

Análise Morfofuncional de Células Embrionárias do Carrapato *Rhipicephalus microplus* (BME26) em Condições de Estresse Oxidativo

*Mickaela Moreira*¹, *Bárbara Della Noce*¹, *Marcele Uhl*¹, *Carlos Logullo*^{1,2}.

As células embrionárias do carrapato *Rhipicephalus microplus* (BME26) foram isoladas em 1981 e caracterizadas por Esteves e colaboradores, em 2008. Essas células possuem morfologia heterogênea, inclusões de glicogênio, numerosas mitocôndrias e várias vesículas citoplasmáticas. Este trabalho tem como objetivo avaliar a morfologia celular em condições de estresse oxidativo após o tratamento com altas concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 é um composto quimicamente instável, descrito como um poderoso agente oxidante. Por esse motivo, um desequilíbrio homeostático entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade antioxidante celular, leva a uma série de danos, podendo induzir a morte celular. Trabalhos do grupo sugerem resistência das células BME26 ao H_2O_2 , comparado com outras linhagens celulares de mamíferos. Para compreender esse fenômeno avaliamos o efeito do H_2O_2 sobre as células BME26, que foram submetidas a diferentes concentrações de H_2O_2 (2.2mM – 13.2mM) durante 24 horas para calcular a DL_{50} . A viabilidade foi determinada pelo método MTT. Células submetidas a duas concentrações de H_2O_2 , uma não letal (2.2mM de H_2O_2) e uma letal (4.4mM de H_2O_2), incubadas por 2 e 24 horas foram analisadas por microscopia. Para análise morfológica, foram utilizadas duas sondas fluorescentes, Hoechst33342 e Phalloidin Texas Red-X. Também foi feita análise após a coloração pelo método Panótico. Para observar o acúmulo de ROS, as células BME26 foram marcadas com a sonda DHE. Os resultados foram observados por microscopia confocal (LSM710, Zeiss) e por microscopia de campo claro. Os resultados demonstram que as células BME26 apresentam resistência às altas concentrações de H_2O_2 . O ensaio de viabilidade por MTT, no tempo de 24 horas mostrou uma queda de modo dose-dependente. A DL_{50} foi calculada entre 5.4 e 6.6mM. Interessantemente, células de mamíferos não são resistentes e morrem com baixas concentrações de H_2O_2 (0.2-1 mM) após 24 horas. Morfológicamente as células apresentam pequenas alterações, comparado ao controle, por análises em microscopia. Na análise por duas horas, houve aumento na produção de ROS, enquanto que, após 24 horas, houve uma diminuição, sugerindo que, ao invés de serem levadas à morte, as células tendem a controlar a produção de ROS. Esse estudo pode auxiliar no entendimento de como a resistência ao H_2O_2 contribui para fisiologia celular e/ou metabolismo da célula BME26.

Palavra chave: *Rhipicephalus microplus*, H_2O_2 , Microscopia.
Instituições de fomento: FAPERJ, CNPq, CAPES.