

Flujo de luz, células en marcha

Paulette Núñez-García¹, Ana Gabriela Leija-Montoya¹, Nicolás Serafín Higuera²

¹ Centro de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California

² Centro de Ciencias de la Salud, Facultad de Odontología Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California

Resumen

Identificar, clasificar y contar las células de nuestro cuerpo es importante para el diagnóstico de enfermedades, prevención o establecimiento de mejores tratamientos. Diferentes estrategias, entre ellas la citometría de flujo, permiten analizar células. Utilizando como fundamento los principios más básicos de la citometría de flujo, en este taller se identifican y cuentan diferentes tipos de células. Por medio de un teatro de luces y sombras, las diferentes morfologías celulares distorsionan la luz y proyectan sombras muy diferentes, lo que permite identificarlas, clasificarlas y contarlas. Un grupo de participantes actúa como las células alineadas y otro grupo como parte del citómetro de flujo.

Tipo de público

Estudiantes				
Preescolar	Primaria	Secundaria	Bachillerato	
	X	X	X	
Otros sectores				
Familias	Jóvenes adultos	Adultos mayores	Madres de familia	Otro (especificar)
¿La actividad se diseñó para trabajar con personas con alguna discapacidad? Especificar				

Área de la ciencia: Física
Biología
Medicina

Conceptos clave: Célula
Morfología celular
Citometría de flujo
Recuento celular
Tipos celulares.

Objetivo (s)

1. Conocer la unidad básica de la vida: célula.
2. Definir la existencia de diferentes tipos celulares a partir de un taller didáctico que involucra el fundamento más básico de la citometría de flujo.

Tipo de actividad: Taller

Duración sugerida: 45 minutos

Material	
Grupal	Sábana blanca Lámpara Telón o dónde colocar la sábana Hojas transparentes de colores Hojas de colores Tijeras Palitos Silicón caliente Esquemas de diferentes tipos de células (Clave de células) en cartulina de 50 cm x 70 cm
Por participante	Hojas con la información impresa (Formato de reporte) Plumas o lápices Borrador o corrector Colores y plumones
Requerimientos técnicos	
Toma de corriente eléctrica	
Factores de riesgo	
Ninguna.	

Marco teórico

Las células son las unidades fundamentales y más básicas de la vida. Éstas pueden adoptar una gran variedad de formas y tamaños con diversas funciones especializadas (Alberts et al. 2018). Se ha estimado que el cuerpo humano adulto está constituido por aproximadamente 3.72×10^{13} células. Se ha considerado históricamente y basándose en estudios de origen, morfología y proteínas de superficie, la existencia de entre 200 y 500 principales tipos celulares en humanos. Sin embargo, es importante mencionar que estos estudios presentan ciertas limitaciones y nuevas tecnologías de análisis de célula individual podrían darnos información más precisa (Bianconi et al., 2013; Roy & Conroy, 2018).

El análisis, caracterización y conteo de las diversas células que componen al cuerpo humano tienen muchas aplicaciones en el área de la medicina, tales como el diagnóstico de diferentes enfermedades, establecimiento de estrategias de tratamiento, programas preventivos de salud y seguimiento de pacientes, entre otros. Para analizar la gran

diversidad de estirpes celulares que conforman el cuerpo humano existen diferentes herramientas en los laboratorios de análisis clínicos y de investigación. Debido a que nuestras células son muy pequeñas y no son identificables a simple vista, se ha utilizado más común e históricamente el microscopio para su estudio. Este es un aparato que genera una imagen incrementada de los objetos gracias al uso de las propiedades de la luz y lentes. Sin embargo, existen otras herramientas para el análisis celular como la citometría de flujo.

Una definición general de citometría de flujo es la medida o cuantificación de células suspendidas en una fase de fluido utilizando un aparato llamado citómetro de flujo (Goetz et al., 2018). Para ir comprendiendo mejor la citometría de flujo, se puede deconstruir el concepto: *cito*=célula, *metría*=medida y *flujo*=fluido. El aparato llamado citómetro de flujo funciona básicamente por medio de tres componentes: el sistema de fluidos, el sistema óptico y el sistema electrónico.

De manera muy general y sólo para contextualizar estos conceptos con el taller, se puede decir que: (A) el sistema de fluidos permite mover y transportar a las células que serán analizadas. Este sistema se conforma de soluciones que viajan a diferente presión y en donde las células van inmersas, lo que permite que las células se transporten de manera ordenada y formadas una detrás de otra en hilera. Esto hace posible el análisis de una por una en un sitio del citómetro de flujo llamado la “celda de flujo”. (B) El sistema óptico está compuesto de lentes y espejos, así como de un láser (o varios) que impacta e ilumina “el punto de interrogación” en la celda de flujo en donde van pasando las células formadas. La luz dispersada y la fluorescencia emitida por las células es recolectada en detectores que posteriormente convierten la luz en datos que pueden ser representados en una gráfica desplegada en una computadora. La luz dispersada por la célula a diferentes ángulos y que es colectada puede dar información de su tamaño y de su granularidad (complejidad). En este sentido, es importante mencionar que la luz que dispersa la célula en ángulos pequeños (en referencia al láser), es colectada por un detector llamado FSC (*forward scatter channel*, que hace referencia a luz dispersada que es captada de manera “frontal”) y nos da una estimación del tamaño de la célula. Por otra parte, la luz que dispersa la célula al ser impactada por el láser en ángulos más amplios y perpendiculares con respecto al laser, es recolectada por el detector llamado SSC (*side scatter channel*, que hace referencia a la luz dispersada que es captada de manera “lateral”) y nos da una estimación de la complejidad de la célula. Así, morfologías y tamaños celulares diferentes dispersan la luz de manera diferente, lo cual puede ser registrado y analizado. Además, las células pueden ser marcadas con sustancias que emiten fluorescencia al ser impactadas por el láser, lo que puede indicar diferentes propiedades y características de la célula. (C) El sistema electrónico convierte el espectro de emisión en una señal digital para ser analizada en una computadora usando algún programa compatible (Goetz et al., 2018). De tal manera que la dispersión de luz y fluorescencia emitida por cada una de las células puede ser analizada en diferentes tipos de gráficas para contar, identificar o clasificar diferentes tipos celulares.

En este taller, una lámpara de luz impactará a una sábana blanca que representará el sistema óptico. Un equipo de niños, formados uno detrás de otro en hilera y sosteniendo una célula de papel, representarán a las células viajando en el sistema de fluidos del citómetro de flujo, e irán pasando entre la lámpara y la sábana; de tal manera que las células que lleve cada niño dispersarán la luz de manera diferente, lo que generará una sombra que se proyectará sobre la sábana. Otro grupo de niños registrará en un formato las sombras de las células para identificarlas y contarlas, haciendo las veces de parte del sistema óptico y el sistema electrónico.

Flujo de la actividad

- Preparación del lugar de la actividad: se debe colocar un telón con una sábana en donde se proyecte una luz.
- Material previamente elaborado: Antes de comenzar el taller, el tallerista podrá realizar sus células a partir de su propio criterio, enfatizando características particulares como el tamaño o forma de las células. Se colocará un esquema llamado “Clave de las células” que muestre imágenes de diferentes células enfatizando características como forma y tamaño e incluyendo su nombre correspondiente (FIGURA 1).

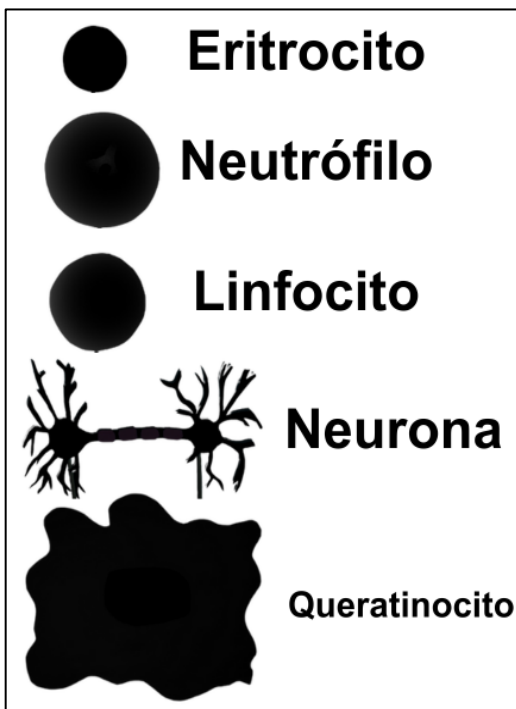


FIGURA 1. Ejemplo de clave de células.

Este esquema facilitará la identificación de las células durante el desarrollo de la actividad. Adicionalmente, se tendrán preparados palitos con células como se muestra en la FIGURA 2 para cada participante. También se tendrá listo un “Formato de reporte” como se muestra en la FIGURA 3, el cual se le entregará a cada participante.

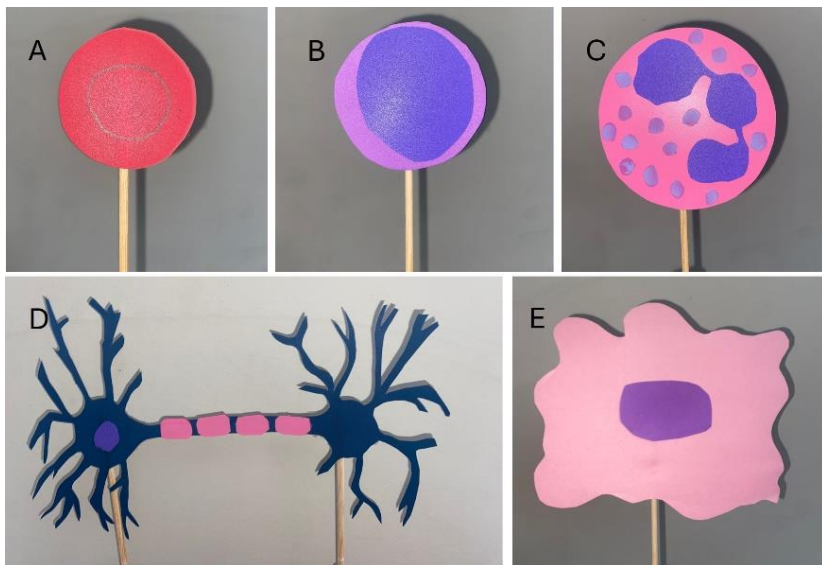


FIGURA 2. Ejemplo de palitos con células para la realización de la actividad. A) eritrocito; B) linfocito; C) neutrófilo; D) neurona; E) queratinocito.

FORMATO DE REPORTE
Equipo de Citómetros

Nombre del Participante: _____

CÉLULAS	CONTEO (MARCAR CON UNA X SI VES A LA CÉLULA PASAR POR LA PANTALLA)				TOTAL
Eritrocito	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neutrófilo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfocito	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurona	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Queratinocito	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	TOTAL DE CÉLULAS				

FIGURA 3. Ejemplo de un formato de reporte para la realización de la actividad.

1. Introducción

Al inicio de la actividad el tallerista realizará una evaluación diagnóstica que consiste en hacer una serie de preguntas con la finalidad de identificar el nivel de conocimiento del público/participantes para así poder determinar el nivel de complejidad sobre la exposición

del tema central. Las preguntas serán propuestas por el tallerista a partir de su conocimiento teórico y utilizando un lenguaje adecuado a la edad de los participantes. Por ejemplo: ¿Sabes que es una célula?; (a partir de la respuesta a la pregunta anterior y en caso de ser positiva, se puede continuar realizando preguntas hasta que se limite el conocimiento de los participantes. En caso de una respuesta negativa, se empezará con la presentación teórica); ¿conoces alguna célula de tu cuerpo?; ¿sabes cómo se ve una célula?; ¿sabías que las células de tu cuerpo tienen diferentes formas y tamaños?; ¿sabes cómo identificarlas?; si dos células son muy parecidas, ¿qué se hace para identificarlas? Una vez terminada la evaluación diagnóstica, se empezará la presentación teórica a partir de los conocimientos para evitar la redundancia de la información, o a consideración del tallerista.

La presentación teórica debe contener los elementos necesarios para el entendimiento y realización de la actividad. Entre estos elementos se definen la célula, tipos celulares, características: formas, tamaños, etc., además de una explicación muy simplificada acerca de cómo las características de las células pueden distorsionar y dispersar la luz de formas diferentes, y si podemos alinearlas y detectar cómo distorsionan la luz es posible identificarlas y contarlas, como ocurre en el interior del aparato llamado citómetro de flujo.

2. Desarrollo

Los participantes se dividirán en dos equipos, los cuales se rotarán entre cada finalización de la actividad. Estos equipos serán llamados Equipo de las células y Equipo de los citómetros.

- Equipo de las células: El tallerista repartirá los palitos con las células correspondientes. Dichas células presentarán diferente forma, tamaño y color (FIGURA 2) y deben estar en concordancia con el esquema llamado “Clave de células” (FIGURA 1). Los participantes sujetan con su mano el palito con la célula correspondiente y estarán por detrás del teatro de luces (entre la sábana y la lámpara de luz) formados uno tras otro en hilera, evitando que el público pueda verlos. Los participantes comenzarán a avanzar uno a uno, pasando por detrás de la sábana, de tal manera que se proyecte la luz hacia la célula y se genere una sombra sobre la sábana. Dicha sombra será diferente dependiendo de las características morfológicas de la célula que le haya tocado al participante.

- Equipo de los citómetros: serán el “público”, los que visualicen el teatro de luces e identifiquen cada célula que vaya pasando y proyecte una sombra. Tomando en cuenta la teoría anteriormente vista, el tallerista les va a proporcionar una hoja (FIGURA 3), en donde marcarán las características de la célula que pase por la luz y genere una sombra particular, identificándola por su tamaño y forma; además de ir contando la cantidad de células que van pasando y la cantidad final total de células. Para facilitar la identificación de las células, los integrantes de este equipo se auxiliarán con el esquema “Clave de células” (FIGURA 1) y con la ayuda del tallerista.

3. Conclusión

En esta sección, el tallerista realizará una retroalimentación a los participantes para confirmar y reflexionar sobre lo aprendido en la actividad; además, se responderán dudas que hayan quedado sobre la actividad y por resolver. Por ejemplo:

-Mencionar que las células al tener diferentes características dispersan la luz de manera diferente generando sombras distintas, y esto ayuda a identificarlas, y algo muy parecido ocurre dentro del aparato llamado citómetro de flujo.

-Es posible contar las células de nuestro cuerpo y esto ayuda mucho para la prevención, tratamiento e identificación de enfermedades.

Es factible hacer ajustes de la actividad para volverla más o menos compleja. Por ejemplo, se podría incluir un segundo formato de reporte (FIGURA 4), para hacer comparaciones entre las células que van pasando por el telón en cuanto a tamaño y “complejidad” (granularidad), repasando los conceptos de FSC y SSC y haciendo un conteo en números absolutos y en porcentaje. Durante este ejercicio adicional, al equipo de los citómetros, “el público”, se le dará un formato adicional (FIGURA 4) para que ordene en una gráfica con dos ejes las células que proyectan la sombra en la sábana y posteriormente realice su conteo.

Un ejemplo de este ejercicio podría consistir en que “el equipo de las células” pase por el telón, generando la sombra de 3 eritrocitos, 5 linfocitos y 2 neutrófilos en diferente orden. Considerando las características de estas células, “el equipo de los citómetros” llenará su formato (FIGURA 4A), en donde los eritrocitos serían representados con tres puntos dentro de la región 1; los linfocitos quedarían representados con cinco puntos dibujados dentro de la región 2; y los neutrófilos quedarían representados con dos puntos indicados dentro de la región 3. Posteriormente llenarían su tabla (FIGURA 4B), contando los puntos en cada región y haciendo sus cálculos con apoyo del tallerista.

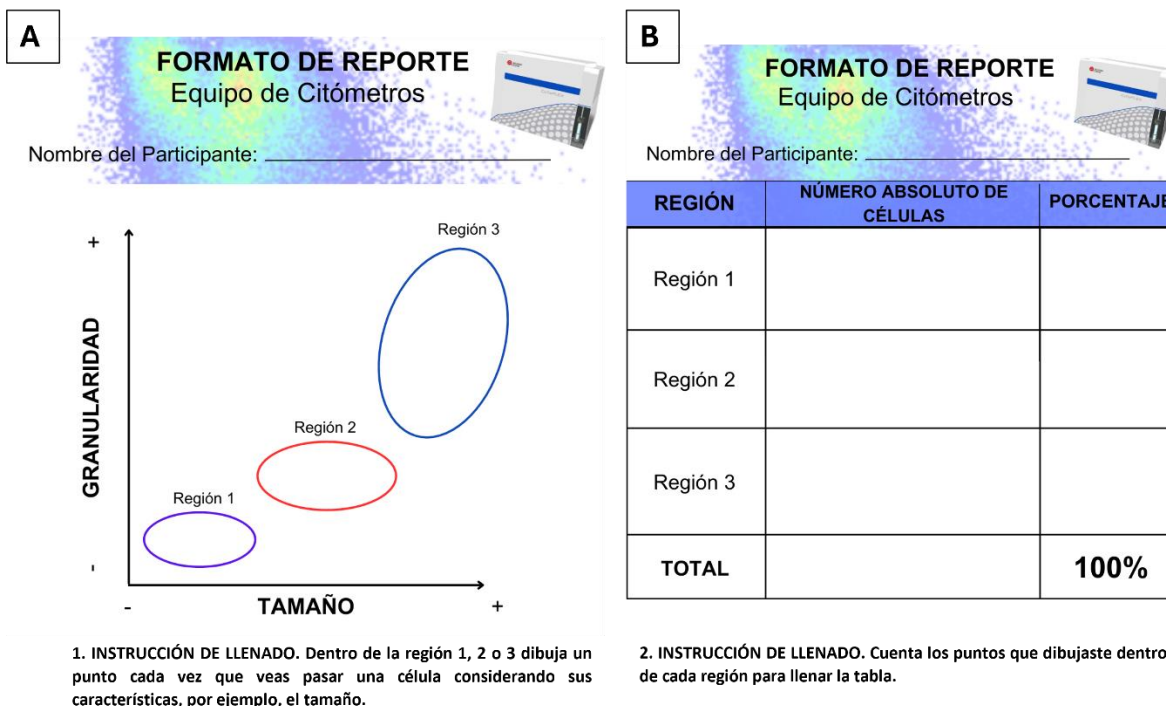


FIGURA 4. Propuesta de formato de reporte adicional para incrementar la complejidad de la actividad

La dinámica puede variar agregando más tipos celulares, enfatizando en las características que se desean compartir, incrementando la complejidad de las figuras/imágenes de las células o haciendo pasar más rápido las células sobre el telón, lo cual incrementará el reto de identificación, conteo y clasificación.

Agradecemos a CONAHCYT (Ciencia de Frontera 2023, CF-2023-I-1400 a NSH).

Bibliografía

Alberts, B., Hopkin, K., Johnson, A. D., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2018). *Essential cell biology: Fifth international student edition*. WW Norton & Company.

Bianconi, E., Piovesan, A., Facchin, F., Beraudi, A., Casadei, R., Frabetti, F., Vitale, L., Pelleri, M. C., Tassani, S., Piva, F., Perez-Amodio, S., Strippoli, P., & Canaider, S. (2013). An estimation of the number of cells in the human body. *Annals of Human Biology*, 40(6), 463–471. <https://doi.org/10.3109/03014460.2013.807878>

Goetz, C., Hammerbeck, C., & Bonnevier, J. (2018). *Flow cytometry basics for the non-expert* (Vol. 1). Springer.

Roy, A. L., & Conroy, R. S. (2018). Toward mapping the human body at a cellular resolution. *Molecular Biology of the Cell*, 29(15), 1779–1785. <https://doi.org/10.1091/mbc.E18-04-0260>