



## Calculating Young's Modulus of Cancer Cells Using Contact Mechanic Models

Elham Baradari <sup>a</sup>, Manizhe Zakeri <sup>a\*</sup>, Javad Faraji <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Mechanical Engineering, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>b</sup> Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran

### Original Article

Use your device to scan  
and read the article online



**Citation:** Baradari E, Zakeri M, Faraji J. Calculating Young's Modulus of Cancer Cells Using Contact Mechanic Models. *Mechanics of Advanced and Smart Materials*. 2025;5(2):271-291.

 <https://10.66224/masm.5.2.271>

### KEYWORDS

Cancer Detection,  
Hertz Contact Mechanic,  
JKR,  
Tatara,  
Atomic Force Microscopy.

### ABSTRACT

The measurement of cell stiffness, which results from changes in the cytoskeletal structure of cancer cells, can be used as a promising approach for the detection of cancer. One of the methods for investigating the mechanical properties of the cell surface is the use of atomic force microscopy (AFM), which can be used to determine the stiffness of the cell membrane by indenting the cell. From a biomechanical point of view, cancer can be investigated by determining the Young's modulus of cancer tissue. The determination and measurement of Young's modulus in cancer cells can be performed either experimentally or using mathematical modeling approaches. In this study, previously published AFM-derived force-indentation data for healthy and cancerous cervical and prostate cells were reanalyzed, and the Young's modulus was calculated using three contact mechanics models: Hertz, JKR, and Tatara. The results of these three models show that the Young's modulus values obtained with the Hertz and Tatara models are very close to each other, while the value obtained with the JKR model is significantly lower. This discrepancy is attributed to the inclusion of adhesion forces in the JKR model. Based on the results of this study, the difference in Young's modulus between cancerous and healthy cells could serve as a potential indicator for cancer detection.

### Extended Abstract

#### 1. Introduction

Cancer is recognized as one of the most complex diseases of this century, and its intrinsic complexity makes systematic investigation and analysis particularly challenging [1]. Measuring cellular stiffness, which results from changes in the cytoskeletal structure of cancer cells, provides valuable information about their metastatic potential and can be used for cancer diagnosis. One method for examining the mechanical properties of the cell surface is atomic force microscopy (AFM), which quantifies cell membrane stiffness through controlled cellular indentation. By characterizing interaction forces and providing quantitative parameters related to cancer-induced cellular changes, AFM enables the assessment of cell deformation. Additionally, by analyzing the indentation depth, the Young's modulus can be determined, facilitating the identification of cancer cells [2-4]. Extensive studies have identified cancer cells using nanoscale contact mechanics in biological materials. Measuring cellular elastic properties can significantly aid cancer diagnosis. By using the Young's modulus parameter, researchers can examine the distinct mechanical responses of cells to external forces and compare the stiffness of tumor tissues with that of healthy tissues [5]. Changes in elasticity promote the migration and invasion of malignant cancer cells during metastasis. Lekka et al. reported a decrease in the Young's modulus of cancer cells by comparing the elastic module of cancerous and healthy cells [6]. Cross et al., using cells obtained directly

\* Corresponding author: Tel.: 09125366703; Fax: 04133393866

E-mail address: [m.zakeri@tabrizu.ac.ir](mailto:m.zakeri@tabrizu.ac.ir)

DOI: <https://10.66224/masm.5.2.271>.

Received: June 27, 2025; Received in revised form: August 06, 2025; Accepted: August 25, 2025.

© Author



from the bodily fluids of patients suspected of lung, breast, or pancreatic cancer, showed that a reduction in cellular stiffness, characteristic of cancer cells, is observed under experimental conditions both *in vivo* and *in vitro* [7]. Li et al. characterized the elasticity of benign and malignant breast cancer cells and demonstrated that, at physiological body temperature, benign cancer cells have a lower Young's modulus than malignant cells. They also reported that the Young's modulus increases with increasing loading rate, highlighting the rate-dependent mechanical behavior of cancer cells [8]. These findings indicate that both intrinsic cellular properties and external mechanical conditions play crucial roles in the measured elastic response. Faria et al. used atomic force microscopy and the Young's modulus derived from the Hertz model to compare three types of metastatic prostate cancer cells, demonstrating a reduction in cellular stiffness in cancer cells [9]. One of the earliest changes in cancer cells involves structural and mechanical modifications that allow malignant cells to detach from their original site and migrate as a tumor mass. Cellular stiffness is influenced not only by different stages of the cancer cell cycle but also by the mechanical properties of the native tissue; increased cancer cell proliferation is commonly associated with changes in cell stiffness. In several cancer types, including prostate, bladder, thyroid, and ovarian cancers, morphological and structural alterations of the cytoskeleton have been reported. These changes are typically linked to a partial loss of actin fibers or microtubule disorganization resulting from reduced density within the cellular architecture [10, 11]. Such cytoskeletal remodeling directly affects cellular mechanical behavior and contributes to increased deformability, facilitating cancer cell migration and invasion during disease progression. Hammer et al. characterized tumor formation and progression through structural changes in the extracellular matrix (ECM) and, using AFM, quantified stiffness differences between tumor and benign cells. Their findings indicated that ECM homeostasis is disrupted during mammary gland development, leading to increased breast tissue stiffness and a higher potential for tumor growth. They also showed that healthy and benign tissues have relatively uniform stiffness, while malignant tissues display a broad stiffness distribution due to pronounced tissue heterogeneity [12]. According to the literature, several studies have aimed to reconcile experimental observations with existing theoretical models. In these investigations, well-established contact mechanics models have been evaluated to identify which formulations most accurately represent the actual mechanical response of cells. In this context, Girot et al. developed a microforce-based *in vitro* system to determine the mechanical properties of single cells. Using a bio-force microscope, they examined the mechanical behavior of human HeLa cells, and the resulting contact mechanics were predicted using the JKR and DMT models, which account for adhesive forces. The mechanical responses derived from these models were then compared with those obtained from the Hertz model [13], providing insight into the suitability of different contact mechanics frameworks for modeling cellular behavior. To gain a more comprehensive understanding of disease onset and progression from a biomechanical perspective, molecular-level alterations can be systematically investigated. Cellular biomechanics provides a promising framework for developing novel approaches to early disease diagnosis. In addition to genetic alterations and mutations, changes in the mechanical properties of cancer cells are also observed. Atomic force microscopy-based indentation enables quantification of cellular elastic properties and provides a direct measure of deformability through the Young's modulus. The Young's modulus can be determined using appropriate contact mechanics models. In this study, suitable models will be used to estimate the Young's modulus with the goal of achieving higher accuracy in early-stage cancer detection.

## 2. Materials and Methods

This paper examines the mechanical behavior of healthy and cancerous cells using experimental data and contact mechanics models. The Hertz, JKR, and Tataru contact models at the nanoscale are introduced in the following sections. This section analyzes the mechanical responses of healthy and cancerous cells based on experimental measurements and interprets them within different contact mechanics frameworks. All experimental data used in this study were obtained with atomic force microscopy (AFM). To gain a more comprehensive biomechanical understanding of disease onset and progression, molecular-level alterations can be systematically examined. Cellular biomechanics provides a promising approach for developing novel methods for early disease diagnosis. In addition to genetic alterations and mutations, cancer cells show measurable changes in their mechanical properties. Atomic force microscopy-based indentation allows quantification of cellular elastic properties, enabling cancer cell deformability to be expressed quantitatively through the Young's modulus. The Young's modulus can be estimated using appropriate contact mechanics models. In this study, we use compatible contact models to estimate the Young's modulus, aiming to enhance the accuracy of early-stage cancer detection. The Hertz model is appropriate for rigid, non-adhesive contacts between hemispherical bodies and is primarily used for preliminary estimation of Young's modulus in non-adhesive environments. In contrast, the JKR (Johnson–Kendall–Roberts) model explicitly accounts for adhesive forces between contacting surfaces, making it particularly well suited for analyzing soft and biological materials. By incorporating surface energy and its

variations within the contact region, the JKR model provides greater accuracy in the mechanical characterization of cancer cells, which display distinct biomechanical behavior. The Tatara model was developed to address conditions involving larger deformations that extend beyond the linear elastic regime. By modifying the classical Hertzian equations, the Tatara model enables more precise analysis of biomechanical contacts at the nanoscale. In this section, all three models are presented with respect to their mathematical formulations and physical principles, establishing the foundation for subsequent analysis of the experimental data.

## 2.1. Contact Mechanics Models

One application of AFM-based contact mechanics is determining the mechanical properties of nanoparticles during micro- and nano-manipulation. Before contact, the AFM tip interacts with the nanoparticles, causing deformations that can affect both their mechanical properties and subsequent motion. Various contact models have been applied to spherical nanoparticles [14, 15]. The study of smooth-surface contact mechanics began with Hertz theory, which considers frictionless contact between two elastic bodies. The JKR model was the first contact mechanics framework to explicitly include adhesion, describing adhesive interactions between soft and rigid spheres [16]. The Tatara model addresses large-deformation contact states of spherical specimens against extended, laterally flat surfaces, conditions not captured by the Hertz model. The following section briefly introduces the Hertz, JKR, and Tatara models.

### 2.1.1. Hertz Contact Model

The earliest studies in contact mechanics were conducted by Hertz [17]. The Hertz contact model describes elastic contact between a sphere and a flat surface, neglecting surface forces and adhesion. In this framework, the contact radius ( $a_H$ ) and the relationship between applied force and indentation depth are defined for sphere–substrate interactions, such as those between an AFM tip and a cancer cell or between a spherical cell and a flat substrate. This model is widely used to analyze the indentation of spherical geometries. However, its assumption of non-adhesive contact limits its accuracy for soft biological materials, where adhesive interactions significantly affect mechanical response. Despite this limitation, the Hertz model provides a reliable first approximation for estimating the Young's modulus of cells and serves as a foundational reference for more advanced contact models.

$$a_H^3 = \frac{R}{K} F^H \quad (1)$$

$$\delta = \frac{a_H^2}{R} \quad (2)$$

where,  $\delta_H$  denotes the indentation depth,  $F^H$  is the applied force between the cell and the AFM probe tip, and  $R = (R_{cell}R_p)/(R_{cell} + R_p)$  represents the effective (reduced) radius.  $K$  is the effective elastic modulus, defined as follows. In this expression,  $R_p$  corresponds to the radius of the AFM probe tip, while  $R_{cell}$  denotes the radius of the cancer cell (or tumor spheroid). In this model, the cell is assumed to behave as a soft hemispherical body. The cell's Young's modulus can then be determined using the Hertzian contact mechanics framework through the following equation:

$$\frac{1}{K} = \frac{1 - \nu_{cell}^2}{E_{cell}} + \frac{1 - \nu_p^2}{E_p} \quad (3)$$

where  $E_{cell}$  and  $E_p$  are the Young's moduli of the cancer cell and the AFM probe tip, respectively, and  $\nu_{cell}$  and  $\nu_p$  are the Poisson's ratios of the cancer cell and the AFM probe tip, respectively.

### 2.1.2. JKR Contact Model

The JKR theoretical model incorporates short-range surface forces that act within the contact region [16, 18]. Under these conditions, the tip–particle geometry deviates from the assumptions of the Hertz model. JKR theory accurately describes adhesive forces in soft, deformable materials and is therefore well suited for application to living cells. The force–indentation relationships for this model are given in Eqs. (4) and (5).

$$F^{JKR} = F + 3\pi\omega R + \sqrt{6\pi\omega R F + (3\pi\omega R)^2} \quad (4)$$

$$\delta_{JKR} = \frac{a_{JKR}^2}{R} - \frac{2}{3} \sqrt{\frac{6\pi\omega a_{JKR}}{K}} \quad (5)$$

where the contact radius ( $a_{JKR}$ ) is given as follows:

$$a_{JKR}^3 = \frac{R}{K} F^{JKR} \tag{6}$$

Here,  $\omega$  represents the adhesion energy between the two surfaces. The JKR contact mechanics theory provides an accurate framework for describing adhesive forces in soft, deformable materials and is therefore applicable to living cells. In this model, the cytoskeleton is assumed to behave as a three-dimensional elastic structure with sufficient deformability to meet the assumptions of JKR theory. However, once the cytoskeleton is ruptured, the JKR model is no longer applicable. In the presence of strong adhesion and large deformations, when the adhering surfaces are subjected to a separating force, a finite and nonzero contact area remains at the point of detachment. Under these conditions, JKR theory establishes a relationship between the tensile force  $F$  and the adhesion energy, which is determined by the radius of curvature of the contacting materials.

**2.1.2. Tatara Contact Model**

This model enables the description of large-deformation states of spherical samples in contact with an extended, laterally flat surface, a scenario not adequately captured by the Hertz model. The limitations of the Hertz framework become especially apparent when applied to real systems. For example, when two spheres have significantly different Young’s moduli, the contact surface cannot be assumed to remain flat and often shows adhesive interactions. This consideration was incorporated into the development of the JKR model as an extension of the Hertz theory [17]. When the indentation becomes large, several assumptions underlying the Hertz model must be revised. Tatara’s theory provides a framework for large-deformation contact mechanics, neglecting adhesion forces. In this model, an elastic sphere undergoing significant deformation is analyzed within the Tatara contact framework. The sphere is assumed to be confined between two parallel plates, with a compressive force applied via the upper plate, while the lower surface is fixed, allowing the sphere to deform in both directions. Because deformation occurs in two opposite directions, the magnitude of deformation measured by AFM is twice that predicted by the original Hertz model. Equations (7) and (8) describe the relationship between the applied force and the indentation depth according to the Tatara model [19].

$$F_T = b\delta_T^{1.5} + \left(\frac{3b^2}{2b_c}\right)\delta_T^2 + \left(\frac{15b^3}{8b_c^2}\right)\delta_T^{2.5} \tag{7}$$

$$b_c = \frac{4\pi E_{cell} R_{cell}}{(1 + \nu_{cell})(3 - 2\nu_{cell})} \tag{8}$$

$$b = \frac{4}{3} \frac{\sqrt{R} E_{cell}}{(1 - \nu_{cell}^2)}$$

**3. Results**

To determine Young’s modulus, which quantifies cell deformability, the three contact models described in the previous section were used. In this study, human cervical cancer cells (HeLa) and healthy End1/E6E7 cells [20], as well as human prostate cancer cells (LNCaP) and healthy PZ-HPV-7 cells [21], were examined. To estimate cell elasticity using Young’s modulus, force–indentation curves were obtained and analyzed with contact models for spherical indenters, considering the appropriate AFM tip radius. The required parameter values are listed in Table 1.

**Table 1. Parameters involved in determining the Young’s modulus of the cancer cell mass [31, 32].**

	$E_p$ (GPa)	$R_{cell}$ (m)	$\nu_{cell}$	$\nu_p$	$\omega$ (J/m <sup>2</sup> )
hela	169	$5 \times 10^{-6}$	0.5	0.27	0.0002
LNCaP	169	$5 \times 10^{-6}$	0.5	0.27	0.0002

The force–indentation curves characterize the mechanical response of cells to externally applied compressive forces. As shown in Fig. 1, these curves are presented for HeLa cancer cells and healthy End1/E6E7 cells.

As shown in Figure 1, the indentation depth increases as the applied force increases. The force–indentation curves for these cells were analyzed using the Hertz, JKR, and Tatara contact models. Figure 2 shows the variation of Young’s modulus with indentation depth for the Hertz model. The force required to indent normal cells is substantially higher than that required for cancer cells, indicating that normal cells have greater mechanical stiffness than cancer cells. As shown in Figure 2, as indentation depth increases, the Young’s modulus of cancer cells approaches a constant value, whereas this trend is not observed for healthy cells. At the initial part of the curve, due to the small indentation depth, the data points are scattered and may be less reliable, a behavior also

reported in Ref. [22]. The Hertz model does not account for surface forces or adhesion during contact and assumes that the cell behaves as a soft hemispherical body. Figure 2 presents the Young's modulus values obtained using the JKR model for the cells examined in this study.

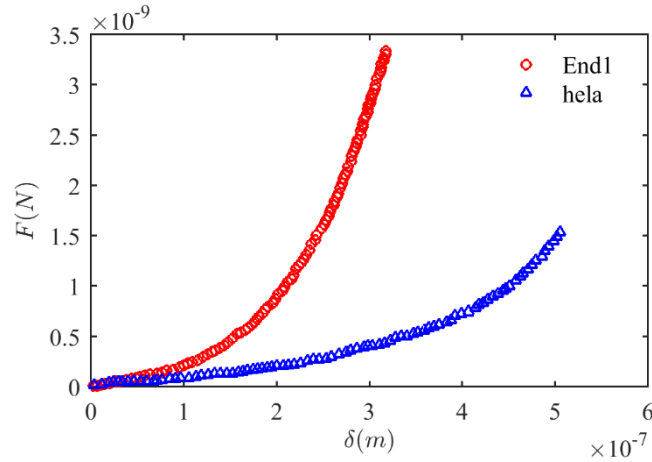


Figure 1. Force-indentation curves for HeLa cancer cells and healthy End1/E6E7 cells [20]

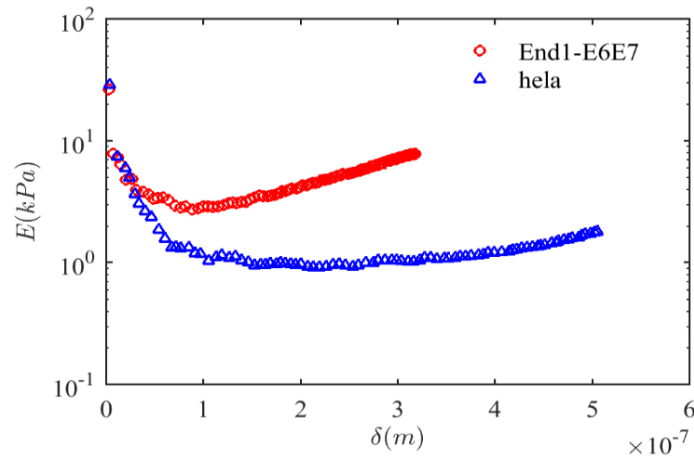


Figure 2. Young's modulus using the Hertz model for HeLa cancer cells and healthy End1/E6E7 cells

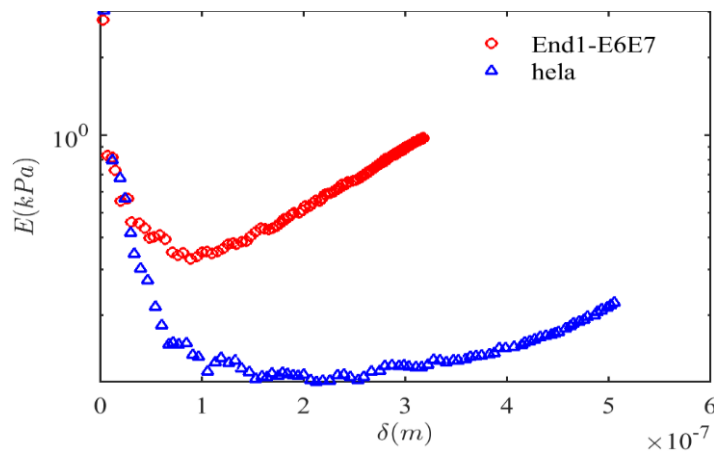


Figure 3. Young's modulus using the JKR model for HeLa cancer cells and healthy End1/E6E7 cells

Subsequently, the Young's modulus of the aforementioned cells was determined using the Tatara model, as shown in Figure 4.

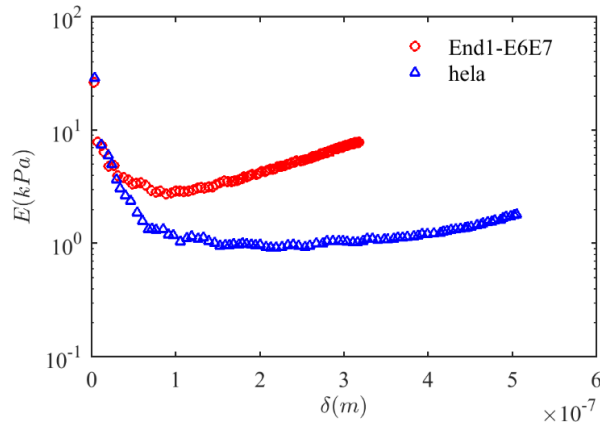


Figure 4. Young's modulus using the Tataro model for HeLa cancer cells and healthy End1/E6E7 cells

Based on this analysis, results are considered reliable when the indentation depth exceeds 0.3 nm. At smaller indentation depths, the contact mechanics relations are not valid within the continuum mechanics framework and are typically addressed using molecular dynamics approaches. Figure 5 presents a comparison of the Young's modulus estimated using the Hertz, JKR, and Tataro models for healthy and cervical cancer cells at indentation depths greater than 0.3 nm.

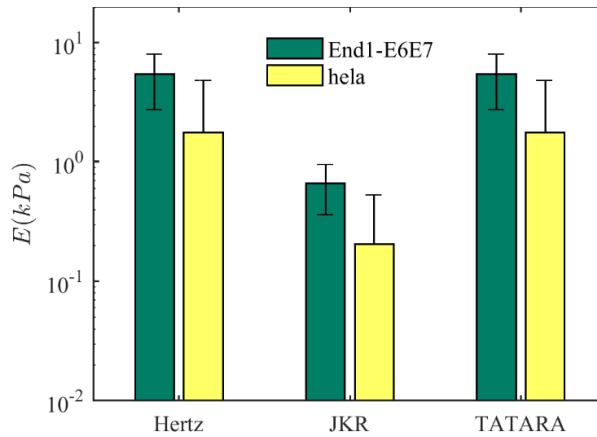


Figure 5. Mean Young's modulus and standard deviation for HeLa cancer cells and healthy End1/E6E7 cells

To further clarify the differences between cancerous and healthy cells, an additional cancer type was included in the analysis. Figure 6 shows the force-indentation curves for LNCaP prostate cancer cells and healthy PZ-HPV-7 cells. As shown in Figure 6, the indentation depth increases as the applied force increases. The force-indentation curves for these cells were analyzed using the Hertz, JKR, and Tataro contact models. Figure 7 shows the variation of Young's modulus with indentation depth for the Hertz model. At the beginning of the curve, due to the small indentation depth, the data points are scattered and may be less reliable, a trend also reported in the literature. Figure 8 shows the Young's modulus values obtained using the JKR model for the cells analyzed in this study.

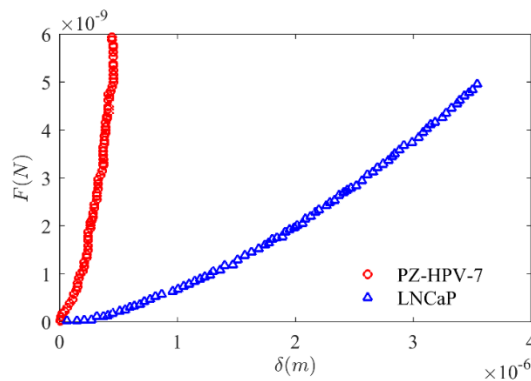


Figure 6. Force-indentation curves for LNCaP cancer cells and healthy PZ-HPV-7 cells [21]

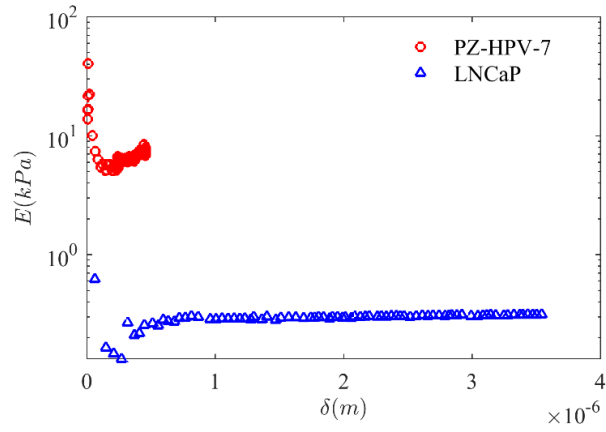


Figure 7. Young's modulus using the Hertz model for LNCaP cancer cells and healthy PZ-HPV-7 cells

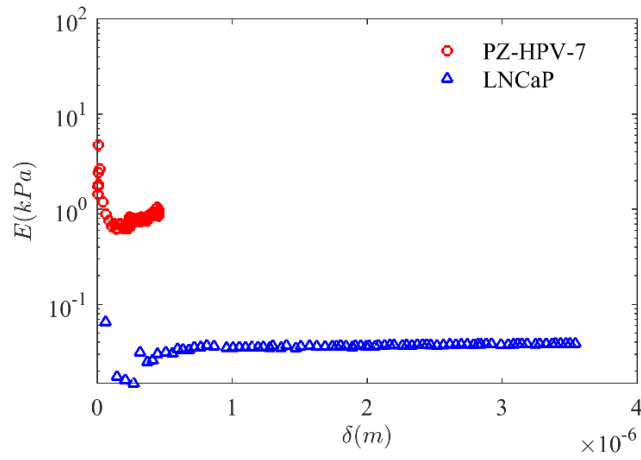


Figure 8. Young's modulus using the JKR model for LNCaP cancer cells and healthy PZ-HPV-7 cells



## تعیین مدول یانگ سلول‌های سرطانی با استفاده از مدل‌های مکانیک تماس

الهام برادری<sup>الف</sup>، منیژه ذاکری<sup>ب\*</sup>، جواد فرجی<sup>ج</sup>

<sup>الف</sup> کارشناسی ارشد، گروه مهندسی مکترونیک، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>ب</sup> دانشیار، گروه مهندسی مکترونیک، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>ج</sup> استادیار، گروه مهندسی مکانیک، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

چکیده	واژگان کلیدی
اندازه‌گیری سفتی سلولی که به علت تغییر ساختار سیتواسکلتی سلول‌های سرطانی است می‌تواند در زمینه تشخیص انواع سرطان مورد استفاده قرار گیرد. یکی از روش‌های بررسی خواص مکانیک سطح سلول، استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) است که با دندان‌گذاری سلولی می‌توان سفتی غشای سلولی را اندازه‌گیری کرد. از نقطه نظر بیومکانیکی، بیماری سرطان را می‌توان با روش تعیین مدول یانگ بافت سرطانی مورد بررسی قرار داد. تعیین و اندازه‌گیری مدول یانگ در سلول‌های سرطانی به دو روش تجربی و استفاده از روش‌های مدل‌سازی ریاضی انجام می‌شود. در این مطالعه، داده‌های نیرو-فرورفتگی منتشر شده در مطالعات پیشین که با AFM برای دو نوع سلول سالم و سرطانی دهانه رحم و پروستات به دست آمده‌اند، بازتحلیل شده و مدول یانگ با سه مدل مکانیک تماسی هرتز، JKR و تاتارا محاسبه شده است. با بررسی نتایج به دست آمده از این سه مدل مشخص می‌شود که مدول یانگ به دست آمده از مدل‌های هرتز و تاتارا بسیار به هم نزدیک می‌باشند، در حالی که نتایج به دست آمده از مدل JKR به طور چشمگیری نسبت به دو مدل دیگر کمتر است. دلیل این اختلاف استفاده از نیروهای چسبندگی در مدل JKR می‌باشد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از این مقاله، تفاوت مدول یانگ در سلول‌های سرطانی و سلول‌های سالم می‌تواند شاخصی برای تشخیص سرطان باشد.	تشخیص سرطان، مکانیک تماسی هرتز، مدل JKR، مدل تاتارا، میکروسکوپ نیروی اتمی.
	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۶
	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۱۵
	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۳

### ۱- مقدمه

سرطان به عنوان یکی از پیچیده‌ترین بیماری‌های قرن حاضر مطرح بوده و پیچیدگی ذاتی آن، فرآیند مطالعه و تحلیل را با دشواری‌های متعدد همراه می‌کند [۱]. اندازه‌گیری سفتی سلولی که ناشی از تغییر ساختار سیتواسکلتی سلول‌های سرطانی است، اطلاعات مهمی درباره پتانسیل متاستاتیک سلول‌ها را ارائه می‌دهد که می‌تواند در زمینه تشخیص سرطان مورد استفاده قرار گیرد. یکی از روش‌های بررسی خواص مکانیکی سطح سلول، استفاده از AFM است که با دندان‌گذاری سلولی می‌تواند سفتی غشای سلولی را اندازه‌گیری کند. به طوریکه با شناسایی نیروهای برهم‌کنش و ارائه پارامترهای کمی در مورد تغییرات ایجاد شده در سلول‌های سرطانی می‌توان میزان تغییر شکل سلول را با کمک ابزار AFM تعیین نمود. همچنین با اندازه‌گیری عمق فرورفتگی می‌توان مدول یانگ را محاسبه و به تشخیص سلول‌های سرطانی پرداخت [۲-۴].

تحقیقات وسیعی به منظور تشخیص سلول‌های سرطانی با استفاده از مکانیک تماسی در مقیاس نانو در مواد بیولوژیکی انجام

شده است. اندازه‌گیری خاصیت ارتجاعی سلول‌ها در تشخیص سرطان می‌تواند کمک زیادی کند. با استفاده از پارامتر مدول یانگ، واکنش‌های متفاوت فیزیکی سلول‌ها در اثر نیروهای خارجی سلول‌ها را می‌توان بررسی و میزان سفتی بافت تومور با بافت سالم را مقایسه نمود [۱۵]. تغییرات الاستیسیته موجب تسهیل در انتقال و تهاجم سلول‌های بدخیم سرطانی در طول متاستاز می‌شود. لکا و همکاران با مقایسه مدول یانگ سلول‌های سرطانی و سلول‌های سالم کاهش مدول یانگ در سلول‌های سرطانی را گزارش دادند [۱۶]. اوباتایا و همکاران نفوذ به هر دو غشای سلولی و هسته‌ای برای سلول زنده را با استفاده از AFM مورد آزمایش قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که افزایش نیرو در طی فرایند دندان‌گذاری با مدل هرترز سازگار می‌باشد [۲۳]. کراس و همکاران با استفاده از سلول‌هایی که مستقیماً از مایع بدن بیماران مشکوک به سرطان ریه، سینه و لوزالمعده به دست آمده بودند، نشان دادند که کاهش سفتی به‌عنوان ویژگی سلول‌های سرطانی، در شرایط آزمایشی داخل و خارج از بدن موجود زنده در محیط آزمایشگاه دیده می‌شود [۱۷]. لی و همکاران به توصیف الاستیسیته سلول‌های سرطانی خوش‌خیم و بدخیم سینه پرداخته و نشان دادند که در دمای فیزیولوژیکی بدن، سلول‌های سرطانی خوش‌خیم دارای مدول یانگ کمتری نسبت به نوع بدخیم هستند. آن‌ها همچنین بیان نمودند با افزایش نرخ بارگذاری، مدول یانگ نیز افزایش می‌یابد [۱۸]. فاریا و همکاران سه نوع سلول سرطانی پروستات متاستازی متفاوت را با استفاده از AFM بر اساس مدول یانگ به‌دست‌آمده از مدل هرترز مقایسه کرده و نشان دادند که در سلول‌های سرطانی سفتی کاهش می‌یابد [۱۹]. ایبر و همکاران با در نظر گرفتن لایه مویی در سطح سلول تفاوت کمی بین سلول‌های سالم و سرطانی End1-E6E7 دهانه رحم انسان را مورد بررسی قرار داده و با بررسی داده‌های نیرو-تغییر شکل به دست آمده از سلول‌ها در شرایط در محیط آزمایشگاهی نشان دادند که سلول‌های سرطانی و سالم دارای چگالی متفاوتی هستند [۲۴]. رمبخت و همکاران در تحقیقات آزمایشگاهی خود نشان دادن تغییرات ایجادشده در اسکلت سلولی، می‌تواند روشی برای تشخیص میزان بدخیم بودن سلول‌های سرطانی باشد. آن‌ها با بررسی بیماران مبتلا به سرطان دهان نشان داده‌اند که سلول‌های سرطانی با میانگین تغییر شکل‌پذیری بالا و واریانس بالاتر نسبت به سلول‌های سالم، رفتار مکانیکی متفاوتی از خود نشان می‌دهند [۲۵]. یکی از تغییرات اولیه سلول‌های سرطانی تغییرات ساختاری و مکانیکی آن‌ها است که موجب جابه‌جا شدن سلول‌های سرطانی به‌صورت تومور از محل اولیه خود می‌شود. تغییرات ایجادشده در سفتی سلول علاوه بر مراحل مختلف چرخه سلول به بافت اصلی نیز وابسته بوده که مطابق با سفتی سلول، تکثیر سلول‌های سرطانی نیز افزایش می‌یابد. برای سایر سلول‌های سرطانی مانند پروستات، مثانه، تیروئید و تخمدان تغییرات ظاهری در ساختار و ساختمان سیتواسکلت و تغییر شکل سلول اشاره شده که این تغییرات معمولاً مربوط به از دست دادن بخشی از فیبرهای اکتین و یا بی‌نظمی در میکروتوبولها به دلیل کم شدن تراکم آن در ساختمان سلولی است [۱۰، ۱۱]. تانسورو و همکاران با استفاده از AFM سفتی سلول‌های زنده ۳ نوع تومور پوست را اندازه‌گیری کرده و با بررسی تغییرات الاستیک در سلول‌های توموری نشان دادند که کاهش سفتی با پتانسیل متاستاز سلول‌ها رابطه مستقیمی دارد [۲۶]. هامر و همکاران شکل‌گیری و پیشرفت تومور را با تغییرات ساختاری در ماتریکس خارج سلولی مشخص نمودند و با استفاده از AFM اختلاف سفتی سلول را بین سلول‌های تومور و سلول‌های خوش‌خیم را به دست آوردند. نتایج نشان می‌دهد هموستاز ماتریکس خارج سلولی در طول رشد پستانی مختل می‌شود که این امر منجر به افزایش سفتی پستان و افزایش پتانسیل رشد تومور می‌شود. آن‌ها همچنین نشان دادند بافت‌های سالم و خوش‌خیم دارای سفتی یکنواخت بوده، درحالی‌که بافت‌های بدخیم به دلیل ناهمگونی بافت دارای توزیع گسترده‌ای هستند [۱۲].

مطابق پیشینه تحقیق، برخی از مطالعات تلاش نمودند تا نتایج تجربی را با مدل‌های موجود تطبیق دهند. در این مطالعات مدل‌های معروف مورد توجه قرار گرفته‌اند و سعی شده است تا نزدیک‌ترین مدل به واقعیت معرفی شود. از این‌رو گیروت و همکاران یک سیستم بر پایه میکرو نیرو در مقیاس میکرو در محیط آزمایشگاهی به‌منظور تعیین مشخصه‌های مکانیکی تک‌سلول ارائه کرده‌اند. آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ نیروی زیستی و ویژگی‌های مکانیکی سلول‌های hela انسانی را مورد آزمایش قرار داده‌اند. مکانیزم تماس حاصل از مشخصات مکانیکی سلول با استفاده از دو مدل JKR (جانسون-کندال-رابرتز) و DMT با توجه به نیروهای چسبندگی پیش‌بینی کرده و رفتارهای مکانیکی این مدل‌ها با مدل هرترز مقایسه گردید [13]. لاجدال و همکاران فرورفتگی سلول به‌صورت زمان واقعی و با استفاده از مدل المان محدود برای مدل‌سازی فیزیکی بر بافت بیولوژیکی نرم بررسی کرده که قادر به شبیه‌سازی تغییر شکل سلول از طریق شبیه‌سازی به‌صورت بلادرنگ است. آن‌ها نتایج به‌دست‌آمده را با مدل

هرتز مقایسه کرده‌اند [۲۷]. کورایم و همکاران به منیپولیشن یک‌رشته ssDNA پرداخته و مدل‌های تماسی و معیارهای تأثیرگذار بر تغییر شکل را ارائه و نشان دادند که روند منیپولیشن ssDNA آزاد بر روی صفحه مینا سیلیکونی موفقیت‌آمیز است [۲۸، ۱۹]. این مطالعات بر روی خواص بیومکانیکی سلول و تومور به منظور توسعه و بهبود اندازه‌گیری پارامترهای نانو مکانیکی انجام شده است که در ادامه مطالعات بیومکانیکی را آسان‌تر خواهد کرد و به درک بهتر شروع، پیشرفت و انتشار سرطان و حتی مقاومت در برابر روند درمان کمک شایانی خواهد نمود، چرا که تعدیل سفتی با مقاومت دارویی نیز مرتبط است [۲۹]. بنابراین برای شناخت بهتر شروع و پیشرفت بیماری از دیدگاه بیومکانیکی می‌توان تغییراتی که در سطح مولکولی اتفاق می‌افتد را مورد بررسی قرارداد. بیومکانیک در سطح سلولی موجب یافتن روش‌های جدید برای تشخیص زود به هنگام بیماری می‌تواند باشد. علاوه بر تغییرات ژنتیکی و جهش در سلول‌های سرطانی، تغییراتی در خواص مکانیکی سلول‌های سرطانی نیز قابل مشاهده است که با روش دندان‌گذاری با کمک AFM، خواص الاستیک سلول‌های سرطانی اندازه‌گیری شده و شکل‌پذیری سلول سرطانی با استفاده از مدول یانگ به صورت کمی قابل تعریف است. مقدار مدول یانگ با استفاده از مدل تماسی می‌تواند به دست آید. در این مطالعه سعی خواهد شد از مدل‌های سازگار برای تخمین مدول یانگ استفاده شود که در نهایت برای تشخیص سرطان در مراحل اولیه، با دقت بالاتری می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

در این مقاله به صورت زیر بخش‌بندی شده است. بخش دوم به معرفی مدل‌های مکانیکی تماس شامل مدل‌های هرتز، JKR و تاتارا می‌پردازد که برای تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده از AFM به‌کار رفته‌اند. در بخش سوم، داده‌های تجربی حاصل از سلول‌های سالم و سرطانی تحلیل شده و مدول یانگ برای هر مورد با استفاده از مدل‌های مذکور محاسبه می‌گردد. بخش چهارم به بحث و تفسیر نتایج عددی اختصاص دارد و تفاوت‌های به‌دست‌آمده بین مدل‌ها و میان سلول‌های سالم و سرطانی را بررسی می‌کند. در نهایت، در بخش پنجم، نتیجه‌گیری نهایی ارائه شده و بر اهمیت استفاده از مدل‌های مکانیکی ساده و قابل‌اعتماد برای تحلیل خواص زیست‌مکانیکی سلول‌ها تأکید می‌گردد.

## ۲- مواد و روش‌ها

در این مقاله با استفاده از داده‌های تجربی و مدل‌های مکانیک تماسی رفتارهای مکانیکی سلول‌های سالم و سرطانی بررسی می‌شود. در ادامه مدل‌های مکانیک تماسی هرتز، JKR و تاتارا در مقیاس نانو معرفی می‌شوند. این بخش از مقاله به بررسی رفتارهای مکانیکی سلول‌های سالم و سرطانی با استفاده از داده‌های تجربی و تحلیل آن‌ها بر پایه مدل‌های مختلف مکانیک تماس اختصاص دارد. در این مطالعه، داده‌های تجربی حاصل از AFM مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این داده‌ها که به صورت منحنی‌های نیرو-فرورفتگی ثبت شده‌اند، اطلاعات ارزشمندی از پاسخ مکانیکی سلول‌ها در برابر اعمال نیرو فراهم می‌آورند. این پاسخ‌ها در قالب تغییر شکل و عمق فرورفتگی بررسی می‌شوند که امکان محاسبه پارامترهای مکانیکی نظیر مدول یانگ را فراهم می‌سازد. برای تحلیل این داده‌ها، از سه مدل مکانیکی تماس در مقیاس نانو استفاده می‌شود که هر یک بر اساس مفروضات فیزیکی متفاوتی بنا شده‌اند. مدل هرتز به عنوان یکی از قدیمی‌ترین و پایه‌ای‌ترین مدل‌ها، تماس بین دو جسم الاستیک را در غیاب نیروی چسبندگی تحلیل می‌کند. این مدل برای اجسام نیم‌کره‌ای و صلب مناسب است و بیشتر برای تخمین اولیه مدول یانگ در محیط‌های غیر چسبنده کاربرد دارد. در مقابل، مدل JKR نیروهای چسبندگی بین سطوح تماس را نیز در نظر می‌گیرد و برای تحلیل مواد نرم و زیستی بسیار مناسب است. این مدل با لحاظ کردن انرژی سطحی و تغییرات آن در ناحیه تماس، دقت بالاتری در تحلیل سلول‌های سرطانی که ویژگی‌های مکانیکی خاصی دارند، ارائه می‌دهد. در نهایت، مدل تاتارا برای شرایطی توسعه‌یافته است که در آن‌ها تغییر شکل‌ها بزرگ‌تر و از حالت‌های الاستیک خطی فراتر هستند. این مدل، با اصلاح معادلات کلاسیک هرتز، امکان تحلیل دقیق‌تری از تماس‌های بیومکانیکی در ابعاد نانو را فراهم می‌سازد. در این بخش، هر سه مدل با جزئیات ریاضی و فیزیکی معرفی شده و پیش‌زمینه‌ای برای تحلیل داده‌های تجربی فراهم می‌شود.

### ۲-۱- مدل‌های مکانیک تماسی

یکی از کاربردها در زمینه مکانیک تماس با کمک AFM، مشخص کردن خصوصیات مکانیکی برای نانو ذرات در طول میکرو/نانو منیپولیشن است. قبل از فرآیند تماس، نوک AFM با نانو ذرات برخورد کرده که باعث ایجاد تغییر شکل در نانو ذرات

می‌شود. این امر بر خصوصیات مکانیکی نانو ذرات و حرکت آن‌ها تأثیر خواهد گذاشت. علاوه بر این بسیاری از مدل‌های تماسی برای نانو ذرات کروی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۴، ۱۵]. شروع مسائل مکانیک سطح صاف با نظریه هرتز شروع شده است که تماس دو جسم الاستیک بدون اصطکاک را مورد بررسی قرار می‌دهد. مدل اولیه در مکانیک تماس که چسبندگی را در نظر می‌گیرد، مدل JKR است که چسبندگی بین کره‌های نرم و سخت را توصیف می‌کند [۱۶]. در نهایت مدل تاتارا برای توصیف حالت‌های با تغییر شکل بزرگ برای نمونه‌های کروی که در مقابل سطح گسترده و مسطح جانبی مورد استفاده قرار می‌گیرد که در مدل هرتز امکان‌پذیر نیست. در ادامه سه مدل هرتز، JKR و تاتارا به صورت اجمالی معرفی می‌شوند.

#### ۱-۱-۲- مدل تماسی هرتز

اولین مطالعات انجام شده در زمینه مکانیک تماس توسط هرتز صورت گرفته است [۱۷، ۳۰]. مدل تماسی هرتز تنها تماس بین کره و سطح صاف را در حالت الاستیک و بدون در نظر گرفتن نیروهای سطحی و چسبندگی بیان می‌کند. در این مدل شعاع تماس ( $a_H$ ) رابطه بین نیروی اعمالی و عمق فرورفتگی در نوک-توده سرطانی و توده سرطانی-صفحه مبنا ارائه شده است و این مدل برای فرورفتگی اشکال کروی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

$$a_H^3 = \frac{R}{K} F^H \quad (1)$$

$$\delta = \frac{a_H^2}{R} \quad (2)$$

که  $\delta_H$  عمق فرورفتگی،  $F^H$  نیروی اعمالی بین سلول و نوک پروب AFM،  $R = (R_{cell}R_p)/(R_{cell} + R_p)$  شعاع معادل و  $K$  مدول الاستیسیته مؤثر می‌باشد که به صورت زیر تعریف می‌شود. همچنین  $R_p$  شعاع نوک پروب AFM و  $R_{cell}$  شعاع توده سرطانی می‌باشد. در این مدل سلول به عنوان نیمکره نرم در نظر گرفته می‌شود. برای به دست آوردن مدول یانگ سلول با استفاده از روش مکانیک تماسی هرتز از معادله زیر استفاده می‌شود:

$$\frac{1}{K} = \frac{1 - \nu_{cell}^2}{E_{cell}} + \frac{1 - \nu_p^2}{E_p} \quad (3)$$

که  $E_p$  و  $E_{cell}$  مدول یانگ سلول سرطانی و نوک پروب AFM،  $\nu_p$  و  $\nu_{cell}$  نسبت پواسن سلول سرطانی و نوک پروب AFM می‌باشد.

#### ۲-۱-۲- مدل تماس JKR

مدل تئوری JKR نیروی سطحی با برد کوتاه را در نظر می‌گیرد که در داخل ناحیه تماس عمل می‌کند [۱۶، ۱۸]. هندسه نوک-ذره به حالت مدل هرتز باقی نمی‌ماند. نظریه JKR مدلی دقیق از نیروی چسبندگی برای مواد نرم تغییر شکل‌پذیر ارائه می‌دهد که می‌تواند برای سلول‌های زنده مورد استفاده قرار بگیرد. معادلات نیرو و فرورفتگی برای این مدل به صورت معادلات ۴ و ۵ می‌باشند.

$$F^{JKR} = F + 3\pi\omega R + \sqrt{6\pi\omega R F + (3\pi\omega R)^2} \quad (4)$$

$$\delta_{JKR} = \frac{a_{JKR}^2}{R} - \frac{2}{3} \sqrt{\frac{6\pi\omega a_{JKR}}{K}} \quad (5)$$

که شعاع تماس ( $a_{JKR}$ ) از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$a_{JKR}^3 = \frac{R}{K} F^{JKR} \quad (6)$$

به طوری که  $\omega$  انرژی چسبندگی بین دو سطح می‌باشد. نظریه مکانیک تماسی JKR مدلی دقیق از نیروی چسبندگی برای مواد نرم تغییر شکل‌پذیر ارائه می‌دهد که می‌تواند برای سلول‌های زنده مورد استفاده قرار بگیرد. اسکلت سلولی یک ساختار سه‌بعدی الاستیک فرض می‌شود که دارای قابلیت تغییر شکل‌پذیری کافی برای تئوری JKR است. وقتی اسکلت سلولی پاره شود،

تئوری JKR دیگر کاربرد ندارد. در چسبندگی و تغییر شکل‌های زیاد، زمانی که سطوح چسبندگی در معرض یک نیروی جداکننده قرار داد، محل تماس محدود غیر صفر در نقطه جدایی است. در این حالت، نظریه JKR رابطه بین نیروی کششی  $F$  و انرژی چسبندگی که از طریق شعاع انحنا مواد به دست می‌آید.

### ۳-۱-۲- مدل تماس تاتارا

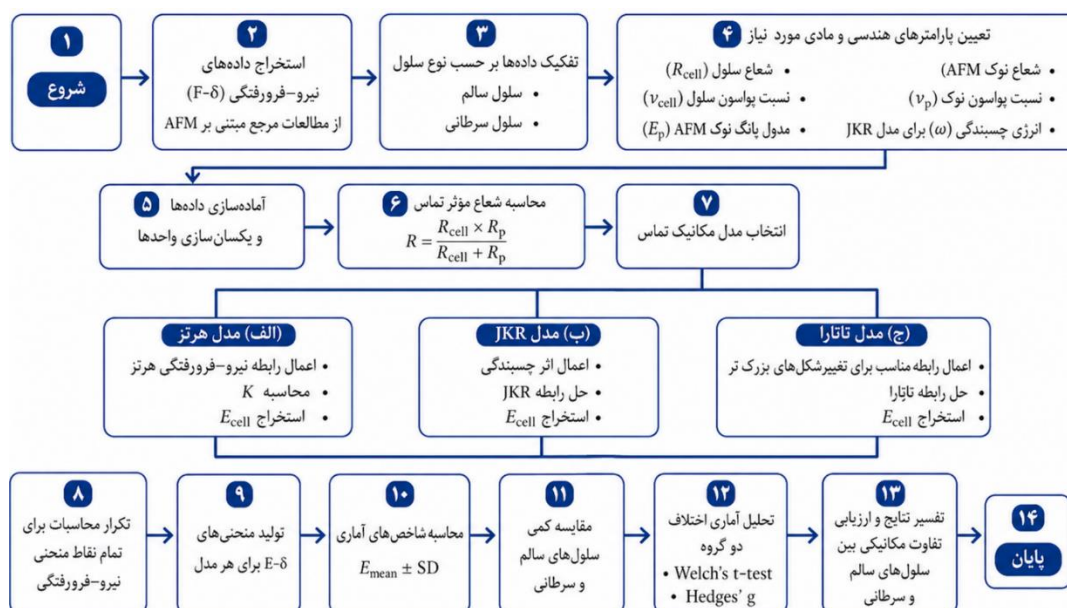
در این مدل برای توصیف حالت‌های با تغییر شکل بزرگ برای نمونه‌های کروی که در مقابل سطح گسترده و مسطح جانبی قرار می‌گیرد که در مدل هرگز امکان‌پذیر نیست. محدودیت‌های مدل هرگز هنگام استفاده در سیستم واقعی مشخص می‌شود. به‌عنوان مثال، هنگامی که دو کره دارای مدول یانگ بسیار متفاوت هستند، سطح تماس نمی‌تواند صاف باشد و اغلب چسبیده خواهد بود. شرط اخیر در توسعه مدل JKR از مدل هرگز گنجانیده شده است [۱۷]. هنگامی که فرورفتگی گسترده است، برخی از فرضیات در مدل هرگز باید اصلاح شوند. تئوری تاتارا، مدل مکانیک تماس با تغییر شکل بزرگ است که در آن معادلات نیروی چسبندگی نادیده گرفته می‌شود. یک کره در حالت الاستیک تحت تغییر شکل بزرگ در مدل تماسی با تاتارا مورد مطالعه قرار می‌گیرد. این حوزه بین دو صفحه موازی در نظر گرفته شده است. سپس نیروی فشاری بر روی حوزه از طریق صفحه به کار گرفته می‌شود. تصور می‌شود که سطح پایینی ثابت شده باشد، کره در هر دو جهت تغییر شکل می‌دهد. از آنجایی که کره تحت تغییر شکل در دو جهت قرار داد، اندازه تغییر شکل اندازه‌گیری شده از طریق AFM دو برابر تغییر شکل اولیه هرگز است. معادلات ۷ و ۸ رابطه نیرو و عمق فرورفتگی برای مدل تاتارا را بیان می‌کند [۱۹].

$$F_T = b\delta_T^{1.5} + \left(\frac{3b^2}{2b_c}\right)\delta_T^2 + \left(\frac{15b^3}{8b_c^2}\right)\delta_T^{2.5} \quad (7)$$

$$b_c = \frac{4\pi E_{cell} R_{cell}}{(1 + \nu_{cell})(3 - 2\nu_{cell})} \quad (8)$$

$$b = \frac{4}{3} \frac{\sqrt{R} E_{cell}}{(1 - \nu_{cell}^2)}$$

مراحل محاسبه مدول یانگ از داده‌های نیرو-فرورفتگی حاصل از AFM، فلوجارت روند تحلیل در شکل ۱ ارائه شده است. در این روند، ابتدا داده‌های نیرو-فرورفتگی سلول‌های سالم و سرطانی از مطالعات مرجع استخراج می‌شوند. سپس پارامترهای ورودی لازم، شامل شعاع سلول، شعاع نوک AFM، نسبت پواسون سلول و نوک، مدول یانگ نوک AFM و در صورت نیاز انرژی چسبندگی، تعیین می‌گردند. در ادامه، داده‌های نیرو و فرورفتگی در روابط مدل‌های تماس هرگز، JKR و تاتارا قرار داده می‌شوند و مقدار مدول یانگ سلول برای هر نقطه از منحنی محاسبه می‌شود.



شکل ۱ فلوجارت فرایند محاسبه مدول یانگ از داده‌های نیرو-فرورفتگی AFM با استفاده از مدل‌های مکانیک تماس

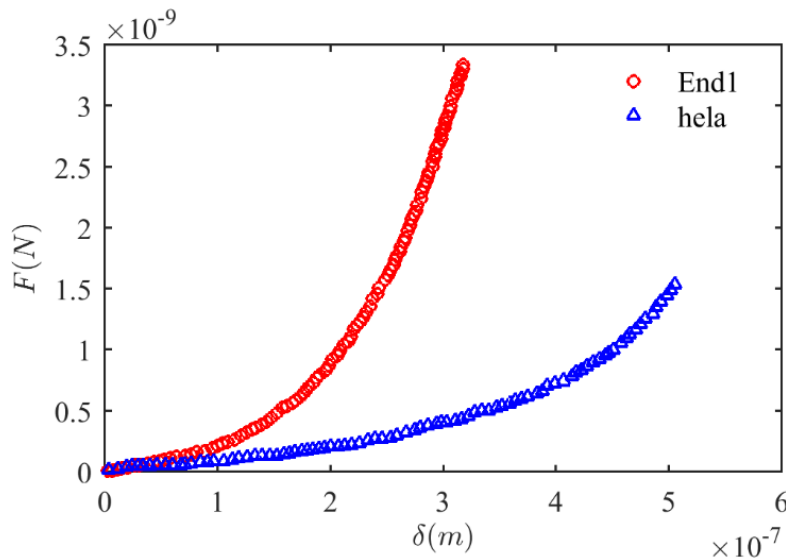
### ۳- نتایج

به منظور به دست آوردن مدول یانگ که نشان‌دهنده تغییر شکل‌پذیری کمی سلول می‌باشد، از سه مدل تماسی ذکر شده در بخش قبلی استفاده شد. در این مطالعه، هیچ‌گونه داده‌برداری تجربی با استفاده از AFM انجام نشده و تمامی تحلیل‌های مکانیکی بر پایه داده‌های نیرو-فرورفتگی منتشرشده در منابع [۲۰، ۲۱] انجام گردیدند. داده‌های مربوط به سلول‌های دهانه رحم، شامل سلول‌های HeLa و End1/E6E7 از [۲۰] و داده‌های مربوط به سلول‌های پروستات، شامل سلول‌های سرطانی LNCaP و سلول‌های سالم PZ-HPV-7 از [۲۱] دریافت شدند. در این منابع، سلول‌ها بر روی لامل‌های شیشه‌ای استریل‌شده و در ظروف پلی‌استایرنی کشت داده شدند. فرایند کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در اتمسفر حاوی ۵ درصد دی‌اکسید کربن انجام و سلول‌ها به مدت چهار روز نگهداری شدند تا میزان هم‌پوشانی آن‌ها به حدود ۹۰ درصد برسد. سپس، لامل‌ها در محفظه AFM حاوی بافر بیکربنات کربس-رینگر قرار داده شدند و آزمون‌های مکانیکی در دمای اتاق انجام گرفتند. در این آزمون‌ها، از میکروکانتیلوری با ثابت فنری ۰/۰۳ نیوتن بر متر استفاده شده است. در این آزمایشات منحنی‌های نیرو-فرورفتگی در دو ناحیه مرکزی و پیرامونی سلول و با فرکانس ۰/۲ هرتز ثبت شدند. برای هر رده سلولی، شش لامل مستقل در نظر گرفته شده و از هر لامل، یک تا سه سلول انتخاب گردیدند. سپس، میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از سلول‌های هر لامل، به‌عنوان مقدار نماینده همان لامل گزارش شده است. در هر دو مطالعه، پیش از آغاز اندازه‌گیری‌ها، حساسیت آشکارساز نوری بر روی یک سطح سخت مرجع، مانند شیشه یا میکا تعیین شده است. پس از آن، یک منحنی مرجع از ناحیه‌ای فاقد سلول ثبت و نوک میکروکانتیلور به بخش مرکزی و نسبتاً تخت سلول منتقل گردیده است. در این آزمایش‌ها، ثبت داده‌ها عمدتاً به‌صورت نقشه نیرو انجام شده است. برای مقایسه میان جمعیت‌های سلولی، معمولاً از شبکه‌های ۵×۵ یا ۶×۶ نقطه‌ای استفاده گردیده و در هر اجرای آزمایش، داده‌های مربوط به حدود ۵۰ تا ۶۰ سلول ثبت شدند. در مرجع [۲۱] تصریح گردیده است که مقدار مدول یانگ استخراج‌شده از داده‌های AFM به عوامل متعددی از جمله سختی میکروکانتیلور، حساسیت آشکارساز، سرعت بارگذاری، محل اندازه‌گیری بر روی سلول، اثر زیرلایه سخت، روش تعیین نقطه تماس و بازه فرورفتگی انتخاب‌شده برای برازش مدل وابسته است. بنابراین، مقایسه مقادیر مکانیکی تنها در صورتی معتبر تلقی می‌شود که نسبت به یک گروه مرجع و تحت شرایط تحلیلی یکسان انجام شده باشد. همچنین، در این آزمایش‌ها، سرعت رفت‌وبرگشت نوک در طول اندازه‌گیری‌ها ثابت نگه داشته شده تا وابستگی پاسخ مکانیکی سلول‌ها به نرخ کرنش به حداقل رسانده شود. فرورفتگی نیز، مطابق چارچوب پروتکل‌های پایه، به‌صورت اختلاف میان جابه‌جایی اعمال‌شده و خمش میکروکانتیلور تعریف گردیده است. نقطه تماس نیز بر اساس روش نرم‌افزاری به‌کاررفته در [۲۰، ۲۱] تعیین گردید. از آنجا که در داده‌های مرجع، تحلیل‌ها عمدتاً بر فرورفتگی‌های کوچک و نواحی مرکزی یا نسبتاً تخت سلول متمرکز شده بودند، اثر زیرلایه سخت تا حد امکان کاهش داده شده است. از این رو، پاسخ مکانیکی استخراج‌شده عمدتاً بازتاب‌دهنده ویژگی‌های لایه سطحی و قشر سلولی در نظر گرفته شده و به‌عنوان نماینده کامل رفتار مکانیکی کل حجم سلول تفسیر نمی‌گردد. در این مقاله، مقدار  $\nu_{cell} = 0.5$  برای سلول‌ها در نظر گرفته شده که با فرض رایج رفتار تقریباً تراکم‌ناپذیر مواد زیستی نرم سازگار است. افزون بر آن، بازه تحلیل به فرورفتگی‌های کوچک محدود گردیده تا اعتبار تقریب‌های شبه‌الاستیک حفظ گردد. برای تخمین الاستیسیته، پارامترهای فیزیکی و تجربی مؤثر، از جمله شعاع سلول و نوک AFM، نسبت پواسون سلول و AFM و مطابق جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱ پارامترهای موجود در تعیین مدول یانگ توده سرطانی [۳۲، ۳۱]

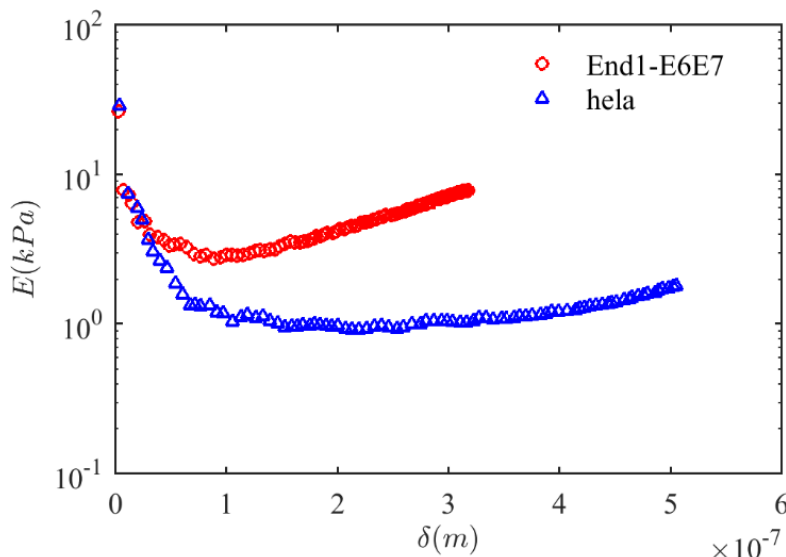
$\omega(J/m^2)$	$\nu_p$	$\nu_{cell}$	$R_{cell} (m)$	$E_p (GPa)$	
۰/۰۰۰۲	۰/۲۷	۰/۵	$5 \times 10^{-6}$	۱۶۹	hela
۰/۰۰۰۲	۰/۲۷	۰/۵	$5 \times 10^{-6}$	۱۶۹	LNCaP

شعاع نوک پروب  $R_p = 25 \text{ nm}$  مطابق با مشخصات ارائه شده در [۲۰, ۲۱] در نظر گرفته شده است به طوری که نوک AFM به صورت تقریباً کروی فرض شده است. اگرچه نوک‌های AFM در عمل دارای هندسه ایده‌آل کروی نیستند و معمولاً به صورت مخروطی یا هرمی با رأس گرد توصیف می‌شوند، اما در فرورفتگی‌های کوچک، تماس مکانیکی عمدتاً توسط انحنا نوک کنترل شده و می‌توان آن را به صورت یک کره با شعاع مؤثر تقریب زد. این تقریب به طور گسترده در تحلیل داده‌های AFM زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد و با فرضیات مدل‌های تماسی کلاسیک سازگار است. به طوری که این فرض کروی بودن نوک، امکان استفاده از مدل‌های هرتز، JKR و تاتارا را فراهم می‌کند. از این رو، در این پژوهش نیز شعاع مؤثر نوک بر اساس مقدار گزارش شده در منابع در نظر گرفته شده و استفاده از تقریب کروی به عنوان یک فرض استاندارد و پذیرفته شده در تحلیل داده‌های AFM اعمال شده است. منحنی‌های نیرو-فرورفتگی، واکنش مکانیکی سلول‌های تحت فشار نیروی خارجی اعمال شده را توصیف می‌کند. در شکل ۲ منحنی نیرو-فرورفتگی برای سلول‌های سرطانی hela به همراه سلول‌های سالم End1-E6E7 نشان داده است.



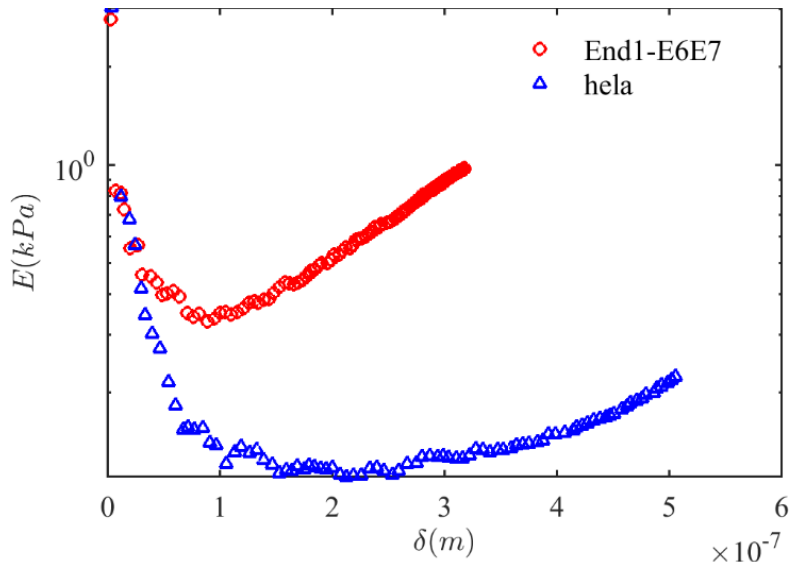
شکل ۲ منحنی نیرو-فرورفتگی برای سلول‌های سرطانی hela به همراه سلول‌های سالم End1-E6E7 [۲۰].

با توجه به شکل ۲، با افزایش نیرو، عمق فرورفتگی نیز افزایش پیدا می‌کند. منحنی‌های به دست آمده از نیرو-فرورفتگی برای این سلول‌ها با استفاده از مدل‌های تماسی هرتز، JKR و تاتارا تحلیل شده است. با در نظر گرفتن شکل ۳، مقادیر تغییر مدول یانگ بر حسب فرورفتگی برای مدل هرتز نشان داده شده است. نیروی مورد نیاز برای فرورفتگی سلول‌های طبیعی بسیار بیشتر از سلول‌های سرطانی است. این پدیده نشان می‌دهد که سلول‌های طبیعی نسبت به سلول‌های سرطانی سفت‌تر هستند.



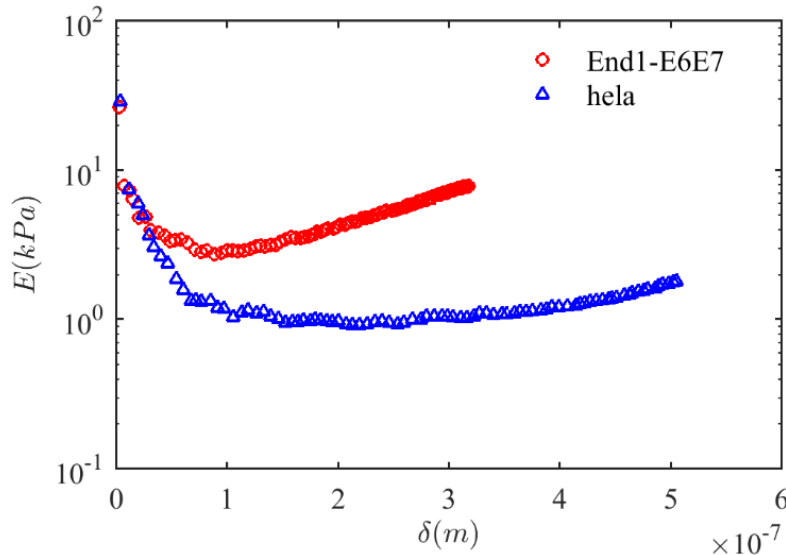
شکل ۳ مدول یانگ به دست آمده از مدل هرتز برای سلول‌های سرطانی hela به همراه سلول‌های سالم End1-E6E7

با توجه به شکل ۳ با افزایش فرورفتگی مشخص می‌شود که مقدار مدول یانگ برای سلول سرطانی به مقدار ثابتی میل می‌کند در صورتی که برای سلول سالم چنین نیست. باید توجه داشت که در ابتدای نمودار به علت کم بودن مقدار فرورفتگی، مقادیر داده‌ها پراکنده و نادرست است که این روند در مرجع [۲۲] نیز ارائه شده است. همچنین در مدل هرتز، نیروهای سطحی و چسبندگی در حین تماس در نظر گرفته نمی‌شود. در این مدل، سلول به‌عنوان نیمکره نرم فرض شده است. شکل ۴ نیز مدول یانگ به‌دست‌آمده از مدل JKR را برای سلول‌های موردنظر نشان می‌دهد.



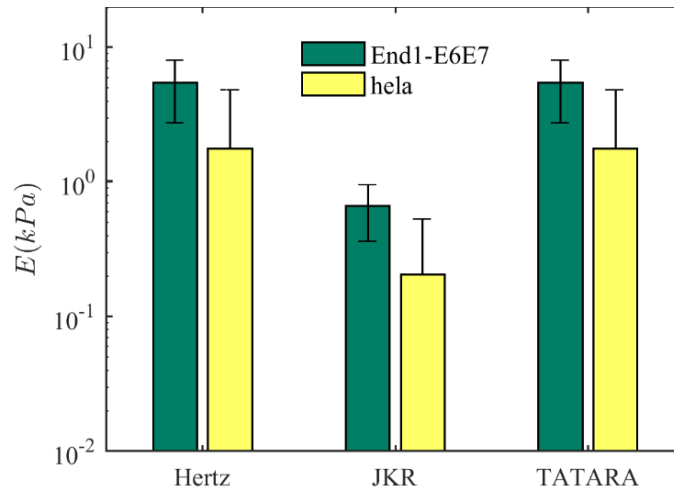
شکل ۴ مدول یانگ به‌دست‌آمده از مدل JKR برای سلول‌های سرطانی hela به همراه سلول‌های سالم End1-e6e7.

در ادامه مدول یانگ برای سلول‌های اشاره شده با استفاده از مدل تاتارا به‌دست‌آمده است که در شکل ۵ مشاهده می‌شود.



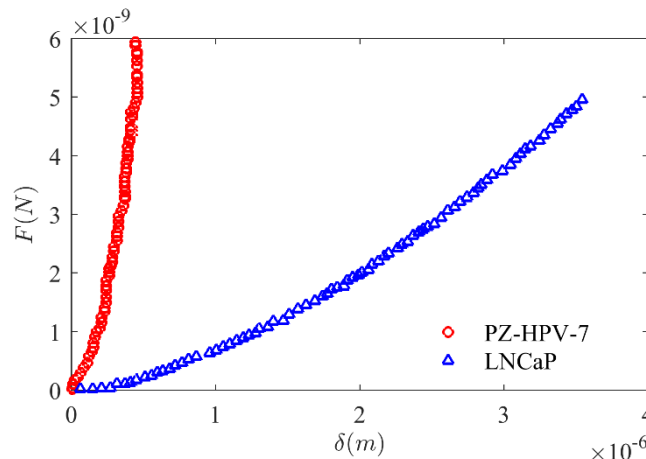
شکل ۵ مدول یانگ به‌دست‌آمده از مدل تاتارا برای سلول‌های سرطانی hela به همراه سلول‌های سالم End1-E6E7.

مطابق این بررسی برای حالتی که میزان فرورفتگی بیشتر از  $0.3$  نانومتر باشد، قابل قبول است؛ زیرا روابط مربوط به مکانیک تماس در محدوده کمتر از  $0.3$  در حوزه مکانیک محیط پیوسته صدق نمی‌کند و این محدوده در حوزه دینامیک مولکولی بررسی می‌شود. مقایسه مدول یانگ تخمین شده از مدل‌های هرتز، JKR و تاتارا برای سلول‌های سالم و سرطان دهانه رحم برای مدول عمق فرورفتگی بزرگ‌تر از  $0.3$  نانومتر در شکل ۶ نمایش داده شد.



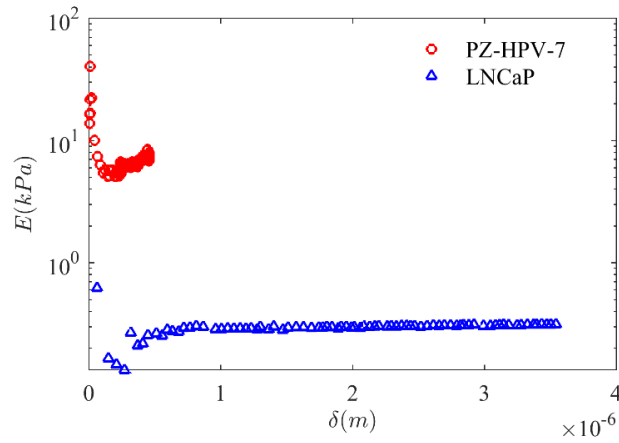
شکل ۶ مدول یانگ متوسط و انحراف از معیار برای سلول‌های سرطانی HeLa به همراه سلول‌های سالم End1-E6E7.

به منظور تکمیل مقایسه کمی بین سلول‌های سالم و سرطانی، مقادیر مدول یانگ استخراج شده از داده‌های نیرو-فرورفتگی برای هر سه مدل مکانیک تماس محاسبه و به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شد. نتایج نشان داد که در مدل هرتز، مقدار مدول یانگ برای سلول سالم End1/E6E7 برابر با  $5/214 \pm 1/668$  کیلوپاسکال و برای سلول سرطانی HeLa برابر با  $0/236 \pm 0/644$  کیلوپاسکال است. در مدل JKR، مقدار مدول یانگ برای سلول سالم و سلول سرطانی به ترتیب برابر با  $1/118 \pm 0/30$  و  $0/144 \pm 0/30$  کیلوپاسکال به دست آمد. همچنین در مدل تاتارا، مقدار مدول یانگ سلول سالم برابر با  $5/321 \pm 1/521$  کیلوپاسکال و مقدار متناظر برای سلول HeLa برابر با  $1/249 \pm 0/623$  کیلوپاسکال محاسبه شد. برای بررسی معناداری اختلاف بین سلول سالم و سرطانی، از آزمون تی مستقل با اصلاح ولج استفاده شد؛ زیرا این آزمون در شرایطی که پراکندگی داده‌ها در دو گروه یکسان نیست، برآورد محافظه کارانه‌تر و مناسب‌تری از اختلاف میانگین‌ها ارائه می‌دهد. علاوه بر مقدار احتمال، اندازه اثر نیز با استفاده از شاخص Hedges' g محاسبه شد تا شدت اختلاف مکانیکی بین دو گروه مشخص شود. نتایج آزمون آماری نشان داد که اختلاف مدول یانگ بین سلول سالم End1/E6E7 و سلول سرطانی HeLa در هر سه مدل تماس از نظر آماری معنادار است. در مدل هرتز، مقدار  $p = 8/49 \times 10^{-42}$  و اندازه اثر  $g = 3/216$  به دست آمد. در مدل JKR، مقدار  $p = 2/77 \times 10^{-41}$  و اندازه اثر  $g = 3/171$  محاسبه شد. در مدل تاتارا نیز مقدار  $p = 8.49 \times 10^{-42}$  و اندازه اثر  $g = 3.216$  به دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که صرف نظر از نوع مدل مکانیک تماسی، سلول سرطانی HeLa دارای مدول یانگ کمتری نسبت به سلول سالم End1/E6E7 است؛ بنابراین، سلول سرطانی از نظر مکانیکی نرم‌تر و تغییرشکل پذیرتر ارزیابی می‌شود. در ادامه به منظور شناخت بیشتر تفاوت سلول‌های سرطانی با سلول‌های سالم، یک مورد متفاوت سرطان نیز مورد توجه قرار گرفت. در شکل ۷ منحنی نیرو-فرورفتگی برای سلول‌های سرطانی LNCaP به همراه سلول‌های سالم PZ-HPV-7 نشان داده است.



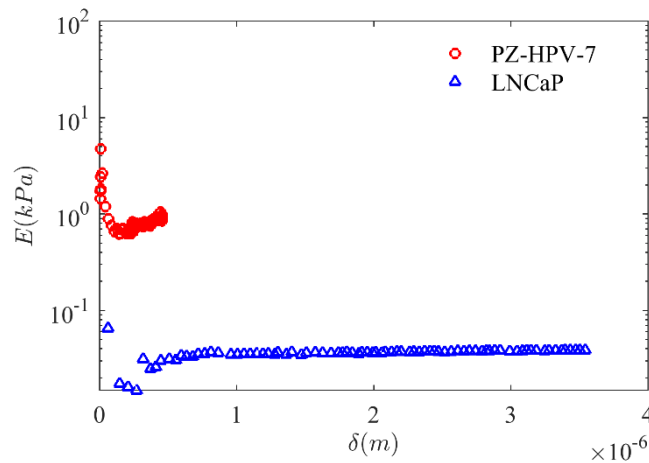
شکل ۷ منحنی نیرو-فرورفتگی برای سلول‌های سرطانی LNCaP به همراه سلول‌های سالم PZ-HPV-7 [۲۱].

با توجه به شکل ۷، با افزایش نیرو عمق فرورفتگی نیز افزایش پیدا می‌کند. منحنی‌های به‌دست آمده از نیرو- فرورفتگی برای این سلول‌ها با استفاده از مدل‌های تماسی هرتز، JKR و تاتارا تحلیل شده است. با در نظر گرفتن شکل ۸، می‌توان مقادیر تغییر مدول یانگ برحسب فرورفتگی برای مدل هرتز نشان داده شده است.



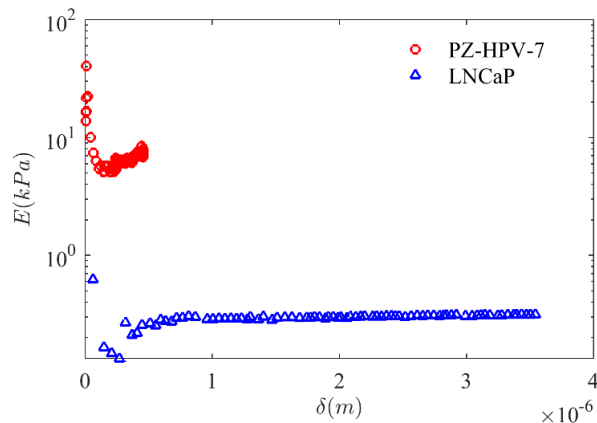
شکل ۸ مدول یانگ به‌دست آمده از مدل هرتز برای سلول‌های سرطانی LNCaP به همراه سلول‌های سالم PZ-HPV-7.

باید توجه داشت که در ابتدای نمودار به علت کم بودن مقدار فرورفتگی، مقادیر داده‌ها پراکنده و نادرست است که این روند در مراجع نیز دیده می‌شود. شکل ۹ نیز مدول یانگ به‌دست آمده از مدل JKR را برای سلول‌های موردنظر نشان می‌دهد.



شکل ۹ مدول یانگ به‌دست آمده از مدل JKR برای سلول‌های سرطانی LNCaP به همراه سلول‌های سالم PZ-HPV-7.

در ادامه مدول یانگ برای سلول‌های اشاره شده با استفاده از مدل تاتارا به‌دست آمده است که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود.

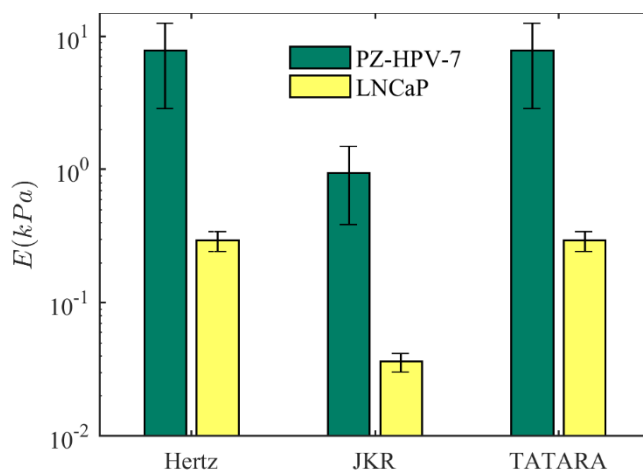


شکل ۱۰ مدول یانگ به‌دست آمده از مدل تاتارا برای سلول‌های سرطانی LNCaP به همراه سلول‌های سالم PZ-HPV-7.

مطابق این بررسی برای حالتی که میزان فرورفتگی بیشتر از  $0/3$  نانومتر باشد، قابل قبول است؛ مقایسه مدول یانگ تخمین شده از مدل‌های هرتز، JKR و تاتارا برای سلول‌های سالم و سرطان پروستات در شکل ۱۱ نمایش داده شد.

#### ۴- بحث

در این مقاله نمودار رفتار نیرو - فرورفتگی که از مطالعات تجربی به دست آمده‌اند مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. برای این منظور دو نوع سرطان شایع دهانه رحم برای زنان و سرطان پروستات برای مردان مورد بررسی قرار گرفته است. برای مطالعه سرطان دهانه رحم از داده‌های سرطانی hela و سلول‌های سالم End1-E6E7 استفاده شده، در حالی که در مطالعه سرطان پروستات از داده‌های سلول سرطانی LNCaP و سلول‌های سالم PZ-HPV-7 استفاده شده است [۲۱]. سپس مدل‌های مکانیک تماسی مناسبی بر روی داده‌های پیاده شده و به طور مشخص مقدار مدول یانگ محاسبه شده است. سه مدل هرتز، JKR و تاتارا برای به دست آوردن مدول یانگ استفاده شدند. نتایج نشان می‌دهد که در سلول‌های سرطانی، با افزایش عمق فرورفتگی، مقدار مدول یانگ محاسبه شده به یک مقدار تقریباً پایدار نزدیک می‌شود، در حالی که این روند در سلول‌های سالم به وضوح مشاهده نمی‌شود. به نظر می‌رسد که در سلول‌های سالم به دلیل فرار گرفتن در محدوده فیزیولوژیک در مقابل افزایش نیرو، سلول‌ها در برابر تغییر شکل مقاوم بوده و سفتی سلول‌ها بالا می‌باشد. این امر در شکل‌های مربوط به مدول یانگ به خوبی مشاهده می‌شود. اما سلول‌های سرطانی به دلیل آسیب توانایی سازگار شدن با محیط و مقاومت در مقابل افزایش نیرو را ندارند؛ بنابراین به صورت نسبتاً یکنواختی با افزایش نیرو میزان فرورفتگی آن‌ها افزایش می‌یابد که نشان از مدول یانگ ثابت دارد. در صورتی که در سلول‌های زنده مدول یانگ برای آنکه در ماهیت سلول حفظ شود به صورت دینامیکی عمل می‌کند. همچنین با بررسی نتایج مدول یانگ به دست آمده از سه مدل، مشخص می‌شود که مدول یانگ به دست آمده از مدل هرتز و مدل تاتارا بسیار به هم نزدیک می‌باشند ولی نتایج به دست آمده برای مدل JKR به طور چشمگیری نسبت به دو مدل دیگر کمتر است. دلیل این امر آن است که در مدل JKR نیروهای چسبندگی نیز منظور شده‌اند. به طوریکه با توجه به وجود نیروهای چسبندگی در بافت زنده، به نظر می‌رسد که مدل JKR توصیف فیزیکی کامل‌تری ارائه می‌دهد.



شکل ۱۱ مدول یانگ متوسط و انحراف از معیار برای سلول‌های سرطانی LNCaP به همراه سلول‌های سالم PZ-HPV-7.

#### ۵- نتیجه‌گیری

با بررسی نتایج به دست آمده از مدل‌های مکانیک تماس، مشاهده شد که مدول یانگ مؤثر سلول‌های سرطانی، در هر دو نمونه مورد مطالعه، به طور متوسط کمتر از سلول‌های سالم متناظر است. این کاهش بیانگر نرم‌تر بودن نسبی سلول‌های سرطانی و افزایش تغییر شکل پذیری آن‌ها در برابر نیروی اعمالی است. بر این اساس، مدول یانگ می‌تواند به عنوان یک شاخص مکانیکی کمکی برای تمایز رفتار سلول‌های سالم و سرطانی مورد استفاده قرار گیرد. با این حال، این نتیجه باید در چارچوب مقایسه مکانیکی بین رده‌های سلولی بررسی شده تفسیر شود و نباید به عنوان معیار قطعی، مستقل و بالینی برای تشخیص سرطان در نظر گرفته شود. مقایسه مدل‌های هرتز، JKR و تاتارا نشان داد که مقادیر مدول یانگ محاسبه شده با مدل‌های هرتز و تاتارا به

یکدیگر نزدیک تر هستند، در حالی که مدل JKR به دلیل لحاظ کردن اثر نیروهای چسبندگی، مقادیر کمتری را برآورد می کند. از این منظر، مدل JKR می تواند توصیف فیزیکی کامل تری از تماس میان نوک AFM و سلول های زیستی ارائه دهد؛ اما در کاربردهایی که هدف اصلی، مقایسه نسبی و تمایز مکانیکی بین سلول های سالم و سرطانی است، مدل های ساده تر مانند هرتز و تاتارا نیز می توانند نتایج قابل استفاده ای فراهم کنند. به ویژه مدل هرتز، به دلیل سادگی محاسباتی و نیاز کمتر به پارامترهای ورودی، می تواند برای تحلیل های اولیه و مقایسه ای مناسب باشد. در مجموع، یافته های این پژوهش نشان می دهد که تحلیل منحنی های نیرو-فرورفتگی با استفاده از مدل های مکانیک تماس می تواند در شناسایی تفاوت های مکانیکی میان سلول های سالم و سرطانی مفید باشد. با وجود این، تعمیم نتایج حاضر به کاربردهای تشخیصی نیازمند داده های تجربی گسترده تر، بررسی رده های سلولی متنوع تر، کنترل دقیق تر عوامل مؤثر بر اندازه گیری AFM و اعتبارسنجی در شرایط آزمایشگاهی و زیستی مختلف است. در مطالعات آینده، بررسی تغییرات مدول یانگ در مراحل مختلف پیشرفت سرطان، از سلول سالم تا سلول های سرطانی پیشرفته، می تواند به ترسیم الگوی مکانیکی دقیق تری از روند بیماری کمک کند.

### Authorship Contribution Statement

**Elham Baradari**

**Biography:** Associate Professor, Faculty of Mechanical Engineering, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

**Contribution Statement:** Conceptualization, Resources, Supervision, Investigation, review & editing.

**Dr. Manizhe Zakeri**

**Biography:** MSc. graduate, Department of Mechanical Engineering, University of Tabriz, Tabriz, Iran.



**Contribution Statement:** Visualization, Software, Writing – original draft, Writing – review & editing.

**Dr. Javad Faraji**

**Biography:** Assistant Professor, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

**Contribution Statement:** Conceptualization, Investigation, Software, Writing – review & editing.

### ۶- مراجع

- [1] Tirino V, Desiderio V, Paino F, De Rosa A, Papaccio F, La Noce M, et al. Cancer stem cells in solid tumors: an overview and new approaches for their isolation and characterization. *The FASEB Journal*. 2013;27:13-24.
- [2] Khalili AA, Ahmad MR. A review of cell adhesion studies for biomedical and biological applications. *International journal of molecular sciences*. 2015;16:18149-84.
- [3] Pillet F, Chopinet L, Formosa C, Dague É. Atomic force microscopy and pharmacology: from microbiology to cancerology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2014;1840:1028-50.
- [4] Sokolov I, Dokukin ME. AFM indentation analysis of cells to study cell mechanics and pericellular coat. *Nanoscale Imaging*: Springer; 2018: 449-68.

- [5] Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR, Lakins JN, Rozenberg GI, Gefen A, et al. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer cell*. 2005;8:241-54.
- [6] Lekka M, Laidler P, Gil D, Lekki J, Stachura Z, Hryniewicz A. Elasticity of normal and cancerous human bladder cells studied by scanning force microscopy. *European Biophysics Journal*. 1999;28:312-6.
- [7] Cross SE, Jin Y-S, Rao J, Gimzewski JK. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients. *Nature nanotechnology*. 2007;2:780-3.
- [8] Li Q, Lee GY, Ong CN, Lim CT. AFM indentation study of breast cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;374:609-13.
- [9] Faria EC, Ma N, Gazi E, Gardner P, Brown M, Clarke NW, et al. Measurement of elastic properties of prostate cancer cells using AFM. *Analyst*. 2008;133:1498-500.
- [10] Bongiorno T, Kazlow J, Mezencev R, Griffiths S, Olivares-Navarrete R, McDonald JF, et al. Mechanical stiffness as an improved single-cell indicator of osteoblastic human mesenchymal stem cell differentiation. *Journal of biomechanics*. 2014;47:2197-204.
- [11] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144:646-74.
- [12] Hammer AM, Sizemore GM, Shukla VC, Avendano A, Sizemore ST, Chang JJ, et al. Stromal PDGFR- $\alpha$  activation enhances matrix stiffness, impedes mammary ductal development, and accelerates tumor growth. *Neoplasia*. 2017;19:496-508.
- [13] Girot M, Boukallel M, Régnier S. Modeling soft contact mechanism of biological cells using an atomic force bio-microscope. 2006 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems: IEEE; 2006:1831-6.
- [14] Zakeri M, Faraji J. Modeling of the rough spherical nanoparticles manipulation on a substrate based on the AFM nanorobot. *Applied Physics A*. 2014;117:1947-62.
- [15] Zakeri M, Faraji J. Dynamic modeling of nano/microparticles displacement in multi-point contact based on the Rumpf model. *Modares Mechanical Engineering*. 2016;16:120-30.
- [16] Zakeri M, Faraji J, Kharazmi M. Multipoint contact modeling of nanoparticle manipulation on rough surface. *Journal of Nanoparticle Research*. 2016;18:1-23.
- [17] Daeinabi K, Korayem MH. Indentation analysis of nano-particle using nano-contact mechanics models during nano-manipulation based on atomic force microscopy. *Journal of Nanoparticle Research*. 2011;13:1075-91.
- [18] Korayem M, Zakeri M. Dynamic modeling of manipulation of micro/nanoparticles on rough surfaces. *Applied Surface Science*. 2011;257:6503-13.
- [19] Korayem M, Khaksar H, Hefzabad R, Taheri M. Contact simulation of soft micro/nano bioparticles for use in identification of mechanical properties and manipulation based on atomic force microscopy. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part K: Journal of Multi-body Dynamics*. 2018;232:274-85.
- [20] Hayashi K, Iwata M. Stiffness of cancer cells measured with an AFM indentation method. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2015;49:105-11.
- [21] Lekka M, Pabijan J. Measuring elastic properties of single cancer cells by AFM. *Atomic Force Microscopy*: Springer; 2019:315-24.
- [22] Israelachvili JN. *Intermolecular and surface forces*: Academic press, 2015.
- [23] Obataya I, Nakamura C, Han S, Nakamura N, Miyake J. Nanoscale operation of a living cell using an atomic force microscope with a nanoneedle. *Nano letters*. 2005;5:27-30.

- [24] Iyer S, Gaikwad R, Subba-Rao V, Woodworth C, Sokolov I. Atomic force microscopy detects differences in the surface brush of normal and cancerous cells. *Nature nanotechnology*. 2009;4:389-93.
- [25] Remmerbach TW, Wottawah F, Dietrich J, Lincoln B, Wittekind C, Guck J. Oral cancer diagnosis by mechanical phenotyping. *Cancer research*. 2009;69:1728-32.
- [26] Watanabe T, Kuramochi H, Takahashi A, Imai K, Katsuta N, Nakayama T, et al. Higher cell stiffness indicating lower metastatic potential in B16 melanoma cell variants and in (-)-epigallocatechin gallate-treated cells. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2012;138:859-66.
- [27] Ladjal H, Hanus J-L, Pillarisetti A, Keefer C, Ferreira A, Desai JP. Reality-based real-time cell indentation simulator. *IEEE/ASME Transactions On Mechatronics*. 2010;17:239-50.
- [28] Korayem M, Estaji M, Homayooni A. Nonclassical multiscale modeling of ssDNA manipulation using a CNT-nanocarrier based on AFM. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017;158:102-11.
- [29] Runel G, Lopez-Ramirez N, Chlasta J, Masse I. Biomechanical Properties of Cancer Cells. *Cells*. 2021;10:887.
- [30] Zakeri M, Kharazmi M, Faraji J. Low-dimensional Friction Modelling with Considering Random Asperity Distributions. *Iranian Journal of Mechanical Engineering Transactions of the ISME*. 2023;24:119-40.
- [31] Keighobadi J, Faraji J, Rafatnia S. Chaos control of atomic force microscope system using nonlinear model predictive control. *Journal of Mechanics*. 2017;33:405-15.
- [32] Keighobadi J, Hosseini-Pishrobat M, Faraji J, Oveisi A, Nestorović T. Robust nonlinear control of atomic force microscope via immersion and invariance. *International Journal of Robust and Nonlinear Control*. 2019;29:1031-50.