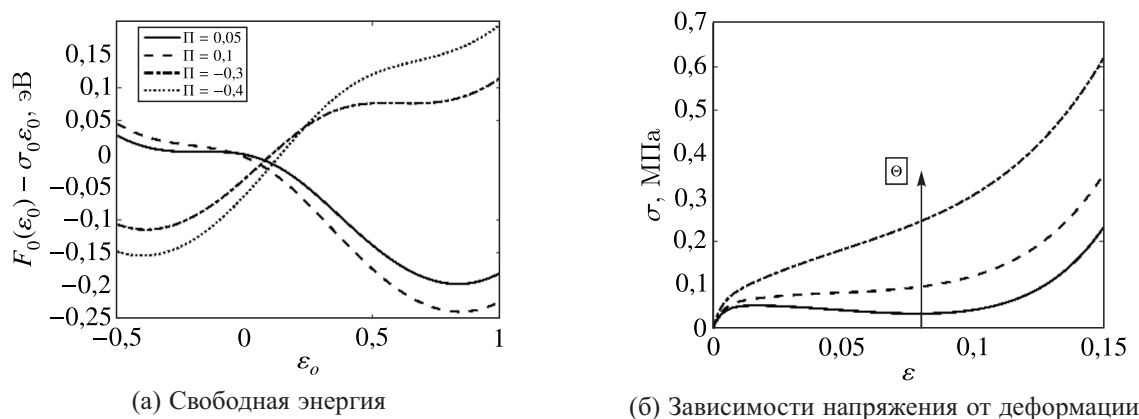


Рис. 6. Зависимости ориентационной части свободной энергии от параметра порядка при различных значениях напряжения  $\Pi = \frac{\gamma \sigma_0}{\lambda}$  и различные сценарии эволюции напряжений в зависимости от деформации при различных значениях эффективного температурного фактора  $\Theta$

значениях, определяемые соотношениями (23), (24). «Ориентационному течению» соответствует горизонтальное плато на кривой, обозначенной сплошной линией; высоту плато определяет так называемое напряжение зажигания. Выпуклый участок слева от плато связан с неравновесностью процесса деформирования (растяжение всегда ведется с конечной скоростью). Если это предположение справедливо, то высота нелинейного участка слева от плато должна увеличиваться с ростом скорости растяжения, приближаясь к своему предельному значению, определяемому шириной области метастабильности. При высоких температурных значениях деформация становится однозначной функцией, зависящей от напряжения. Для небольших напряжений связь между деформацией и  $\sigma$  можно считать линейной, так что уравнение (23) превращается в уравнение, описывающее поведение стандартного линейного тела.

Если исключить влияние температурных и ориентационных эффектов (за учет которых отвечает последнее слагаемое в правой части (23)), данное определяющее соотношение будет соответствовать модели стандартного линейного тела. Разрешая (23) относительно  $\sigma_0$  при заданной истории деформирования  $\epsilon_0$  и используя (14), можем получить ядро релаксации  $R(t)$ .

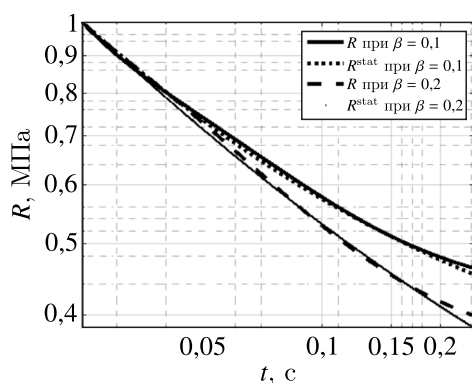
## 5. Идентификация параметров моделей клетки по функции релаксации

На рис. 7 и 8 визуализированы аналитические зависимости (16) при различных временах релаксации  $\tau$  и степени одной из дробных производных  $\beta$ . Степень второй дробной производной фиксирована и равна 0,75. Параметр  $\tau_1$  совпадает с конечным временем индентирования. Модуль Юнга  $E$  равен 1 кПа.

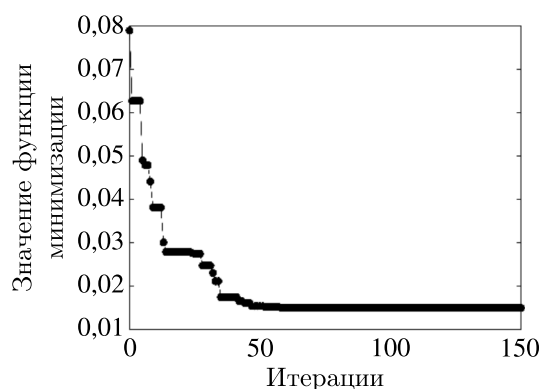
Согласно предложенной в § 3 процедуре идентификации параметров вязкоупругих моделей, после определения функций релаксации на основе экспериментальных и теоретических данных следует решить задачу оптимизации относительно параметров исследуемой вязкоупругой модели, коей в данном исследовании предлагается считать статистико-термодинамическую модель клетки.

Рассмотрим примеры решения задачи минимизации невязки между функциями релаксации (17), (10) и (23), (14), рассчитанными на основе дробной и статистико-термодинамической моделей. В качестве метода решения использовался метод Нелдера – Мида. На рис. 7, а в логарифмических координатах приведены два ядра релаксации дробной модели при значениях  $\beta$ , равных 0,1 и 0,2, а также при  $\tau = 0,1$  (сплошная и точечная линии соответственно). В качестве



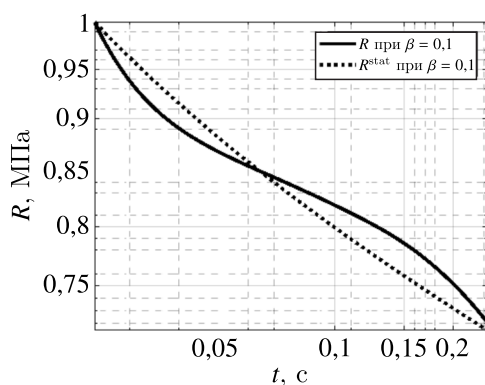


(а) Функции релаксации, рассчитанные при  $\tau = 0,1$  с в логарифмических координатах

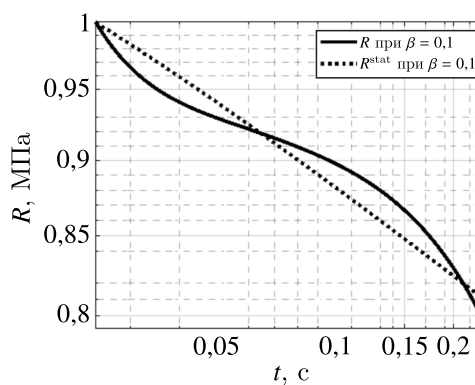


(б) Типовая зависимость значений функции минимизации от итераций процедуры оптимизации

Рис. 7. Функции релаксации, рассчитанные на основе силовых кривых и зависимостей «напряжение – деформация»



(а)  $\tau = 0,01$  с



(б)  $\tau = 0,001$  с

Рис. 8. Функции релаксации, рассчитанные на основе силовых кривых и зависимостей «напряжение – деформация» и представленные в логарифмических координатах

оптимизируемых (искомых) параметров выступает параметр статистико-термодинамической модели, а именно два модуля релаксации  $E_0$  и  $E_1$ , а также эффективный температурный фактор и время релаксации.

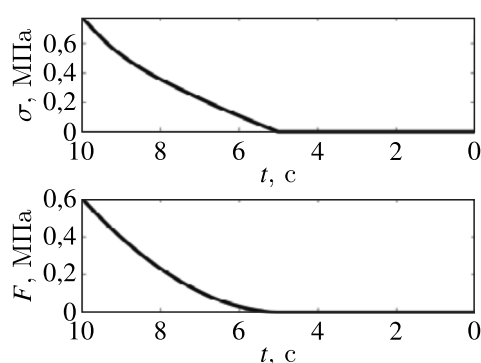
По результатам видно, что при фиксированном времени релаксации дробной модели и различных степенях дробной производной получается достаточно хорошее качественное и количественное соответствие результатов. Также на рис. 7, б представлена типовая зависимость значений функции минимизации от итераций процедуры оптимизации для случая  $\beta = 0,2$  и  $\tau = 0,1$ . В качестве начальных значений оптимизируемых параметров использовались параметры, определенные для случая  $\beta = 0,1$  и  $\tau = 0,1$ . Видно, что ошибка стремится к нулевому значению, в частности, ее значение равно 1,5 %.

Далее была решена задача оптимизации относительно силовых кривых при фиксированных значениях дробных производных ( $\alpha = 0,75$  и  $\beta = 0,1$ ), но при различных временах релаксации. На рис. 8 можно видеть результаты численного подбора параметров статистико-термодинамической модели по заданным силовым кривым. Зависимости находятся в качественном соответствии. Значения найденных параметров для всех рассмотренных случаев приведены в табл. 1.

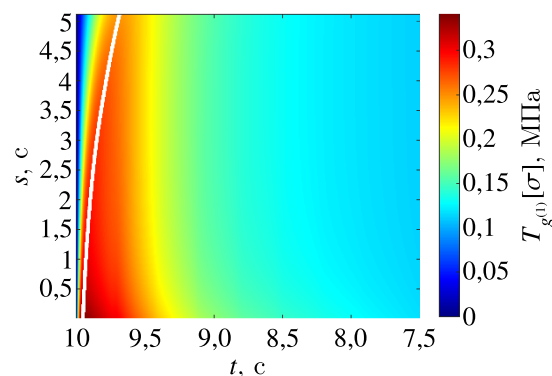
Рис. 9 иллюстрирует типовой вид кривой «напряжение – деформация» и силовой кривой при параметрах моделей, соответствующих эксперименту 3 (см. табл. 1), а также поверхности

Таблица 1. Значения параметров модели с двумя параллельными дробными элементами и статистико-термодинамической модели

№ exper.	$\beta$	$\tau$ , с	$E_0$ , кПа	$E_1$ , кПа	$\Theta$ , эВ	$\tau^{\text{stat}}$ , с
1	0,1	0,1	4,09	1,90	0,87	484,49
2	0,2	0,1	3,91	1,85	0,97	466,62
3	0,1	0,01	2,23	0,75	1,09	104,37
4	0,1	0,001	1,03	0,83	0,09	0,97



(а) Кривая «напряжение – деформация» и силовая кривая



(б) Поверхность вейвлет-коэффициентов и ее линия максимумов зависимости «напряжение – деформация» (белый цвет)

Рис. 9. Зависимость «напряжение – деформация» и результат применения для нее вейвлет-преобразования, а также зависимость «сила – глубина индентирования». Силовая кривая получена при  $\tau = 0,01$  с и  $\beta = 0,1$ . Зависимость «напряжение – деформация» – в результате решения задачи оптимизации с данной силовой кривой

вейвлет-коэффициентов и ее линию максимумов, обозначенную белым цветом. Заметим, что существенные вариации в «загибе» линий максимумов на больших временных масштабах на рис. 4, б и 9, б связаны с как с характером рассматриваемой зависимости, так и со «стартовой позицией» линии максимумов. Для силовых кривых точка начала кривой экстремумов лежит в окрестности времени контакта индентора и клетки. Для зависимостей «напряжение – деформация» – в окрестности времени наиболее нелинейной реакции материала, определяющейся функцией  $w(\varepsilon_p)$  (см. соотношение (24)) и зависящей от эволюции структуры клетки.

## 6. Заключение

Представленное в статье исследование посвящено разработке метода идентификации и верификации параметров вязкоупругих моделей клетки на основе сопоставления функций релаксации, полученных из экспериментальных силовых кривых и теоретических кривых «напряжение – деформация» с применением вейвлет-дифференцирования. Необходимость создания подобных методов обусловлена тенденциями по разработке новых физически обоснованных математических моделей клетки, связывающих механические и биологические функции клеток в условиях жизненного цикла и при патологических трансформациях. Для достижения поставленной цели в работе процедура вейвлет-дифференцирования, применяемая ранее для расчета функции релаксации клетки по данным атомно-силовой микроскопии, обобщена на случай анализа результатов моделирования напряженно-деформированного состояния вязкоупругого материала.

В работе предложено использовать одномерное непрерывное вейвлет-преобразование для извлечения сведений о релаксационных свойствах объекта моделирования. Приведены аналити-

ческие выкладки, позволяющие на основе силовых кривых и зависимости «напряжение – деформация» получать аналогичные друг другу ядра релаксации. Для подтверждения корректности программной реализации алгоритмов вейвлет-дифференцирования приводятся различные примеры. Аналитические и численные результаты согласуются с результатами оригинального цикла работ, в котором был предложен алгоритм анализа релаксационных свойств клеток на основе данных атомно-силовой микроскопии [Digiuni et al., 2015; Laperrousaz et al., 2016a; Laperrousaz et al., 2016b; Polizzi et al., 2018].

Рассмотрены модели клетки, на примере которых показано применение предложенной процедуры идентификации и верификации их параметров. В качестве модели, воспроизводящей результаты силовой спектроскопии клетки [Rebêlo et al., 2013; Rebêlo et al., 2014; de Sousa et al., 2020], рассмотрена и реализована модель с двумя параллельно соединенными дробными элементами. Результаты реализации соответствуют известным данным, сведения о которых можно найти, например, в работе [Shitikova, 2022].

В качестве конкретного примера разрабатываемого и требующего проверки подхода к описанию механического отклика клетки выбрана статистико-термодинамическая модель, учитывающая структурные свойства клетки и предложенная в недавней работе [Nikitiuk et al., 2023]. В части соединения составных элементов данная модель имеет схожий вид со стандартным линейным телом, которое является представителем более широкого класса моделей, называемых обобщенными моделями Максвелла. В отличие от обобщенных моделей Максвелла, которые достаточно часто применяются для описания поведения биологических образцов в исследованиях процесса релаксации напряжений методом АСМ, вместо введения большого количества вязких элементов и ассоциирующихся с ними значений времен релаксации в рамках статистико-термодинамического подхода можно использовать идею непрерывного спектра релаксации, что подробно рассмотрено в оригинальной работе [Nikitiuk et al., 2023]. Данный спектр зависит и определяется в каждый момент времени внутренними параметрами, характеризующими структуру моделируемой системы. В частности, в качестве такого параметра может выступать параметр порядка ансамбля актиновых филаментов. В случае если внешний слой клетки является менее вязким по сравнению со внутренними слоями, вязкость которых возрастает по мере глубины их залегания, стоит ожидать, что его вклад в измеряемые экспериментально параметры будет более существенным. То есть деформация внешнего слоя будет больше, а релаксация — медленнее. Использование модельного представления клетки в виде ориентационно-вязкоупругого тела отражает этот эффект, распределяя реакцию слоев по временной области. При этом нет необходимости введения большого количества дополнительных параметров, требующих идентификации, а именно модулей упругости и времен релаксации в обобщенной модели Максвелла, а также геометрических характеристик, таких как, например, толщина структурных слоев клетки.

Представленные в данном исследовании результаты построения статистико-термодинамической модели клетки и численных расчетов на ее основе согласуются с рядом исследований [Babahosseini et al., 2015; Bausch et al., 1998; Darling, Zauscher, Guilak, 2006; Deshpande, McMeeking, Evans, 2006; Efremov et al., 2017; Moreno-Flores et al., 2010; Naimark, 2016; Naimark, Bayandin, Zocher, 2017; Roylance, 2001; Shliomos, Raikher, 1978; Thoumine, Ott, 1997], что подтверждает адекватность применения данного подхода к описанию механического поведения клеток. При этом в работе [Nikitiuk et al., 2023] не приводятся данные по идентификации параметров модели для случая нагружения клетки. При подтверждении адекватности модели на основе экспериментальных данных рассматривается только этап выдержки индентора в клетке, соответствующий процессу релаксации напряжений. Предложенный в данной статье подход, по сути, позволяет расширить область применения модели к анализу данных атомно-силовой микроскопии на случай нагружения клетки, то есть когда индентор подводится и внедряется в изучаемый образец.

Поставлена и решена задача оптимизации параметров статистико-термодинамической модели клетки в сопоставлении с дробной моделью в представлении Кельвина – Фойгта. Результаты решений статистико-термодинамической модели с подобранными параметрами находятся в хорошем качественном, а в некоторых случаях и количественном соответствии с «эталонными» зависимостями. Установленные значения приведены в таблице 1, согласуются с параметрами, определенными в работах [Efremov, Okajima, Raman, 2019; Laperrousaz et al., 2016b; Moreno-Flores et al., 2010] для клеток культуральных линий MCF-7, TF1 и NIH 3T3. При этом стоит отметить, что задача минимизации невязки не обладает единственным решением и сходимость процесса оптимизации сильно зависит от выбранных исследователем начальных приближений.

Стоит отметить, что предложенный в работе метод идентификации и верификации параметров вязкоупругих моделей клетки применим только к силовым кривым, полученным с использованием индентора атомно-силового микроскопа конической/пирамидальной формы. Этот факт накладывает определенные ограничения развитого в исследовании подхода. При этом в известной автору литературе (например, в статье [Cheng, Cheng, 2004]) применительно к исследованию вязкоупругих свойств клеток рассматриваются в том числе инденторы конической или пирамидальной формы. Таким образом, вопрос обобщения предложенной методики на все возможные случаи геометрии индентора остается открытым и определяет перспективу дальнейших изысканий.

## Список литературы (References)

- Alcaraz J., Buscemi L., Grabulosa M., Trepast X., Fabry B., Farré R., Navajas D. Microrheology of human lung epithelial cells measured by atomic force microscopy // *Biophys. J.* — 2003. — Vol. 84, No. 3. — P. 2071–2079.
- Babahosseini H., Carmichael B., Strobl J. S., Mahmoodi S. N., Agah M. Sub-cellular force microscopy in single normal and cancer cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2015. — Vol. 463, No. 4. — P. 587–592.
- Bausch A. R., Ziemann F., Boulbitch A. A., Jacobson K., Sackmann E. Local measurements of viscoelastic parameters of adherent cell surfaces by magnetic bead microrheometry // *Biophys. J.* — 1998. — Vol. 75, No. 4. — P. 2038–2049.
- Cheng Y. T., Cheng C. M. Scaling, dimensional analysis, and indentation measurements // *Mater. Sci. Eng. R. Reports.* — 2004. — Vol. 44, No. 4–5. — P. 91–149.
- Darling E. M., Zauscher S., Guilak F. Viscoelastic properties of zonal articular chondrocytes measured by atomic force microscopy // *Osteoarthr. Cartil.* — 2006. — Vol. 14, No. 6. — P. 571–579.
- Deshpande V. S., McMeeking R. M., Evans A. G. A bio-chemo-mechanical model for cell contractility // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 2006. — Vol. 103, No. 38. — P. 14015–14020.
- Digiuni S., Berne-Dedieu A., Martinez-Torres C., Szecsi J., Bendahmane M., Arneodo A., Argoul F. Single cell wall nonlinear mechanics revealed by a multiscale analysis of AFM force-indentation curves // *Biophys. J.* — 2015. — Vol. 108, No. 9. — P. 2235–2248.
- Efremov Y. M., Kotova S. L., Timashev P. S. Viscoelasticity in simple indentation-cycle experiments: a computational study // *Sci. Rep.* — 2020. — Vol. 10, No. 1. — P. 1–15.
- Efremov Y. M., Okajima T., Raman A. Measuring viscoelasticity of soft biological samples using atomic force microscopy // *Soft Matter.* — 2019. — Vol. 16, No. 1. — P. 64–81.
- Efremov Y. M., Wang W. H., Hardy S. D., Geahlen R. L., Raman A. Measuring nanoscale viscoelastic parameters of cells directly from AFM force-displacement curves // *Sci. Rep.* — 2017. — Vol. 7, No. 1. — P. 1–14.
- Garcia P. D., Garcia R. Determination of the elastic moduli of a single cell cultured on a rigid support by force microscopy // *Biophys. J.* — 2018a. — Vol. 114, No. 12. — P. 2923–2932.

- Garcia P.D., Garcia R.* Determination of the viscoelastic properties of a single cell cultured on a rigid support by force microscopy // *Nanoscale*. — 2018b. — Vol. 10, No. 42. — P. 19799–19809.
- Garcia P.D., Guerrero C.R., Garcia R.* Time-resolved nanomechanics of a single cell under the depolymerization of the cytoskeleton // *Nanoscale*. — 2017. — Vol. 9, No. 33. — P. 12051–12059.
- de Gennes P.G., Prost J., Pelcovits R.* The physics of liquid crystals // *Phys. Today*. — 1995. — Vol. 48, No. 5. — P. 70–71.
- Gittes F., Schnurr B., Olmsted P.D., MacKintosh F.C., Schmidt C.F.* Microscopic viscoelasticity: Shear moduli of soft materials determined from thermal fluctuations // *Phys. Rev. Lett.* — 1997. — Vol. 79, No. 17. — P. 3286.
- Kollmannsberger P., Fabry B.* Linear and nonlinear rheology of living cells // *Annu. Rev. Mater. Res.* — 2011. — Vol. 41. — P. 75–97.
- Laperrousaz B., Berguiga L., Nicolini F.E., Martinez-Torres C., Arneodo A., Satta V.M., Argoul F.* Revealing stiffening and brittling of chronic myelogenous leukemia hematopoietic primary cells through their temporal response to shear stress // *Phys. Biol.* — 2016a. — Vol. 13, No. 3. — P. 03LT01.
- Laperrousaz B., Drillon G., Berguiga L., Nicolini F., Audit B., Satta V.M., Arneodo A., Argoul F.* From elasticity to inelasticity in cancer cell mechanics: A loss of scale-invariance // *AIP Conf. Proc.* — 2016b. — Vol. 1760, No. 1.
- Li M., Dang D., Liu L., Xi N., Wang Y.* Atomic force microscopy in characterizing cell mechanics for biomedical applications: A review // *IEEE Trans. Nanobioscience*. — 2017. — Vol. 16, No. 6.
- Moendarbary E., Harris A.R.* Cell mechanics: Principles, practices, and prospects // *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* — 2014. — Vol. 6, No. 5. — P. 371–388.
- Moreno-Flores S., Benitez R., Vivanco M.D.M., Toca-Herrera J.L.* Stress relaxation and creep on living cells with the atomic force microscope: A means to calculate elastic moduli and viscosities of cell components // *Nanotechnology*. — 2010. — Vol. 21, No. 44. — P. 445101.
- Naimark O.B.* Energy release rate and criticality of multiscale defects kinetics // *Int. J. Fract.* — 2016. — Vol. 202, No. 2. — P. 271–279.
- Naimark O.B., Bayandin Y.V., Zocher M.A.* Collective properties of defects, multiscale plasticity, and shock induced phenomena in solids // *Phys. Mesomech.* — 2017. — Vol. 20, No. 1. — P. 10–30.
- Nikitiuk A.S., Bayandin Y.V., Naimark O.B.* Statistical thermodynamics of DNA with open states // *Phys. A Stat. Mech. its Appl.* — 2022. — Vol. 607. — P. 128156.
- Nikitiuk A.S., Korznikova E.A., Dmitriev S.V., Naimark O.B.* Nonlinear dynamics of DNA with topological constraints // *Lett. Mater.* — 2018. — Vol. 8, No. 4. — P. 489–493.
- Nikitiuk A.S., Koshkina A.A., Bayandin Y.V., Naimark O.B.* On thermodynamics and relaxation properties of eukaryotic cells // *Int. J. Non. Linear. Mech.* — 2023. — Vol. 157. — P. 104532.
- Polizzi S., Laperrousaz B., Perez-Reche F.J., Nicolini F.E., Satta V.M., Arneodo A., Argoul F.* A minimal rupture cascade model for living cell plasticity // *New J. Phys.* — 2018. — Vol. 20, No. 5. — P. 053057.
- Radmacher M., Fritz M., Hansma P.K.* Imaging soft samples with the atomic force microscope: gelatin in water and propanol // *Biophys. J.* — 1995. — Vol. 69, No. 1. — P. 264–270.
- Radmacher M., Fritz M., Kacher C.M., Cleveland J.P., Hansma P.K.* Measuring the viscoelastic properties of human platelets with the atomic force microscope // *Biophys. J.* — 1996. — Vol. 70, No. 1. — P. 556–567.
- Radmacher M., Tillmann R.W., Gaub H.E.* Imaging viscoelasticity by force modulation with the atomic force microscope // *Biophys. J.* — 1993. — Vol. 64, No. 3. — P. 735–742.
- Rebêlo L.M., de Sousa J.S., Filho J.M., Radmacher M.* Comparison of the viscoelastic properties of cells from different kidney cancer phenotypes measured with atomic force microscopy // *Nanotechnology*. — 2013. — Vol. 24, No. 5. — P. 055102.



- Rebêlo L. M., de Sousa J. S., Filho J. M., Schäpe J., Doschke H., Radmacher M.* Microrheology of cells with magnetic force modulation atomic force microscopy // *Soft Matter*. — 2014. — Vol. 10, No. 13. — P. 2141–2149.
- Roduit C., Sekatski S., Dietler G., Catsicas S., Lafont F., Kasas S.* Stiffness tomography by atomic force microscopy // *Biophys. J.* — 2009. — Vol. 97, No. 2. — P. 674–677.
- Roylance D.* Engineering viscoelasticity // Department of Materials Science and Engineering – Massachusetts Institute of Technology, Cambridge MA. — 2001. — Vol. 2139. — P. 1–37.
- Shitikova M. V.* Fractional operator viscoelastic models in dynamic problems of mechanics of solids: A review // *Mech. Solids*. — 2022. — Vol. 57, No. 1. — P. 1–33.
- Shliomos M. I., Raikher Y. L.* Orientational ordering and mechanical properties of solid polymers // *J. Exp. Theor. Phys.* — 1978. — Vol. 5. — P. 1760–1783.
- de Sousa J. S., Freire R. S., Sousa F. D., Radmacher M., Silva A. F. B., Ramos M. V., Monteiro-Moreira A. C. O., Mesquita F. P., Moraes M. E. A., Montenegro R. C., Oliveira C. L. N.* Double power-law viscoelastic relaxation of living cells encodes motility trends // *Sci. Rep.* — 2020. — Vol. 10, No. 1. — P. 1–9.
- Spinelli J. B., Zaganjor E.* Mitochondrial efficiency directs cell fate // *Nat. Cell Biol.* — 2022. — Vol. 24, No. 2. — P. 125–126.
- Thoumine O., Ott A.* Time scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblasts probed by microplate manipulation // *J. Cell Sci.* — 1997. — Vol. 110, No. 17. — P. 2109–2116.
- Wang K., Qin Y., Chen Y.* In situ AFM detection of the stiffness of the in situ exposed cell nucleus // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* — 2021. — Vol. 1868, No. 5. — P. 118985.
- Yu W., Sharma S., Rao E., Rowat A. C., Gimzewski J. K., Han D., Rao J.* Cancer cell mechanobiology: a new frontier for cancer research // *J. Natl. Cancer Cent.* — 2022. — Vol. 2, No. 1. — P. 10–17.
- Ziemann F., Rädler J., Sackmann E.* Local measurements of viscoelastic moduli of entangled actin networks using an oscillating magnetic bead micro-rheometer // *Biophys. J.* — 1994. — Vol. 66, No. 6. — P. 2210–2216.