

EXPERIMENTOS PARA VERIFICAÇÃO:

Modelos teórico e computacional de migração celular

Pricilla de Oliveira Henz; Orientadora Prof.^a Dra.^a Rita Maria Cunha de Almeida

Introdução

Migração celular tem papel importante no sistema imunológico, cura de lesões, desenvolvimento e metástases. A equação de Fürth modificada¹, descreve o movimento celular prevendo que o deslocamento quadrático médio apresentado pelas células descreve comportamento difusivo, para intervalos de tempo muito curtos, seguido pelas fases balística e novamente difusiva.

$$\langle |\Delta \vec{p}|^2 \rangle = \Delta \tau - (1 - S)(1 - e^{-\Delta \tau})$$

Os experimentos da literatura tratam essa fase em tempos curtos como advinda de erros experimentais.

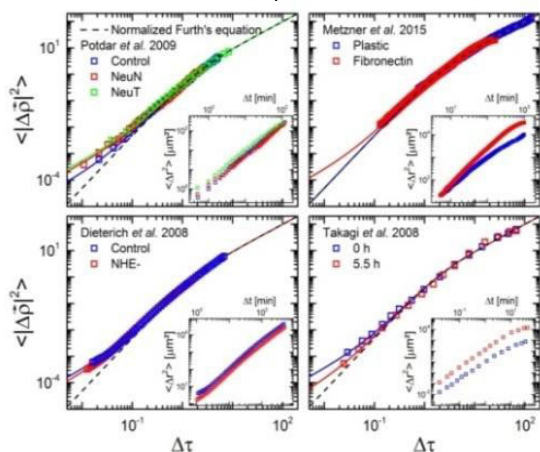


Figura 1: Resultados experimentais obtidos através da eq. de Fürth modificada¹. Nota-se o comportamento difusivo inicial. A linha tracejada representa a equação de Fürth original

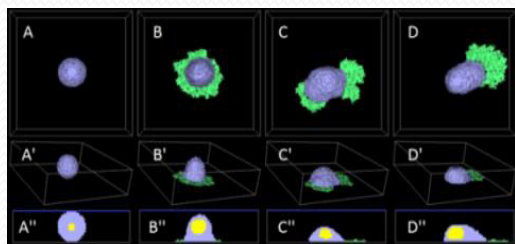


Figura 2: As simulações não são feitas usando a eq. de Fürth modificada. Elas são feitas usando o *compuCell3D*. O resultado das simulações concorda com a eq. de Fürth modificada, reproduzindo, portanto, o comportamento experimental.

Objetivos

Esse projeto tem como objetivo, através de experimentos laboratoriais utilizando fibroblastos, a verificação de resultados teóricos e de simulação em *CompuCell3D*, em nível subcelular, de migração celular.

Materiais e Métodos

1mL das células da linhagem NIH/3T3 cultivadas são depositadas sobre 40µL do substrato de fibronectina 2mg/mL. O microscópio confocal utilizado possui suporte para manter a temperatura ideal de 37°C e a atmosfera de CO₂.

O marcador fluorescente Hoechst é empregado por manter as células vivas. A captura das fotos é realizada pelo programa Câmera Loop, enquanto que a trajetória e a montagem do vídeo são feitas pelo programa Fiji. A duração do experimento foi de 20 horas, com intervalos de 10 segundos entre as fotos. As células são visualizadas no menor aumento para maior campo de migração.

Resultados e Discussão

O experimento laboratorial, que até o momento foi possível realizar, teve resultado satisfatório. Os fibroblastos, que costumam ser muito aderentes, tiveram sua aderência bastante reduzida devido ao substrato de fibronectina, o que possibilitou a visualização da migração celular e a formação e o desmonte do lamelipódio pelas células fracamente aderidas. Porém, para os próximos experimentos, a concentração da fibronectina utilizada deve ser menor, para que haja mais tempo de migração e menor número de células livres no meio. No total, obteve-se 7204 fotos, nas quais será possível determinar as trajetórias das células presentes em um maior número de *frames*.

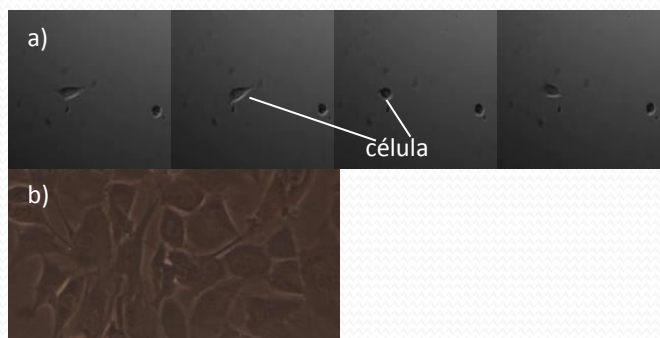


Figura 3: a) sequência de fotos de uma célula migrando, em que se pode observar o lamelipódio. b) aspecto da cultura de fibroblastos.

Conclusões

Os experimentos são possíveis de serem realizados e parecem ser adequados para comprovar a teoria. As perspectivas são de que os novos experimentos devam ser aprimorados para melhor estatística dos resultados. Futuramente, esses experimentos devem ser repetidos, mudando o tipo de célula e o tipo de substrato.

1 Fortuna, Ismael, et al. Modified Fürth equation describes both cell crawling experiments and simulations. *submitted*. 2016.

2 HUCKA M, FINNEY A, SAURO HM, BOLOURI H, DOYLE J, KITANO H. (2002) The ERATO Systems Biology Workbench: enabling interaction and exchange between software tools for computational biology. *Pac Symp Biocomput.* 2002:450-61.

J. A. Izaguirre, R. Chaturvedi, C. Huang, T. Cickovski, J. Coffland, G. Thomas, G. Forgacs, M. Alber, G. Hentschel, S. A. Newman, and J. A. Glazier, "CompuCell, a Multi-Model Framework For Simulation of Morphogenesis" *Bioinformatics* 20, 1129-1137 (2004).

Frank T. Bergmann, Herbert M. Sauro. *Computational systems biology: modularity and composition: SBW - a modular framework for systems biology.* (2006) Proceedings of the 37th conference on Winter simulation WSC '06 Publisher: Winter Simulation Conference Pages: 1637 - 1645