

# Luz no interior da célula viva

## Pinça e bisturi a laser manipulam diversas partículas biológicas

A manipulação de diversos tipos de partículas biológicas por meio de um sistema que usa a luz *laser* está se transformando em uma poderosa ferramenta na área de biotecnologia. Quando utiliza um feixe de *laser* é chamado de pinça óptica e tem a capacidade de capturar e mover pedaços de DNA, espermatozoides, bactérias e outros componentes do interior de uma célula. Com o feixe duplicado, o sistema se torna um bisturi óptico, capaz de perfurar e cortar partes de uma célula.

Anunciados em 1986 pelo físico Arthur Ashkin, dos laboratórios Bell da empresa AT&T, hoje chamada Lucent, dos Estados Unidos, eles foram trazidos para o Brasil pelo professor Carlos Lenz Cesar, do Laboratório de

Fotônica do Instituto de Física da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Além de permitir a manipulação de microrganismos e partículas em células vivas sem causar nenhum dano, as pinças também são capazes de medir propriedades mecânicas e forças muito pequenas em sistemas biológicos, como a viscosidade de fluidos e a elasticidade de membranas celulares.

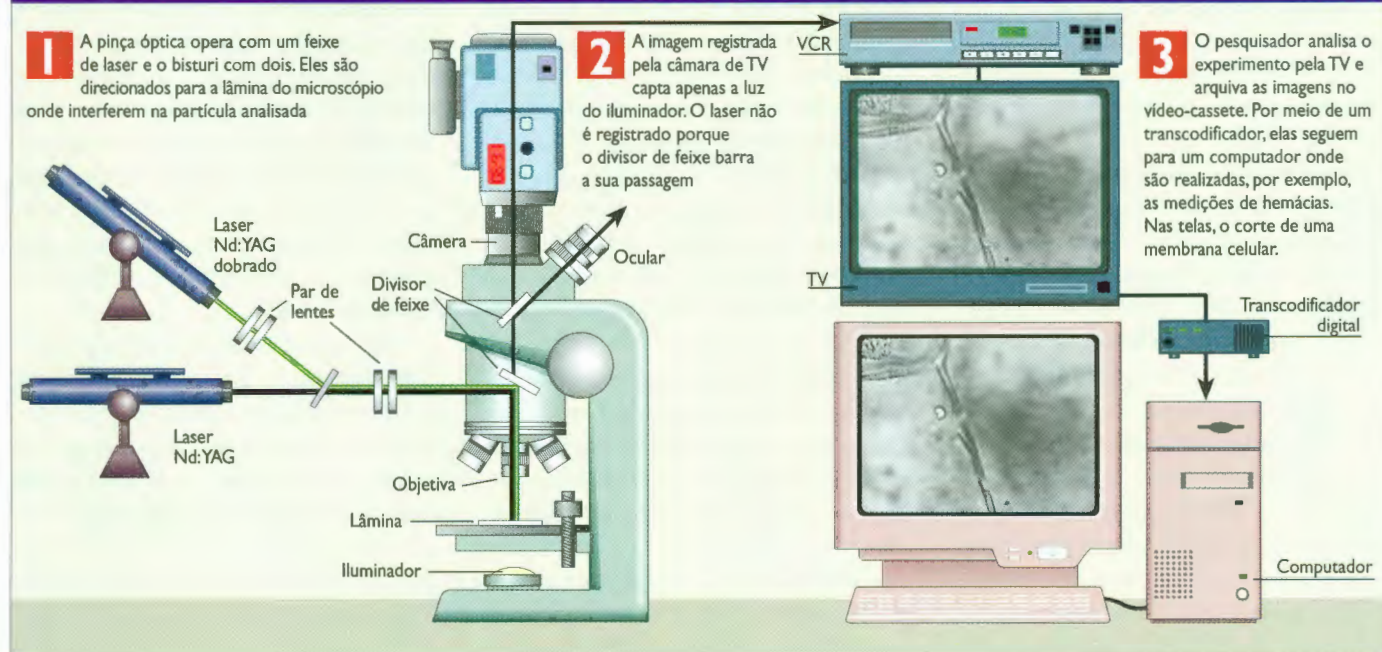
O Laboratório de Fotônica da Unicamp integra o Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica, um dos dez Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão (Cepid) recém-criados pela FAPESP. Com maior amplitude e a garantia da continuidade dos estudos, o professor Lenz espera expandir a técnica do uso da pinça e do bisturi óptico, além de desenvolver pesquisas em colaboração com outros pesquisadores do país.

Atualmente, ele coordena duas pesquisas em áreas bem distintas: uma em física, outra em medicina. A distância entre as duas, porém, é pe-

quena. Os pesquisadores Adriana Fontes, do Instituto de Física, e Marcelo Mendes Brandão, da Faculdade de Ciências Médicas, trabalham lado a lado. Ela, há quatro anos, pesquisa o uso de *lasers* na manipulação de células vivas. Ele estuda a deformabilidade das hemácias – os glóbulos vermelhos do sangue – usando a pinça óptica, com orientação da médica Sara Teresinha Olalla Saad, do Centro de Hematologia da Unicamp. A nova técnica implementada por Lenz viabilizou uma série de descobertas sobre doenças hereditárias dos glóbulos vermelhos, com dados comparativos entre hemácias saudáveis e doentes e o efeito de fármacos usados para tratar distúrbios nessas células.

**Reunião de equipamentos** - Desde 1990, o desafio de Lenz tem sido demonstrar as inúmeras aplicações da pinça óptica. A maior dificuldade foi conseguir reunir todos os sofisticados equipamentos necessários para fazê-la funcionar, fato que só aconte-

## Caminhos da imagem do laser



ceu com o projeto de auxílio-pesquisa financiado pela FAPESP, *Pinça e Bisturi Ópticos para Manipulação Biológica e Estudo de Propriedades Elásticas de Membranas*. Foram comprados dois lasers Nd:YAG (Neodímio Yttrium Aluminium Garnet) – um contínuo, para a pinça, e outro pulsado, para o bisturi –, várias lentes e espelhos especiais que direcionam o feixe de laser a um microscópio óptico comum acoplado a uma câmera digital de vídeo.

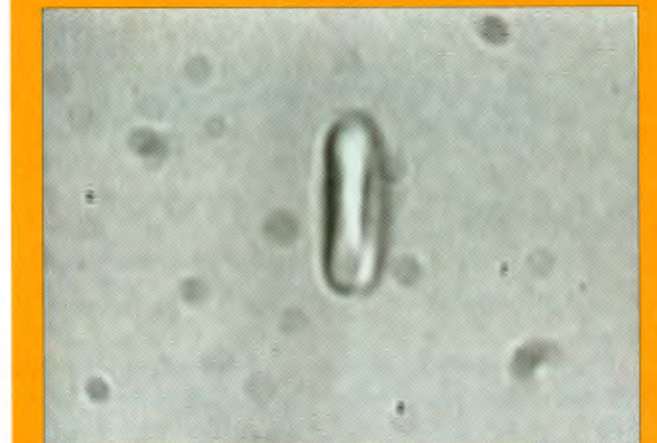
As imagens captadas pela câmera são visualizadas no computador e num aparelho comum de TV. São imagens nítidas do interior de uma célula viva. Pode-se observar partículas sendo aprisionadas pelo feixe de laser e movidas com grande precisão, sem danos celulares.

Isso é possível porque o material manipulado é transparente à luz do laser, que é do tipo invisível e opera na faixa infravermelha de comprimento de onda eletromagnética. Não havendo absorção de luz, não se produz calor, evitando, assim, danos térmicos. Mas, apesar de fraca, a potência do laser é suficiente para provocar o deslocamento das partículas dentro de uma célula.

**Força Óptica** - Ao atravessar a objetiva, o feixe de laser forma um cone de luz que funciona como uma armadilha, capaz de aprisionar corpúsculos no seu foco. Isso acontece porque a luz se comporta como uma partícula, transferindo impulso sempre que é desviada ou absorvida. Quando uma partícula penetra no cone de luz do laser e desvia seus raios, ela se desloca e se mantém presa no foco do cone. A força óptica assim gerada é muito pequena. Entretanto, nesse contexto, a aceleração é grande porque a massa das partículas



Feixe de laser envolve e aprisiona o espermatozoide



Glóbulo vermelho submetido a teste de flexibilidade

microscópicas é muito pequena também. A força óptica normal é incapaz de movimentar partículas do tamanho de milímetros, mas consegue medir em microns certas propriedades mecânicas como elasticidade e viscosidade das membranas, além de forças muito pequenas, da ordem de pico-Newton (1/1trilhão de N), que não poderiam ser medidas de outra forma.

Como instrumento de medição, a pinça óptica tem sido empregada, por exemplo, para medir a elasticidade de uma molécula de DNA ou a motilidade de espermatozoides. Nessa linha de trabalho, segundo Lenz, já há vários estudos publicados. Para testar a motilidade de espermatozoides, usa-se a pinça para aprisioná-los e, enquanto eles tentam escapar da armadilha óptica, a intensidade do laser vai sendo reduzida, até que eles consigam se desprender. Essa intensi-

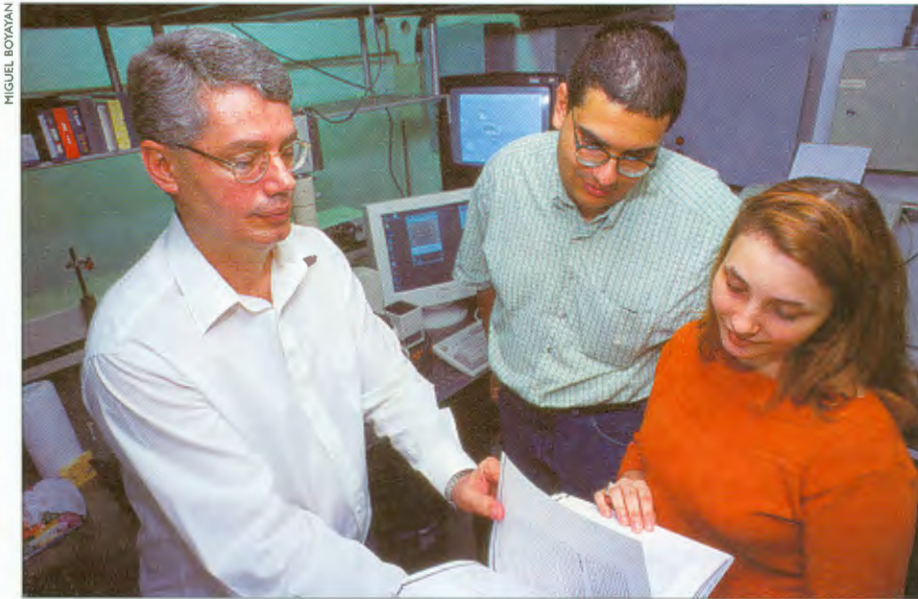
dade é então registrada e pode ser comparada ao padrão de motilidade considerado normal.

**Mais estudos** - A utilização dessas ferramentas ópticas cresce com o passar dos anos. De 1986 a 1998, a pinça óptica foi o tema central de cerca de 400 trabalhos publicados em todo o mundo, nos mais variados campos de pesquisa. Em 1990, quando Lenz começou a trabalhar com a pinça óptica, havia menos de dez trabalhos publicados. Hoje publica-se uma média de 60 por ano.

Grande parte dos estudos publicados pelo grupo da Unicamp foi realizada com o Hemocentro, na análise de hemácias. Essas células precisam ser muito flexíveis para conseguir desempenhar bem a função de transportar oxigênio e nutrientes. Elas têm vida média de 120 dias, medem de 7 a 9 mm (microns – 1micron é igual a 1milímetro dividido

por mil) de diâmetro e percorrem, durante esse período, cerca de 250 km no interior de vasos sanguíneos e capilares do corpo humano. Dentro do baço, esses capilares chegam a medir 3 a 4 mm, menos da metade do diâmetro das hemácias que, para atravessá-los, chegam a se alongar até 230% de sua dimensão original. Mas, com o tempo, elas vão se tornando cada vez mais rígidas, até o ponto em que ficam retidas no baço e são retiradas da circulação.

Algumas doenças, no entanto, podem comprometer essa propriedade das hemácias, tornando-as prematuramente rígidas, de forma a reduzir sua vida útil. Com isso, pode haver uma acentuada queda na concentração de glóbulos vermelhos no sangue, o que caracteriza um quadro anêmico. Na esferocitose hereditária, por exemplo, que acomete 1 em cada



MIGUEL BOYKIAN

Lenz, à esquerda, junto com Brandão e Adriana: pesquisas multidisciplinares que serão expandidas para todo o país

5 mil indivíduos, uma grande quantidade de hemácias perde a capacidade de deformação e assume uma forma esférica (esferócitos).

Na eliptocitose hereditária, as células vermelhas tornam-se elípticas devido a mutações de proteínas que compõem o esqueleto celular, diminuindo a sobrevivência das hemácias. Em doenças como a anemia falciforme, a hemoglobina assume a forma de uma foice, com pouca flexibilidade e vida curta. Ocorre também um aumento da viscosidade sanguínea, o que dificulta o fluxo nos capilares, levando a uma deficiência de oxigênio nos tecidos.

A importância da elasticidade das hemácias levou os pesquisadores a desenvolver um método que permitiu obter informações muito precisas sobre a flexibilidade dessas células usando a pinça óptica. Foram estudadas células normais e de portadores de vários tipos de anemia, incluindo casos em que os pacientes vinham sendo submetidos a tratamento com hidroxiuréia, medicamento usado para tratar anemia falciforme. Uma a uma, as hemácias eram pinçadas e colocadas em movimento em 18 velocidades diferentes (de 110 a 280 mm/s). Com isso foi possível captar as medidas do alongamento das hemácias por meio de um *software* de processamento de imagens. Com esses dados

mediu-se a elasticidade de cerca de 2 mil hemácias de diferentes pacientes.

**Estocagem de sangue** - A caracterização da deformabilidade da membrana de hemácias normais e de portadores de todos esses tipos de anemia resultante do estudo é muito útil para ajudar patologistas a compreender melhor os mecanismos dessas disfunções, assim como o efeito de certos fármacos. Descobriu-se, por exemplo, que o uso de hidroxiuréia melhorava a deformabilidade das hemácias em pacientes com algum grau de enrijecimento dessas células. Outra conclusão importante diz respeito à estocagem de bolsas de sangue. O estudo demonstrou que hemácias estocadas por mais de 15 dias começam a apresentar perda significativa da elasticidade, sendo que o tempo usual de estocagem é de até 35 dias. Essa constatação, no entanto, não compromete as transfusões de sangue, segundo a professora Sara.

Outra área de grande aplicação para a pinça óptica são os experimentos em engenharia genética. Acoplada a outra microferramenta, o bisturi óptico, ela pode ser usada para transportar partículas de uma célula para outra. Diferentemente da pinça óptica, o bisturi emprega um *laser* pulsado e muito mais potente, o Nd:YAG verde, na região visível, capaz de per-

furar membranas celulares sem comprometer o seu funcionamento. Assim, a pinça e o bisturi ópticos permitem inserir um espermatozóide num óvulo com muita precisão e segurança.

**Pinçar no Genoma** - No Departamento de Eletrônica Quântica do Instituto de Física da Unicamp, os experimentos com a pinça e bisturi ópticos têm sido acompanhados de perto pelo biólogo Paulo Arruda, coordenador do projeto Genoma Cana-de-Açúcar. Para ele, essa nova tecnologia abre uma grande perspectiva em todos os campos da biologia. Dentro do projeto, uma das vantagens da microferramenta é propiciar o transporte de moléculas grandes de DNA, com centenas de milhares de nucleotídeos, de uma célula para outra. “Com o bisturi, podemos perfurar as espessas paredes das células vegetais e manipular cromossomos inteiros”, afirma.

A julgar pela efervescência que o assunto tem provocado no exterior, Lenz acredita que no máximo em cinco anos a técnica estará bem difundida no Brasil. “O interesse pelo assunto vem crescendo a cada dia”, afirma Lenz. Com a prática adquirida, o laboratório de Fotônica da Unicamp certamente vai contribuir para difundir essa técnica no Brasil, envolvendo outros centros de pesquisa interessados no uso da pinça e do bisturi ópticos. •

#### PERFIL:

• CARLOS LENZ CESAR formou-se em Física na Universidade Federal do Ceará (UFC). Fez mestrado e doutorado na Unicamp e concluiu seu pós-doutorado na AT&T Bell Laboratories, nos Estados Unidos.

Projeto: *Pinça e Bisturi Ópticos para Manipulação Biológica e Estudo de Propriedades Elásticas de Membranas*  
Investimento: R\$ 78.507,08 e US\$ 108.081,68