



# ANÁLISE DE IMAGENS DE MICROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA PARA DETERMINAR EFEITOS TÓXICOS DE NANOMATERIAIS

Palavras-Chave: Câncer, fluorescência, microscopia

Thyphanny Katherine Silva Franca (IB/UNICAMP), Vitória da Silva Gonçalves (IB/UNICAMP), Maria Tereza Marques Musetto (IB-UNICAMP)

Prof. Dr. Marcelo Bispo de Jesus, (Orientadora: Thaís de Moraes Lacerda), IB - UNICAMP.

Financiamento: PIBIC/CNPq, FAPESP.

## INTRODUÇÃO

A análise de imagens de microscopia de fluorescência é uma abordagem poderosa e amplamente utilizada para determinar efeitos tóxicos em células e tecidos. Essa técnica permite visualizar e quantificar as respostas celulares a agentes tóxicos por meio da utilização de marcadores fluorescentes específicos. Ao expor amostras biológicas a substâncias potencialmente tóxicas e, em seguida, marcá-las com sondas fluorescentes, é possível identificar alterações nas células que podem indicar estresse celular, morte ou danos específicos aos órgãos.

Através da captação de imagens em microscópios de fluorescência, é possível detectar mudanças na morfologia celular, liberação de proteínas sinalizadoras, danos ao DNA e outras respostas celulares relevantes. A quantificação de intensidades de fluorescência e localizações subcelulares pode fornecer informações detalhadas sobre os efeitos tóxicos em diferentes regiões celulares. Essa análise avançada é crucial em estudos farmacológicos, ambientais e de segurança, permitindo a identificação precoce de efeitos adversos de compostos químicos ou drogas em desenvolvimento. Além disso, a análise de imagens de microscopia de fluorescência também desempenha um papel fundamental na compreensão dos mecanismos subjacentes a esses efeitos tóxicos, possibilitando intervenções terapêuticas mais eficazes e aprimorando a segurança em diversas áreas da ciência e da medicina.

## METODOLOGIA

Para cumprir os objetivos do projeto, foram seguidas as seguintes etapas:

**Etapa 1: preparação das amostras:** as amostras biológicas, como células ou tecidos, são cultivadas ou coletadas e preparadas para a análise. Isso pode incluir tratamentos com substâncias tóxicas em diferentes concentrações e tempos de exposição.

**Etapa 2: marcação fluorescente:** para visualizar estruturas ou moléculas específicas dentro das amostras, sondas ou anticorpos são utilizados para marcar proteínas, organelas ou componentes celulares de interesse com corantes fluorescentes.

**Etapa 3: aquisição das imagens:** as amostras marcadas são colocadas em um microscópio de fluorescência, onde a luz excita as moléculas fluorescentes e gera sinais de fluorescência. As imagens são capturadas em diferentes canais espectrais para registrar diferentes emissões de fluorescência.

**Etapa 4: processamento de imagens:** as imagens capturadas são processadas usando software de análise de imagem para melhorar a qualidade, remover ruídos e segmentar regiões de interesse. Isso pode envolver a aplicação de filtros, ajustes de brilho, contraste e correção de fundo..

**Etapa 5: quantificação de fluorescência:** os níveis de fluorescência nas regiões de interesse são quantificados usando o software de análise de imagem. Isso permite medir a intensidade e a distribuição dos marcadores fluorescentes nas células ou tecidos.

**Etapa 6: análise estatística:** os dados obtidos são submetidos a análises estatísticas para determinar se existem diferenças significativas nos níveis de fluorescência entre os grupos de tratamento, controlados ou não tratados.

**Etapa 7: interpretação dos resultados:** os resultados obtidos são interpretados para determinar os efeitos tóxicos nos diferentes grupos de tratamento. Isso pode incluir a identificação de alterações morfológicas, danos celulares, ativação de vias de sinalização específicas ou outros eventos relevantes.

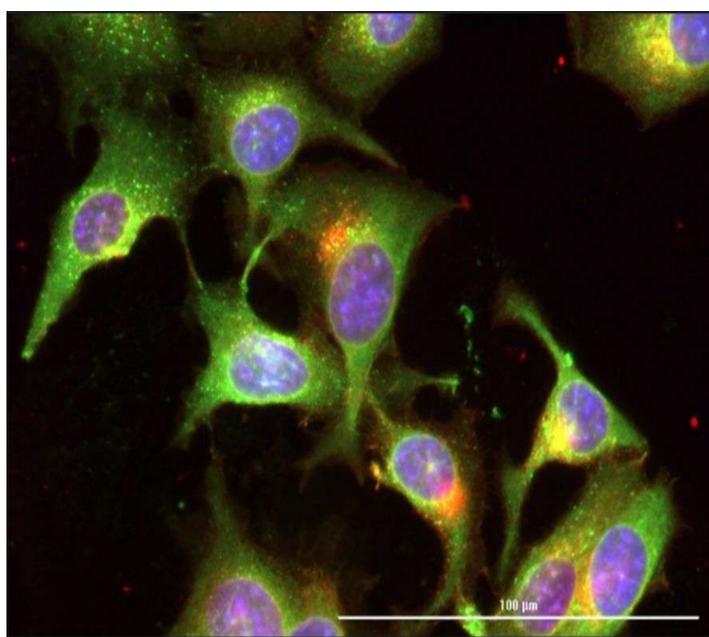
**Etapa 8: discussão e conclusão:** os resultados são discutidos à luz da literatura científica existente e das hipóteses iniciais. Conclusões sobre os efeitos tóxicos e possíveis mecanismos subjacentes são apresentadas, com destaque para a relevância dos achados para a área de estudo.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Primeiramente, submetemos as células de câncer de mama ao tratamento com três fármacos previamente cultivadas em placas de 96 poços.

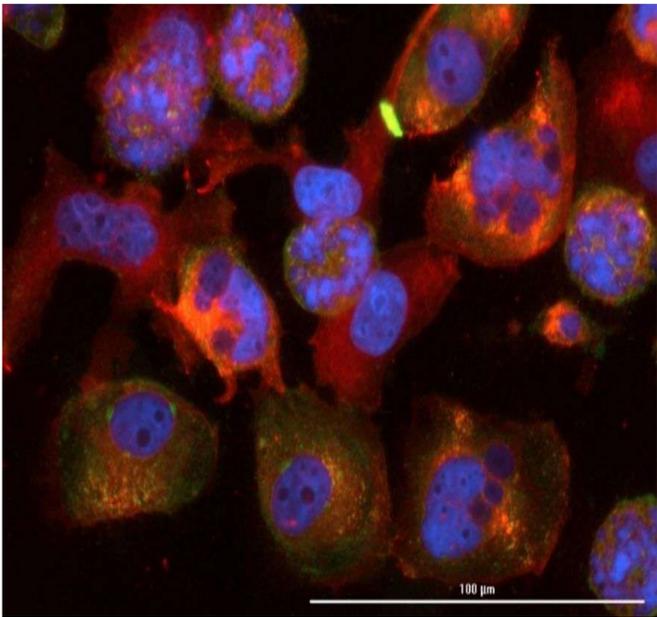
Os fármacos utilizados foram o Docetaxel, o Paclitaxel e a, Doxorrubicina, onde foram aplicadas 1 micromolar em cada poço das placas de células. Onde obtivemos estes resultados.

### Doxorrubicina.



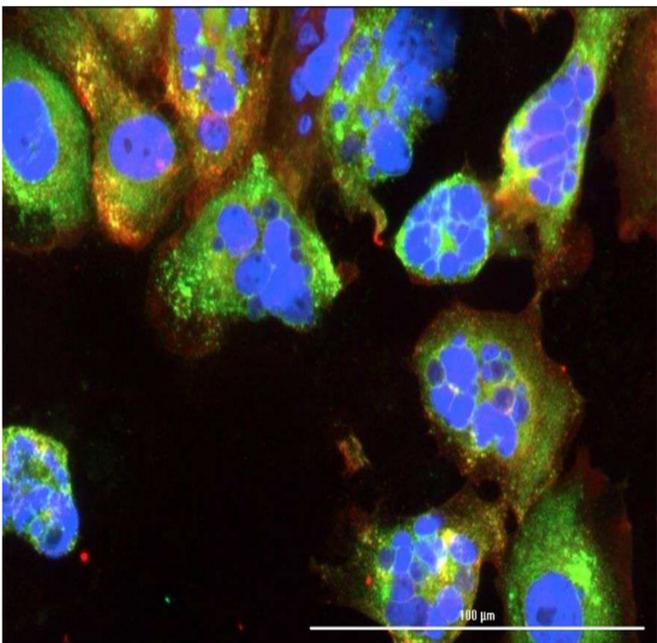
Nesta imagem podemos ver que o fármaco aplicado não obteve mudanças significativas, pois o núcleo (azul), o retículo endoplasmático (verde) e o citosqueleto (vermelho), estão quase ou inteiramente intactos. Mostrando que esse fármaco precisaria de vários meses para causar um grande resultado nas células.

## Paclitaxel



Observando essa imagem podemos ver que tivemos um grande resultado positivo, notando que este fármaco conseguiu afetar o núcleo (azul), o retículo plasmático (verde) e o citoesqueleto (vermelho), em que todas essas áreas tivessem dano em praticamente toda a célula. Mostrando ser um fármaco potente para tratamento de células cancerígenas.

## Docetaxel



Na imagem deste fármaco podemos observar que o núcleo (azul) foi potencialmente danificado, mas o retículo endoplasmático (verde) e o citoesqueleto (vermelho) não foram tão afetados pelo fármaco. Isso mostra que ele tem um bom potencial no tratamento de células cancerígenas, pois o núcleo das células ficou destruído.

Como mostrado nas imagens acima podemos perceber nitidamente as diferenças de ação de cada fármaco usado no tratamento das células, onde uma tem mais potencial que outra.

Com isso vimos que dentre os três os mais eficientes seriam o Paclitaxel e o Docetaxel que tiveram grande percentual de destruição no núcleo das células. Mas se compararmos os dois fármacos veremos que o Paclitaxel teve um efeito destrutivo maior, observando que além do núcleo a estrutura das células foi juntamente afetada, tendo um resultado positivo para nossa pesquisa.

Em relação ao fármaco Doxorubicina não obtivemos resultados muito positivos, pois o efeito dele diante as células foi quase nulo onde tanto o núcleo quanto a estrutura celular ficaram praticamente intactos, mostrando que para surgir algum efeito sobre as células precisaríamos de alguns meses para obtermos um resultado significativo.

## CONCLUSÕES

Através dos experimentos e imagens analisadas foi possível identificar meios de tratamento que mais seriam eficientes, trazendo resultados positivos e com grandes mudanças. Podemos destacar o quão importante esses processos realizados são, pois eles verificam as hipóteses elaboradas por nós, mostrando se o resultado do tratamento foi positivo ou negativo. Nesse caso em específico dos quimioterápicos, tivemos dois em destaques (Paclitaxel e o Docetaxel), que agora serão levados adiante para prosseguir com a pesquisa sobre as células com a presença do tumor de câncer de mama. Vemos também a importância que se dá para essas áreas, avançando sempre na saúde com a ajuda da tecnologia, proporcionando soluções incríveis.

## BIBLIOGRAFIA

Junqueira e Carneiro. Biologia Celular e Molecular. Nona edição.

Thais de Moraes. Cell Painting Protocol. Created on 06/07/2023.

Carmen Peres e Rui Curi. Como Cultivar Células. Guanabara Koogan.

LNNano. Nanotoxicologia e Nanossecurança. <https://lnnano.cnpem.br/instalacoes/nanotoxicologia/>

Scientific Electronic Library Online. <https://www.scielo.br/>