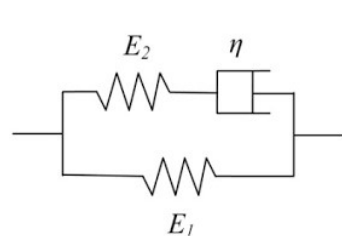
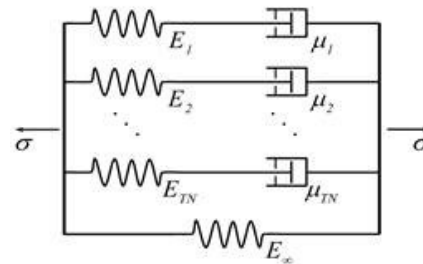


Modello viscoelastico lineare e legge di potenza

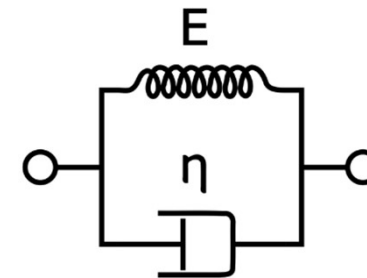
- Entrambi considerano la cellula come un materiale monofase, continuo e omogeneo.
- Nel modello viscoelastico lineare la risposta meccanica nel tempo è descritta tramite combinazione di elementi elastici (molle) e viscosi (ammortizzatori). Ad esempio:



Modello di Zener
(o standard linear solid)



Modello di Maxwell
generalizzato a N elementi



Modello di Kelvin-Voigt

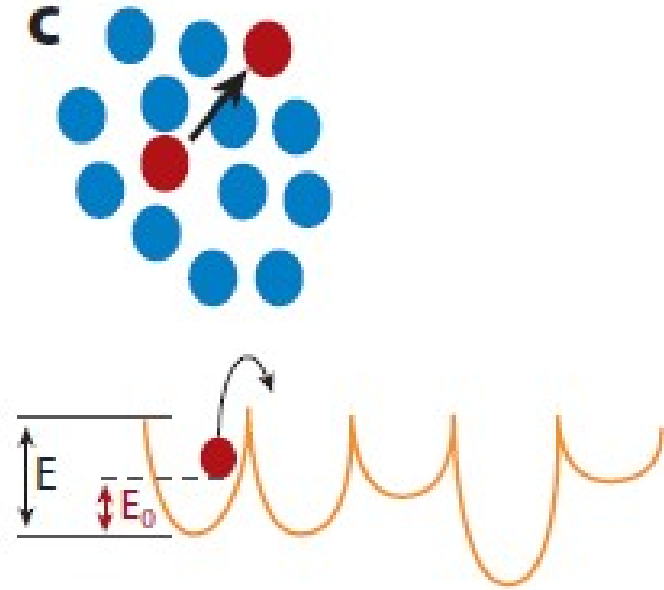
- La risposta viscoelastica è nella forma di decadimento esponenziale con n tempi di rilassamento, in base al numero di elementi viscosi
- Non è possibile associare in maniera rigorosa un elemento elastico/viscoso ad un componente cellulare
- Le leggi di potenza sono anch'esse utilizzate per descrivere il comportamento viscoelastico su scale di tempi (o di frequenze), senza però fornire un parallelo con gli elementi meccanici o tempi di rilassamento

Pro e contro dei due modelli

- Pro:
 - Permettono di evidenziare facilmente differenze viscoelastiche in risposta a condizioni patologiche, trattamenti applicati, etc. (analisi comparativa)
- Contro:
 - Non sono modelli meccanicistici, mancano cioè di un parallelo con i parametri strutturali e biologici della cellula
 - Non permettono di prevedere cambiamenti reologici in funzione di modifiche microstrutturali nella cellula

Modello «soft glassy»

- Le particelle sono intrappolate in un sistema denso, in cui le interazioni con le particelle vicine creano un sistema metastabile, fuori dall'equilibrio termodinamico
- L'energia termica non è sufficiente per il passaggio da uno stato metastabile ad un altro, ma è necessaria una fonte di energia di ordini di grandezza più grande.
- $x = \text{energia fornita} / \text{energia media del gap}$
- Se $x \leq 1$, il sistema è congelato in uno stato metastabile (simile alla transizione vetrosa)
- Se $1 < x < 2$, l'evoluzione verso l'equilibrio è possibile, ma fortemente impedita, generando uno spettro continuo di tempi di rilassamento
- Il comportamento reologico è descrivibile con una legge di potenza a basso esponente



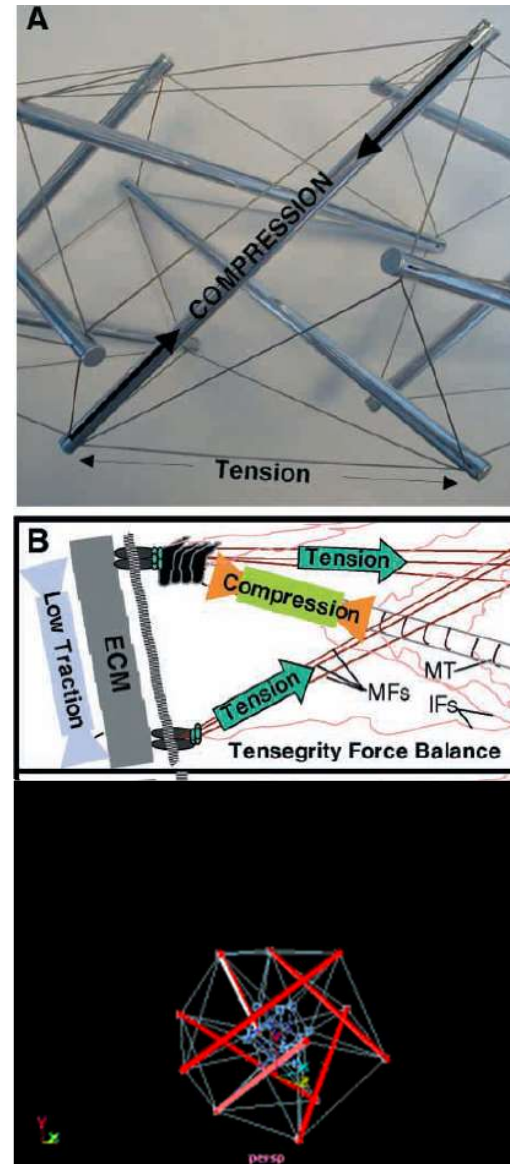
$$G^*(\omega) \sim \omega^\beta, \text{ con } x = \beta + 1$$

Modello «soft glassy»

- Le cellule sono viste come sistemi densi di macromolecole interne al citoplasma, le cui interazioni danno origine a sistemi metastabili
- L'aggiunta di energia non termica (stress esterni, processi interni alla cellula ATP-dipendenti, ad esempio interazione actina-miosina, polimerizzazione di actina...) determina il riarrangiamento del sistema
- In analogia ai sistemi soft glassy, il modulo dinamico G^* segue un comportamento con legge di potenza a basso esponente, valido su un ampio spettro di tempi.
- Il modello, tuttavia, non è in grado di descrivere il comportamento reologico ad alte frequenze e non ha carattere predittivo

Il modello “tensegrity”

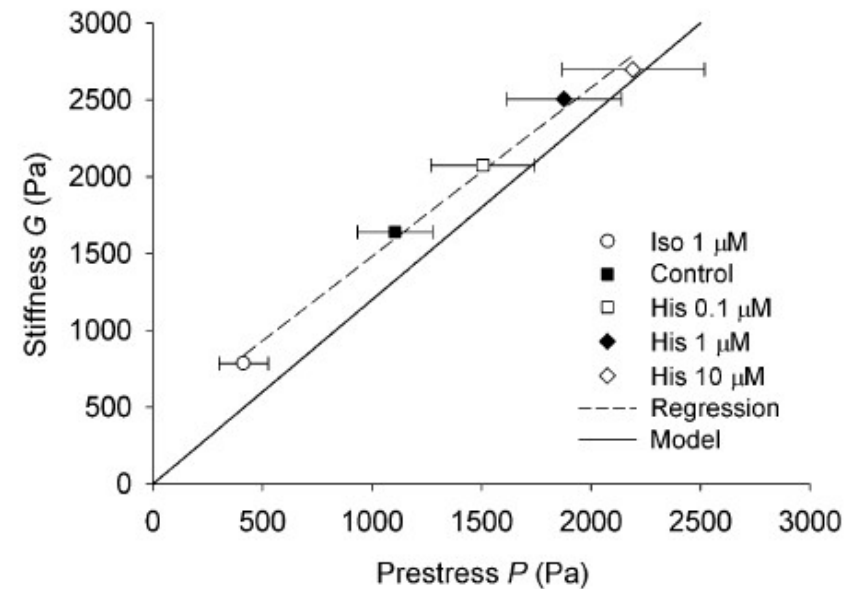
- Tensegrity = tension-integrity = la stabilità è garantita da uno stato tensionale (prestress) interno alla struttura controbilanciato da elementi locali in compressione
- Nelle cellule lo stato tensionale è fornito dal sistema actina-miosina e dalla polimerizzazione di elementi citoscheletrici, controbilanciato dai microtubuli e dai siti di adesione



Pro e contro del modello tensegrity

Evidenze del modello:

- Buckling dei microtubuli nelle cellule
- Prestress generato dai fasci contrattili di actina
- Previsione dello stiffening cellulare
- Relazione lineare dimostrata tra stato di prestress e rigidità cellulare



Limiti del modello:

- Non è in grado di prevedere comportamenti in frequenza
- È un modello parziale della meccanica cellulare, non tiene conto delle proprietà del nucleo

Modello poroelastico

- La cellula è vista come un sistema bifasico, formato da una matrice solida elastica e porosa (citoscheletro, organuli, macromolecole) immersa in un fluido interstiziale (citosol, 60% della cellula)
- Il comportamento viscoelastico è legato alla redistribuzione del fluido nei pori della matrice in risposta allo stress applicato
- La risposta meccanica è espressa attraverso la costante di diffusione poroelastica $D_p \sim E\xi^2/\mu$, con:
 - E = costante elastica della matrice
 - ξ = dimensione dei pori della matrice
 - μ = viscosità del citosol
- Alti valori di D_p indicano rilassamenti più brevi
- I parametri hanno quindi un significato fisico e possono essere utilizzati per prevedere il comportamento reologico della cellula.

Studio comparativo fra tecniche

nature **methods**

ANALYSIS

<https://doi.org/10.1038/s41592-018-0015-1>

A comparison of methods to assess cell mechanical properties

Pei-Hsun Wu^{1*}, Dikla Raz-Ben Aroush², Atef Asnacios^{3*}, Wei-Chiang Chen¹, Maxim E. Dokukin⁴, Bryant L. Doss⁵, Pauline Durand-Smet³, Andrew Ekpenyong⁶, Jochen Guck^{6*}, Nataliia V. Guz⁷, Paul A. Janmey^{2*}, Jerry S. H. Lee^{1,8}, Nicole M. Moore⁹, Albrecht Ott^{10*}, Yeh-Chuin Poh⁹, Robert Ros^{5*}, Mathias Sander¹⁰, Igor Sokolov^{4*}, Jack R. Staunton⁵, Ning Wang^{9*}, Graeme Whyte⁶ and Denis Wirtz^{1*}

The mechanical properties of cells influence their cellular and subcellular functions, including cell adhesion, migration, polarization, and differentiation, as well as organelle organization and trafficking inside the cytoplasm. Yet reported values of cell stiffness and viscosity vary substantially, which suggests differences in how the results of different methods are obtained or analyzed by different groups. To address this issue and illustrate the complementarity of certain approaches, here we present, analyze, and critically compare measurements obtained by means of some of the most widely used methods for cell mechanics: atomic force microscopy, magnetic twisting cytometry, particle-tracking microrheology, parallel-plate rheometry, cell monolayer rheology, and optical stretching. These measurements highlight how elastic and viscous moduli of MCF-7 breast cancer cells can vary 1,000-fold and 100-fold, respectively. We discuss the sources of these variations, including the level of applied mechanical stress, the rate of deformation, the geometry of the probe, the location probed in the cell, and the extracellular microenvironment.

Studio comparativo fra tecniche

- 8 gruppi di ricerca coinvolti
- stessa linea cellulare (MCF-7, linea commerciale immortalizzata da cancro alla mammella)
- stesse condizioni sperimentali di coltura (terreno, temperatura, pH)
- tecniche di misura confrontate:
 - microscopio a forza atomica
 - reometro a piatti paralleli
 - optical stretcher
 - reologia su monostrato di cellule
 - citometria rotazionale magnetica
 - microreologia a localizzazione di particelle

Lavoro a gruppi

- Breve presentazione (7-10 minuti) di:
 - Tecnica di indagine
 - Proprietà meccaniche misurate e valori ottenuti
 - Analogie con tecniche già discusse in aula
 - Pro e contro della tecnica