

Análise física de fibroblastos tratados com bleomicina com uso de microscopia de força atômica no LabCEMM

<u>Felipe Pizzolo¹</u>, Leder Leal Xavier¹ (orientador)

1Laboratório Central de Microscopia e Microanálise-LabCEMM

Resumo

A Microscopia de Força Atômica (AFM) consiste na interação dos átomos de uma sonda, ligada a uma plataforma, com as moléculas da superfície analisada. O microscópio realiza a geração de imagem em escala manométrica, além de prover a topografia da superfície da amostra. Uma vantagem do aparelho é a produção de curvas de força, estas são pequenos toques da sonda na amostra, extraindo informações como adesão, deformação e elasticidade (modulo elástico ou modulo de Young) (propriedades mecânicas). A AFM vem sendo amplamente utilizada em superfícies não biológicas como metais, cerâmicas, polímeros, dentre outras. Em materiais biológicos, como células, estudos recentes sugerem que as propriedades mecânicas de células são de particular interesse, pois podem ajudar na diferenciação de estados de doença ou não (diagnóstico de doença). Dentre estes estudos, podemos destacar a documentação de que células cancerígenas são mais elásticas que células saudáveis. Em nosso trabalho, estamos avaliando os efeitos da bleomicina em linhagem de fibroblastos (MCR-5) através da AFM, analisando o modulo elástico, deformação e adesividade. A bleomicina é um antibiótico quelante de metal que também é capaz de causar fibrose pulmonar (FP). Em modelos animais a bleomicina é utilizada como indutor de fibrose pulmonar. Os fibroblastos pulmonares cultivados são da linhagem MRC-5, em meio DMEM suplementado com soro fetal bovino a 10%, mantidos em ambiente umidificado em 37°C, com CO 2 a 5%. As células tratadas com bleomicina estão sendo comparadas com um grupo controle, após 72h. A contagem por exclusão de Azul de Tripan está sendo utilizada para avaliar a viabilidade das células, que posteriormente, se viáveis, serão

usadas para formação de imagens de pontos específicos do citoplasma e do núcleo. Tais pontos

são formados por varredura, extraindo-se dados relevantes para a integridade do citoesqueleto,

como rugosidade, altura e perímetro. Resultados iniciais indicaram que a bleomicina não

aumentou a taxa de proliferação celular. Dados da AFM fora expresso em módulo de Young

(kPa), com um módulo de 3,5 MPa, indicando mudança de rigidez celular na membrana

plasmática que recobre o citoplasma e o núcleo, significando um indício de mudança fenotípica.

Com esse projeto, iniciamos a padronização da análise morfológica de fibroblastos celulares pelo

AFM, no Laboratório Central de Microscopia e Microanálises da PUCRS (LABCEMM).

Palavras-chave: Microscopia de Força atômica, Fibrose Pulmonar; MRC-5