

1 – HISTÓRICO

Já na Antiguidade, Aristóteles (cerca de 384-322 a.C.) dizia que todos os animais e plantas, por mais complexos que fossem, eram constituídos de poucos elementos que se repetiam. Ele se referia a estruturas macroscópicas, como as raízes, as folhas e as flores das plantas e os órgãos dos animais.

A invenção de lentes de aumento e a sua combinação no microscópio (do grego *mikros*, pequeno, e *skopein*, ver, olhar) no século XVII permitiu uma maior compreensão dos constituintes dos organismos.

Robert Hooke, em 1665, usando esse microscópio rudimentar para analisar a cortiça, denominou os compartimentos observados de célula (*cell* no inglês, do latim *cella*, que significa compartimento, espaço vazio).

O microscopista holandês Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) foi o primeiro a registrar células livres, apresentando, em 1676, a *Royal Society of London* desenhos de animálculos visualizados no esperma humano (o termo espermatozoide só foi cunhado em 1827).

Robert Brown, em 1833, descobriu um elemento esférico no centro de uma célula, o qual, em analogia ao caroço de um fruto, deu o nome de núcleo.

Em 1838, Schleiden formulou o princípio de que todos os vegetais são compostos de células e, em 1839, Schwann estendeu esse princípio para os animais. Assim, foi estabelecida a teoria celular, que afirma que a célula é a menor unidade de vida.

2 – CONCEITO

A *célula* é a menor unidade estrutural e funcional dos organismos. Unidade estrutural porque as células constituem os tecidos, e unidade funcional porque são capazes de exercer as funções básicas da vida, como metabolismo, respiração e reprodução.

3 – CLASSIFICAÇÃO

O critério usado para classificar as células é a presença ou não de um envoltório nuclear delimitando o material genético. As células são classificadas em procariontes e eucariontes (do grego *pro*, primeiro, *eu*, verdadeiro e *karion*, núcleo).

Os *procariontes* são as células que não possuem envoltório nuclear delimitando o material genético. É o caso das bactérias (Reino Monera). As células *eucariontes* possuem envoltório nuclear, formando um núcleo verdadeiro. Essas células são encontradas nos demais organismos: protozoários, fungos, plantas e animais (Reinos Protista, Fungi, Plantae e Animalia).

O citoplasma dos eucariontes, diferente daquele dos procariontes, é subdividido em compartimentos. A compartimentalização aumenta a eficiência metabólica, o que permite que as células eucariontes atinjam maior tamanho sem prejuízo das suas funções.

Além de não possuírem envoltório nuclear e organelas membranosas, os procariontes não têm citoesqueleto e, portanto, não ocorre o transporte de vesículas envolvidas na entrada (endocitose) e na saída (exocitose) de substâncias. A presença de envoltório nuclear nos eucariontes protege o DNA do movimento do citoesqueleto e permite a separação da transcrição do DNA que ocorre no núcleo e da tradução do RNA no citoplasma.

O Quadro 1.1 resume as principais características diferenciais entre procariontes e eucariontes.

Quadro 1.1 - Quadro comparativo entre procariontes e eucariontes:

Procariontes	Eucariontes
Envoltório extracelular: cápsula e parede bacteriana (proteínas e glicosaminoglicanos)	Envoltório extracelular: glicocálix (glicoproteínas, glicolipídios, proteoglicanas e glicosaminoglicanos) ou parede celular (celulose e pectina)
Abundância de moléculas de lipopolissacarídeo na membrana plasmática, que conferem proteção como a resistência às enzimas hidrolíticas e aos sais biliares das bactérias entéricas	Membrana plasmática constituída por fosfolipídios, colesterol, glicolipídios, glicoproteínas e proteoglicanas
Ausência de organelas membranosas	Presença de organelas membranosas
Moléculas da cadeia respiratória presentes na membrana interna da membrana plasmática	Moléculas da cadeia respiratória situadas na membrana interna das mitocôndrias
Nucleoide: ausência de envoltório nuclear, DNA circular, não associado a proteínas histônicas e que não se condensa em cromossomos	Núcleo: presença de envoltório nuclear, moléculas de DNA lineares, associadas a histonas e que se condensam em cromossomos no momento da divisão
Presença de filamentos circulares de DNA extracromossômicos (plasmídeos)	Não há plasmídeos
Ribossomos livres	Ribossomos livres ou associados ao retículo endoplasmático
Não há separação entre os processos de duplicação de DNA (replicação), síntese de RNA a partir do DNA (transcrição) e síntese de proteínas a partir do RNA (tradução)	Há separação entre os processos de replicação e transcrição, que ocorrem no núcleo, e a tradução que acontece no citoplasma
Ausência de citoesqueleto	Presença de citoesqueleto
Não realizam endocitose e exocitose	Realizam endocitose e exocitose
Frequentemente partem da superfície prolongamentos filamentosos: os flagelos e as fímbrias. Os flagelos são estruturas rígidas, constituídas por três espirais da polimerização da proteína flagelina e com um gancho na ponta. Serve para a movimentação da bactéria ao encontro de nutrientes ou afastando-se de substâncias tóxicas. As fímbrias são mais curtas e mais finas que os flagelos e promovem a aderência das bactérias às células hospedeiras ou a transferência de DNA entre duas bactérias durante a conjugação	Não há fímbrias e, naquelas células com flagelo, a sua constituição envolve a polimerização da proteína tubulina

A transição de células procarióticas a eucarióticas ocorreu a 1,5 bilhões de anos atrás. As células eucarióticas devem ter surgido um bilhão de anos depois dos procariontes.

4 – A MICROSCOPIA COMO MÉTODO DE ESTUDO

Os microscópios permitem a observação da célula e da sua estrutura pelo aumento proporcionado através das suas lentes.

4.1 – Constituintes do microscópio de luz

O microscópio de luz é composto por uma *parte óptica*, que amplia o objeto visualizado, uma *parte mecânica*, que serve de suporte, e uma *fonte de iluminação*, que consiste na luz comum, o que justifica o seu nome.

A parte óptica é constituída por três sistemas de lentes: o *condensador*, as *objetivas* e as *oculares*. O condensador concentra a luz e a projeta como um cone sobre o objeto em estudo. A luz passa por ele e penetra na objetiva. A objetiva projeta uma imagem aumentada do objeto em direção à ocular, a qual amplia a imagem recebida e a projeta para a retina do observador.

As objetivas permitem diferentes aumentos do objeto, podendo ser, por exemplo, de 5, 10, 20, 40 e 100x. Elas também diferem na qualidade da imagem em termos de nitidez, o que é dado pela sua abertura numérica.

A abertura numérica está relacionada com o ângulo do cone de luz captado pela objetiva e com o índice de refração da substância interposta entre o objeto e a lente objetiva. Nas objetivas de 5 a 40x, o ar é esta substância, mas, na objetiva de 100x, o óleo de imersão deve ser colocado entre a lâmina e a objetiva, por isso essa objetiva é também denominada objetiva de imersão. Esse óleo tem um índice de refração maior que o do ar, o que aumenta a abertura numérica, melhorando a nitidez da imagem.

As lentes do microscópio foram feitas tentando-se evitar ao máximo aberrações ou defeitos na imagem. Na ordem crescente de perfeição óptica, têm-se objetivas acromáticas, planacromáticas e planapocromáticas.

As objetivas trazem inscrições que especificam suas características:

Ex: Plan 40/ 0,65

α / 0,17

sendo: Plan - objetiva planacromática;

40 - aumento de 40x;

0,65 - valor da abertura numérica;

α - óptica infinita, o que permite que o comprimento do tubo (a distância da rosca da objetiva até a ocular) seja modificado pelo acoplamento de acessórios, como câmara fotográfica ou câmara CCD para monitor. Antigamente, com a óptica comum, o tubo era de 160mm, a distância onde a imagem era formada na ocular;

0,17 - espessura em milímetros da lamínula que deve ser usada sobre a lâmina.

As oculares também variam no aumento que fornecem. O aumento mais usado é o de 10x. Atualmente as oculares são de campo amplo, permitindo um maior campo de visão.

4.2 – Ampliação, poder de resolução e profundidade de foco

A *ampliação* do objeto é igual ao aumento da objetiva multiplicado pelo aumento da ocular. Entretanto não basta ter um aumento da imagem, deve haver uma nitidez em seus detalhes, o que é dado pelo poder de resolução das objetivas.

Resolução é a menor distância para que duas partículas sejam visualizadas como objetos separados. O poder de resolução é influenciado pelo comprimento de onda da luz empregada e pela abertura numérica da objetiva e da lente condensadora.

O limite de resolução do microscópio de luz, com as melhores lentes e nas melhores condições, é de

0,2 μ m (1 μ m = 1mm/1000, isto é, um micrômetro corresponde a um milésimo de milímetro).

A *profundidade de foco* permite que estruturas em diferentes planos sejam focalizadas. Ela é aumentada, fechando o diafragma, o que corta os raios luminosos mais periféricos, que são mais defeituosos.

4.3 – Preparo do material

Para a formação da imagem ao microscópio de luz, o material biológico deve ser fino o suficiente para a luz atravessá-lo. Podem ser realizados *esfregaços* de sangue e sêmen, por exemplo. A gota do material é espalhada na lâmina com o auxílio de uma outra lâmina posicionada em ângulo de 45°. Células obtidas por raspagem da mucosa oral ou do colo uterino, no exame de Papanicolaou, são espalhadas na lâmina com a própria espátula da coleta. Órgãos ou parte destes, no entanto, devem ser cortados em fatias bem finas.

Para a obtenção de *cortes histológicos*, o primeiro passo é fixar o material coletado para evitar a sua deterioração. Fixadores bastante usados são o formol (ou paraformaldeído), o glutaraldeído e misturas fixadoras, como o líquido de Bouin, que é preparado com formol, ácido acético e ácido pícrico, onde cada substância tem uma qualidade e corrige o defeito da outra. O objetivo do fixador é o de preservar a morfologia e a composição química do tecido, o que é conseguido através da formação de pontes cruzadas entre as moléculas do fixador e as proteínas do tecido.

O material biológico deve ser endurecido para ser cortado, o que é conseguido incluindo-o em uma substância que se solidifica depois de penetrá-lo, como, por exemplo, a parafina. Para isso o órgão ou um pedaço deste, após a fixação, deve ser desidratado em uma série alcoólica de concentração crescente e em xilol, impregnado por parafina líquida (a parafina na estufa a 50°C é líquida) e finalmente colocado em um molde (uma caixinha de papel, por exemplo), com mais parafina líquida. Como essa última etapa é feita fora da estufa, à temperatura ambiente, a parafina solidifica-se, formando um bloco.

Esse bloco é cortado em um aparelho especial, o micrótomo, que permite cortes muito finos como 7 μ m e até menos de espessura. Os cortes são dispostos em lâminas de vidro.

Como os tecidos são geralmente incolores, os histologistas inventaram soluções corantes que têm afinidades diferentes para certas organelas e estruturas, possibilitando a sua localização. Para o material ser corado, a parafina deve ser dissolvida, o que é obtido colocando a lâmina em xilol, e o tecido precisa ser hidratado, já que esses corantes são solúveis em água. A hidratação é conseguida passando a lâmina em uma série alcoólica decrescente e em água. A lâmina é então mergulhada nos corantes.

Uma técnica de coloração muito usada é a *hematoxilina* e *eosina* (HE). A hematoxilina é um corante de cor roxa, rico em cargas positivas (corante catiônico), e a eosina é um corante rosa, rico em cargas negativas (corante aniônico). As cargas positivas da hematoxilina ligam-se a cargas negativas do tecido, como os grupos fosfato ($-\text{PO}_4^{2-}$) dos ácidos nucleicos, o que faz com que o núcleo da célula fique corado em roxo. As cargas negativas da eosina ligam-se a cargas positivas do tecido, como os radicais amino ($-\text{NH}_3^+$) das proteínas básicas do citoplasma, tornando-o rosa.

A despeito da definição atual em química para base e ácido (base é a substância capaz de aceitar prótons, e ácido é aquela que doa prótons), tradicionalmente os corantes catiônicos são referidos como básicos, e os aniônicos, como ácidos. Nesse caso, corante básico é aquele capaz de formar uma ligação salina com grupos carregados negativamente no tecido, enquanto o corante ácido forma um sal com grupos positivos do tecido (denominação de uso semelhante ao do ácido nucleico).

As regiões do tecido coradas pela hematoxilina são ditas basófilas pela afinidade ao corante básico, enquanto aquelas coradas pela eosina são ditas acidófilas ou eosinófilas.

Além da hematoxilina, são corantes básicos (ou seja, catiônicos) comumente usados o azul de metileno, o azul de toluidina e a fucsina básica. Outros exemplos de corantes ácidos (aniônicos) são o

xylydine ponceau, o *sirius red*, o *fast green*, o *orange G* e a *floxina*.

Há técnicas de coloração que evidenciam componentes específicos da célula (*citoquímica* ou *histoquímica*). Por exemplo, a reação de Feulgen cora de vermelho magenta o núcleo. O Sudan é utilizado para marcar a presença de lipídios na célula; os cortes são feitos sob congelamento, e o preparo da lâmina não envolve o uso de álcoois para não dissolver a gordura. O *Alcian blue* cora glicosaminoglicanos (açúcares ricos em carga negativa). O PAS (de *periodic acid - Schiff*) é utilizado para corar glicídios e glicoproteínas. Essas substâncias são coradas de vermelho magenta, devido ao corante fucsina básica utilizado no preparo do reativo de Schiff.

Para uma maior durabilidade do preparado, ele é desidratado em uma série alcoólica crescente e em xilol, e uma lamínula é colada sobre a lâmina com bálsamo-do-Canadá sintético. Agora o material está pronto para ser observado ao microscópio de luz.

4.4 – Como usar o microscópio de luz

– retirar a capa do microscópio e guardá-la; verificar se a objetiva de menor aumento (5x) está no caminho óptico, isto é, na direção do orifício da platina (começar sempre com essa objetiva); colocar a lâmina com a lamínula voltada para cima sobre a platina, encaixada no *chariot* (carro em francês); ligar a fonte luminosa e regular a intensidade da iluminação;

– deslocando o *chariot* com os seus parafusos, fazer coincidir o material biológico com o centro do orifício da platina; focalizar o material com o parafuso macrométrico e depois com o parafuso micrométrico; ajustar a distância interpupilar, aumentando ou diminuindo a distância entre as oculares; ajustar a dioptria, regulando o foco com o parafuso micrométrico olhando somente pela ocular fixa, depois, com esse olho fechado e o outro aberto, posicionado na ocular regulável, ajustar o foco girando o anel presente no corpo dessa ocular;

– para observar em aumentos maiores, trocar a objetiva de 5x para a de 10x girando o revólver e

ajustar o foco com o micrométrico; nesse aumento, regular a trajetória dos raios luminosos para se obter uma excelente imagem. Essa técnica foi proposta por August Köhler, em 1893 e é por isso referida como *iluminação de Köhler*. Ela consiste em fechar o diafragma de campo luminoso (situado na fonte de iluminação), o que resulta em um ponto de luz; regular a altura do condensador, mexendo o parafuso do condensador até o ponto de luz ser visível como um hexágono com as bordas nítidas (a posição correta do condensador é próxima à lâmina); centralizar o hexágono, movimentando os parafusos de centralização do condensador; abrir o diafragma de campo até as bordas do hexágono coincidirem com o limite do campo do microscópio (hexágono inscrito) e centralizar novamente, se necessário; abrir o diafragma de campo luminoso o suficiente para as bordas do hexágono não serem mais vistas (hexágono circunscrito), não deve ser aberto em demasia para evitar um excesso de luz no tubo, o que prejudicaria a qualidade da imagem; retirar a ocular fixa, olhar pelo tubo e regular a abertura do diafragma do condensador com a sua alavanca de modo a ter 2/3 do campo iluminados (ou posicionar a alavanca do diafragma do condensador conforme a abertura numérica especificada em cada objetiva);

– se a luz estiver muito fraca ou forte, ajustá-la no botão que regula a intensidade de luz. Pouca luz confere uma coloração amarelada à imagem, e luz em excesso pode prejudicar a visão;

– se um aumento de 40x for desejado, girar o revólver posicionando essa objetiva no caminho óptico e ajustar o foco com o micrométrico;

– se um aumento de 100x for necessário, girar o revólver de maneira que a objetiva de 40x saia do caminho óptico, mas a de 100x não entre, pingar uma gota de óleo de imersão sobre o preparado e colocar a objetiva de 100x no caminho óptico. Ajustar o foco com o micrométrico. Ao terminar o uso da objetiva de 100x, girar o revólver trocando a objetiva de 100x pela de 5x (nunca pela de 40x que encostará no óleo). Limpar o óleo da objetiva de 100x e da lâmina com algodão umedecido em álcool;

– se a objetiva de 100x não for usada, após a observação com a objetiva de 40x, retornar a colocar a

objetiva de 10x e posteriormente a de 5x no caminho óptico para retirar a lâmina;

– guardar a lâmina na caixa, no devido lugar; diminuir a intensidade luminosa e desligar o interruptor; cobrir o microscópio com a sua capa.

4.5 – Outros tipos de microscopia

O microscópio de luz pode conter recursos que permitem uma observação diferenciada.

A *microscopia de polarização* emprega um feixe de luz polarizada que permite estudar certos aspectos da organização molecular do tecido. A luz torna-se polarizada através de um filtro polarizador posicionado logo abaixo do condensador. Outro filtro (o analisador) colocado entre as objetivas e as oculares verifica o efeito das estruturas do tecido sobre o feixe polarizado. O plano de polarização do analisador é perpendicular à direção de vibração da luz polarizada e a absorve, tendo-se um campo escuro.

Se, ao atravessar um objeto, a luz polarizada é desviada, de maneira que o plano de luz não fique mais perpendicular ao do analisador, uma imagem brilhante do objeto se forma. Esse é o caso de estruturas cristalinas ou constituídas por moléculas alongadas e paralelas, que dividem o feixe de luz em dois. Um feixe é absorvido pelo analisador, mas o outro, perpendicular ao polarizador, atravessa o analisador e formará a imagem. Essas estruturas são ditas anisotrópicas ou birrefringentes, pois apresentam dois índices de refração diferentes.

As estruturas isotrópicas não são vistas, pois não desviam o plano de polarização da luz, e o feixe que passa pelo polarizador chega inalterado ao analisador, onde é retido.

A *microscopia de contraste de fase* permite observar células vivas, sem coloração. Quanto maior a densidade de um corpo, maior o índice de refração e menor a velocidade da luz que o atravessa. Como as estruturas celulares têm índices diferentes, dão origem a diferenças de fase entre as ondas luminosas emergentes. Dispositivos colocados na lente

condensadora e nas objetivas transformam essas diferenças de fase em diferenças de amplitude, resultando uma variação na intensidade luminosa percebida pelo contraste claro e escuro.

Na *microscopia de fluorescência*, a radiação ultravioleta é usada como radiação excitadora. Ela permite localizar constituintes celulares fluorescentes ou combinados com corantes fluorescentes diretamente ou através de anticorpos (*imunocitoquímica*).

Na *microscopia confocal*, um raio laser varre todos os pontos do plano focal do material biológico. A luz emitida pela preparação atravessa um pequeno orifício e forma uma imagem bidimensional. A série de imagens de diferentes planos focais é utilizada para reconstruir uma imagem tridimensional do objeto em um computador.

O *microscópio eletrônico de transmissão* é um equipamento diferente do microscópio de luz: um feixe de elétrons atravessa o objeto (por isso, a sua denominação), o que permite maior poder de resolução que a luz devido ao seu menor comprimento de onda.

O limite de resolução do microscópio eletrônico é de 1nm. Um nanômetro é um milésimo de micrômetro ($1\text{nm} = 1\mu\text{m}/1000$) ou um milionésimo de milímetro. Consegue-se um aumento 200 vezes maior do que aquele com o microscópio de luz e assim a visualização de organelas e de componentes, cujo tamanho está abaixo do limite de resolução do microscópio de luz.

O aquecimento de um filamento de tungstênio (catodo) emite elétrons, os quais são acelerados devido a uma diferença de potencial entre 60 e 120kV entre o catodo e o anodo, que é uma placa metálica perfurada por onde passam os elétrons. Lentes (bobinas) eletromagnéticas concentram o feixe. A lente condensadora focaliza o feixe no plano do objeto; a lente objetiva forma uma imagem do objeto, e as lentes projetoras ampliam a imagem, projetando-a sobre uma tela fluorescente (o *ecran*), um negativo fotográfico ou uma câmara CCD para captura.

O aumento da imagem é resultado da multiplicação entre o aumento da lente objetiva e o

aumento das lentes projetoras, sendo que muda conforme a força do campo magnético.

Como os elétrons são desviados facilmente pelo objeto, os cortes devem ser muito finos, com 20 a 100nm. Para tanto o material deve ser incluído em resinas muito mais duras do que a parafina, como o Epon, a Araldite ou o Spur, e cortado com navalha de vidro ou diamante em um ultramicrotomo.

Os elétrons são desviados por porções do objeto que contêm átomos de elevado peso molecular. Essas regiões são eletrodensas e ficam escuras. As regiões claras são ditas eletrolúcidas. Para aumentar o contraste impregna-se os cortes de tecido com metais pesados como o ósmio (tetróxido de ósmio), o chumbo (citrato de chumbo) e o urânio (acetato de uranila).

Cortes de 1 μ m (semifinos) podem ser efetuados para serem observados ao microscópio de luz. Os cortes são dispostos em lâminas de vidro e corados geralmente com pararosanilina e azul de toluidina. As estruturas celulares são melhor visualizadas nesses cortes do que naqueles de parafina.

No *microscópio eletrônico de varredura* (*scanning electron microscope*), os elétrons não atravessam o objeto. A preparação é recoberta por uma camada delgada de metal pesado (por exemplo, ouro) e bombardeada com feixe de elétrons muito estreitos (10nm de diâmetro), que varrem o material linearmente. Os elétrons refletidos são captados por detectores especiais que geram um sinal elétrico, que é transferido para um tubo de televisão. O poder de resolução é de apenas 10nm, mas a nitidez da profundidade da imagem é de até 10 vezes maior àquela obtida com o microscópio de luz.

Na *criofratura* (*freeze-fracture*), o fragmento do tecido é congelado em temperatura muito baixa e fraturado com uma lâmina de metal. A água do tecido é sublimada, deixando a superfície da fratura desidratada e apresentando relevos e depressões correspondentes às diversas estruturas dos tecidos. Faz-se uma réplica de sua superfície pela deposição de uma camada de carbono e de metal pesado (platina ou ouro). A deposição é oblíqua, resultando em um sombreamento que dá uma ideia tridimensional. O

tecido é destruído por uma substância que não ataca a réplica, como ácido forte ou hipoclorito de sódio. A réplica é colocada em uma tela de cobre e é observada ao microscópio eletrônico de transmissão.

5 – MORFOLOGIA CELULAR

A forma da célula é determinada por três fatores: pressões externas, citoesqueleto e acúmulo de produtos de reserva ou secreção.

Quando a pressão sobre a superfície apical é predominante, a largura e o comprimento da célula são maiores que a sua altura, a célula é dita *pavimentosa* (Figura 1.1). Quando ela sofre pressões de igual intensidade em todos os lados, a sua altura é igual à sua largura e ao seu comprimento, e é denominada *cúbica* (Figura 1.1). Quando as pressões sobre as faces laterais são predominantes, a altura da célula é maior que a sua largura e o seu comprimento, a célula é *colunar*, *cilíndrica* ou *prismática* (Figura 1.2).

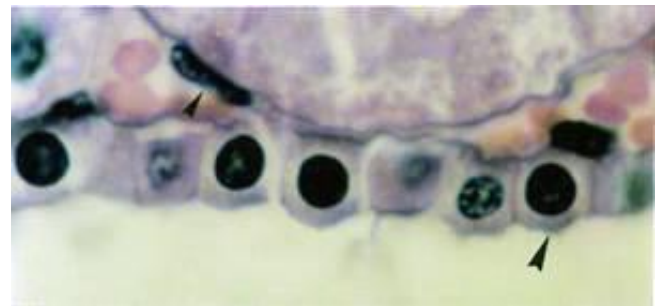


Figura 1.1 - Imagem obtida ao microscópio de luz de células pavimentosas (\blacktriangleright) de um vaso sanguíneo e de células cúbicas (\blacktriangleright) de um túbulo renal. HE. 1.373x.

Essas diferentes formas estão relacionadas com a função das células. As células pavimentosas facilitam a passagem de substâncias como ocorre com as células dos vasos sanguíneos (endotélio). As células cúbicas e as células colunares têm a sua altura aumentada pela presença de um maior número de organelas para exercer atividade de transporte com gasto de energia, de síntese e de secreção.

O núcleo geralmente reflete a morfologia da célula, pois seu maior eixo é paralelo ao eixo longitudinal da célula. Como frequentemente não se veem os limites das células (a membrana plasmática é muito fina e não é visível ao microscópio de luz), pode-se ter uma ideia da forma da célula pelo núcleo. Isso não é válido para células que retêm seus produtos de secreção, porque o núcleo fica comprimido por essas substâncias. É o caso da célula caliciforme do intestino, que sintetiza e armazena glicoproteínas (Figura 1.2), e da célula adiposa, que acumula gordura (Figura 1.3).

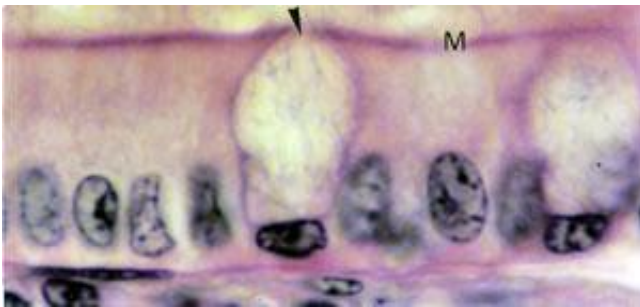


Figura 1.2 - Fotomicrografia de células colunares e de células caliciformes (►) no intestino. M - microvilos. HE. 1.373x.

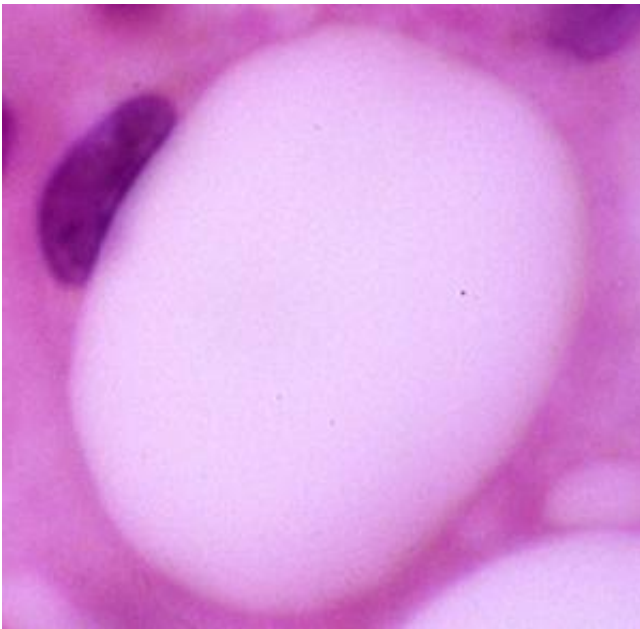


Figura 1.3 - Célula adiposa. HE. 1.373x.

Há células com forma irregular, como, por exemplo, os neurônios piramidais do cérebro e os astrócitos que, devido aos seus prolongamentos, exibem um aspecto estrelado (Figuras 1.4 e 1.5).

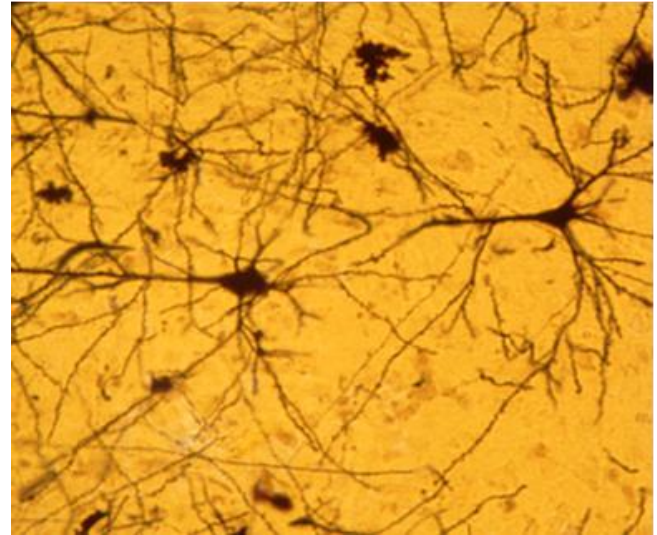


Figura 1.4 - Neurônios piramidais do cérebro. Impregnação pela prata. 550x.

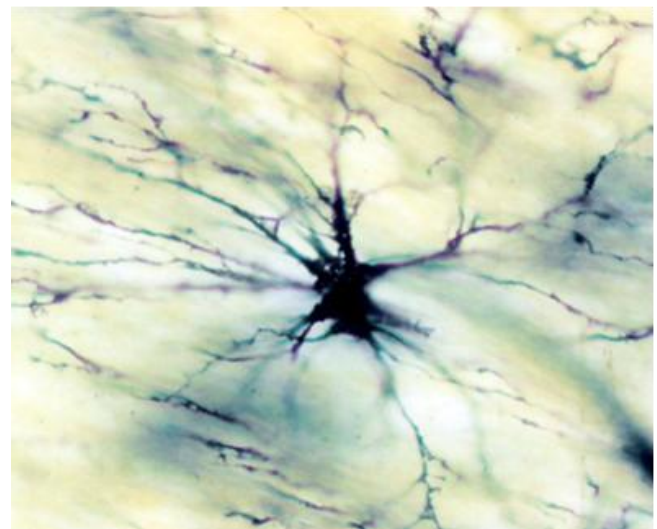


Figura 1.5 - Astrócito. Impregnação pela prata. 1.510x.

6 – COMPONENTES CELULARES

6.1 – Membrana celular e citoesqueleto

6.1.1 – Constituição da membrana celular

Delimitando a célula, há a membrana celular (ou plasmática), que mede 7,5nm e, portanto, não é visível ao microscópio de luz. Ela se apresenta ao microscópio eletrônico como uma estrutura trilaminar: duas linhas escuras separadas por uma linha central clara, o que é designada *unidade de membrana* (Figura 1.6).

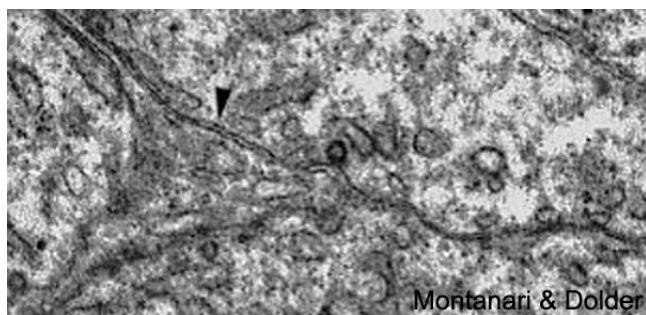


Figura 1.6 - Imagem obtida ao microscópio eletrônico de transmissão de células germinativas vizinhas, mostrando a membrana plasmática com sua aparência trilaminar, denominada unidade de membrana (▶). 15.000x.

A membrana celular é uma bicamada lipídica, com proteínas, glicoproteínas, glicolipídios e proteoglicanas inseridas. Esse arranjo recebeu o nome de *modelo mosaico fluido*.

Os *fosfolipídios* são o principal componente da bicamada lipídica. Eles são anfipáticos, ou seja, exibem uma porção polar (hidrofílica), a cabeça, e uma porção apolar (hidrofóbica), a cauda, que corresponde a duas grandes cadeias de ácidos graxos. Por isso, em meio aquoso, organizam-se em duas camadas com a porção hidrofóbica voltada para o interior e a porção hidrofílica para o exterior.

Enquanto os fosfolipídios conferem fluidez à membrana, o *colesterol* é responsável pela estabilidade mecânica da bicamada, devido à interação do seu anel esteroide com as regiões

hidrocarbonadas da cauda dos outros lipídios. Essa interação diminui a permeabilidade da bicamada a pequenas moléculas solúveis em água.

Por outro lado, o colesterol, pelo seu rápido movimento entre as camadas (*flip-flop*), dá flexibilidade à membrana, permitindo mudanças na forma da célula.

As proteínas estão arranjadas assimetricamente nas duas camadas de lipídios, podendo estar na superfície, fazendo contato com as porções polares dos lipídios (*proteínas periféricas*) ou inseridas na bicamada lipídica (*proteínas integrais*).

As proteínas de membrana podem servir como poros ou carreadores, permitindo a passagem de substâncias, ou como receptores de hormônios e outras moléculas que influenciam o funcionamento celular. Os receptores geralmente correspondem à porção oligossacarídica das glicoproteínas e dos glicolipídios.

A porção glicídica das glicoproteínas, dos glicolipídios e das proteoglicanas da membrana plasmática constitui o *glicocálix* (Figura 1.7).

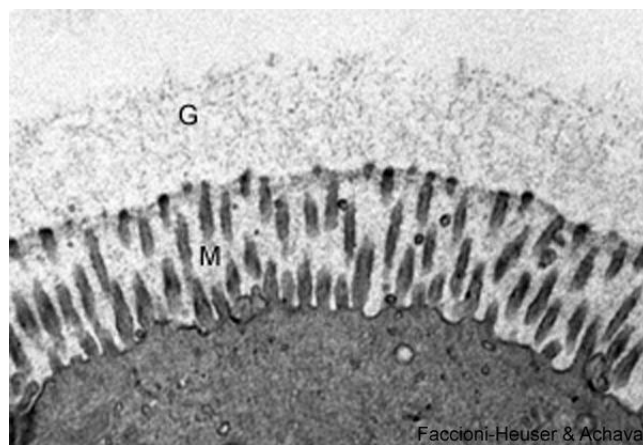


Figura 1.7 - Eletromicrografia da superfície de uma célula, onde o glicocálix (G) é visível. M – microvilos. 13.500x.

As proteoglicanas consistem em um eixo central proteico com glicosaminoglicanos ligados, tendo um aspecto semelhante a um cepilho (escovinha de lavar tubo de ensaio).

Os glicosaminoglicanos são açúcares não ramificados, compostos por duas unidades que se repetem: um aminoaçúcar (N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina), geralmente sulfatado (-OSO₃⁻), e um ácido urônico, que apresenta um grupo carboxila (-COO⁻).

O glicocálix tem 10 a 50nm de espessura e carga negativa por causa dos grupos sulfato e carboxila das cadeias glicídicas. Ele retém partículas na superfície celular, protege a célula de danos químicos e físicos, permite o reconhecimento e a adesão das células e é responsável pela caracterização imunológica, já que as cadeias glicídicas são antígenos.

6.1.2 – Transporte celular

Moléculas pequenas e apolares, como, por exemplo, O₂, N₂ e benzeno, e moléculas pequenas, polares e não carregadas, como H₂O, CO₂, etanol, ureia e glicerol, atravessam rapidamente a membrana por *difusão simples*, deslizando entre as moléculas de lipídios a favor do gradiente de concentração.

Moléculas carregadas, como íons, aminoácidos e nucleotídeos, e moléculas não carregadas maiores, como a glicose e a sacarose, precisam da intermediação de proteínas da membrana para o transporte. Quando esse transporte é a favor do gradiente eletroquímico é denominado *difusão facilitada*.

Como a difusão simples e a difusão facilitada não envolvem o dispêndio de energia, são consideradas situações de *transporte passivo*.

O transporte de substâncias pelas proteínas transportadoras contra um gradiente eletroquímico envolve a quebra de ATP e é denominado *transporte ativo*. É o caso do transporte de Na⁺ e K⁺ pela Na⁺/K⁺-ATPase (ou bomba de Na⁺ e K⁺).

As proteínas transportadoras podem realizar os seguintes tipos de transporte: *uniporte*, quando um único soluto é transportado de um lado da membrana para outro; *simporte*, quando o transporte de um soluto depende do transporte de um segundo na

mesma direção, e *antiporte*, quando o transporte de um soluto leva ao transporte de um outro na direção oposta.

Por exemplo, a glicose entra na célula do intestino por carreadores localizados na superfície apical em um sistema de transporte simporte com Na⁺. Ela passa para o fluido extracelular, de onde vai para o sangue, por carreadores nas superfícies laterais e basal que realizam difusão facilitada de modo uniporte. O gradiente de Na⁺ que dirige o transporte da glicose é mantido pela Na⁺/K⁺-ATPase na membrana plasmática basolateral. Essa proteína mantém a concentração interna de Na⁺ baixa. Para isso, faz um transporte antiporte: há a saída de três Na⁺ da célula e a entrada de dois K⁺.

A entrada de substâncias na célula com a invaginação da membrana plasmática em vesículas é denominada *endocitose*, enquanto a saída de substâncias pela fusão de vesículas à membrana é a *exocitose*. Conforme o tamanho do material endocitado, tem-se a pinocitose ou a fagocitose.

A *pinocitose* é a ingestão de fluido e solutos através de pequenas vesículas (menores que 150nm) formadas a partir da depressão da membrana (micropinocitose) ou de uma projeção em onda da membrana que circunda o material (macropinocitose) (Figura 1.8). As vesículas são chamadas endossomos.

A *fagocitose* é a ingestão de partículas maiores, tais como micro-organismos ou fragmentos celulares, através de grandes vesículas (maiores que 250nm). Essas vesículas são os fagossomos.

6.1.3 – Funções da membrana celular

A membrana celular é uma barreira seletiva à passagem de moléculas solúveis em água, capaz de controlar a entrada e a saída de metabólitos. A permeabilidade seletiva da membrana é devida à hidrofobicidade dos componentes lipídicos e do caráter dos seus canais proteicos.

A membrana gera diferenças nas concentrações iônicas entre o interior e o exterior da célula, criando

um gradiente, cuja energia potencial é utilizada para dirigir vários processos de transporte, conduzir sinais elétricos e produzir ATP.

Ela serve ainda como suporte estrutural para enzimas e receptores e permite a interação entre as células e a fixação da célula à matriz extracelular.

6.1.4 – Constituição do citoesqueleto

O citoesqueleto é uma complexa rede de filamentos proteicos: os filamentos de actina, os filamentos intermediários, os filamentos de miosina e os microtúbulos (Figura 1.9).

Os *filamentos de actina* (5 a 9nm de diâmetro) são resultantes da polimerização da proteína actina G (G - globular). Estão por todo o citoplasma, mas são mais concentrados na periferia. Na região apical da célula, fazem parte da trama terminal, onde permitem o transporte de vesículas na endocitose e na exocitose e participam na adesão das células. Sustentam os microvilos e os estereocílios, especializações da superfície celular. Posicionam macromoléculas, como o RNAm e complexos enzimáticos. São importantes para a migração celular durante o desenvolvimento embrionário ou em cultura e constituem o anel contrátil, responsável pela citocinese.

Os *filamentos intermediários* (10nm de diâmetro) são formados pelas proteínas fibrosas citoqueratina, vimentina, desmina, proteína ácida fibrilar glial ou neurofilamentos, conforme o tipo celular. São bastante resistentes e estão envolvidos na manutenção da forma da célula e no posicionamento de organelas.

A *citoqueratina* está presente somente nas células epiteliais, mas é uma família grande com cerca de 30 tipos. As citoqueratinas da maioria das células epiteliais são moléculas pequenas, enquanto a citoqueratina das células superficiais da pele e dos seus anexos, como os cabelos e as unhas, são moléculas grandes, conferindo resistência à tração e ao atrito. Os filamentos de citoqueratina podem se agrupar em feixes, os tonofilamentos, que contribuem para a adesão das células.

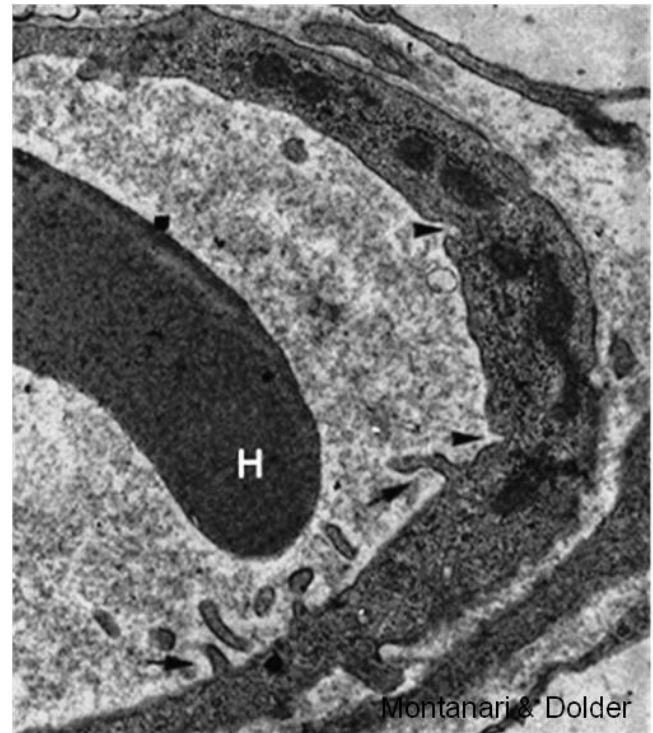


Figura 1.8 - Nesse capilar, observam-se os processos de endocitose: micropinocitose (▶) e macropinocitose (◀). H – hemácia. 19.800x.

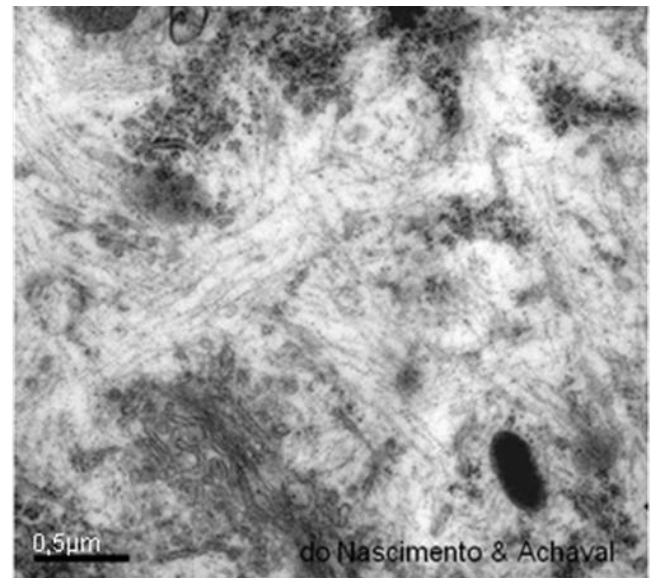


Figura 1.9 - Eletromicrografia do citoplasma de neurônio, onde se observa o citoesqueleto entre as organelas.

A *vimentina* é encontrada nas células epiteliais que revestem os vasos sanguíneos (células endoteliais) e naquelas que revestem as cavidades (células mesoteliais) e, por terem a mesma origem embriológica, também nas células do tecido conjuntivo. Ela forma uma rede em volta do núcleo, mantendo sua posição na célula.

A *desmina* é encontrada nas células musculares. A *proteína ácida fibrilar glial* (GFAP de *glial fibrillary acidic protein*) está presente nos astrócitos, e os *neurofilamentos*, nos neurônios.

Os *filamentos de miosina* (15nm de diâmetro) estão presentes nas células musculares, onde pela sua espessura são também denominados filamentos espessos (ou grossos) ao passo que os filamentos de actina são os filamentos finos. O deslizamento entre esses filamentos promove a contração muscular.

Os *microtúbulos* (25nm de diâmetro) são estruturas cilíndricas, ocas, constituídas por 13 protofilamentos com as proteínas globulares α e β -tubulinas. Estão localizados mais internamente na célula. Mantêm a forma da célula; posicionam organelas, como o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi e os lisossomos, e permitem o deslocamento das vesículas, das organelas e dos cromossomos. Constituem os centríolos como um arranjo de nove triplas periféricas de microtúbulos.

Os microtúbulos originam-se no centro organizador de microtúbulos (MTOC), onde há um par de centríolos envoltos em uma matriz de tubulinas. Nas células epiteliais, centríolos posicionados próximo à superfície servem de base para formar o axonema (nove duplas periféricas e um par central de microtúbulos), que é a estrutura interna dos cílios e do flagelo (Figura 1.10).

A média de vida dos microtúbulos é de cerca de 10 minutos.

Há proteínas que se associam aos filamentos e aos microtúbulos, possibilitando ou inibindo a sua polimerização e promovendo a sua interação com outros componentes da célula ou com a matriz extracelular.



Figura 1.10 - Início da formação do flagelo a partir do centríolo distal da célula germinativa. 63.000x.

A miosina-I (ou minimiosina), por exemplo, desloca as vesículas ao longo dos filamentos de actina; a miosina-II interage com os filamentos de actina no anel contrátil para realizar a citocinese ou, no músculo, para promover a contração, e as dineínas e as cinesinas movimentam vesículas e organelas ao longo dos microtúbulos (as dineínas em direção ao centro da célula e as cinesinas para a periferia).

6.1.5 – Junções celulares

São especializações da membrana plasmática nas faces laterais das células que selam o espaço intercelular, promovem a coesão ou possibilitam a passagem de substâncias de uma célula para outra. São ainda especializações da superfície basal das células que permitem a adesão à matriz extracelular subjacente.

Utilizando a célula epitelial do intestino como exemplo, identificam-se as seguintes estruturas:

– *zônula de oclusão* (ou junção *tight*; do inglês, estreita), que é formada pelas proteínas transmembranas claudinas e ocludinas (do latim

claudere e occludere, que significam fechar) localizadas em uma faixa circular (por isso, o termo *zonula*, diminutivo do latim *zona*, cinta) na porção mais apical das superfícies laterais da célula (Figura 1.11). As ocludinas interagem com as proteínas ZO-1, ZO-2 e ZO-3 que estão no lado citoplasmático. Há ainda a cingulina que pode estar relacionada à ancoragem dos filamentos de actina. As proteínas transmembranas unem os folhetos externos das membranas celulares vizinhas, impedindo a passagem de substâncias maiores que 1,5nm. Então é possível a difusão de água, íons e pequenas moléculas. A permeabilidade da junção pode ser modulada. Por exemplo, a ativação de cotransportadores de Na⁺ e nutrientes pela glicose e por certos aminoácidos induz um aumento da permeabilidade da junção, possibilitando a entrada de nutrientes inclusive por entre as células epiteliais. As zônulas de oclusão também impedem a migração dos componentes da membrana plasmática entre a superfície apical e a superfície basolateral da célula, confinando as proteínas transportadoras. Por essas ações, elas permitem que o epitélio delimite compartimentos de composição química diferente.

– *zônula de adesão*, que é formada pelas glicoproteínas transmembranas E-caderinas (E de epitélio) situadas em uma faixa circular na célula imediatamente inferior à zônula de oclusão (Figura 1.11). Na presença de Ca²⁺, as E-caderinas ligam as membranas celulares vizinhas, mas permanece um espaço de 15 a 25nm. Na face interna da membrana plasmática, há as cateninas (α -catenina, β -catenina e γ -catenina ou placoglobina), a α -actinina e a vinculina, que interconectam as E-caderinas aos filamentos de actina. Como já indicado no seu nome, essas zônulas promovem a adesão das células.

– *desmossomos*: são estruturas em disco, com as proteínas transmembranas desmogleínas e desmocollinas da família das caderinas, unindo as membranas celulares vizinhas na presença de Ca²⁺. Permanece um espaço intercelular de 25nm. O lado citoplasmático dessas proteínas interage com as placoglobinas, que, por sua vez, se associam às desmoplaquinas e estas, aos tonofilamentos (Figura 1.11). Nas células não epiteliais, os filamentos

intermediários ancorados aos desmossomos são de desmina ou vimentina ao invés de citoqueratina. Os desmossomos permitem a adesão das células (desmossomo significa corpo de conexão), conferindo estabilidade mecânica às células epiteliais sujeitas a forças de tração.

O *pênfigo* é uma doença autoimune, em que o organismo produz anticorpos contra as desmogleínas, desfazendo os desmossomos. Há a formação de bolhas nas membranas mucosas e na pele e perda do líquido tissular, o que pode levar à morte.

– *junções comunicantes* (ou junção *gap*; do inglês, fenda) (Figura 1.11): consistem em canais hidrofílicos formados pelas proteínas transmembranas conexinas. Seis conexinas arranjam-se circularmente resultando no conéxon, que faz correspondência com aquele de outra célula. A luz do canal produzido é bastante estreita: tem 1,5nm de diâmetro, permitindo a passagem de pequenas substâncias, como íons, monossacarídeos, aminoácidos, nucleotídeos, vitaminas, alguns hormônios e os mediadores químicos monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e 1,4,5-trifosfato de inositol (IP3). Essas substâncias são responsáveis pela comunicação entre as células. As junções comunicantes são reguladas, abrindo-se quando o pH intracelular é elevado ou quando a concentração de Ca²⁺ é baixa e fechando-se quando o pH diminui e o nível de Ca²⁺ aumenta.

– *interdigitações*: as superfícies laterais e basais das células vizinhas imbricam-se, aumentando o seu contato e reforçando a sua adesão. São abundantes em células sujeitas à tração, como as do epitélio da pele (Figura 1.11).

– *hemidesmossomos*: localizam-se na porção basal das células epiteliais e, como o nome sugere, parecem a metade de um desmossomo. São constituídos pelas proteínas transmembranas integrinas, que se ligam à laminina e ao colágeno do tipo IV da lâmina basal. O lado citoplasmático das integrinas associa-se a uma proteína homóloga à desmoplaquina (BP230) e a outras proteínas que formam uma placa no lado interno da célula, onde se inserem os tonofilamentos.

Os hemidesmosmosos possuem ainda o colágeno do tipo XVII, que tem uma região transmembrana. Essas junções permitem a adesão da célula epitelial à matriz extracelular subjacente.

– *contatos focais*: as proteínas transmembranas integrinas promovem a interação da célula com a matriz extracelular e a migração da célula. As integrinas ligam-se a proteínas da matriz extracelular e, através da α -actinina, da vinculina e da talina, a feixes de filamentos de actina no citoesqueleto.

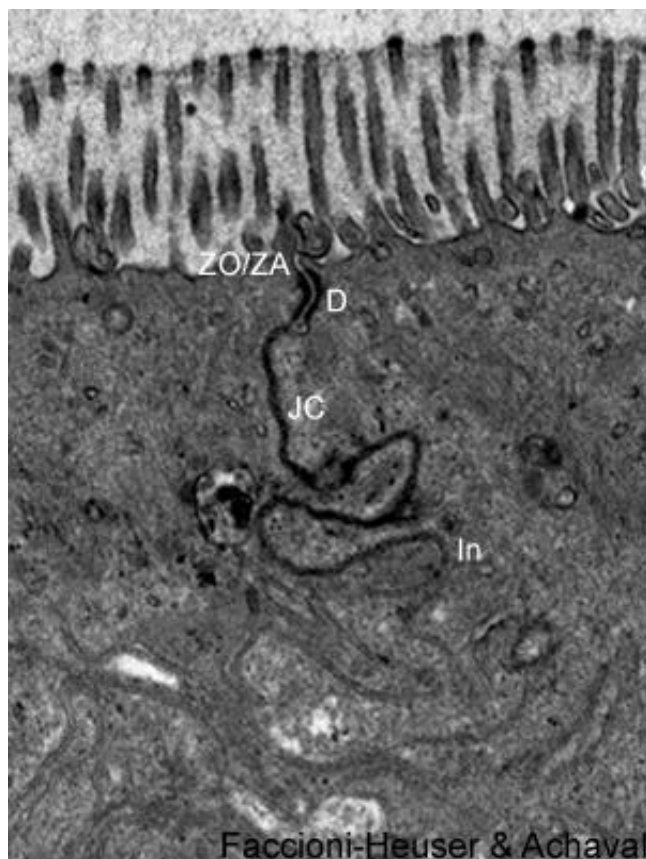


Figura 1.11 - Eletromicrografia de células vizinhas, onde se observam as junções celulares: zônulas de oclusão e de adesão (ZO/ZA), desmosomo (D), junções comunicantes (JC) e interdigitações (In). O conjunto das zônulas de oclusão e de adesão e dos desmosomos é denominado complexo unitivo. 21.000x.

6.2 – Núcleo e ciclo celular

Na maioria das células dos mamíferos, o núcleo mede entre 5 e 10 μm . Ele contém o material genético da célula, o ácido desoxirribonucleico (DNA). O DNA está enrolado em proteínas básicas, as histonas, formando a cromatina, a qual, segundo o seu grau de condensação e sua expressão, é classificada em eucromatina (difusa e transcrita) e heterocromatina (condensada e geralmente inativa).

O núcleo é delimitado pelo *envoltório nuclear* (ou *carioteca*), constituído por duas membranas separadas pelo espaço perinuclear (Figura 1.12). Em vários pontos, as membranas fundem-se em poros delimitados por complexos proteicos, os *complexos de poro*. Por eles, há o transporte de substâncias entre o núcleo e o citoplasma.

A membrana externa do envoltório nuclear pode ser contínua a do retículo endoplasmático e ter ribossomos associados. A membrana interna é associada à lâmina nuclear, uma camada de filamentos intermediários (as laminas), e à cromatina associada.

O *nucléolo* corresponde à região da cromatina com genes que codificam os componentes dos ribossomos (Figuras 1.12 e 1.13). Nos cromossomos humanos, há 10 regiões organizadoras nucleolares (NOR), mas, na maioria das células, são encontrados de um a quatro nucléolos devido à inativação ou à fusão de alguns deles.

Ao microscópio eletrônico, é possível distinguir, no nucléolo, uma região fibrilar, com o DNA ribossômico (DNAr) sendo transcrito em RNAr, e uma região granular, onde as moléculas de RNAr sofrem o processamento final e se associam às proteínas constituindo as subunidades ribossômicas (Figura 1.13).

O núcleo está presente quando a célula encontra-se na interfase do ciclo celular. Quando a célula se divide, a cromatina condensa-se em cromossomos e a carioteca desintegra-se.

O ciclo celular consiste em duas etapas: a interfase e a mitose, entre as quais a célula se alterna de forma cíclica.

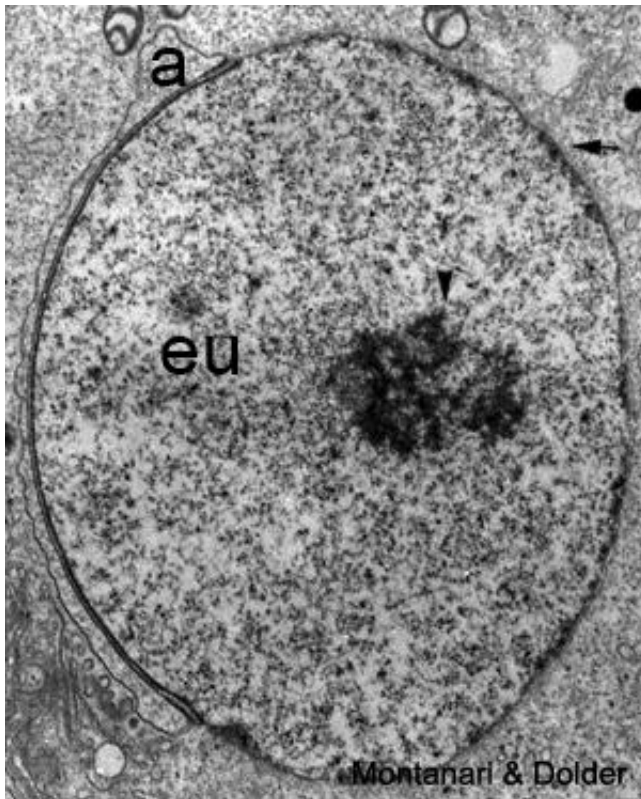


Figura 1.12 - Eletromicrografia de espermatíde redonda, mostrando o núcleo com eucromatina (eu) e nucléolo bem desenvolvido (►). É possível observar o envoltório nuclear com sua membrana dupla (➡) apesar do acrossoma (a) recobrir parte do núcleo. 10.909x.

A *interfase* é dividida em: G1, S e G2. Na fase G1, há o crescimento da célula com intensa síntese de RNA, proteínas e outros componentes. Na fase S, há a síntese de DNA, que se duplica. Na fase G2, há um crescimento posterior que também atua como período de segurança, onde é verificado se o DNA foi duplicado de forma correta.

Na *mitose* (fase M), a célula divide-se em duas, e o material genético duplicado na interfase é repartido entre as células-filhas. A mitose pode ser subdividida em quatro fases: prófase, metáfase, anáfase e telófase.

Na *prófase*, há a condensação da cromatina em cromossomos (Figura 1.14). Como ocorreu a duplicação do DNA na interfase, cada cromossomo possui duas cromátides. As cromátides-irmãs estão

unidas pelo centrômero, constituído por heterocromatina com seqüências de DNA específicas. Aderido a cada uma das faces externas do centrômero, há o cinetócoro, complexo proteico de estrutura discoide, ao qual se fixam os microtúbulos do fuso mitótico. Com a condensação da cromatina, os nucléolos desaparecem. Finalmente há a desintegração do envoltório nuclear em consequência da fosforilação das lamínas, o que rompe a lâmina nuclear.

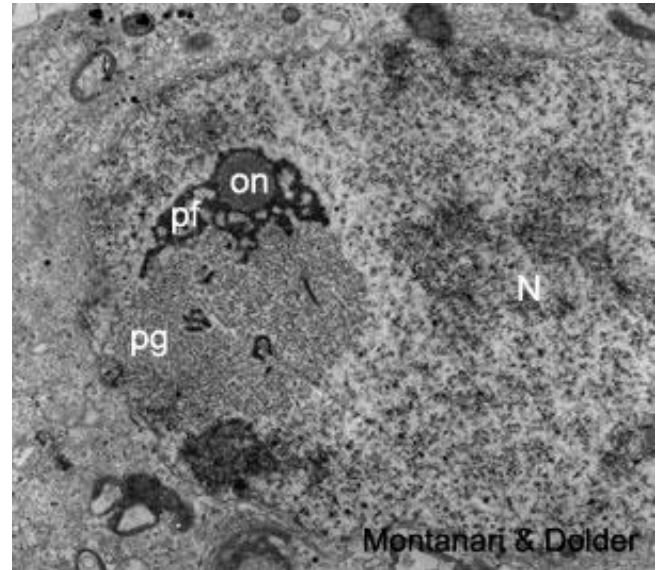


Figura 1.13 - Neste núcleo (N), distinguem-se os componentes do nucléolo: organizador nucleolar (on), *pars fibrosa* (pf) e *pars granulosa* (pg). 10.208x.

Na *metáfase*, os cromossomos, ligados aos microtúbulos do fuso, migram para o equador da célula (Figura 1.14).

Na *anáfase*, há a separação das cromátides-irmãs e a sua migração para os polos da célula (Figura 1.15).

Na *telófase*, há a descondensação dos cromossomos em cromatina, com reaparecimento do nucléolo. Com a defosforilação das lamínas, a carioteca é refeita. A citocinese inicia na anáfase e termina na telófase, originando duas células-filhas, iguais à célula-mãe.

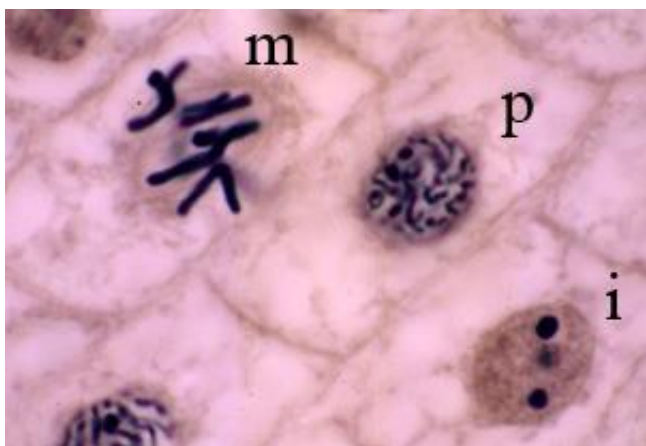


Figura 1.14 - Fotomicrografia de células em interfase (i) e em mitose: prófase (p) e metáfase (m). Raiz de cebola. Hematoxilina férrica. 1.373x.



Figura 1.15 - Além da célula em interfase (i), há uma célula em anáfase (a). Raiz de cebola. Hematoxilina férrica. 1.373x.

As células germinativas são ainda capazes de se dividir por *meiose*, derivando células-filhas haploides.

A *meiose* consiste de duas etapas de divisões, antecedidas somente por uma etapa de duplicação do DNA.

Na primeira *meiose*, a *prófase* é bastante longa e complexa, sendo subdividida nos seguintes estágios: leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese. No leptóteno, os cromossomos estão associados ao envoltório nuclear, o que permite o pareamento dos cromossomos-homólogos. No zigóteno, há o

pareamento dos cromossomos-homólogos (*sinapse*). No paquíteno, ocorre a troca de segmentos entre os cromossomos-homólogos (*recombinação gênica* ou *crossing-over*). No diplóteno, os cromossomos-homólogos tentam se separar, mas ficam unidos nos locais onde ocorreu o *crossing-over* (*quiasmas*). Na diacinese, há o desaparecimento dos quiasmas, do nucléolo e da carioteca; há a formação do fuso, e os cromossomos começam a se movimentar em direção ao equador da célula.

Na *metáfase*, há a disposição dos cromossomos-homólogos no equador da célula. Na *anáfase*, os cromossomos-homólogos separam-se e migram para os polos opostos da célula. Na *telófase*, há a descondensação dos cromossomos, mas eles não atingem o grau de descondensação da interfase. A carioteca pode ou não se formar. Com a citocinese, são formadas duas células-filhas, com metade do número de cromossomos da célula-mãe, mas cada cromossomo apresenta duas cromátides.

A segunda *meiose* assemelha-se à mitose. A *prófase* é mais curta e mais simples do que a *prófase* da primeira *meiose*. Nela ocorre a condensação da cromatina em cromossomos e o desaparecimento do nucléolo e da carioteca. Na *metáfase*, os cromossomos dispõem-se no equador da célula. Na *anáfase*, as cromátides-irmãs separam-se e migram para os polos opostos da célula. Na *telófase*, há a descondensação dos cromossomos, a reorganização do envoltório nuclear e a citocinese das células em outras duas células-filhas, agora realmente haploides, tanto ao que se refere ao número de cromossomos como à quantidade de DNA.

6.3 – Retículo endoplasmático e ribossomos

O retículo endoplasmático é constituído por um sistema de membranas em forma de túbulos e cisternas. Se os ribossomos estão associados, o retículo endoplasmático é dito *retículo endoplasmático rugoso* (RER) (Figura 1.16). Se não houver ribossomos, é designado *retículo endoplasmático liso* (REL) (Figura 1.17).



Figura 1.16 - Retículo endoplasmático rugoso. 22.000x.

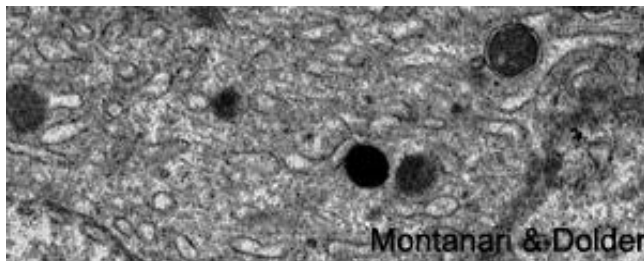


Figura 1.17 - Retículo endoplasmático liso. 13.000x.

Os ribossomos são responsáveis pela síntese de proteínas. Células que produzem bastante proteínas possuem nucléolo bem desenvolvido e uma grande quantidade de ribossomos.

Os ribossomos ficam livres no citoplasma quando sintetizam proteínas do citosol, do núcleo, das mitocôndrias e dos peroxissomos. Formam grupos em forma de círculos, espirais ou rosetas, denominados *polirribossomos* ou *polissomos*.

Quando as proteínas são destinadas para as demais organelas, para a membrana celular ou para o exterior, os ribossomos estão associados ao retículo endoplasmático, como é caso dos neurônios (Figura 1.18) e das células acinosas pancreáticas.

Enzimas do REL estão envolvidas na síntese de lipídios, inclusive dos fosfolipídios da membrana celular e dos hormônios.

O REL é acidófilo, e, por isso, a abundância nessa organela membranosa confere eosinofilia ao citoplasma das células sintetizadoras de hormônios esteroides, como as células da adrenal (Figura 1.19).

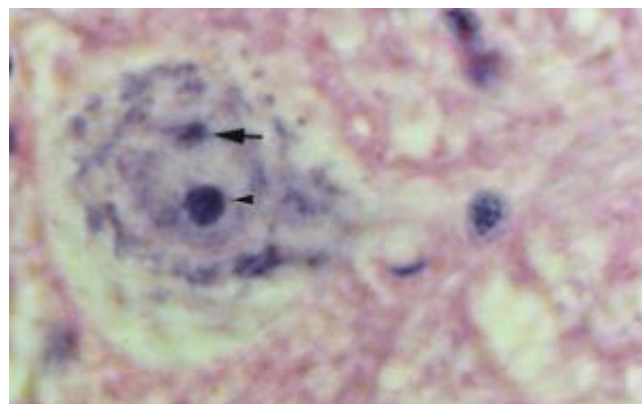


Figura 1.18 - O neurônio da medula espinhal exibe características de célula sintetizadora de proteínas: núcleo claro devido à cromatina frouxa, nucléolo proeminente (▶) e grânulos basófilos (substância de Nissl) no citoplasma, referentes ao retículo endoplasmático rugoso e aos ribossomos. Cromatina sexual (▶▶). HE. 1.045x.

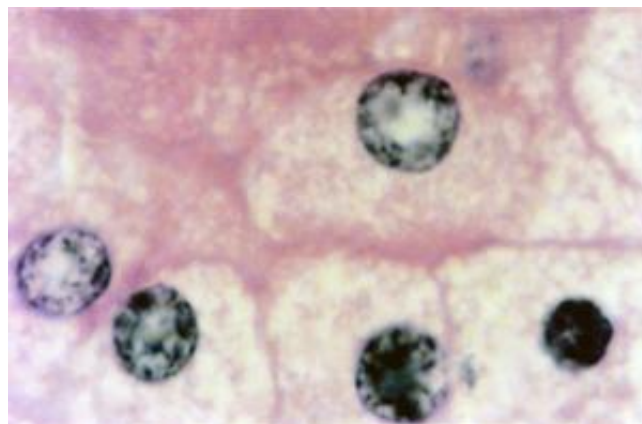


Figura 1.19 - Células da adrenal, cujo citoplasma eosinófilo se deve à riqueza em REL para a síntese de hormônios esteroides. A vacuolização é resultado da perda das gotículas lipídicas no processamento histológico. HE. 550x.

O REL ainda contém enzimas para o metabolismo do glicogênio e para a detoxificação de drogas, álcool e compostos nocivos.

6.4 – Complexo de Golgi

É constituído por um conjunto de cisternas achatadas e empilhadas e vesículas. A cisterna mais próxima ao RE é designada face cis, enquanto a que se localiza na região oposta é a face trans (Figura 1.20).

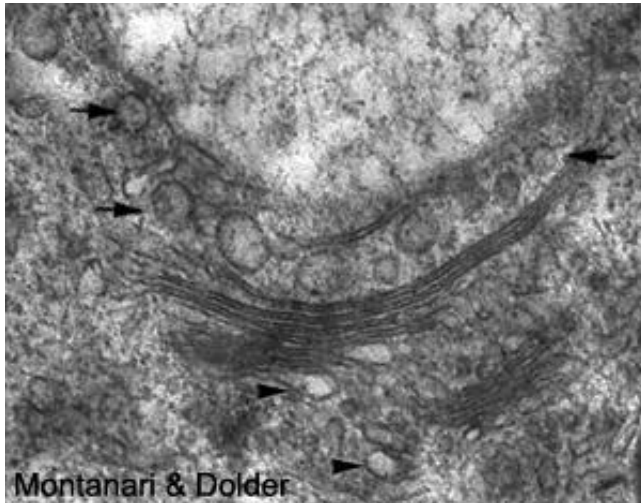


Figura 1.20 - As cisternas do complexo de Golgi organizam-se em cis, média e trans. Antes da face cis do Golgi, há a rede Golgi cis, formada por sáculos e túbulos interconectados que recebem vesículas do RE (▶) e, após a face trans, há a rede Golgi trans, de onde saem as vesículas de secreção (▶▶). 33.333x.

As proteínas sintetizadas no RER vão para o complexo de Golgi, onde são acrescentados resíduos de açúcares (glicosilação), sulfatadas ou convertidas em proteínas ativas, como a insulina. Lipídios também são glicosilados e sulfatados nessa organela.

O Golgi realiza também o empacotamento e a distribuição das macromoléculas para a secreção, para a membrana plasmática ou para outras organelas.

O complexo de Golgi não se cora nos cortes histológicos corados com HE, mas apresenta a capacidade de reduzir os sais dos metais, como, por exemplo, os de prata (Figura 1.21).

6.5 – Mitocôndrias

A forma e o tamanho das mitocôndrias variam: podem ser esféricas ou alongadas e medirem 0,2 a 1µm de diâmetro e 2 a 8µm de comprimento.

A mitocôndria apresenta duas membranas, sendo que a membrana interna invagina-se nas cristas. O compartimento entre as duas membranas é o espaço intermembranoso (Figura 1.22).

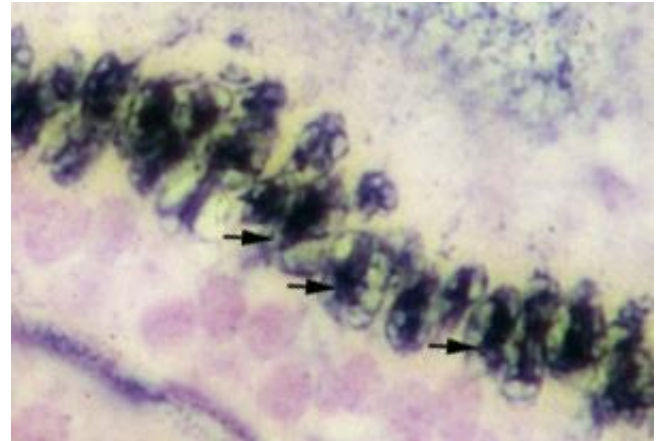


Figura 1.21 - Células do epidídimo, cujo complexo de Golgi (▶) é bem desenvolvido para a síntese de glicoproteínas. Impregnação pela prata com núcleo contracorado pelo Feulgen. 1.373x.



Figura 1.22 - Mitocôndrias. 44.000x.

A membrana mitocondrial externa possui proteínas transmembranas, as porinas, que permitem a passagem de moléculas hidrossolúveis de até 10kD, o que faz com que o espaço intermembranoso tenha um conteúdo semelhante ao citosol. Enzimas para a síntese e para a oxidação dos lipídios e a monoamino oxidase também estão presentes nessa membrana.

A membrana mitocondrial interna é bastante impermeável devido à riqueza em cardiolipina, um fosfolípido que exibe quatro cadeias de ácidos graxos. Há proteínas transportadoras que permitem a passagem de moléculas necessárias às reações que ocorrem na matriz mitocondrial.

Nessa membrana, encontram-se as cadeias respiratórias, constituídas por três complexos enzimáticos: o complexo da NADH-desidrogenase, o complexo do citocromo b-c1 e o complexo da citocromo oxidase. Esses complexos formam uma cadeia transportadora de elétrons e funcionam como bombas de H^+ , transportando-os da matriz mitocondrial para o espaço intermembranoso. Assim, é estabelecido um gradiente eletroquímico que fornece energia para produzir ATP através da ATP-sintetase também localizada na membrana mitocondrial interna.

Limitada pela membrana interna, há a matriz mitocondrial, que contém o DNA mitocondrial, RNA, proteínas e grânulos esféricos e eletrodensos, ricos em Ca^{2+} . Na matriz, situam-se enzimas que participam da β -oxidação dos ácidos graxos e enzimas do ciclo do ácido cítrico (ou ciclo de Krebs).

As mitocôndrias são abundantes nas células que demandam energia (Figura 1.23). Essas organelas produzem ATP através da oxidação de açúcares, aminoácidos e ácidos graxos. A glicose e os aminoácidos são degradados no citoplasma a piruvato, o qual entra na mitocôndria e é convertido em acetil-coenzima A (acetil-CoA). A oxidação de ácidos graxos em acetil-CoA ocorre na matriz mitocondrial.

A acetil-CoA combina-se com o ácido oxaloacético para formar ácido cítrico, dando início ao ciclo do ácido cítrico. Nesse ciclo, CO_2 é produzido pelas reações de descarboxilação e quatro pares de H^+ são removidos por reações catalisadas por

desidrogenases. Os íons H^+ reagem com oxigênio para formar H_2O .

Em condições aeróbicas, a glicólise extramitocondrial, o ciclo do ácido cítrico e o sistema transportador de elétrons originam 36 moléculas de ATP para cada molécula de glicose. Esse rendimento é 12 vezes maior do que o obtido pela glicólise anaeróbica.

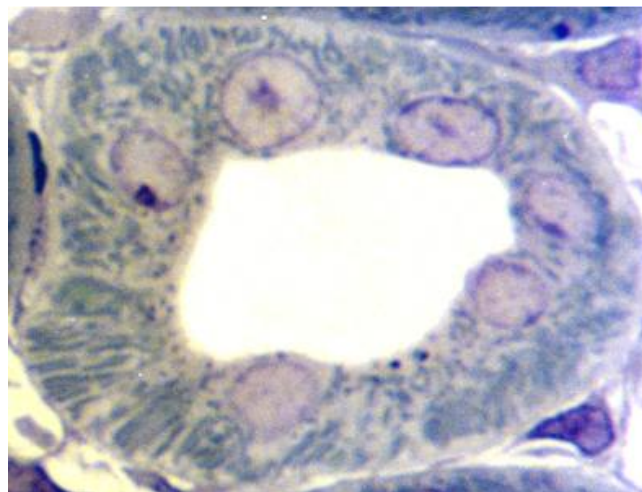


Figura 1.23 - As mitocôndrias (bastões azulados) são abundantes no túbulo distal do rim, onde ocorre transporte ativo de íons. Corte semifino corado com azul de toluidina. 1.922x.

6.6 – Lisossomos

São pequenas organelas ($0,5\mu m$) contendo enzimas hidrolíticas ativas em pH ácido, capazes de degradar quase todos os tipos de macromoléculas biológicas, como, por exemplo, fosfatase ácida, desoxirribonuclease ácida, ribonuclease ácida, catepsina, lipase e sulfatase.

O material a ser digerido pode ser de origem endógena, como organelas velhas ou em desuso (por exemplo, REL após ter se desenvolvido muito em resposta a uma droga), ou de origem exógena, como bactérias ou substâncias estranhas fagocitadas por macrófagos (Figura 1.24).

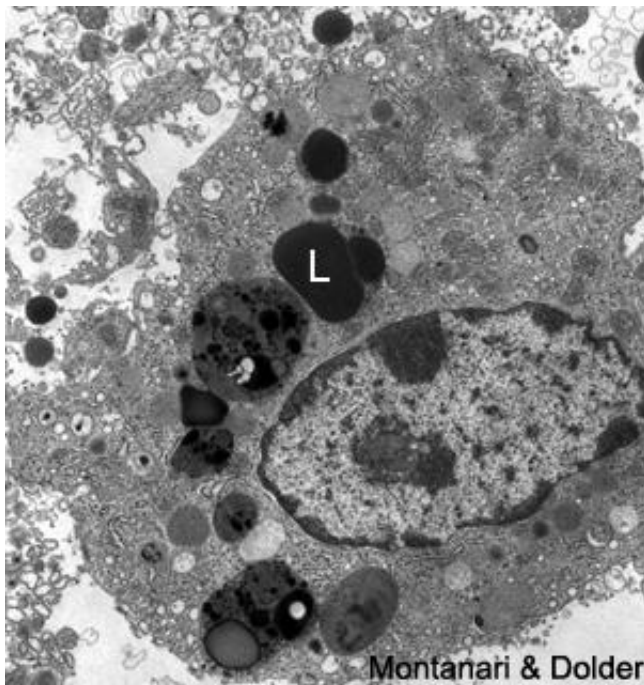


Figura 1.24 - Eletromicrografia de macrófago rico em lisossomos (L). 6.286x.

Enzimas lisossômicas podem ser liberadas pelas células para realizar digestão extracelular, como é o caso dos osteoclastos na remodelação do osso.

6.7 – Peroxissomos

São encontrados em quase todos os tipos celulares, mas são mais comuns nas células do fígado e do rim. São organelas esféricas, medindo 0,5 a 1,2µm, com uma matriz granular fina e, em muitas espécies, com um cristalóide.

Possuem enzimas que oxidam ácidos graxos de cadeias longas, aminoácidos e intermediários dos ácidos biliares. Quando da oxidação dos substratos orgânicos, há a retirada de átomos de hidrogênio, que são combinados com o O₂, produzindo H₂O₂ (peróxido de hidrogênio). Essa substância oxidante é prejudicial à célula e é logo degradada pela enzima catalase em água e oxigênio (2H₂O₂ → 2H₂O + O₂).

A catalase pode também utilizar o oxigênio do peróxido de hidrogênio (transformando-o em água) para oxidar diversos substratos, como o álcool e medicamentos, contribuindo para a detoxificação.

Como as mitocôndrias, os peroxissomos formam-se pela fissão das organelas pré-existent, com a importação das proteínas do citosol e de fosfolipídios da membrana do retículo endoplasmático.

6.8 – Proteassomos

São complexos de proteases que digerem as proteínas marcadas com ubiquitina. Assim, são removidas as enzimas após sua ação, proteínas defeituosas e proteínas codificadas por vírus, que seriam usadas para produzir novos vírus.

O proteassomo tem a forma de um barril constituído por quatro anéis sobrepostos. Nas extremidades, há uma partícula reguladora com ATPase, capaz de reconhecer as proteínas ligadas à ubiquitina.

A ubiquitina é uma proteína pequena altamente conservada na evolução, ou seja, sua estrutura é praticamente a mesma desde as bactérias até o ser humano. Ela se liga a um resíduo de lisina da proteína a ser degradada, e outras moléculas de ubiquitina se prendem à primeira.

Esse complexo proteico é reconhecido pela partícula reguladora. A proteína é desenrolada pela ATPase, com gasto de energia, e introduzida no proteassomo. Ela é degradada em peptídeos de oito aminoácidos, os quais são digeridos por enzimas do citoplasma ou têm outros destinos, como participar da resposta imune. As moléculas de ubiquitina são liberadas pelas partículas reguladoras para serem usadas novamente.

7 – QUESTIONÁRIO

1) Qual é o conceito de célula?

- 2) Qual é o critério usado para classificar as células? Em que elas são classificadas? O que significa cada uma dessas denominações?
- 3) Quais são os componentes do microscópio de luz e para que servem?
- 4) Qual é o limite de resolução do microscópio de luz? E do microscópio eletrônico de transmissão?
- 5) Quais são as etapas para a obtenção dos cortes histológicos?
- 6) O que são basofilia e acidofilia?
- 7) Qual é a técnica de coloração para glicídios e glicoproteínas? E para lipídios?
- 8) Como se realiza a iluminação de Köhler?
- 9) Dê exemplos de formas de células e relacione com a atividade funcional.
- 10) Qual é a constituição da membrana celular?
- 11) O que é o glicocálix?
- 12) O que significa proteínas integrais e proteínas periféricas?
- 13) Relacionando com os seus constituintes, qual é a importância da membrana celular?
- 13) Quais são as moléculas que atravessam mais fácil e rapidamente a membrana?
- 14) Quais são os tipos de transporte pela membrana?
- 15) Como é denominado o transporte envolvido com a entrada de material na célula? E aquele envolvido com a saída?
- 16) Compare pinocitose e fagocitose.
- 17) Quais são os componentes do citoesqueleto e como atuam?
- 18) Descreva as junções celulares segundo a sua constituição e função.
- 19) O nucléolo é uma organela membranosa? Do que ele é constituído?
- 20) Compare a mitose e a meiose, resumindo os acontecimentos de cada fase.

21) Descreva as organelas segundo a sua morfologia, função e exemplo de célula onde são predominantes.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the cell*. 4.ed. New York: Garland Science, 2002. p.583-631; 907-947; 1065-1090.
- CARL ZEISS MICROSCOPY. *Axiostar transmitted-light microscope - operating manual*. Göttingen, 1999. n. B 40-031. p.1.1-1.6; 3.1-3.4.
- COLLARES-BUZATO, C. B. Junções celulares. In: CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A Célula*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2007. p.92-112.
- DE ROBERTIS, E. M. F.; HIB, J. *De Robertis Bases da Biologia celular e molecular*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.73-115.
- DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA, USP. *Roteiro de aulas práticas para BMH 101 - Biologia Celular e Tecidual do Curso de Medicina*. São Paulo: USP, 1995. p.2.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de Histologia em cores*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p.11-70.
- GENESER, F. *Histologia: com bases moleculares*. 3.ed. Rio de Janeiro: Médica Panamericana/ Guanabara Koogan, 2003. p.1-118; 128-134.
- HADLER, W. A.; SILVEIRA, S. R. *Histofisiologia dos epitélios: correlação entre a morfologia e a função dos epitélios*. Campinas: Editora da UNICAMP, 1993. p.13-55.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.1-65; 68-71.
- LINO NETO, J.; GÓES, R. M.; CARVALHO, H. F. Citoesqueleto. In: CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A Célula*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2007. p.258-274.
- LOURENÇO, L. B.; FELISBINO, S. L.; CARVALHO, H. F. Peroxissomos. In: CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A Célula*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2007. p.226-234.
- OELLRING, F. K. *La microscopía desde el principio*. Oberkochen: Carl Zeiss. 64p.
- OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. *Netter Bases da Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.1-27.

PADYKULA, H. A. Histoquímica e citoquímica. In: WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p.76-92.

ROSS, M. H.; KAYE, G. I.; PAWLINA, W. *Histology: a text and atlas*. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003. p.2-17.

STEVENS, A.; LOWE, J. *Histologia humana*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2001. p.9-32; 34-38.

TABOGA, S. R.; VILAMAIOR, P. S. L. Microscopias. In: CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A Célula*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2007. p.29-37.

TABOGA, S. R.; VILAMAIOR, P. S. L. Citoquímica. In: CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A Célula*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2007. p.42-50.

WEISS, L. A Célula. In: WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p.1-75.