A fluorescence microscopy image showing several cells. The cytoskeleton is stained red, the nuclei are blue, and there are green filamentous structures within the cells. The text 'Hot Science' is overlaid in white.

Hot Science

Fuerzas en miniatura

Utilizando a la física para conocer las células

Luis Eduardo Sánchez Cisneros
Luis Daniel Ríos Barrera*

Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

*Autor para la correspondencia:
daniel.rios@iibiomedicas.unam.mx

Resumen

Los seres vivos generan fuerzas que les permiten moverse y responder a su entorno. Estas fuerzas se estudian dentro del campo de la biomecánica, que ayuda a entender cómo se generan, propagan y censan las fuerzas de los organismos. Debido a que son moléculas al interior de las células las responsables de generar y transmitir fuerzas, se requieren de abordajes de microscopía para estudiar estas propiedades. En este artículo resumimos algunas tecnologías que se han desarrollado en los últimos años para estudiar este campo multidisciplinario, que combina a la óptica, la mecánica, la biología, la computación y las matemáticas.

Palabras clave: Biomecánica, tensión, fuerza celular.

La vida se encuentra en constante movimiento. Para realizar sus funciones, desarrollarse o responder a su ambiente los organismos y las células que los conforman generan fuerzas mecánicas para asegurar su sobrevivencia [1].

Para describir estas fuerzas a nivel celular, primero tendríamos que saber qué es lo que las causa. Piensa en qué pasa cuando caminamos hacia la escuela, o estamos nadando en la playa; para llevar a cabo estas actividades necesitamos una gran cantidad de músculos, tendones y ligamentos que actúen de forma conjunta para poder mover nuestros huesos al realizar estas actividades. Esto se regula a nivel celular; las células musculares cuentan con un citoesqueleto formado por una proteína llamada actina, la cual tiene la capacidad de formar fibras que pueden extenderse por toda la célula. Au-

nado a la actina, existen motores moleculares llamados miosinas, que entrecruzan y mueven a las fibras de actina. Al moverse al interior de la célula, estas fibras son capaces de deformar la membrana celular acortando o alargando la célula como si fuera un resorte. Cada motor de miosina mueve sólo 10 nm a las fibras de actina, entonces cuando damos un paso, millones de motores de miosina se deben coordinar para permitir la contracción muscular que a su vez permiten el movimiento [2].

Aunque esta relación de actina y miosina es más evidente en la función muscular, existe una gran cantidad de procesos que dependen de la contracción o expansión del citoesqueleto. Por ejemplo, la cicatrización, donde las células deben estirarse para sellar una herida, las divisiones celulares, donde las células usan su citoesqueleto para partirse en dos, o hasta la migración de células inmunes tras agentes infecciosos. Generalmente cuando los tejidos se encuentran en movimiento, en las células se genera una tensión. Imagínate unos caballos (la miosina) jalando una carreta: Los cables atados a la carreta (la actina) se tensan al tener que jalar ese gran cargamento (el resto de la célula). En las células, estudiar esta tensión nos puede ayudar a entender las fuerzas que se generan para que las células se puedan mover.

¿Por qué estudiar las fuerzas celulares?

Lo más común al hablar sobre la función

de cualquier célula es que siempre se ponga atención en su metabolismo, su forma, los genes que activa y las señales a las que responde. Aunque de esta forma se han podido responder diversas preguntas del comportamiento celular, en los últimos años se ha mostrado que la forma en que las células se mueven, así como las fuerzas que producen y a las que están expuestas juegan un papel muy importante en su función.

Para poder formar tejidos y órganos, cada célula atraviesa diversos procesos mecánicos para llegar a una posición y forma específica. Incluso la diferenciación celular es influenciada por las propiedades mecánicas del entorno. Por ejemplo, se ha mostrado que las células troncales embrionarias y las células cancerosas pierden su rigidez durante su desarrollo. Esto hace que las células mismas prendan o apaguen genes que refuerzan su estado de diferenciación [3, 4]. Los cambios en la rigidez y su consecuencia en la diferenciación es crucial para la formación de tejidos en un embrión, pero puede ser catastrófico en la metástasis de un cáncer. Por lo tanto, conocer la intersección entre forma, expresión genética y regulación mecánica resulta central para explicar la fisiología de las células y cómo fallos en esta comunicación pueden desencadenar en condiciones patológicas.

¿Cómo medir las fuerzas celulares?

Como las células son estructuras muy pequeñas, para medir sus fuerzas se han desarrollado tecnologías muy específicas que nos permiten estudiar escalas subcelu-

lares. La manera más sencilla de hacer esto es utilizar microscopios y manipular la luz a nuestro beneficio. Por lo tanto, el mundo de la mecánica y el mundo de la óptica se encuentran entremezclados en la biología celular. ¿Quién diría que la física serviría tanto para conocer a las células?!

En los últimos años se han desarrollado diferentes métodos para poder evaluar la tensión celular, utilizando proteínas fluorescentes, herramientas genéticas o incluso cortes con láser en la misma célula. En este artículo hablaremos de algunas de las herramientas más utilizadas en este ámbito.

Microdissección láser

Si cortas una liga sin estirar, la liga sigue manteniendo su forma. Ahora, ¿Qué pasa si la cortamos cuando se encuentra estirada? Entre más estirada esté la liga, más se retraerá al cortarla. La microdissección con láser se basa en

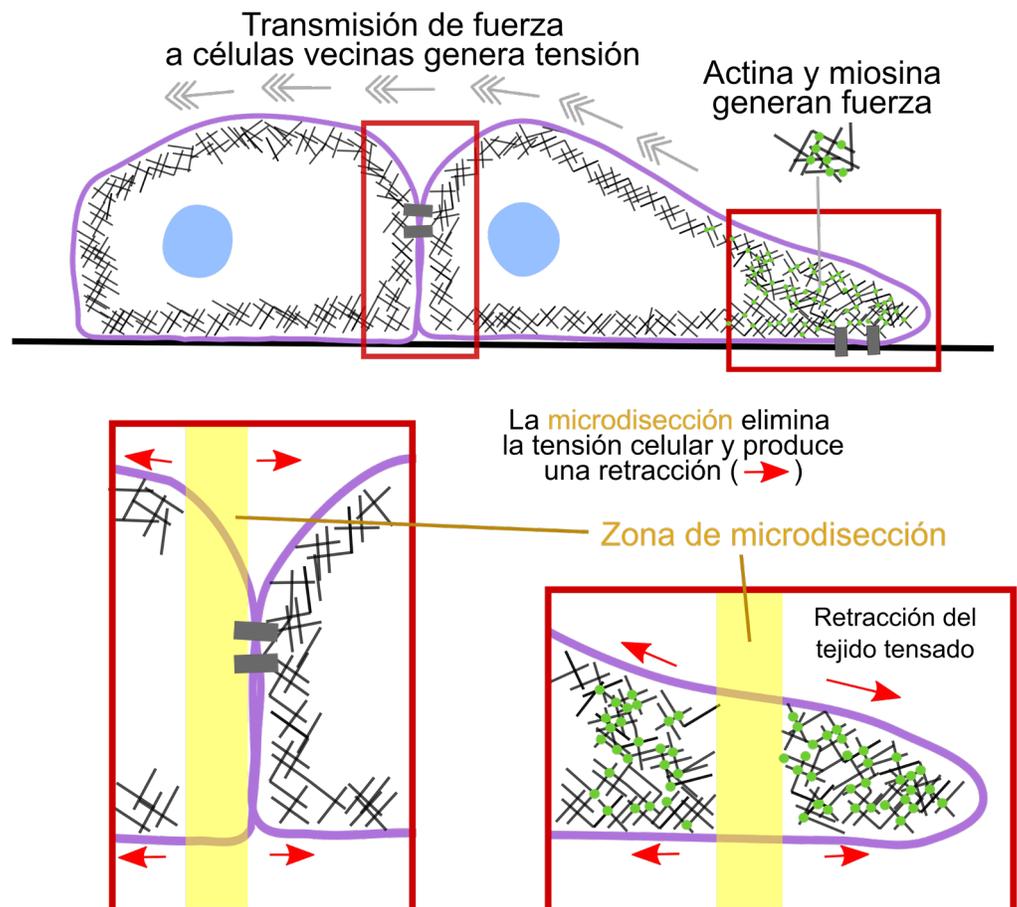


Figura 1: La microdissección con láser para medir la tensión celular.

ese mismo principio. En vez de una liga, usamos un láser para cortar una región celular y medimos cuánto se retraen las zonas aledañas. Este láser se concentra con mucha intensidad en la zona que queremos cortar, ocasionando que se desarme el citoesqueleto de actina en el sitio en el que concentramos la luz. Igual que la liga, podemos saber qué tan tensa estaba la célula midiendo cuánto se retrajo el tejido aledaño [1, 2].

Sensores de tensión fluorescente

Este método se basa en utilizar proteínas fluorescentes, las cuales se activan por luz de una longitud de onda (un color) particular y emiten luz en un color diferente. Por ejemplo, si ponemos una luz azul, la proteína emite luz verde. Si acercamos a dos proteínas fluorescentes con colores compatibles, podemos usar una para encender a la otra. A este fenómeno se le conoce como transferencia de energía de fluo-

rescencia y sirve para medir la fuerza celular.

Mucho hemos hablado del citoesqueleto de actina y cómo este transmite fuerzas a través de la célula. Sin embargo, para que esta transmisión de fuerzas sea efectiva, la actina debe anclarse a complejos asociados a la membrana celular como los de las cadherinas (proteínas que permiten la adhesión con otras células). Estos complejos actúan como resortes moleculares que se abren o cierran dependiendo de cuánta tensión exista al interior de la célula: entre más estirado están estos resortes, mayor es la tensión celular. A estas proteínas resorte se les pueden añadir proteínas fluorescentes compatibles en cada extremo del resorte. Si el resorte está relajado (porque la célula no está bajo tensión), la transferencia de energía de fluorescencia entre las proteínas será muy alta y veremos una fuerte señal de fluorescencia en la proteína aceptora de energía. En contraste, si el resorte está estirado porque está

siendo jalado por la actina de la célula, las proteínas fluorescentes asociadas a éste estarán más alejadas, y la transferencia de energía será menos eficiente.

Mediante los cambios de fluorescencia se pueden hacer estimaciones sobre la tensión que tiene algún tejido o célula. Aunque este método requiere análisis bastantes complejos, resulta muy útil para estudiar adhesiones celulares ya que no requieren manipulaciones físicas en el tejido, como cortar la célula y medir una retracción. Esto lo vuelve una herramienta muy útil cuando se requiere preservar la integridad de la muestra [5].

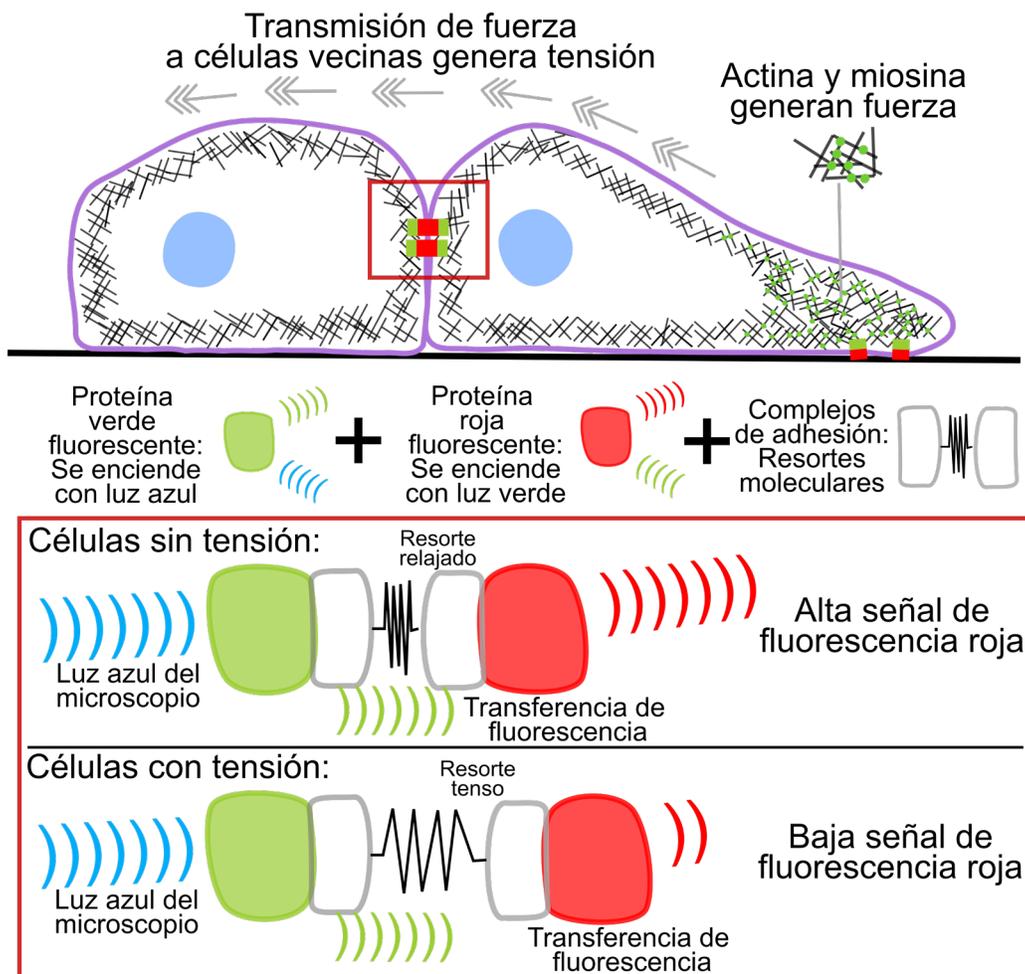
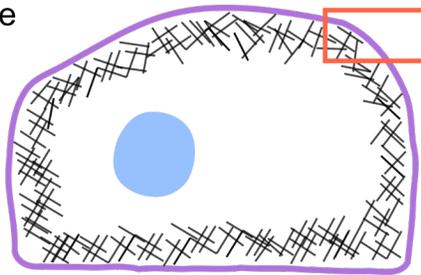


Figura 2: Sensores fluorescentes para medir la fuerza entre células.

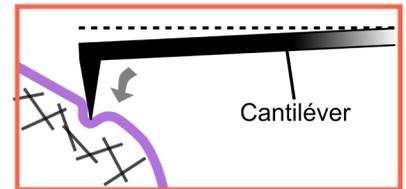
Microscopía de fuerza atómica

Si regresamos a la analogía de la flexión muscular, podemos ver que, por ejemplo, un brazo en estado relajado es menos rígido que uno que se encuentra trabajando. A nivel microscópico, algo muy similar sucede en la superficie de la célula; pues una célula cuyo citoesqueleto está en tensión, será más dura al tacto.

Baja tensión: La membrana se deforma fácilmente



El desplazamiento del cantiléver es detectado por un microscopio



Alta tensión: La deformación de la membrana es mínima

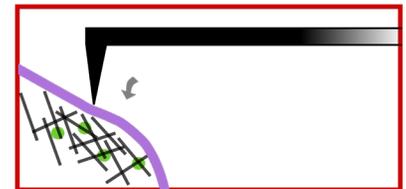
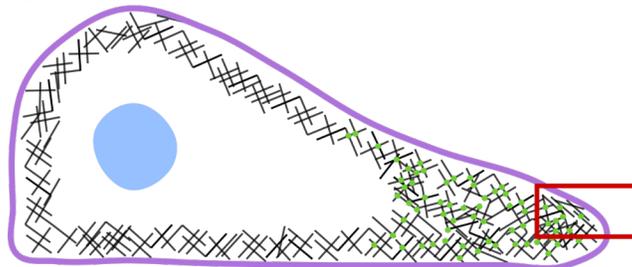


Figura 4: Midiendo la tensión celular usando microscopía de fuerza atómica.

Los microscopios de fuerza atómica son microscopios ultra-sensibles al movimiento. Estos microscopios tienen una palanca llamada cantiléver que tiene una punta en un extremo, la cual ejerce fuerza en la célula mediante interacciones atómicas (pueden ser fuerzas de repulsión o atracción). Cuando la punta ejerce fuerza ocasiona un movimiento en el cantiléver. Si la célula se encuentra bajo mucha tensión la punta no podrá presionarla, ocasionando que el movimiento del cantiléver sea mínimo. Por el contrario, si la punta puede presionar fácilmente y el cantiléver cede más al movimiento, significa que la célula no está tensionada. Los movimientos del cantiléver se miden usando un microscopio, y por eso se pueden llegar a medir desplazamientos tan pequeños como 1 nm. A partir de cuánto se movió el cantiléver, podemos calcular la tensión de la célula que se está analizando. Contrario a los otros métodos, la microscopía de fuerza atómica nos da un parámetro directo de la fuerza que existe en la superficie de la célula, o en todo caso, de cualquier material biológico de interés. Aquí el problema es: ¿qué pasa cuando nuestras células de estudio están al interior de un organismo? Desafortunadamente, la microscopía de fuerza atómica sólo funciona con células expuestas y

que se pueden acercar al equipo especializado [6].

Métodos optogenéticos

Una nueva revolución surgió en años recientes, cuando se empezaron a utilizar proteínas de organismos sensibles a la luz, como plantas o microorganismos, como herramientas experimentales para muchas áreas de la biomedicina. Muchas proteínas de estos organismos se unen entre sí en respuesta a la luz para generar una respuesta en el organismo. Desarrollos recientes han tomado estas proteínas sensibles a la luz y las han combinado con otras proteínas que pueden modificar al citoesqueleto cuando se encuentran activas. Estas nuevas proteínas híbridas están inactivas en condiciones de oscuridad, pero en presencia de luz activan a la miosina, favoreciendo así la contracción celular. Otras pueden hacer lo contrario: destruir fibras de actina en presencia de luz [7]. Además, si dirigimos la luz que activa a estas proteínas a través de los lentes de un microscopio, podemos alterar las propiedades mecánicas de zonas muy específicas de la célula.

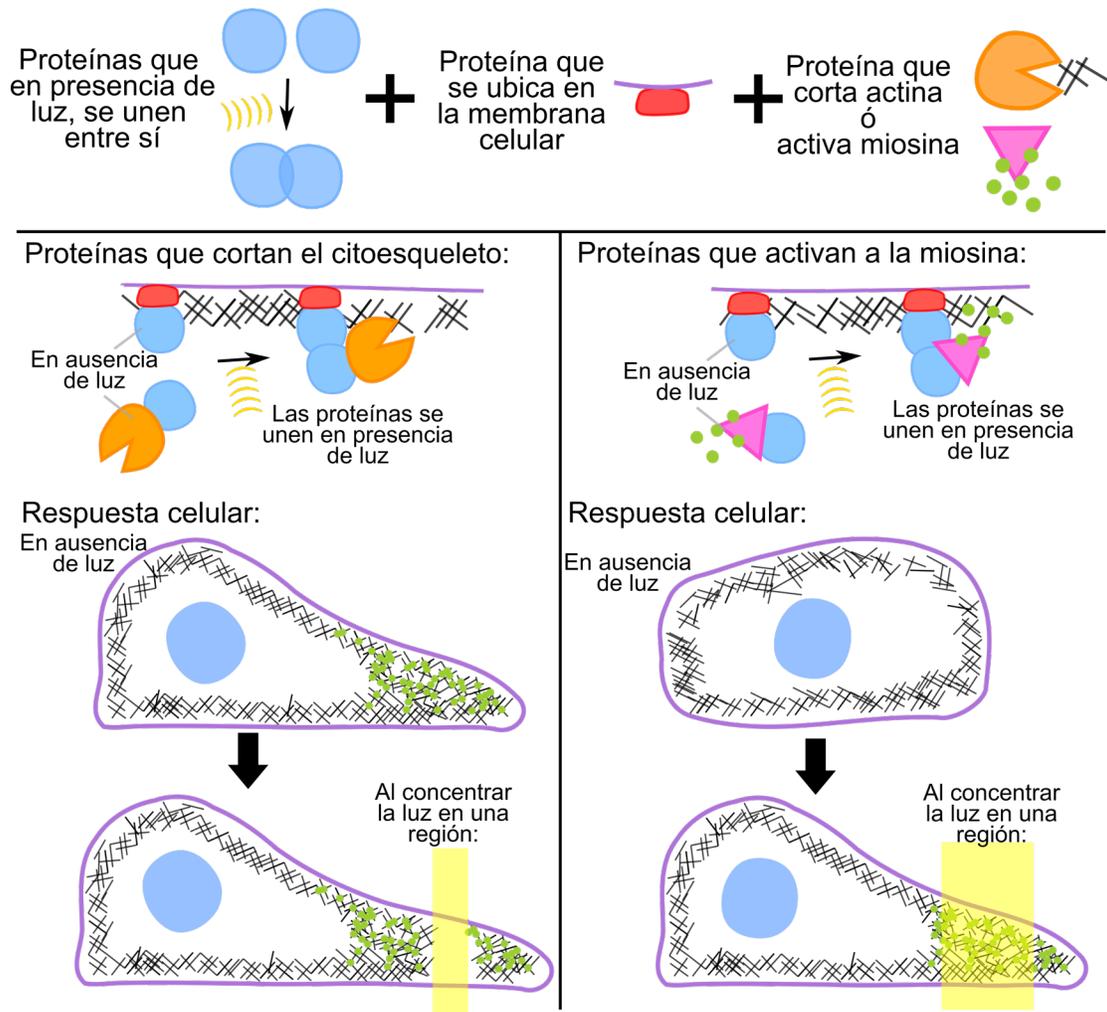


Figura 4: Métodos optogénéticos para medir y manipular las propiedades mecánicas de las células.

La complicación de este abordaje es, nuevamente, ¿qué tan expuestas están las células que queremos estudiar y qué tan fácil será presentarles el estímulo lumínico para inducir una respuesta? Ninguna de estas herramientas es perfecta, pero seguro existe alguna que se adapta a los intereses de distintas preguntas de investigación. **iBIO**

Referencias

- [1] Inman, A., & Smutny, M. (2021). Feeling the force: Multiscale force sensing and transduction at the cell-cell interface. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, March. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2021.06.006>.
- [2] Tsata, V., & Beis, D. (2020). In full force. Mechano-transduction and morphogenesis during homeostasis and tissue regeneration. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 7(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/jcdd7040040>.
- [3] Bergert, M., Lembo, S., Sharma, S., Russo, L., Milova nović, D., Gretarsson, K. H., Börmel, M., Neveu, P. A., Hackett, J. A., Petsalaki, E., & Diz-Muñoz, A. (2020). Cell Surface Mechanics Gate Embryonic Stem Cell Differentiation. *Cell Stem Cell*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.017>.
- [4] Sitarska, E., & Diz-Muñoz, A. (2020). Pay attention to membrane tension: Mechanobiology of the cell surface. *Current Opinion in Cell Biology*, 66, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.04.001>.
- [5] Lemke, S. B., Weidemann, T., Cost, A. L., Grashoff, C., & Schnorrer, F. (2019). A small proportion of Talin molecules transmit forces at developing muscle attachments in vivo. *PLOS Biology*, 17(3), e3000057. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.3000057>.
- [6] Haase, K., & Pelling, A. E. (2015). Investigating cell mechanics with atomic force microscopy. *Journal of The Royal Society Interface*, 12(104), 20140970. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0970>.
- [7] Krueger, D., Izquierdo, E., Viswanathan, R., Hartmann, J., Pallares Cartes, C., & De Renzis, S. (2019). Principles and applications of optogenetics in developmental biology. *Development*, 146(20), dev175067. <https://doi.org/10.1242/dev.175067>.