

Cell mechanics

Substrati per sviluppo di biomateriali e colture cellulari: Elastici

ECM naturale: caratteristiche viscoelastiche.

ECM

- 1) Proprietà dinamiche: può disperdere le forze che vengono applicate. Questa proprietà è sfruttata dalle cellule che riadattano la matrice (o il materiale);
- 2) Deformazioni plastiche: applicando uno sforzo si ha una deformazione permanente, non si recupera la forma iniziale;
- 3) Modifiche che dipendono dal tempo di applicazione degli sforzi.

Le modifiche meccaniche della ECM sono sentite dalle cellule su scale temporali brevi, tuttavia queste modifiche possono influenzare notevolmente i comportamenti cellulari a lungo termine come l'adesione, lo spreading, il differenziamento, la fibrosi, e lo sviluppo tumorale attraverso un continuo feedback delle proprietà meccaniche, memoria meccanica e modifica dell'epigenoma.

I tessuti sono materiali viscoelastici:

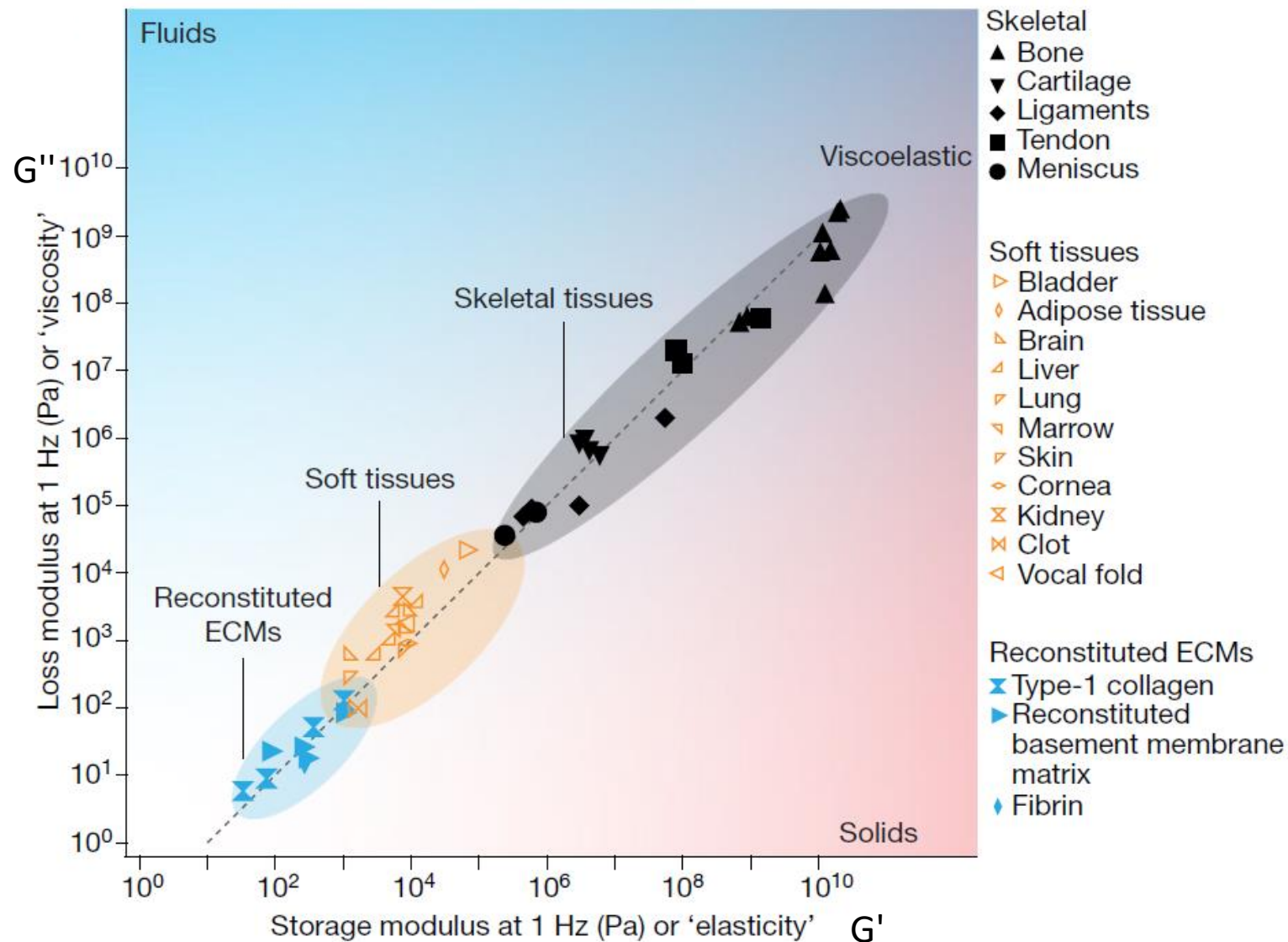
Tendini: deformazione lenta → estensione e recoil. Deformazione rapida → indurimento da estensione e rottura.

Pelle: recupera la forma e dimensioni ma ci mette molto tempo. Non sempre avviene (se la deformazione è eccessiva non si recupera la forma). Anche gravitational stress incide.

Collagene: varia da materiale isotropico a fibre allineate nello sviluppo tumorale.

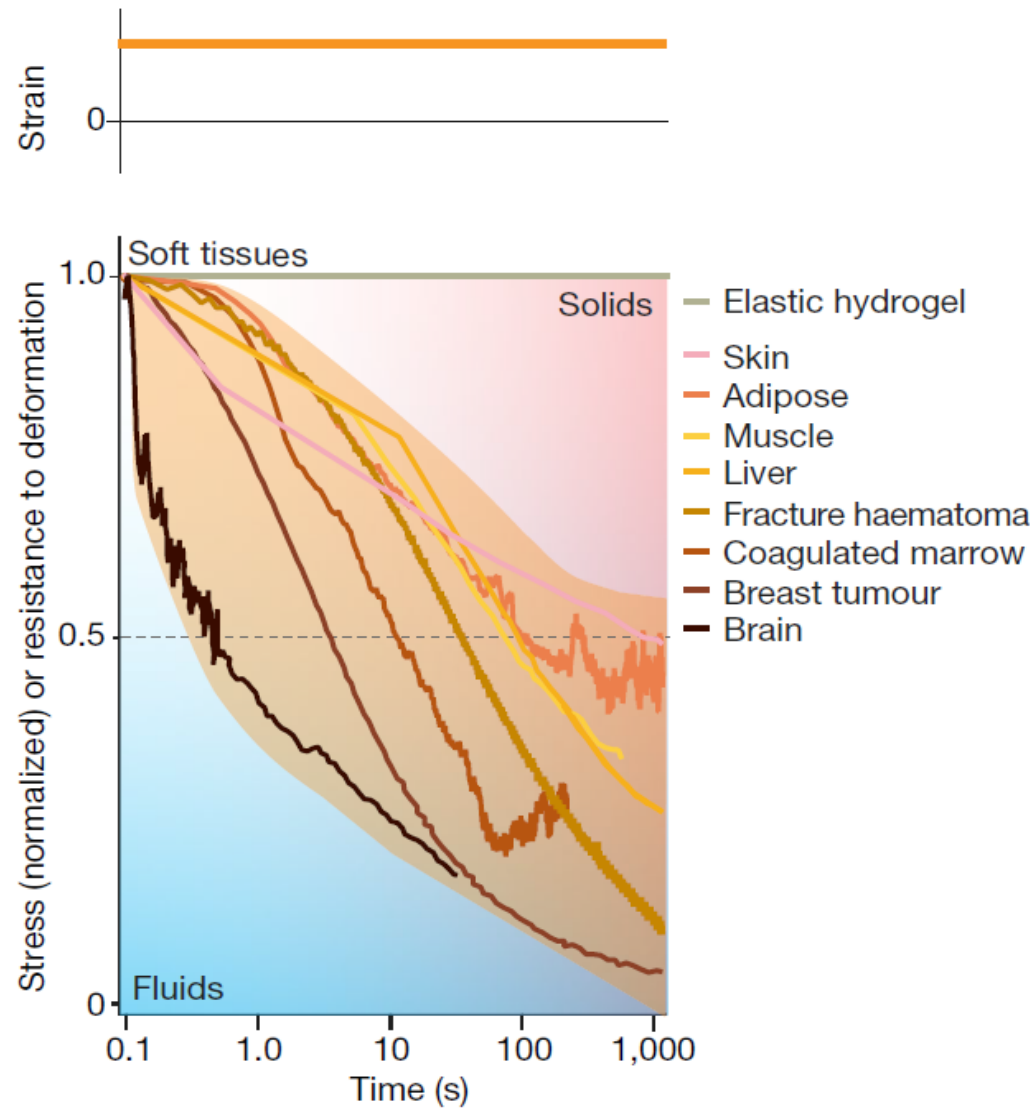
I danni nei tessuti non portano sempre alla ricostruzione di tessuto delle stesse proprietà.

Tessuti umani: sistemi viscoelastici



Cervello: il più viscoelastico dei tessuti. Si comporta come un solido con deformazioni rapide (ms, commozione cerebrale) e come un fluido con deformazioni lente (tumore)

Diversi tessuti rilassano lo stress con tempi diversi (diverso tempo caratteristico)



Approcci per descrivere i sistemi biologici

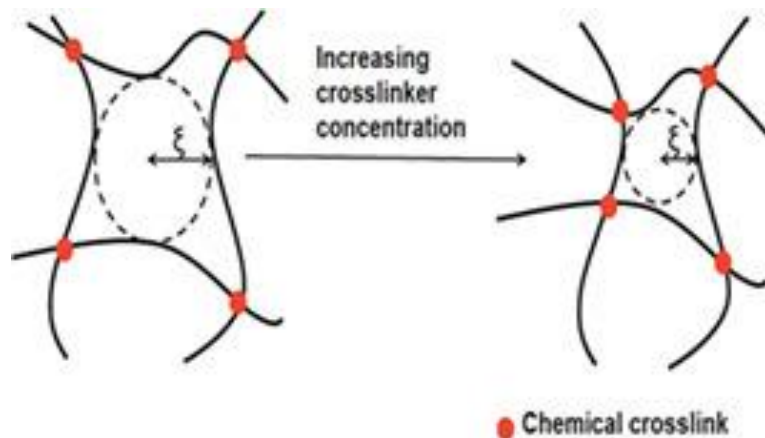
1) *Entangled polymer solutions*

Il modello è quello del blob per soluzioni polimeriche semidiluite di polimeri flessibili. L'energia libera di confinamento nel tubo, f , può essere espressa, in funzione della concentrazione polimerica, c , come:

$$f \sim k_B \cdot T \cdot c^{\frac{7}{5}}$$

2) *Chemically crosslinked networks*

Il modello è quello derivato dalla rubber elasticity theory: la risposta meccanica è dovuta all'estensione (affine) delle catene polimeriche tra reticolazioni (catene elasticamente attive).



Proprietà meccaniche dipendono dalla mesh size.

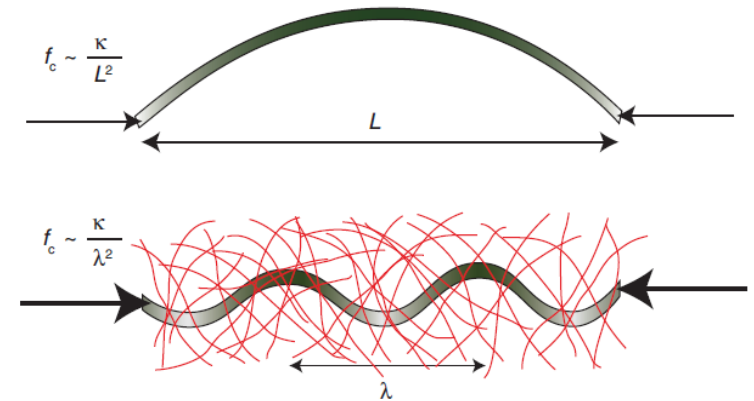
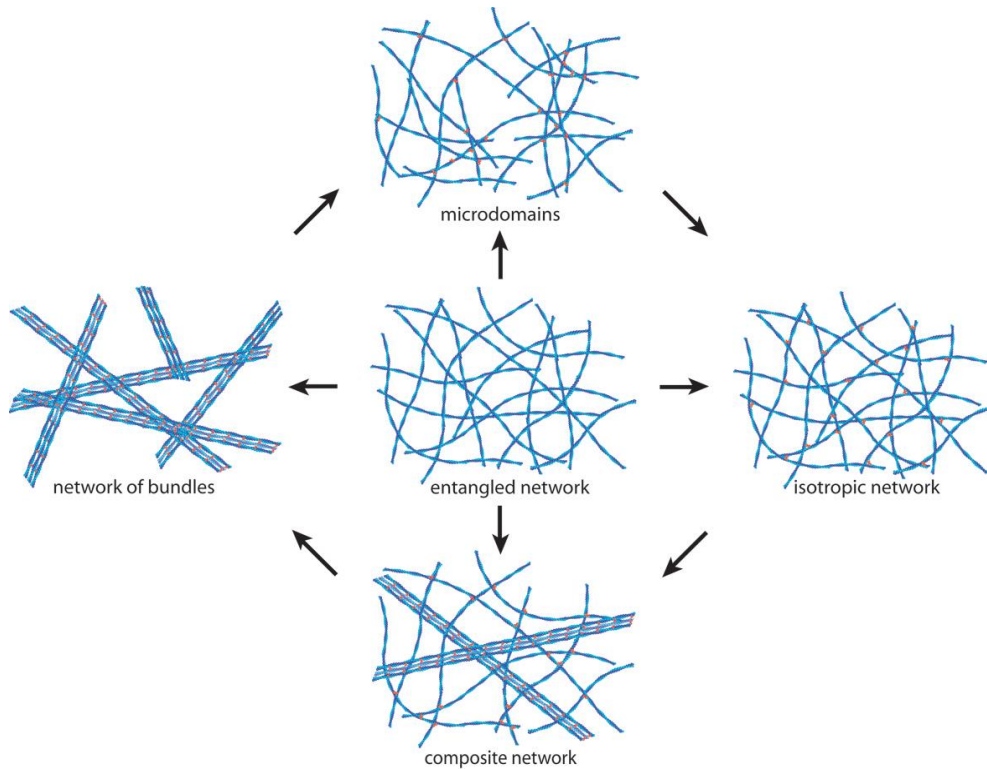
3) Active gels

Sistemi più complessi. Hanno le caratteristiche relative sia ai sistemi in soluzione semi-diluiti che ai gel.

Complessità ulteriore: presenza di filamenti che consumano energia (polimerizzazioni) o motori molecolari.

Sistemi di non-equilibrio.

Network compositi



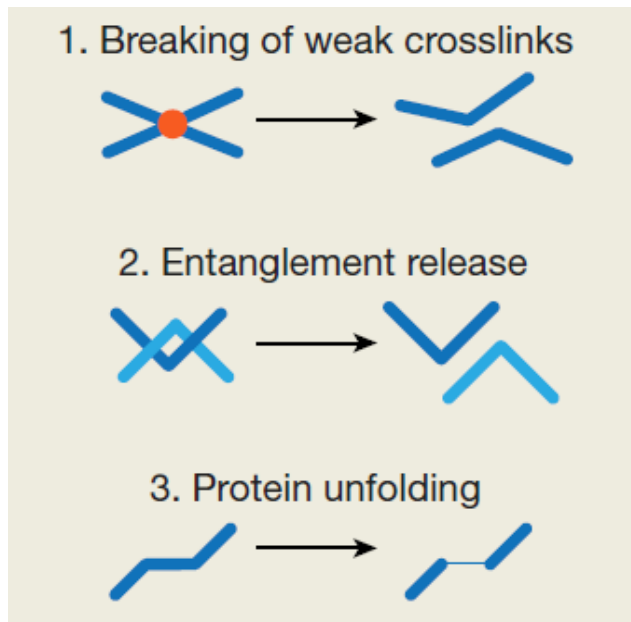
L'applicazione di una forza di compressione ad una fibra ha effetto diverso in presenza di un gel per il costo della deformazione del gel stesso.

Origine delle proprietà dissipative di ECM e tessuti

ECM: collagene di tipo-1, polisaccaridi, acqua

Dissipazione: contatti tra fibre di collagene e tra polisaccaridi sono non-covalenti. L'applicazione delle forze va a rompere questi legami deboli (componente viscosa). I legami deboli si riformano nelle fibre deformate (deformazione plastica)

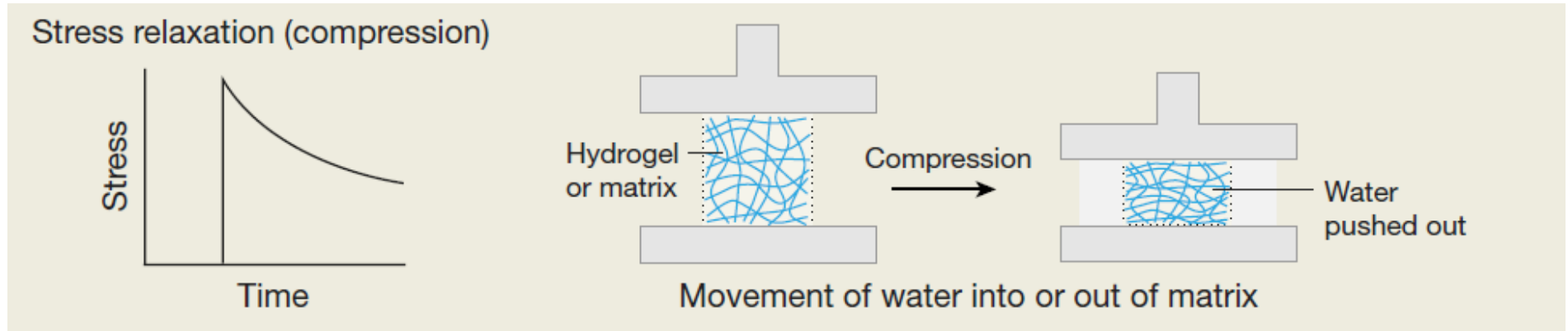
Quanto avviene nel collagene è simile a quello che accade per i sistemi polimerici entangled.



Viscoelasticità

Meccanismi per la dissipazione dell'energia

La dissipazione dell'energia può anche avvenire tramite la poroelasticità.



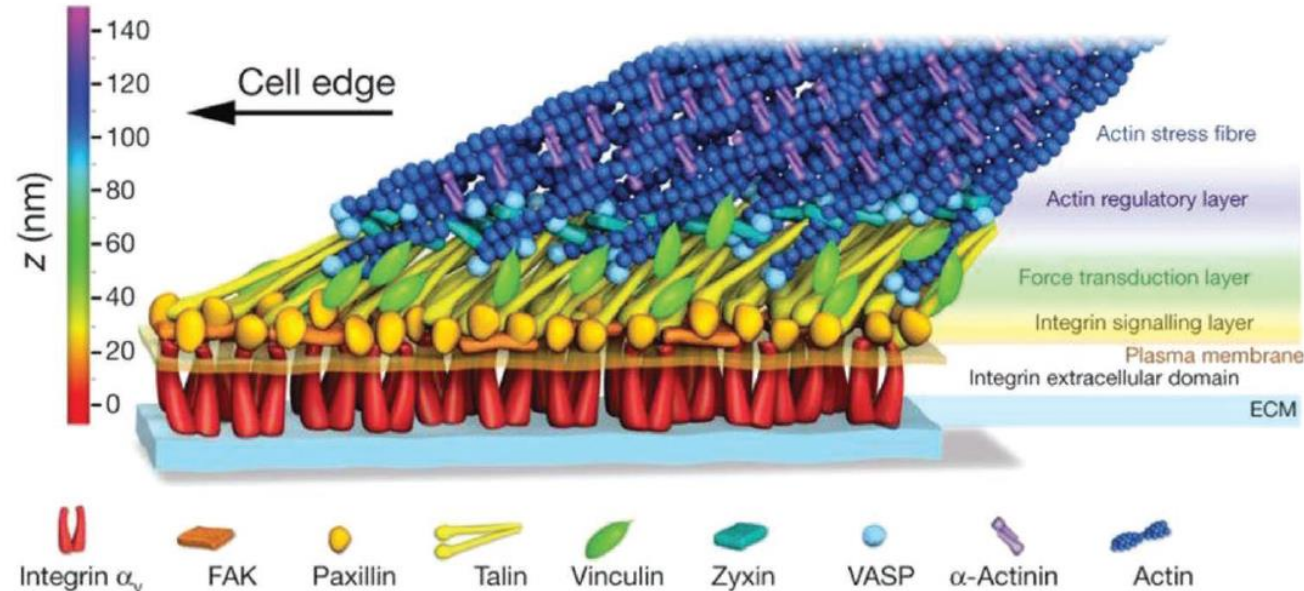
Il termine poroelasticità si riferisce al flusso di solvente (acqua) attraverso il gel (ECM) che causa un comportamento viscoso cioè dissipativo.

La poroelasticità porta ad una variazione di volume.

Effetto maggiore in compressione che in sforzo da taglio.

Adesione cellule-ECM

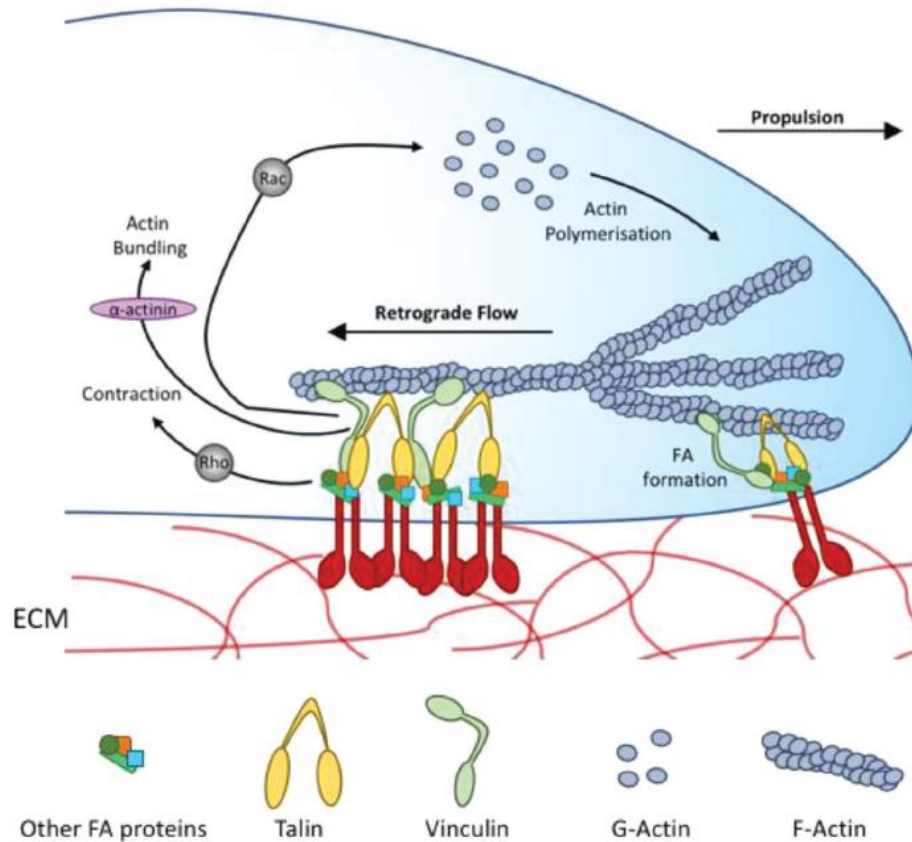
Coinvolgimento delle integrine. Queste sono collegate all'actina attraverso un sistema gerarchico complesso di mediatori indicato come «adesoma».



Integrine: si legano a ECM (fibronectina, vitronectina) e inducono, tramite variazione conformazionale nella parte citoplasmatica il legame con l'actina e la formazione le Integrin Adhesion Complexes (IAC).

IAC evolve poi clusterizzando nei Complessi Focali (Focal Complexes) che clusterizzano ulteriormente in complessi supramolecolari chiamati Adesioni Focali (Focal Adhesions)

Il meccanismo di meccanotrasduzione – Il Molecular Clutch



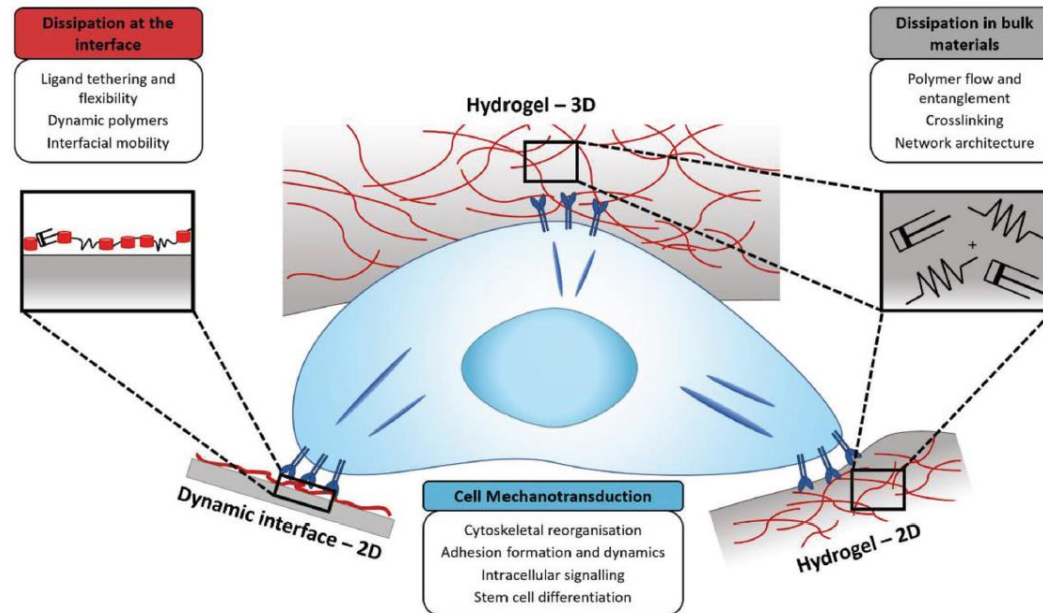
Clutch model: la polimerizzazione dell'actina e la contrattilità della miosina rallentano il flusso retrogrado. La forza di trazione delle integrine verso la ECM attiva la polimerizzazione dell'actina, rallenta il flusso retrogrado e si formano delle protrusioni nella cellula: la cellula si muove.

Molecular clutch: è dato dal legame tra actina e ECM (coinvolge Talina e Vinculina). Questo modello è stato utilizzato per spiegare il ruolo del citoscheletro e la dinamica di migrazione della cellula.

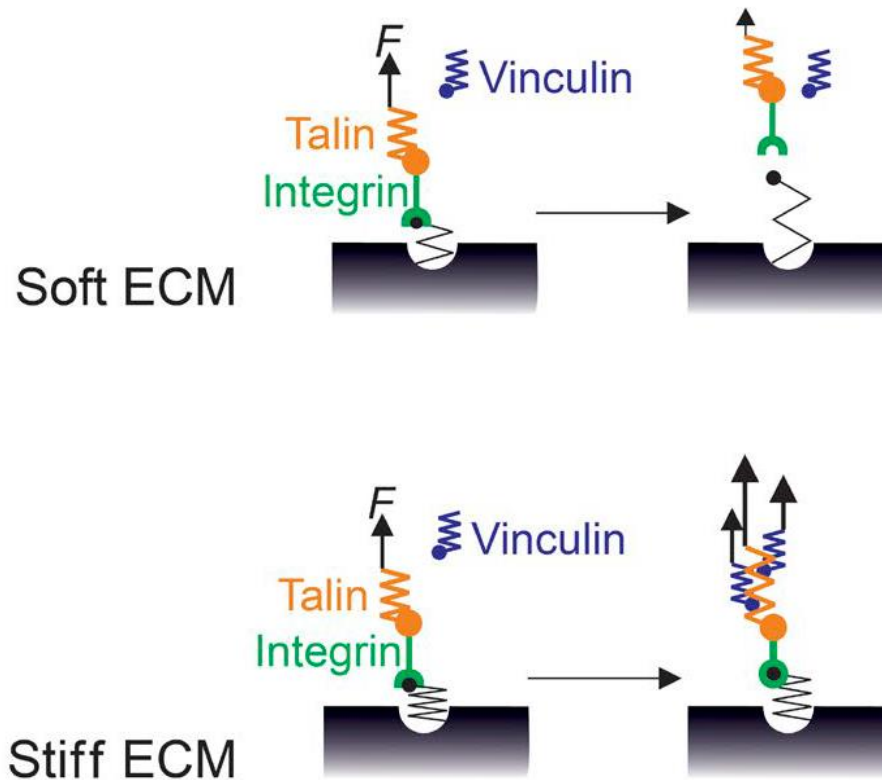
L'adesione di una cellula ad un substrato implica l'attivazione del clutch. L'unfolding della Talina è determinato dalla forza generata sul legame actina-integrina

Per rendere il clutch attivo, l'unfolding della Talina deve avvenire prima che le integrine si stacchino dalla ECM, altrimenti non c'è adesione.

Dopo la protrusione della cellula, il clutch si disattiva. La matrice è stata rimodellata e la cellula ha cominciato la fase di adesione/spreading.



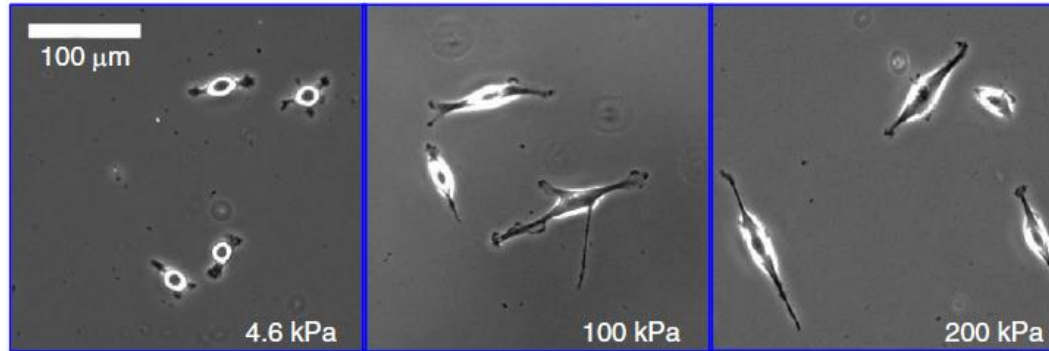
Effetto delle proprietà meccaniche del materiale sull'adesione



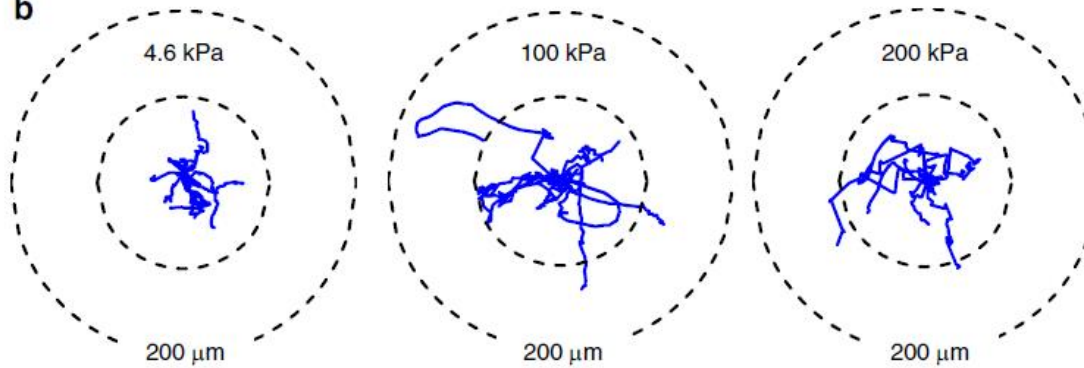
I reticoli di collagene si comportano come un sistema elastico fino ad un valore soglia, oltre il quale il reticolo si irrigidisce (strain-stiffening) e le fibre si allineano in direzione della deformazione applicata. L'allineamento permette la trasmissione delle forze su scale di centinaia di micrometri. Viscoelasticità non lineare è anche osservata per altri network (actina, neurofilamenti) ma l'origine della non linearità in questo caso è dovuta all'elasticità entropica vista la natura semiflessibile di questi componenti.

Effetto della stiffness del materiale

a



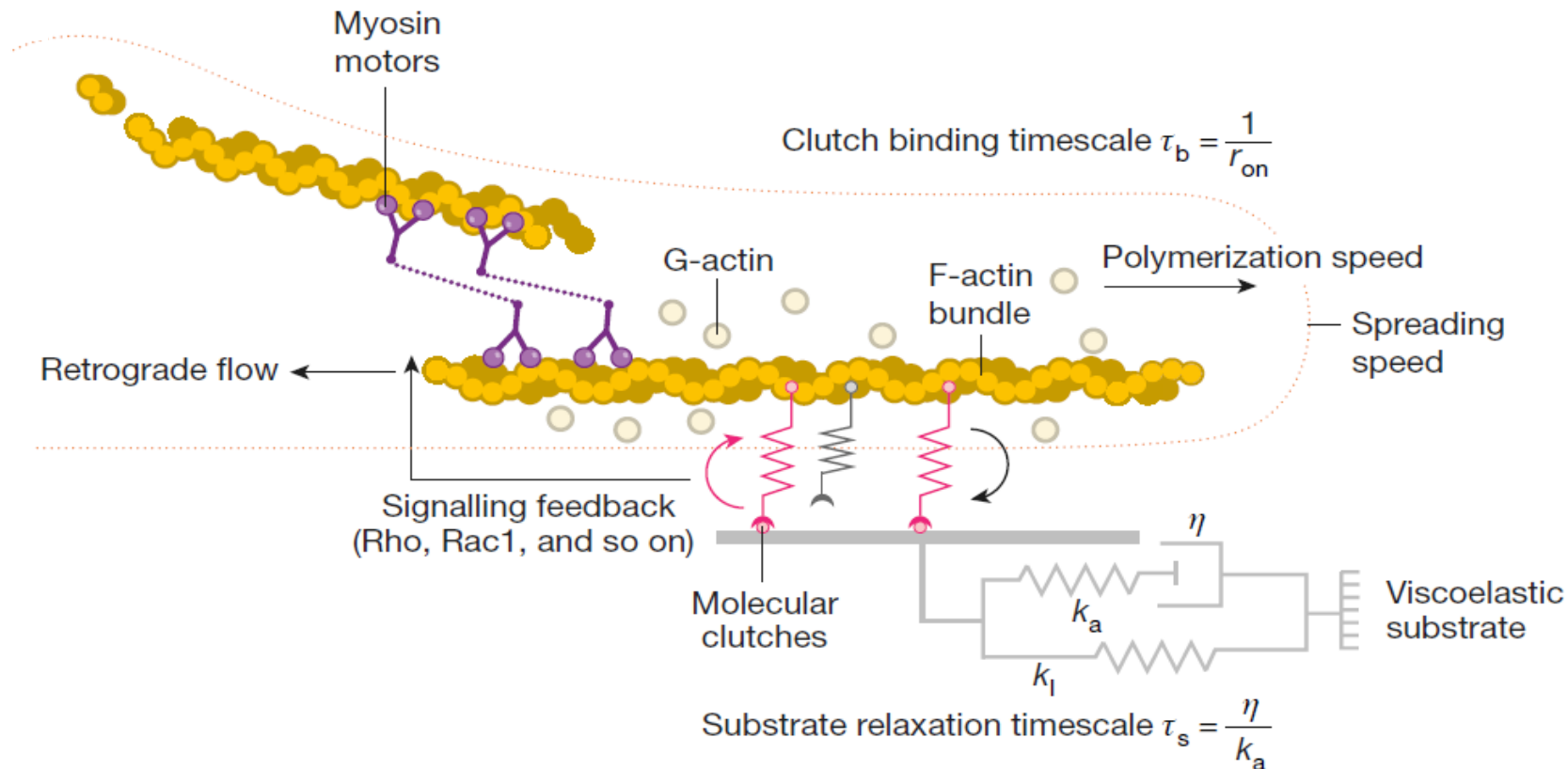
b

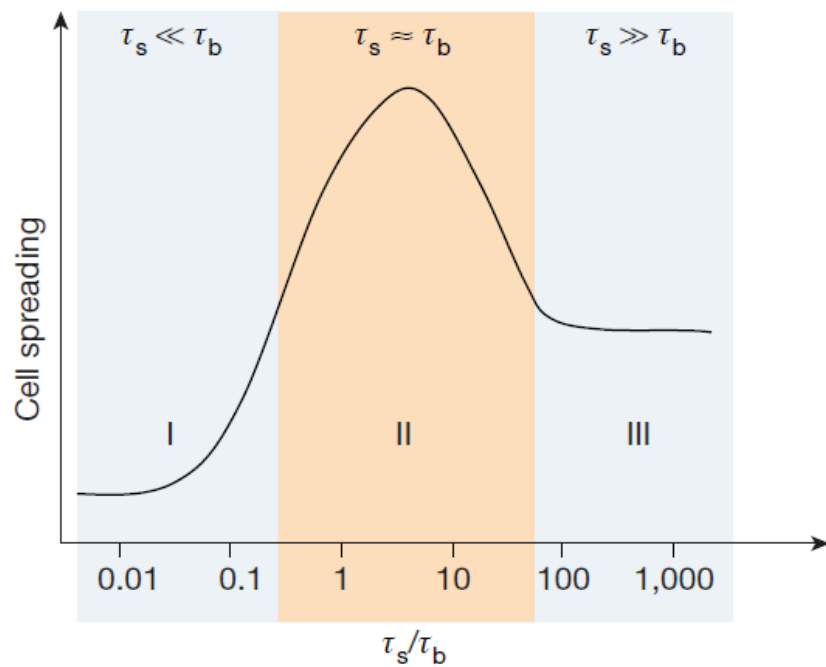
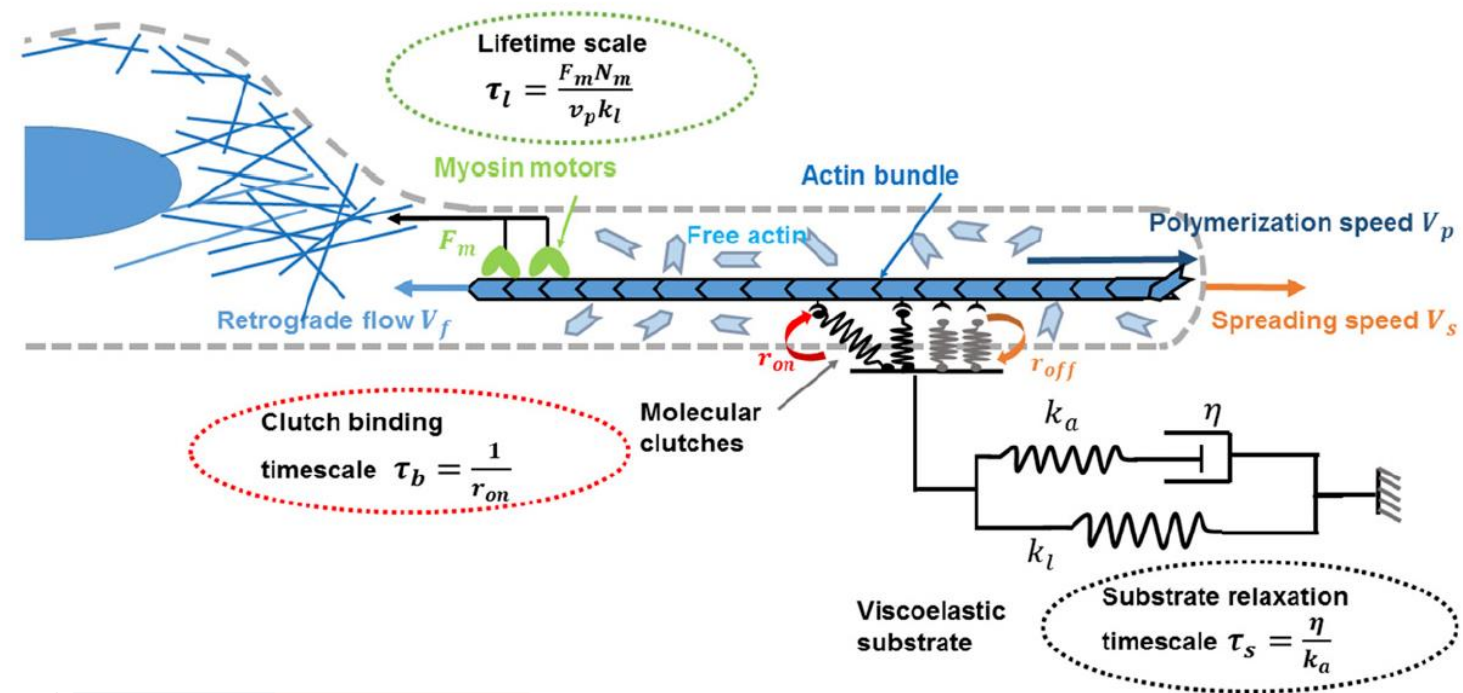


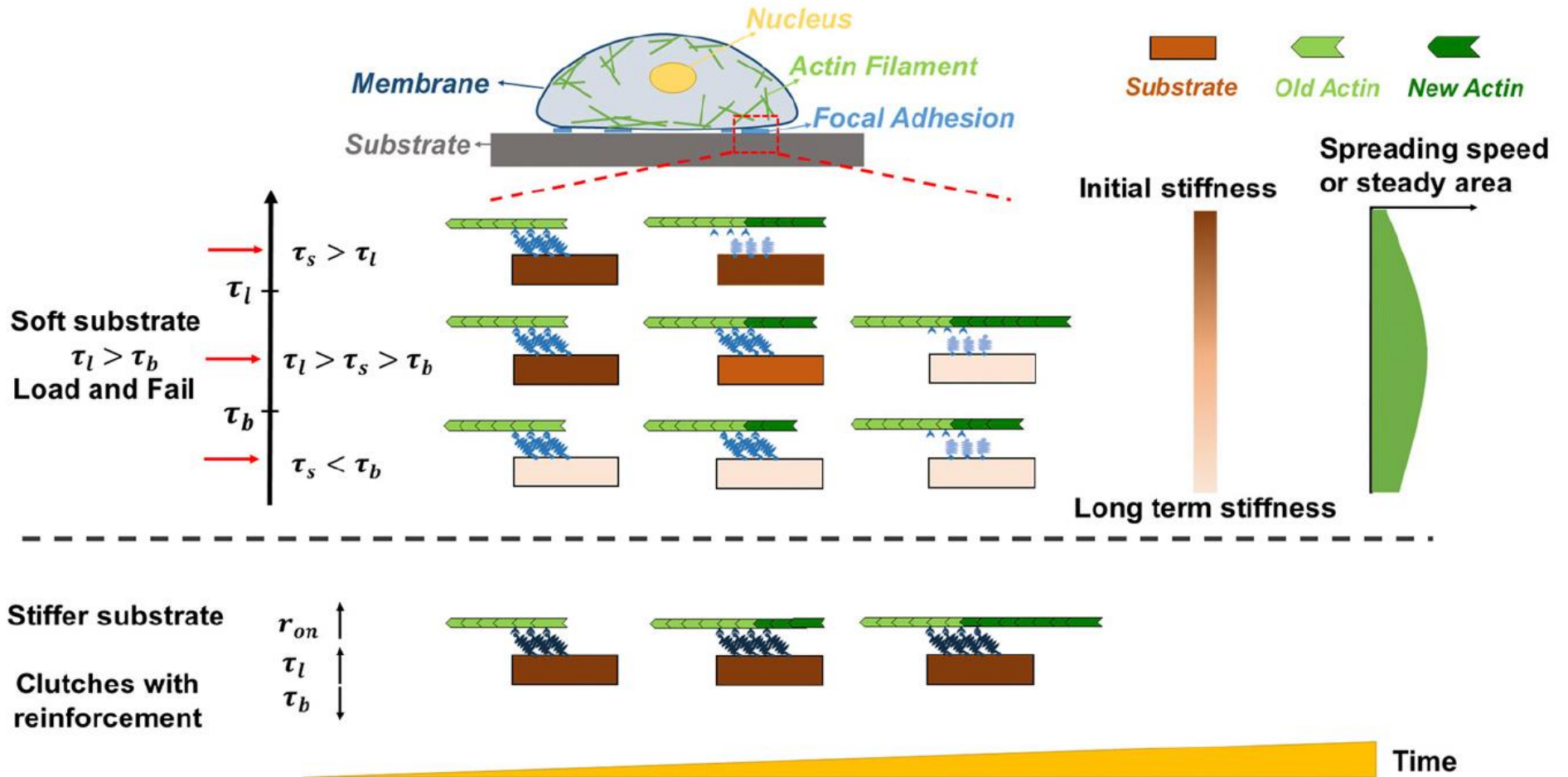
Per spiegare l'effetto viscoelastico della ECM (e dei materiali) sullo cell spreading è stato sviluppato un modello generalizzato per rappresentare il molecular clutch che introduce i concetti di dissipazione dell'energia

La viscosità serve per irrigidire i substrati soffici su scale temporali più veloci dello sgancio del clutch, questo aumenta l'adesione cellule-ECM e cell spreading.

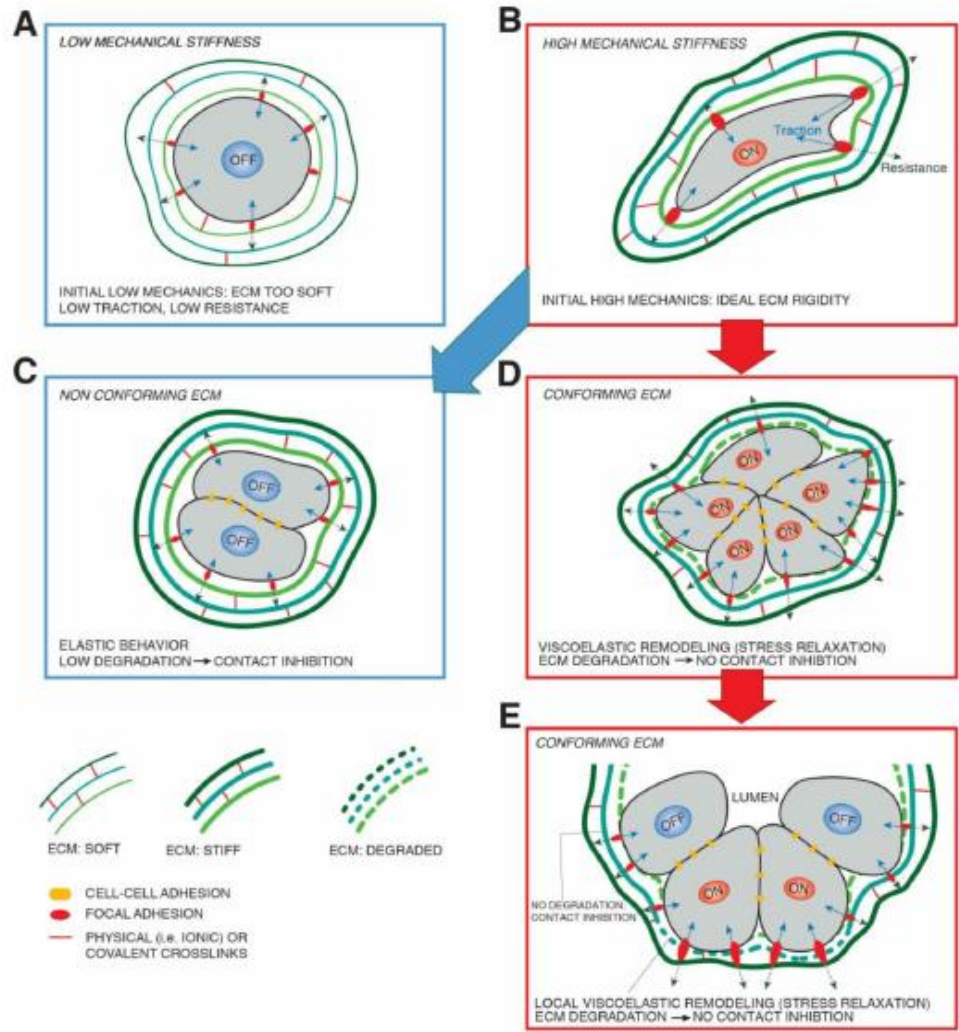
Per substrati che sono rigidi, la viscosità non influenza il cell spreading



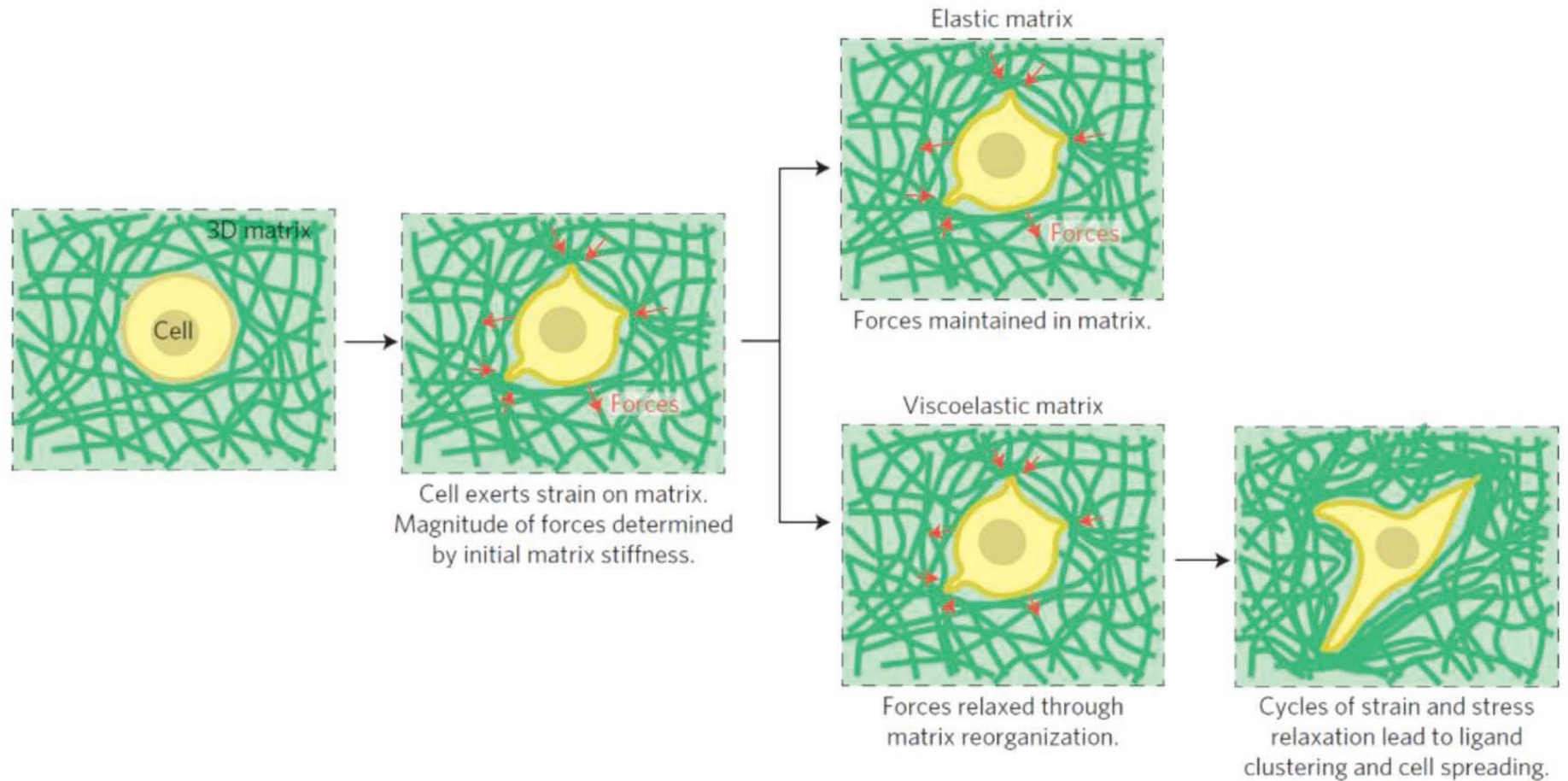




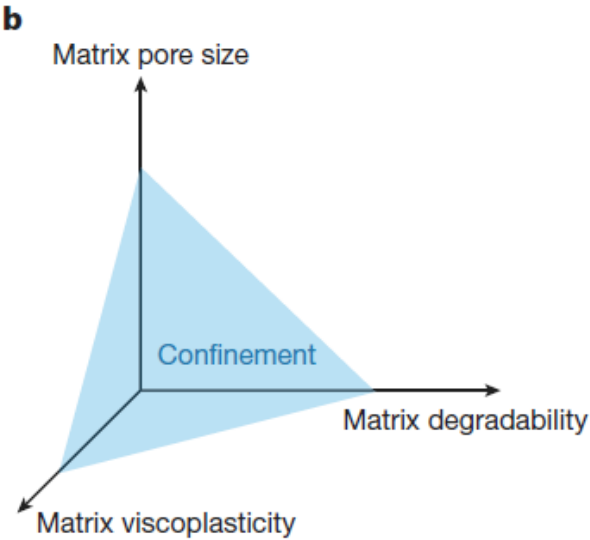
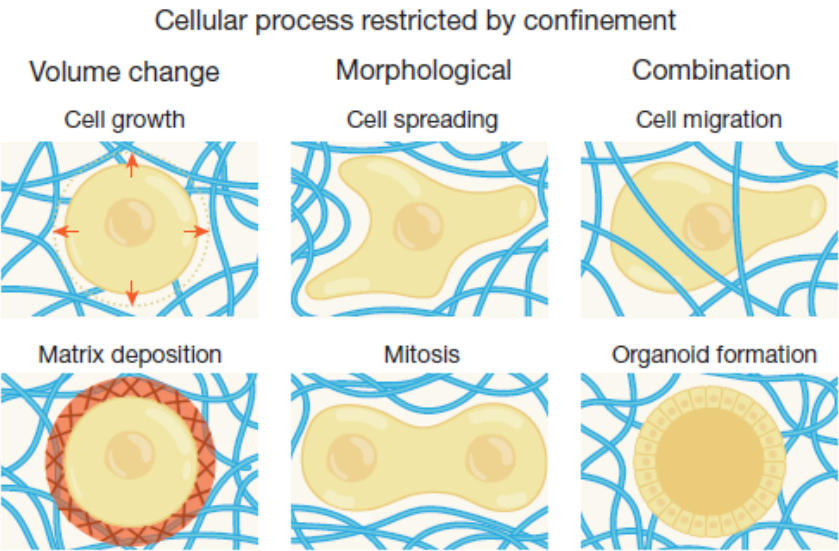
Matrici elastiche e viscoelastiche in 3D



Matrici elastiche e viscoelastiche in 3D



Effetto del confinamento



YAP e TAZ

YAP/TAZ sono due fattori di trascrizione meccanosensibili

La meccano-trasduzione di YAP/TAZ è essenziale per diversi effetti biologici determinati dall'azione di deformazioni sia in vitro che in vivo. YAP/TAZ regolano la dimensione degli organi, la morfogenesi embrionica e la rigenerazione

YAP/TAZ hanno una diversa localizzazione (nucleo/citoplasma) a seconda delle caratteristiche/stimoli meccanici

L'attivazione o disattivazione di YAP/TAZ dipende anche dalla natura della matrice che include le cellule. Se è rimodellabile allora ho attivazione di YAP/TAZ mentre se non si rimodella ho una disattivazione di YAP/TAZ.

