

Resumo de Tese / Thesis

## Estudo das propriedades elétricas das hemácias utilizando pinça óptica

### *Study of electrical properties of red blood cells using optical tweezers*

Heloise P. Fernandes

Orientadora: Maria Lourdes Barjas-Castro

Coorientador: Carlos Lenz Cesar

#### Resumo

A membrana eritrocitária contém proteínas e glicoproteínas imersas em uma bicamada lipídica. Algumas glicoproteínas contêm ácido siálico, que são os principais responsáveis pela carga negativa na superfície da hemácia, que, quando em solução, cria um potencial elétrico. O objetivo deste estudo foi medir a espessura da dupla camada iônica (DCI), o potencial zeta e a força de agregação eritrocitária, utilizando pinça óptica. As medidas da DCI e do potencial zeta foram realizadas em amostras de hemácias diluídas em soro (AB), colocadas em uma câmera com dois eletrodos conectados a uma fonte de voltagem. A espessura da DCI foi determinada a partir da mensuração do deslocamento de uma hemácia ligada a uma esfera de sílica que era presa pela pinça e submetida a diferentes voltagens (50-100V). O tamanho da DCI foi pela primeira vez mensurado e a média dos valores obtidos foi de 0,85mm. O potencial zeta foi determinado utilizando o valor da velocidade da hemácia, após ser solta da pinça sob voltagem constante(100V). O resultado encontrado de -12,5mV foi similar a valores previamente publicados. Nas medidas da agregação eritrocitária, uma esfera de sílica ligada a duas hemácias foi pinçada e determinada a força que uma hemácia desliza sobre a outra em função de diferentes velocidades. Hemácias foram diluídas em plasma AB e avaliadas com soro anti-D e potencializadores da aglutinação (dextran/LISS/enzima). A mediana da força de agregação eritrocitária em 20 amostras controles foi de  $1 \times 10^{-3}$ poise.cm e em hemácias (15) analisadas com soro anti-D foi de  $2 \times 10^{-3}$ poise.cm. Amostras analisadas com dextran, LISS e bromelina sem anticorpos não apresentaram aglutinação. Hemácias tratadas com papaína apresentaram alta adesão impossibilitando o teste. Os resultados obtidos de hemácias com anticorpos foram estatisticamente significativos ( $p < 0.001$ ) quando comparadas com controles. As metodologias propostas são simples, reprodutíveis e podem fornecer infor-

mações específicas sobre as interações eritrocitárias. Métodos de análise individual de células são sempre mais sensíveis para pequenas diferenças do que os baseados em valores médios.

**Palavras-chave:** Pinças óticas; eritrócitos; potencial zeta.

#### Abstract

The red blood cell (RBC) membrane contains proteins and glycoproteins embedded in a fluid lipid bilayer. Sialylated glycoproteins of the membrane are responsible for a negatively charged surface, which creates a repelling electric (zeta) potential. The aim of this study was to measure the thickness of the RBC electrical double layer (EDL), zeta potential and cell aggregation force, using optical tweezers. To measure the EDL and zeta potential, a special chamber was built connected to a voltage power supply. RBCs were diluted in AB plasma and the EDL thickness was obtained measuring the force on a silica bead attached to a single RBC in response to an applied voltage (50-100V). The mean EDL thickness was 0.85 mm; we believe this is the first time that the EDL has been measured using optical tweezers. The zeta potential was obtained by measuring the velocity of RBCs on being released from an optical trap under a constant voltage. The resulting zeta potential was -12.5mV and thus similar to published data. To measure RBC aggregation, the force needed to slide one RBC over another cell (attached to a silica bead) was determined at different velocities. RBCs were diluted in AB plasma (control), anti-D antibodies serum in addition to solutions that potentiate agglutination (dextran/LISS/enzymes). The median aggregation force obtained using control samples (20) was  $1 \times 10^{-3}$  poise.cm and the median force of samples (15) analyzed with anti-D serum was  $2 \times 10^{-3}$  poise.cm. RBCs analyzed with dextran, LISS and bromelain without antibodies showed no agglutination. RBCs

Tese de Dissertação para obtenção do título de Mestre em Farmacologia apresentada à Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) Campinas-SP.

**Correspondência:** Maria de Lourdes Rios Barjas-Castro  
Universidade Estadual de Campinas  
Hemocentro – Unicamp  
Rua Carlos Chagas, 480 CP 4168  
13083970 – Campinas-SP  
E-mail: maluz@unicamp.br

treated with the papain enzyme presented high adherence and made it impossible to perform the test. Results obtained from RBC with antibodies were statistically higher ( $p < 0.001$ ) compared to controls. The methodologies proposed are simple and may provide specific information on RBC interaction. Methods based on individual cell analysis are always more sensitive to small differences than those based on average values.

**Keywords:** Optical tweezers; erythrocytes; zeta potential.

Avaliação: A Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (RBHH) publica os resumos e abstracts de teses da área apresentados em entidades que tenham programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC/Capes e considera a obtenção do título suficiente para sua publicação na forma como se propõe a seção.

Recebido: 14/01/2010

Aceito: 15/01/2010