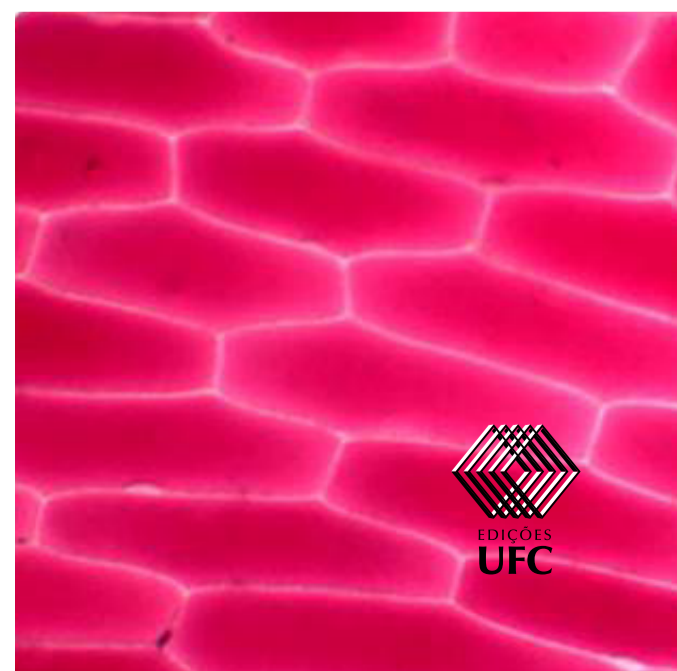
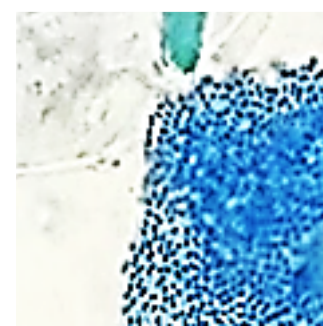
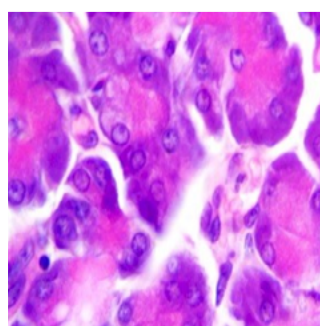
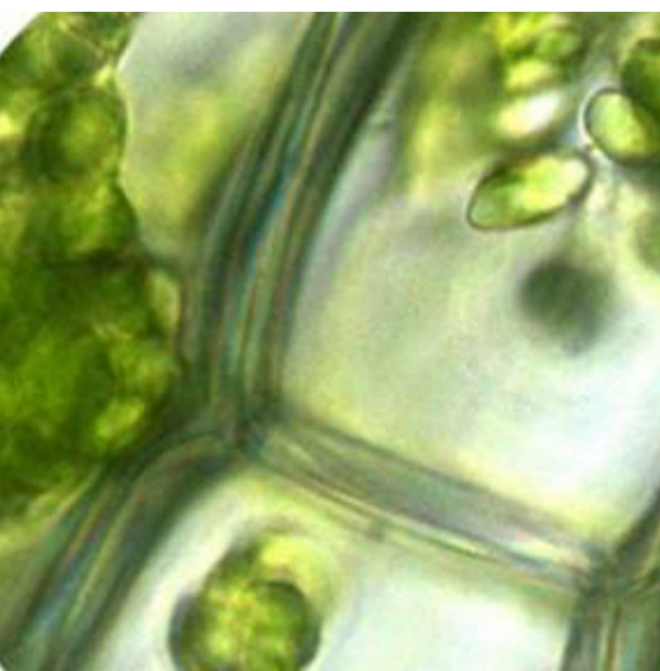
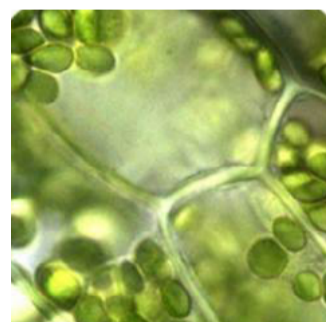
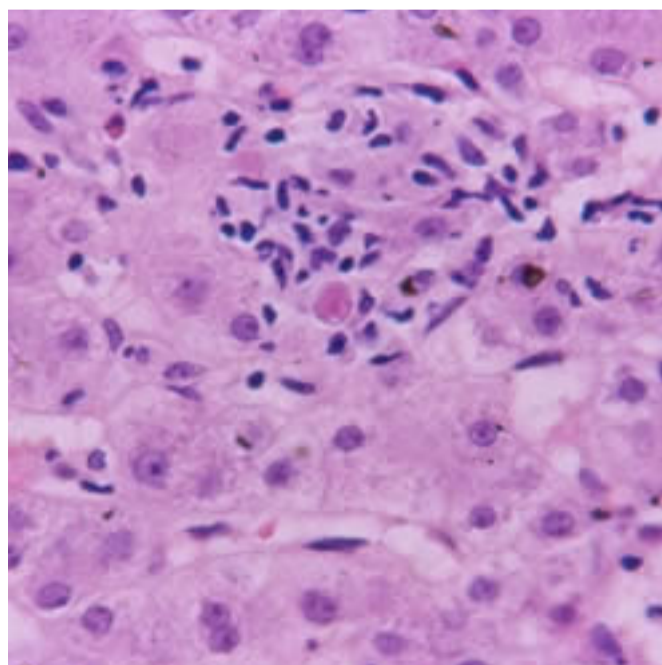


José Eduardo Baroneza
Organizador

Atividades Práticas em Biologia Celular



Presidente da República

Jair Bolsonaro

Ministro da Educação

Ricardo Vélez Rodríguez

Universidade Federal do Ceará

REITOR

Prof. Henry de Holanda Campos

VICE-REITOR

Prof. Custódio Luís Silva de Almeida

Conselho Editorial

PRESIDENTE

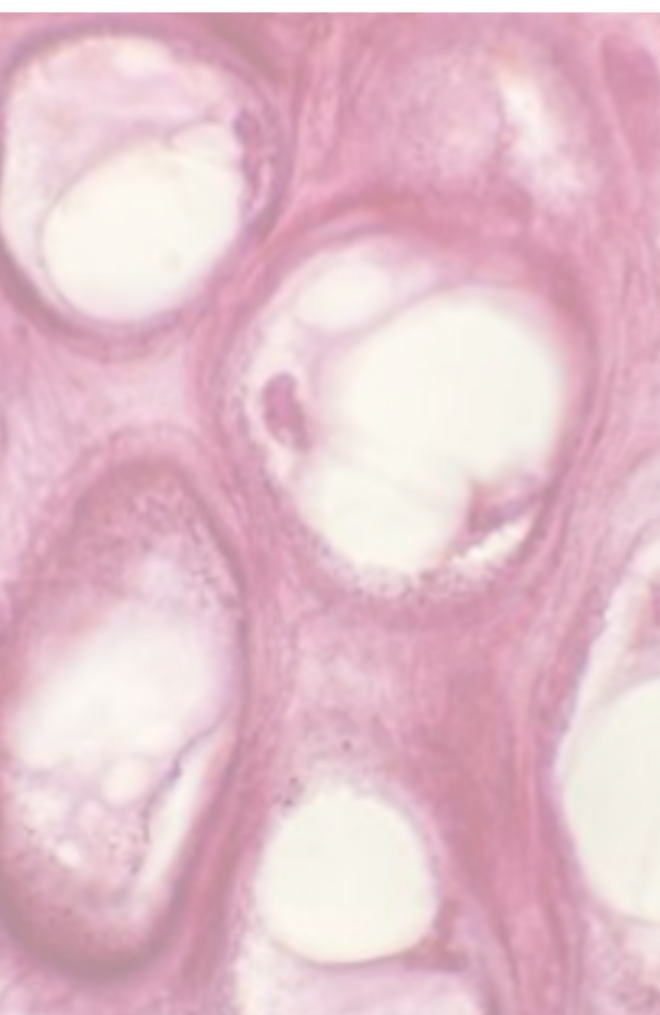
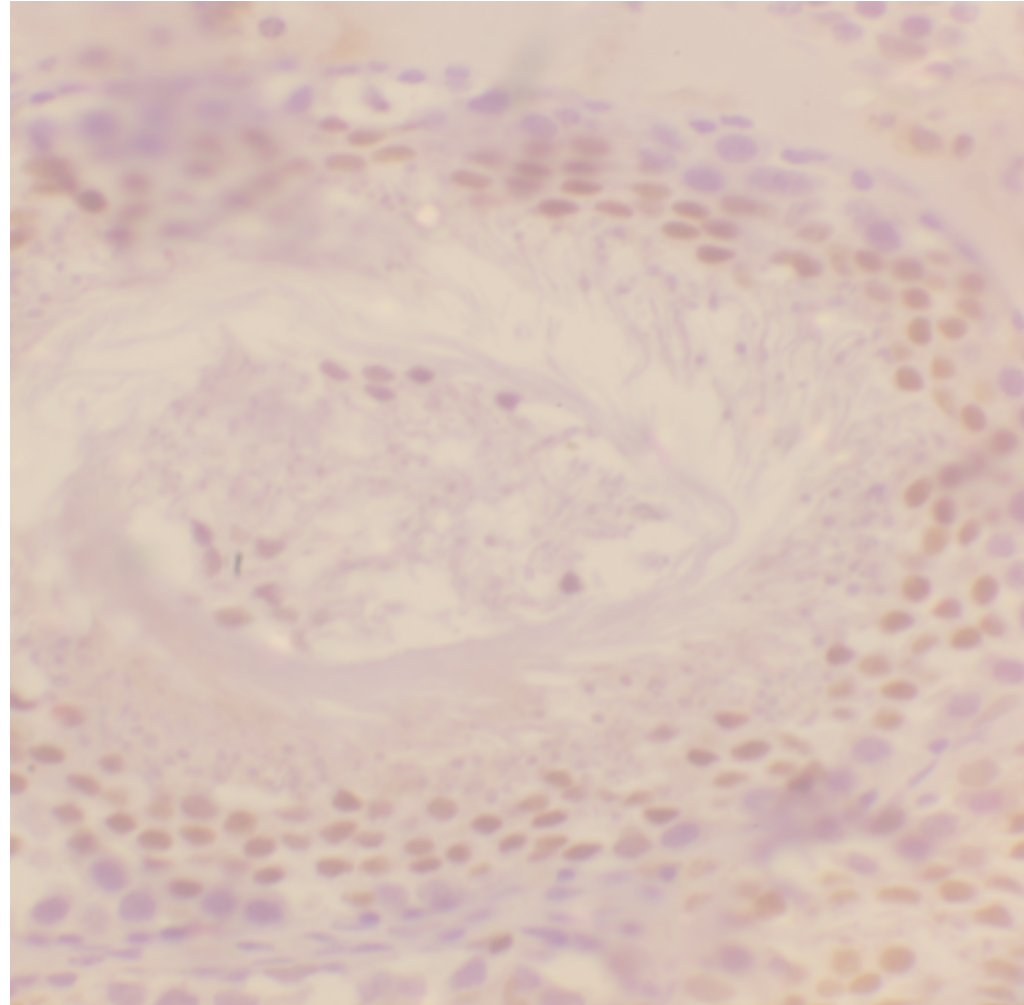
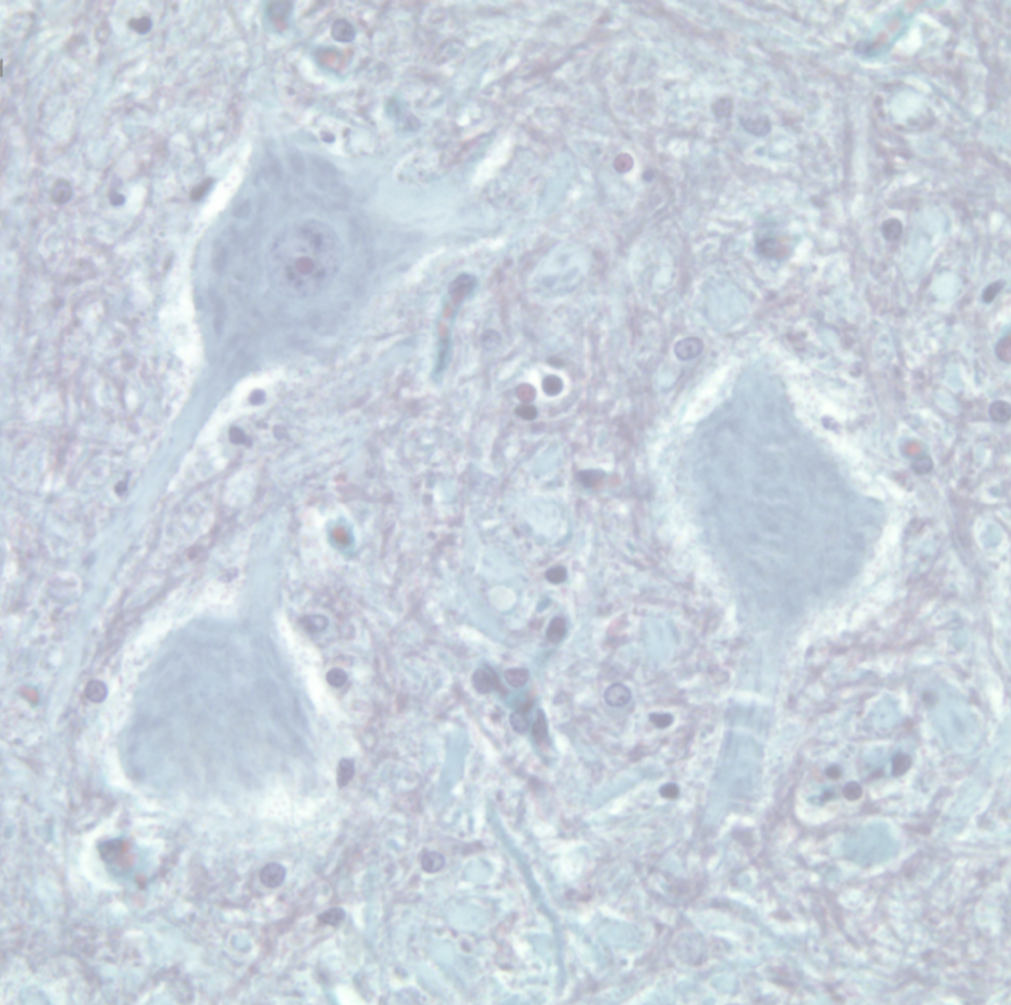
Prof. Antônio Cláudio Lima Guimarães

CONSELHEIROS

Prof^a. Angela Maria R. Mota de Gutiérrez

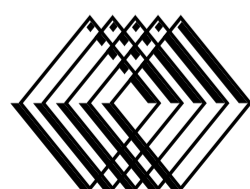
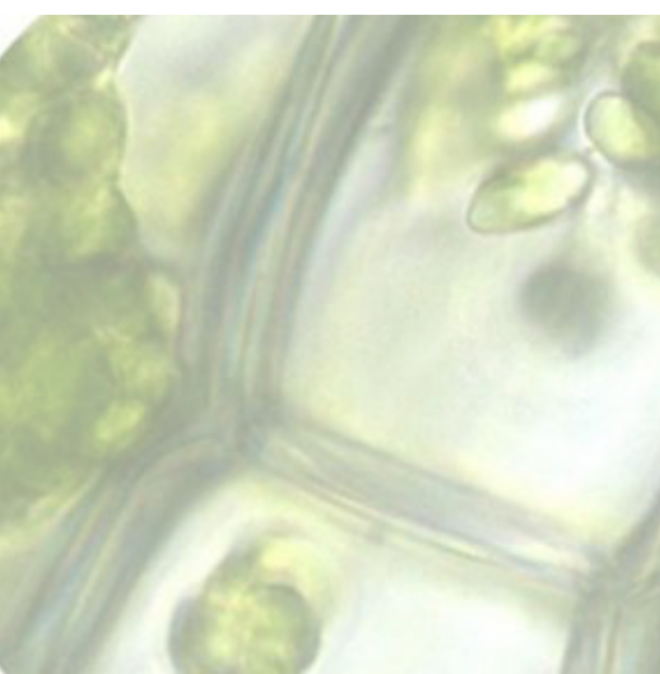
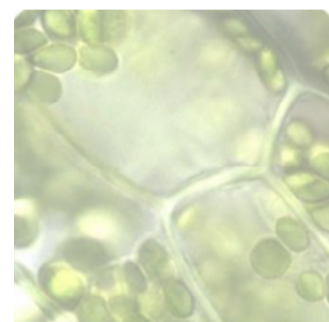
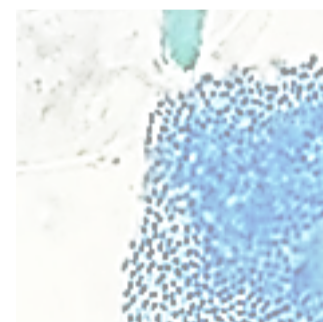
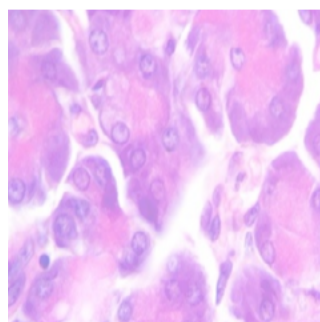
Prof. Italo Gurgel

Prof. José Edmar da Silva Ribeiro



José Eduardo Baroneza
Organizador

Atividades Práticas em Biologia Celular



EDIÇÕES
UFC

Fortaleza 2019



Atividades práticas em biologia celular

©2019 Copyright by José Eduardo Baroneza (Organizador)

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

Efetuada o depósito legal na Biblioteca Nacional

Divisão de Editoração

Coordenação Editorial

Moacir Ribeiro da Silva

Revisão de texto e normalização

Francisca de Sá Benevides

Programação Visual e Capa

Carlos Raoni Kachille Cidrão

Ficha Catalográfica

Bibliotecária: Perpétua Socorro Tavares Guimarães - CRB 3/801-98

Atividades práticas em biologia celular / Organizado por José Eduardo Baroneza – Fortaleza: Edições UFC, 2019.

128 p.: il.

ISBN: 978-85-7282-763-8

1. Biologia celular 2. Microscopia óptica
3. Aulas práticas I. Baroneza, José Eduardo
II. Título

CDD: 574.87

Editora Filiada à



Associação Brasileira das
Editoras Universitárias

José Eduardo Baroneza, Prof. Dr.

Professor do Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, professor da área de Morfologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Shirlei Octacílio da Silva, Profa. Dra.

Professora do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe.

Carla Maria Medeiros y Araujo, Profa. Dra.

Professora da área de Embriologia e Histologia do Departamento de Genética e Morfologia da Universidade de Brasília e coordenadora do projeto de extensão Somos Feitos de Células!

Lívia Rosato Moda, Profa. Dra.

Professora do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Alfenas.

Rodrigo Anselmo Cazzaniga, Dr.

Pós-doutorando em Biologia Molecular na Universidade Federal de Sergipe.

Allysson Coelho Sampaio, Prof. Dr.

Professor do curso de Medicina da Faculdade Santa Marcelina.

Marianna Picarelli Ribeiro Porto, Profa. Dra.

Professora do curso de Medicina da Faculdade Santa Marcelina.

Cleber Rafael Vieira da Costa, Prof. Ms.

Professor da Escola Técnica Positivo.

Rafael Monteiro de Oliveira, Thiago Gomes da Costa

Alunos do curso de mestrado em Biologia Celular e Molecular da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Amanda Ribeiro Bosch¹, Katheleen Kravicz¹, Victor Costa da Silva¹, Camila Kowodzeichak de Lima², Ana Carolina Bubniak², Luiza Fernandes de Carvalho², Amanda dos Santos de Lima Marinho³

Alunos dos cursos de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia¹ e de Biomedicina da Universidade Positivo² e de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília³.

Sumário

Capítulo 1 – Princípios de Microscopia Óptica | 8

José Eduardo Baroneza, Camila Kowodzeichak de Lima, Ana Carolina Bubniak, Luiza Fernandes de Carvalho

Capítulo 2 – Introdução à Histotecnologia | 14

José Eduardo Baroneza, Camila Kowodzeichak de Lima, Ana Carolina Bubniak, Luiza Fernandes de Carvalho

Capítulo 3 – Diversidade Celular | 20

José Eduardo Baroneza, Victor Costa da Silva, Amanda Ribeiro Bosch, Katheleen Kravicz

Capítulo 4 – Construção de Modelos

Didáticos em Biologia Celular | 25

Carla Maria Medeiros y Araujo, Amanda dos Santos Lima Marinho

Capítulo 5 – Compartimentos Intracelulares na

Microscopia Eletrônica | 34

José Eduardo Baroneza, Amanda Ribeiro Bosch, Katheleen Kravicz

Capítulo 6 – Compartimentos Intracelulares na

Microscopia Óptica | 42

José Eduardo Baroneza, Katheleen Kravicz, Amanda Ribeiro Bosch

Capítulo 7 – Transporte através de

Membranas Celulares | 47

José Eduardo Baroneza, Katheleen Kravicz, Amanda Ribeiro Bosch, Victor Costa da Silva

Capítulo 8 – O Citoesqueleto e Suas Implicações para as Células | 62

José Eduardo Baroneza, Amanda Ribeiro Bosch, Katheleen Kravicz, Victor Costa da Silva

Capítulo 9 – Peroxissomos | 71

Rafael Monteiro de Oliveira, Thiago Roncini Gomes da Costa

Capítulo 10 – Matriz Extracelular | 78

José Eduardo Baroneza

Capítulo 11 – Comunicação Celular | 82

José Eduardo Baroneza, Victor Costa da Silva

Capítulo 12 – Diferenciação Celular | 87

Shirlei Octacílio da Silva , Livia Maria Rosatto Moda

Capítulo 13 – Núcleo Celular | 95

Allysson Coelho Sampaio, Marianna Picarelli Ribeiro Porto

Capítulo 14 – Ciclo Celular | 111

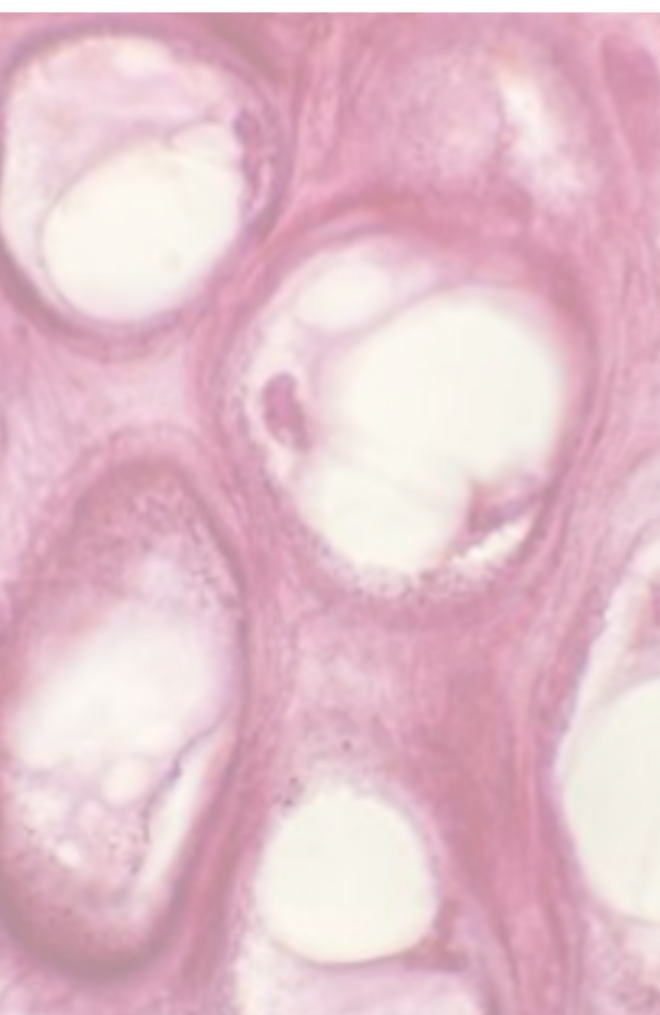
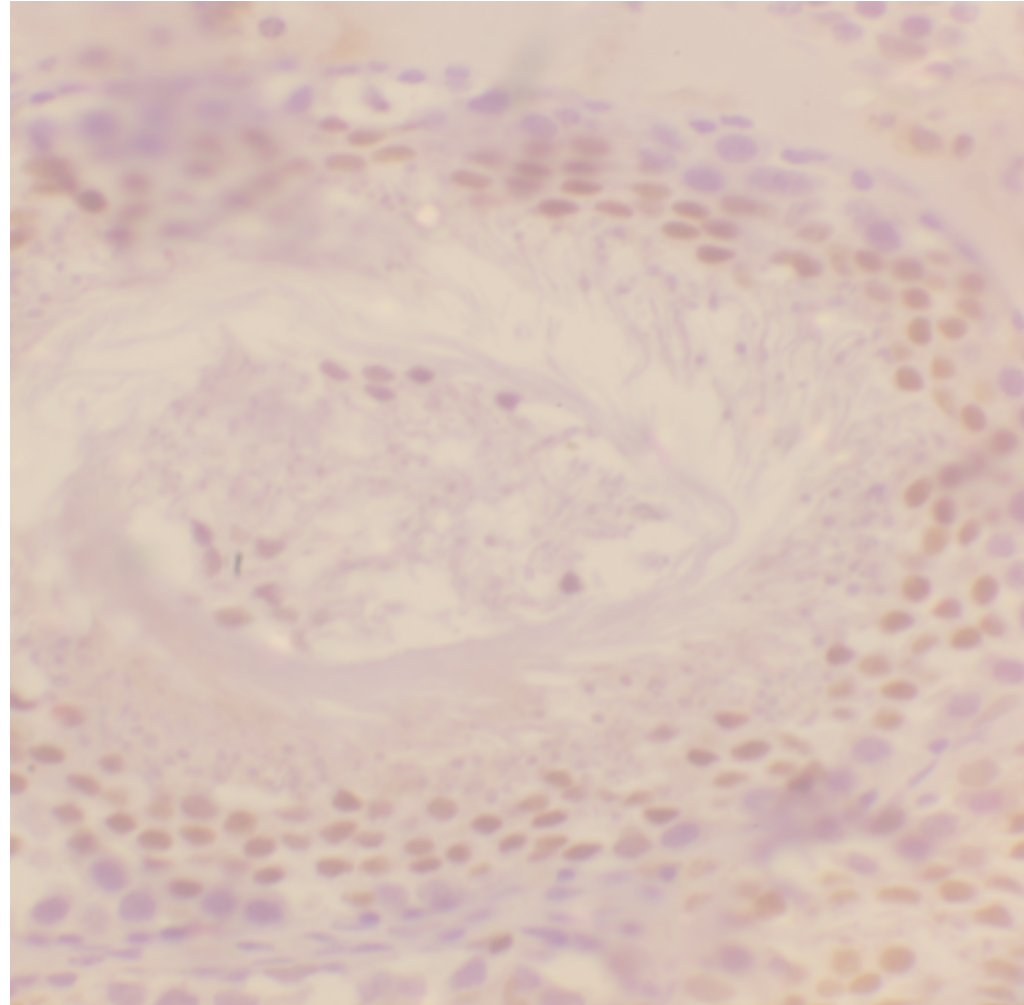
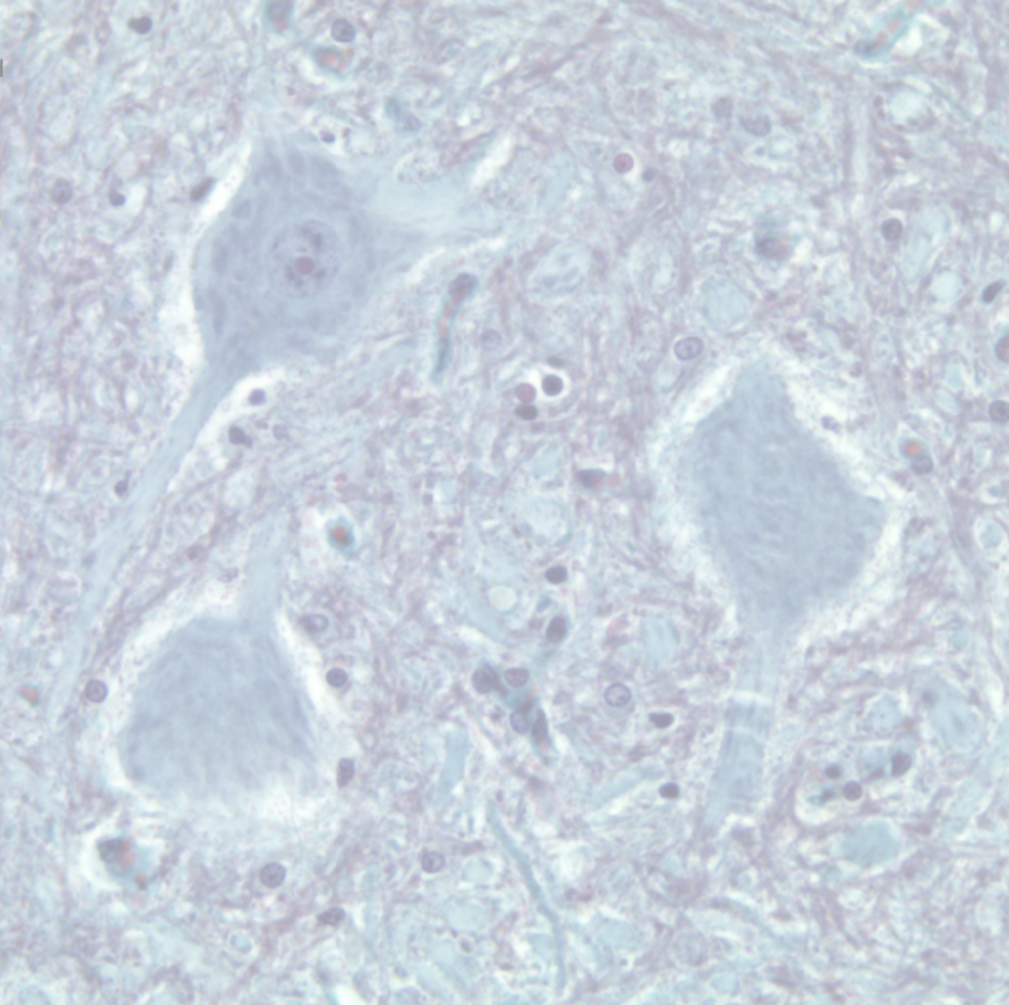
José Eduardo Baroneza, Victor Costa da Silva, Katheleen Kravicz, Amanda Ribeiro Bosch

Capítulo 15 – Processos de Síntese nas Células: Tradução | 116

Shirlei Octacílio da Silva , Rodrigo Anselmo Cazzaniga

Capítulo 16 – Morte Celular | 124

José Eduardo Baroneza, Cleber Rafael Vieira da Costa



CAPÍTULO 1

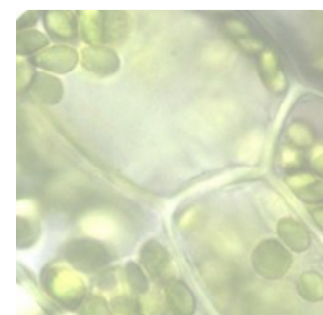
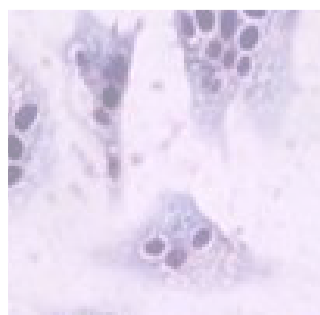
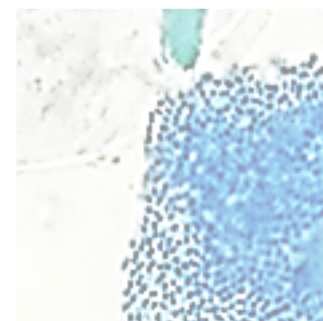
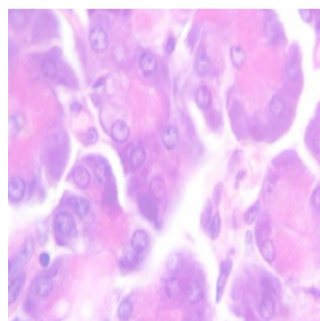
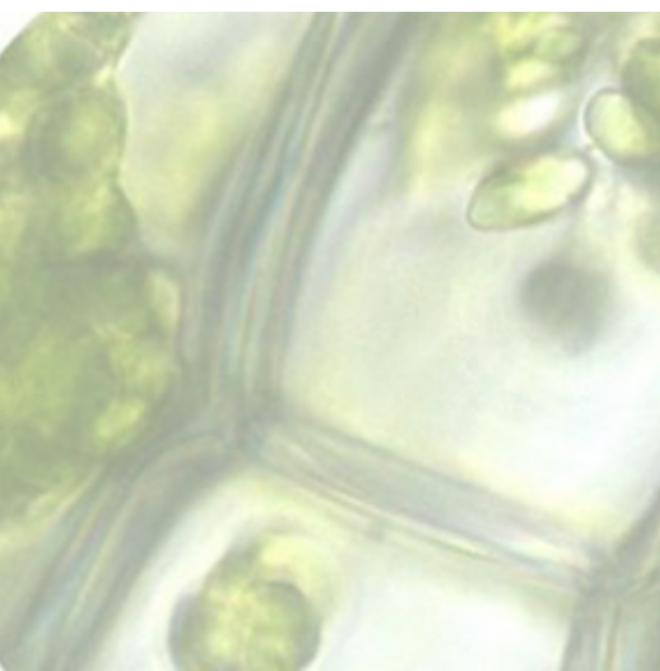
PRINCÍPIOS DE MICROSCOPIA ÓPTICA

José Eduardo Baroneza

Camila Kowodzeichak de Lima

Ana Carolina Bubniak

Luiza Fernandes de Carvalho



Introdução

Boa parte do conhecimento que possuímos hoje em biomorfologia se deve ao desenvolvimento de tecnologias que nos possibilitaram ampliar o mundo microscópico a ponto de ver em detalhes o que não pode ser observado a olho nu. Os microscópios ópticos são constituídos por componentes mecânicos e ópticos e utilizam conjuntos organizados de lentes para ampliar a imagem de pequenos objetos. A parte mecânica inclui a base, a coluna, o botão liga/desliga, a fonte de luz, o revólver, o potenciômetro, o diafragma, a mesa, a pinça e os parafusos macrométricos, micrométricos e *charriot* do microscópio óptico. A parte óptica é constituída por lentes denominadas oculares, objetivas e a condensadora.

A fonte de luz é o componente responsável pela emissão da luz necessária para a formação da imagem. O que controla a intensidade da luz no microscópio é o potenciômetro, normalmente localizado ao lado do botão liga/desliga.

Platina ou mesa dispõe-se perpendicularmente ao eixo óptico e tem por finalidade sustentar o objeto a ser examinado. Possui em seu centro um orifício que permite a passagem de raios procedentes da fonte luminosa. As platinas podem ser fixas ou móveis e apresentam grampos (presilhas) que servem para fixar as lâminas e evitar o seu deslizamento.

O parafuso *charriot* é o dispositivo de movimentação da lâmina sobre a mesa composto pelo parafuso macrométrico, responsável pelo deslocamento vertical de grande amplitude, e pelo parafuso micrométrico, responsável pelo deslocamento vertical de pequena amplitude ou pequenos ajustes de foco, permitindo a escolha do campo de estudo em um preparado.

O revólver localiza-se na extremidade inferior do canhão e possui de 3 a 5 vãos circulares, providos de roscas, onde se encaixam de 3 a 5 lentes objetivas, sempre na ordem de seu aumento progressivo.

Os componentes ópticos são os mais importantes do microscópio. A porção óptica é composta por uma fonte de luz e três conjuntos de lentes: lentes condensadoras, lentes objetivas e lentes oculares.

As lentes condensadoras se situam logo abaixo da platina do microscópio e têm por função projetar um cone de luz sobre o material que está sendo observado, o qual penetra nas lentes objetivas. As condensadoras apresentam um diafragma ou íris abaixo do sistema de lentes, que controlam a intensidade do feixe de luz e podem ser manipuladas pelo observador. As lentes objetivas podem ser secas ou de imersão, são as mais próximas do objeto e provocam um aumento na imagem na ordem de 4 a 100 vezes. As lentes de imersão devem ser usadas com óleo apropriado sobre o objeto, com índice de refração que permite a focalização.

As lentes oculares estão contidas em tubos curtos constituídos por um conjunto de lentes de modo que no extremo superior encontra-se a lente ocular e no inferior a lente de campo ou coletora. A sua função é ampliar a imagem intermediária produzida pela objetiva e projetá-la na retina. Normalmente, as oculares de um microscópio são constituídas para trabalharem em conjunto com as objetivas daquele mesmo microscópio, trazendo assim melhores resultados.

A ampliação final obtida com o microscópio é igual ao aumento da objetiva multiplicado pela ocular. Por exemplo: para se observar estruturas com intuito de ampliá-las 40 vezes em relação ao tamanho real deve-se usar a objetiva de 4x e a ocular de 10x.

Para que a imagem seja focalizada a ponto de permitir o estudo detalhado do campo observado, o objeto deve estar a uma distância precisa da retina. O parafuso macrométrico deve ser utilizado preferencialmente para ajustar o foco no aumento de 40x. Ele promove o deslocamento da mesa no sentido vertical, permitindo que o objeto altere sua posição em relação ao fundo do olho do observador, onde fica a retina. O parafuso micrométrico, por sua vez, proporciona um deslocamento menor da



Figura 1.1 - A) Lâmina vista a olho nu. B) Imagem em aumento de 40x.

mesa e permite focalizar objetos nos aumentos de 100x a 1.000x. A figura 1.1 exemplifica como a correta focalização de uma lâmina gera uma nítida visualização da imagem para o observador.

Além disso, é preciso entender como se deve usar o microscópio para obter as melhores imagens. Segue abaixo algumas dicas importantes:

- Antes de examinar no microscópio uma lâmina de vidro contendo fragmentos de tecidos ou células, ligue a fonte de luz e coloque a lâmina de vidro sobre a mesa. Confira se a posição da lamínula está correta, voltada em direção às lentes objetivas. Caso esteja utilizando um microscópio binocular, regule a distância lateral entre as lentes oculares para aquela na qual você tem o maior conforto visual.
- Mesmo que seu objetivo seja observar uma estrutura com aumento de 100 a 1.000 vezes, você deve antes focalizar no aumento de 40 vezes. Para tanto, mantenha a lente objetiva de 4x voltada para o objeto e movimente a mesa para cima com o auxílio do parafuso macrométrico até a imagem aparecer nítida.
- O ajuste do foco nos aumentos superiores a 40x só deve ser realizado com o auxílio do parafuso micrométrico; este cuidado diminui o risco de danificar a lâmina e o microscópio. Ao girar o revólver para mudar a lente objetiva, faça sempre na ordem crescente de aumento.
- A lente objetiva de 40x pode ser usada com ou sem óleo de imersão sobre a lamínula de vidro. Entretanto, para obter imagens nítidas de um objeto sob a lente objetiva de 100x, o uso de óleo de imersão é essencial. O óleo de imersão possui densidade óptica ideal que permite o correto direcionamento dos feixes de luz em direção a essa lente.
- Caso as lentes estejam sujas, você pode ter dificuldade de focalizar. Nesse caso, recomendamos que ela seja limpa com o auxílio de gaze ou um bom papel toalha embebido com solução de etanol 50 % e éter 50 %.
- Após o uso de óleo de imersão, lembre-se de limpar as lâminas de vidro e as lentes objetivas com o mesmo procedimento indicado no item anterior.

- Ao final, o microscópio deve ser deixado em posição de descanso, com a objetiva de menor aumento voltada para a mesa, com a fonte de luz desligada e a bancada de trabalho limpa.

Prática: aprendendo a focar

Objetivo

Identificar as diferentes partes do microscópio óptico e aprender a pôr imagens em foco.

Materiais

- Microscópio óptico;
- Lâminas de vidro preparadas com letras diversas. O material pode ser preparado anteriormente à aula com os seguintes materiais:
 - lâminas e lamínulas de vidro para microscopia;
 - recortes de pedaços de papel com letras impressas (tamanho 4 ou 5);
 - bálsamo do Canadá ou verniz vitral para selar a lamínula sobre a lâmina, caso se queira arquivar.

Metodologia

- Identificar e manipular as diferentes partes do microscópio com auxílio do professor.
- Colocar a lâmina de vidro com letras sobre a mesa. A lamínula sempre deve estar voltada para cima, em proximidade com a lente objetiva.
- Manipular o parafuso *charriot* para deslocar a lâmina sobre a mesa de modo que o que se deseja pôr em foco esteja exatamente sobre o orifício por onde passa a luz.
- Observar com a objetiva de 4x (aumento de 40x) voltada para a lâmina. Manipular o parafuso macrométrico até encontrar a distância correta da mesa para a formação da imagem.

- Passar para a objetiva de 10x e na sequência a de 40x, não se esquecendo de ajustar o foco manipulando o parafuso micrométrico.

Questões para discussão

1. Que diferença existe entre o significado do poder de aumento e o poder de resolução de um microscópio óptico?
2. Qual a função do microscópio óptico de contraste de fase e como um microscópio óptico convencional pode ser adaptado para funcionar como microscópio óptico de contraste de fase?

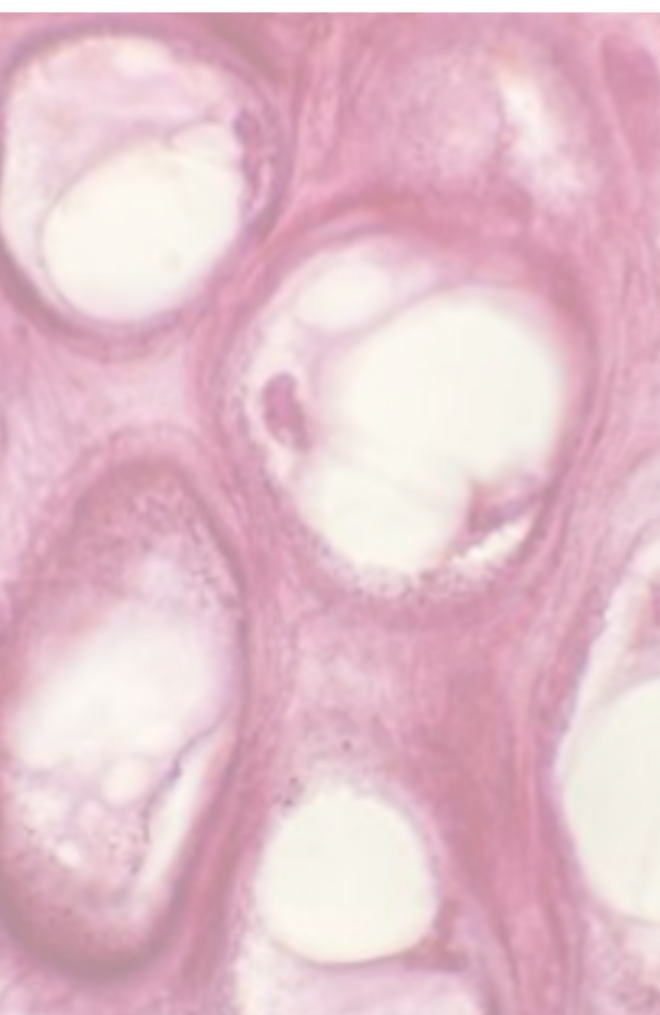
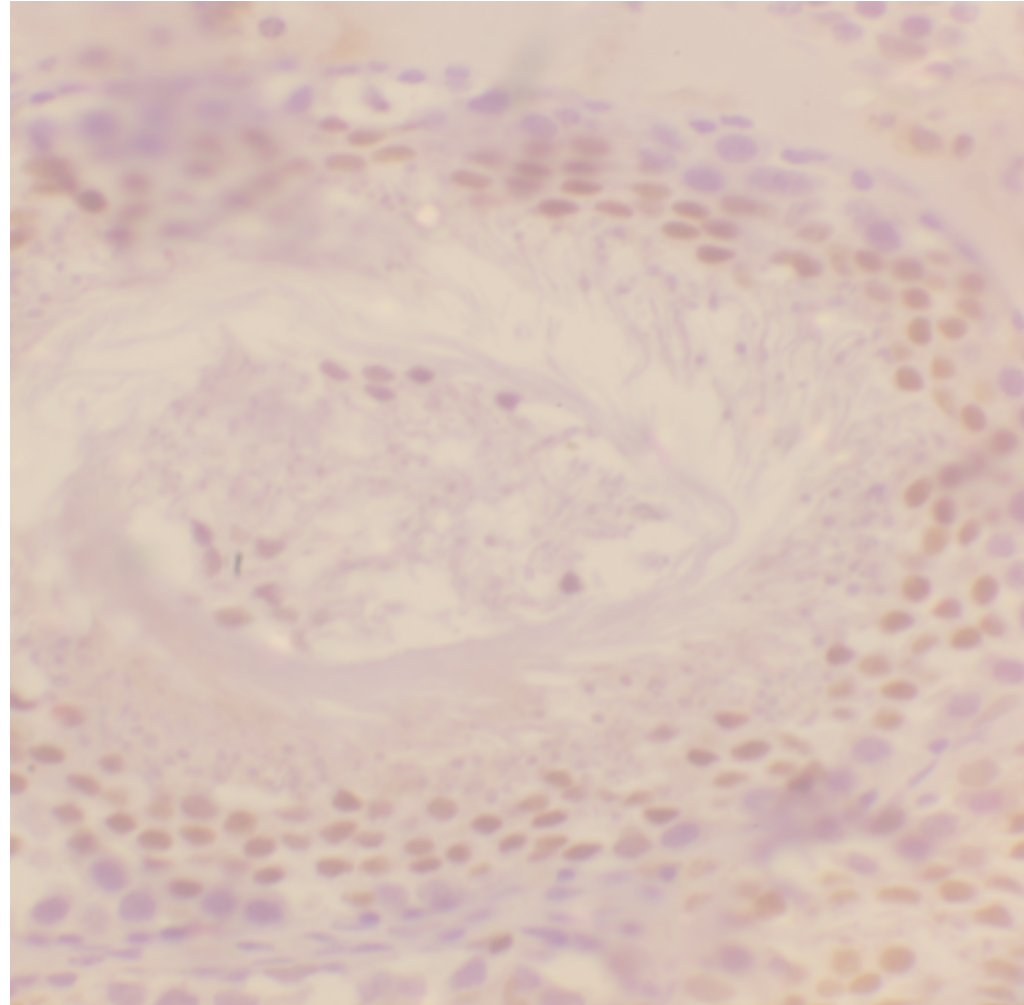
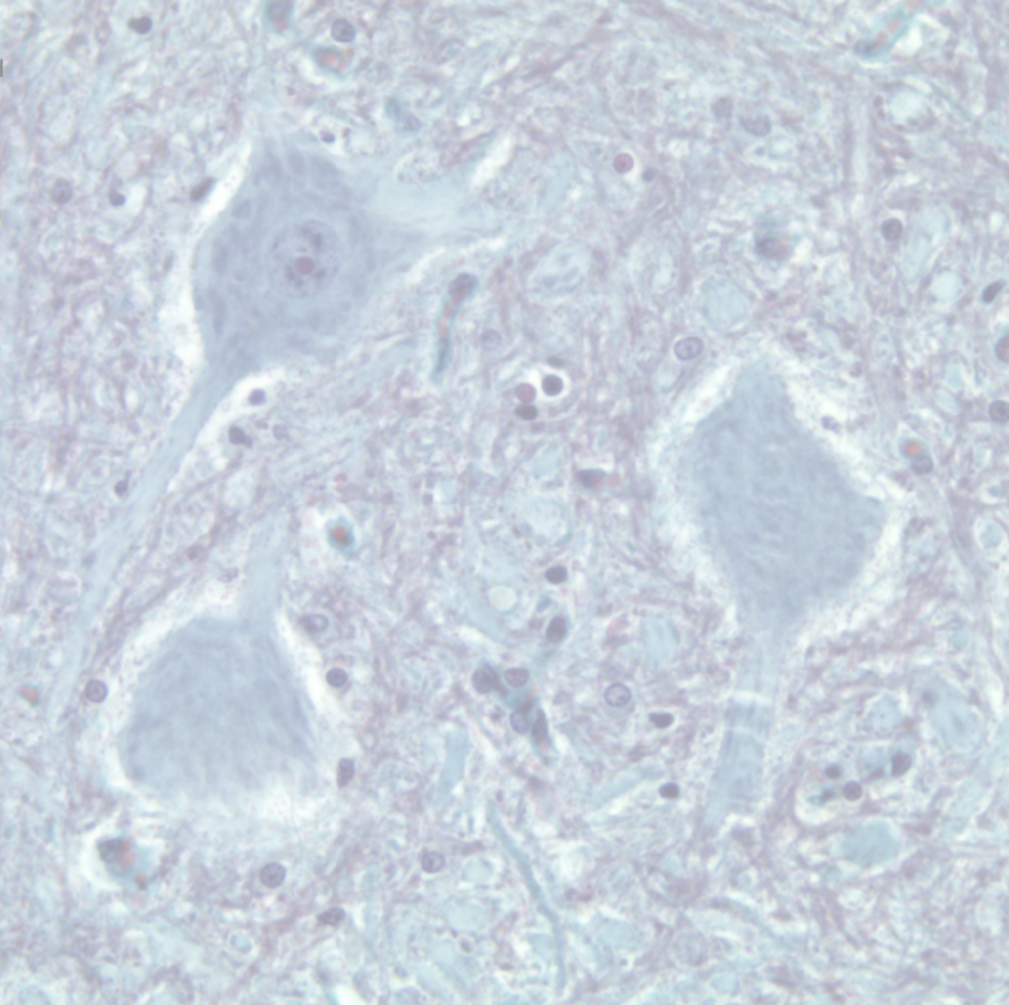
Referências

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. (Org.). *Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde*. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009, v. 1, p. 125-153.

RIBEIRO, C. A. O.; REIS FILHO, H. S.; GRÖTZNER, S. R. *Técnicas e métodos para utilização prática de microscopia*. São Paulo: Santos, 2012.

TELSER, A. G.; YOUNG J. K.; BALDWIN, K. M. *Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.



CAPÍTULO 2

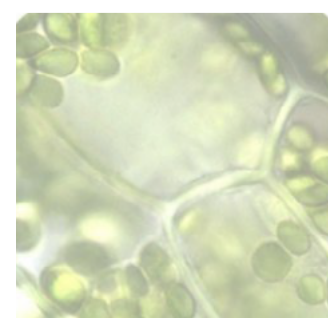
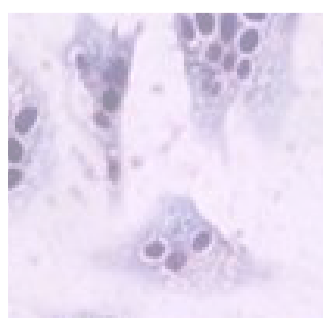
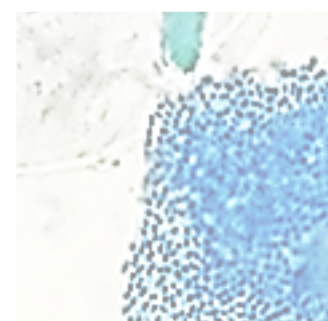
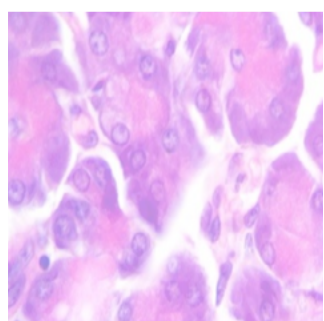
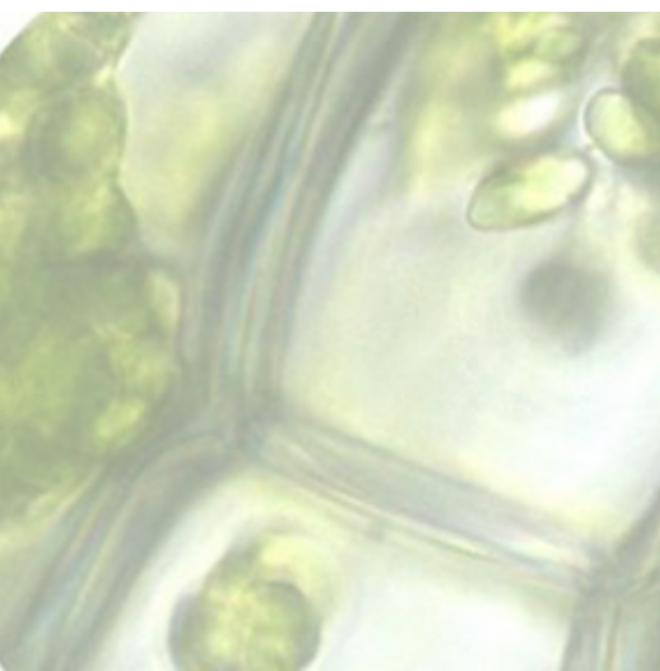
INTRODUÇÃO À HISTOTECNOLOGIA

José Eduardo Baroneza

Camila Kowodzeichak de Lima

Ana Carolina Bubniak

Luiza Fernandes de Carvalho



Introdução

A técnica histológica é o conjunto de procedimentos que tem por objetivo preparar lâminas de vidro contendo amostras biológicas para serem observadas no microscópio óptico. Nesse processo, é importante preservar a estrutura e a organização das células e dos tecidos, que em sua maioria devem ser corados e colocados sobre o vidro, desde que estejam finos o suficiente para permitir que a luz do microscópio atravesse o material e atinja as lentes objetivas.

As lâminas de vidro com fragmentos para análise citológica e histológica podem ser produzidas para observações rápidas e pontuais ou para análises sequenciais em longo período de tempo. Nesse caso, são confeccionadas lâminas permanentes que passam por um conjunto de etapas que resumidamente descreveremos a seguir.

A técnica histopatológica começa pela coleta do material de interesse e passa pelas etapas de fixação, desidratação, clarificação, inclusão, coloração e montagem.

O procedimento de coleta do material é realizado removendo amostras de tecido do organismo a ser estudado. Após a coleta, o material deve ser devidamente identificado e imediatamente fixado para preservar ao máximo as estruturas celulares, interrompendo o metabolismo celular e estabilizando as estruturas e os componentes bioquímicos intracelulares e extracelulares.

O tipo de fixador empregado e o tempo de fixação podem variar de acordo com o objeto a ser submetido à técnica. Existem fixadores físicos e químicos. Em centros cirúrgicos e laboratórios de anatomia patológica, a fixação física a frio é a mais utilizada, devido principalmente à rapidez do procedimento quando comparado aos fixadores químicos. A fixação química é a mais utilizada em laboratórios de pesquisa e depende da imersão do objeto de interesse em solução fixadora apropriada, que pode ser de vários tipos, dependendo do material a ser fixado, da disponibilidade dos químicos necessários para o procedimento no laboratório e da experiência do pesquisador. Os fixadores mais utilizados em laboratórios são à base de aldeídos, como o formaldeído. O formaldeído é um gás incolor, fornecido em solução na concentração de 37 % ou 40 %. Quando utilizado em solução à base de formaldeído a 10 %, chama-se formalina.

Após manter o objeto de interesse imerso na solução fixadora pelo tempo correto, que difere para cada fixador, deve-se preparar o material para uma etapa essencial da técnica histológica: a inclusão. A inclusão consiste em embeber a amostra em parafina líquida, em ambiente apropriado cuja temperatura possa ser mantida entre 55 °C e 60 °C. Nesse procedimento, a parafina penetra nos tecidos visando ocupar os espaços onde "in vivo" existia uma solução aquosa. Entretanto, a água existente nos tecidos não é miscível com a parafina, de modo que para realizar a inclusão é necessário que anteriormente a amostra biológica seja desidratada e clarificada. O objetivo da desidratação é retirar a água do interior da célula e inserir álcool etílico em seu lugar. O álcool etílico, por sua vez, também não se mistura com a parafina, mas é miscível com a solução clareadora xilol, que, por sua vez, é miscível com a parafina líquida. A desidratação alcoólica realizada anteriormente à clarificação é necessária, uma vez que a água não se mistura com solução de xilol.

Para que se obtenha sucesso na série de procedimentos entre a fixação e a inclusão, o material deve ser desidratado por meio da imersão em soluções alcoólicas de concentração crescente, variando entre 70 % e 100 %, e posteriormente clarificado em solução de xilol. Embora de elevada toxicidade, a solução de xilol é muito utilizada na prática histológica e ocorre com a mistura dos solventes ortoxileno, metaxileno e paraxileno, três compostos do tipo dimetilbenzeno. As soluções com diferentes graduações alcoólicas, o tempo de cada passagem e até mesmo o uso do xilol na pré-inclusão podem sofrer alterações em protocolos para amostras diferentes. Portanto, antes de iniciar a técnica, convém realizar uma busca bibliográfica e testar o protocolo escolhido.

A inclusão em parafina é realizada para tornar possível o corte do tecido. Como já mencionado anteriormente, é necessário que a parafina esteja em sua forma líquida e o procedimento seja realizado em estufa. Após esse procedimento, o objeto em parafina líquida deve ser refrigerado para que a mesma solidifique, no intuito de proporcionar dureza suficiente à amostra para que possa ser cortada em finíssimas fatias no procedimento conhecido como microtomia.

A microtomia consiste na obtenção, com o auxílio de navalhas de aço, de cortes finos e uniformes da amostra biológica a ser analisada. O equipamento necessário para esta etapa do processo histológico é o micrótomo, que permite realizar cortes tão finos como 1 μm , embora a maioria dos laboratórios de histologia e patologia utilize cortes de 4 a 6 μm . Fatias da amostra com espessura superior a isto não são indicadas, pois o acúmulo de células no plano vertical pode prejudicar a visualização da imagem e atrapalhar ou mesmo impedir a análise do material.

Os cortes devem ser distendidos e posicionados sobre lâminas de vidro. Este procedimento pode ser realizado utilizando o banho-maria com água aquecida e posterior pescagem do material. Alguns laboratórios que não dispõem de banho-maria distendem os cortes posicionando-os sobre uma gota de água depositada na superfície da lâmina de vidro e posteriormente aquecendo o conjunto numa placa quente a cerca de 50 °C. Após a distensão do objeto, a lâmina deve ser levada à estufa para que a água entre o corte e a lâmina evapore, de modo a facilitar a adesão entre ambos.

As próximas etapas correspondem à desparafinização e à hidratação do material para que possa ser submetido à coloração, etapa de grande importância, uma vez que possibilita que diferentes estruturas intracelulares e extracelulares sejam analisadas ao microscópio de luz. As lâminas de vidro com cortes já aderidos devem passar rapidamente pelo xilol (desparafinização) e por uma série alcoólica decrescente (hidratação) antes de imergirem nos corantes. Embora haja vários corantes, os mais utilizados na histologia convencional são a hematoxilina e a eosina. A eosina é um corante ácido que possui afinidade por componentes básicos tanto nas células quanto na matriz extracelular. A hematoxilina é um corante básico com afinidade por estruturas ácidas como o núcleo, as mitocôndrias, os lisossomos, as regiões citosólicas ricas em ribossomos e a matriz extracelular rica em ácido hialurônico, como a matriz de cartilagem hialina e elástica. Após a coloração, sobre a lâmina deve ser adicionada uma solução selante e a lamínula. É importante deixar o conjunto secar no interior de uma estufa de 24 a 48 horas antes da observação no microscópio óptico.

Prática: entendendo a histotecnologia

Objetivo

Compreender o passo a passo da técnica histológica fundamental e as diferenças entre a preparação de amostras oriundas de tecidos e os organismos diferentes.

Metodologia

- Você deve escolher uma amostra biológica de seu interesse e realizar a pesquisa bibliográfica para entender o passo a passo para a confecção de lâminas de vidro que possibilitem a observação do material escolhido. Exemplos de amostras: sangue, asa de inseto, embrião de galinha, brânquias de peixes, ossos de camundongo, pele de cachorro, fígado de rato, entre outros.
- Você deve redigir um texto explicando o processo histológico para análise do seu material. Seu texto deve conter um resumo da técnica e um organograma com o passo a passo.
- Em um próximo encontro, devem ser formados grupos de 4 ou 5 alunos, para discutir, na forma de mesa-redonda, as diferenças e similaridades do procedimento para preparação de cada amostra escolhida.

Recomendamos que a discussão seja supervisionada por tutores com conhecimento prático em histotecnologia.

Questões para discussão

1. Ao observar uma lâmina de corte de fígado, você percebe que aparentemente o material se apresenta com dobras, onde células são sobrepostas. Essas dobras podem ocorrer como resultado de descuido em que momento do processo histológico?
2. Ao analisar um corte de pâncreas, você verifica tons de coloração variáveis em diferentes segmentos do objeto, prejudicando a análise. O que pode motivar esse problema?

3. Que tipos de problemas podem ocorrer em lâminas histológicas como resultado da fixação pelo tempo inadequado (menor ou maior que o recomendado)?
4. Que prejuízo pode ter uma amostra em que o processo de inclusão ocorreu em estufa à temperatura superior a 60 graus?
5. Que cuidados deve ter o profissional especializado em histotecnologia ao preparar lâminas de tecidos calcificados, como dentes, muito hidratados, como embriões em estágios iniciais ou com pelos como a pele?
6. Por quanto tempo é possível assegurar a qualidade de uma lâmina de vidro preparada para observação histológica?

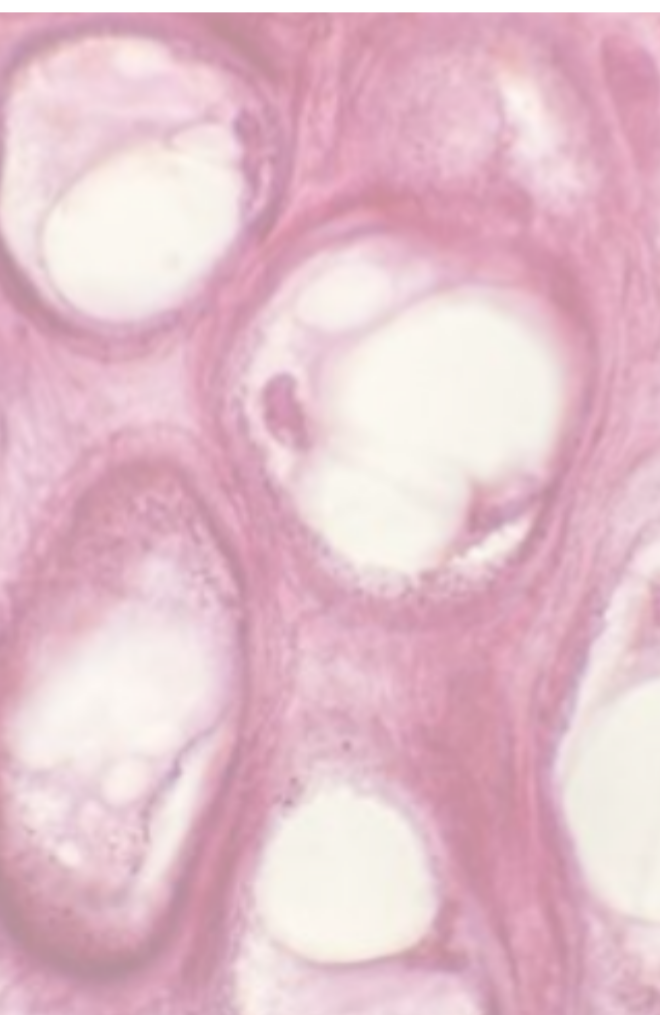
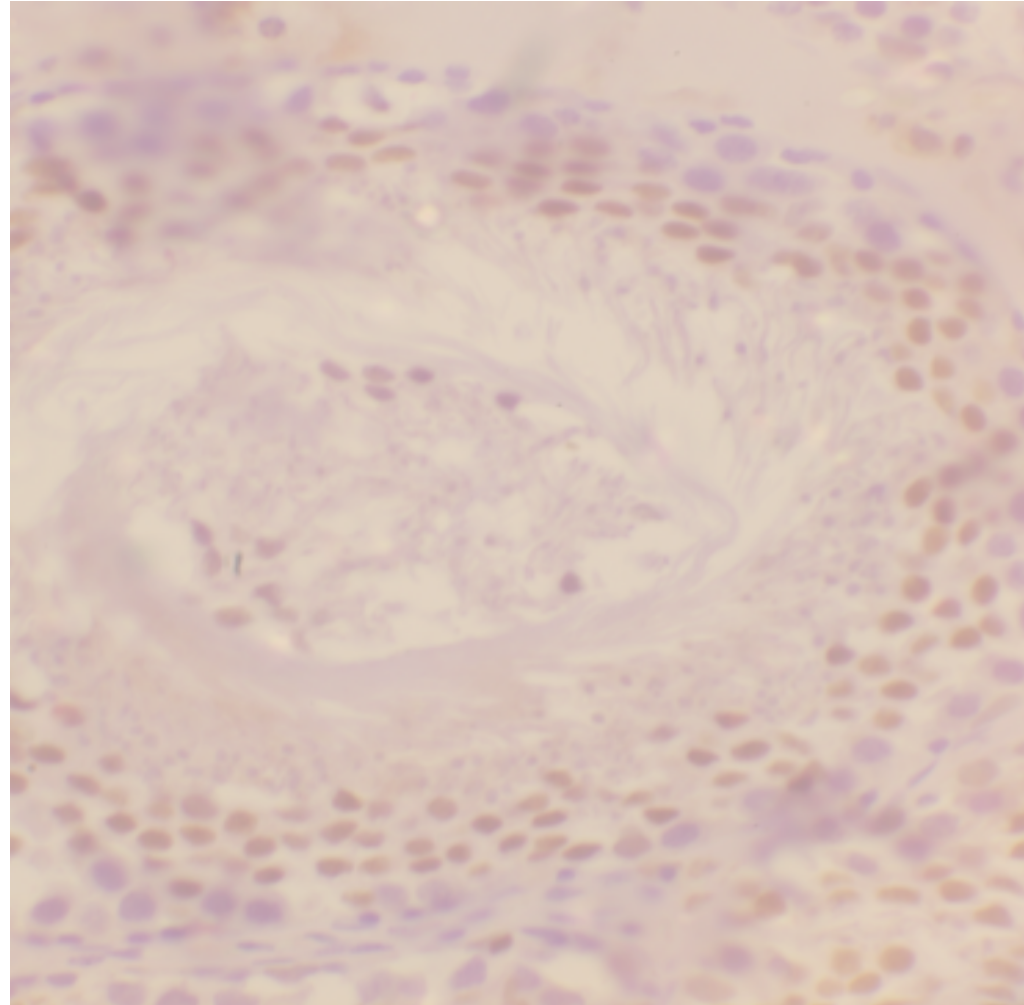
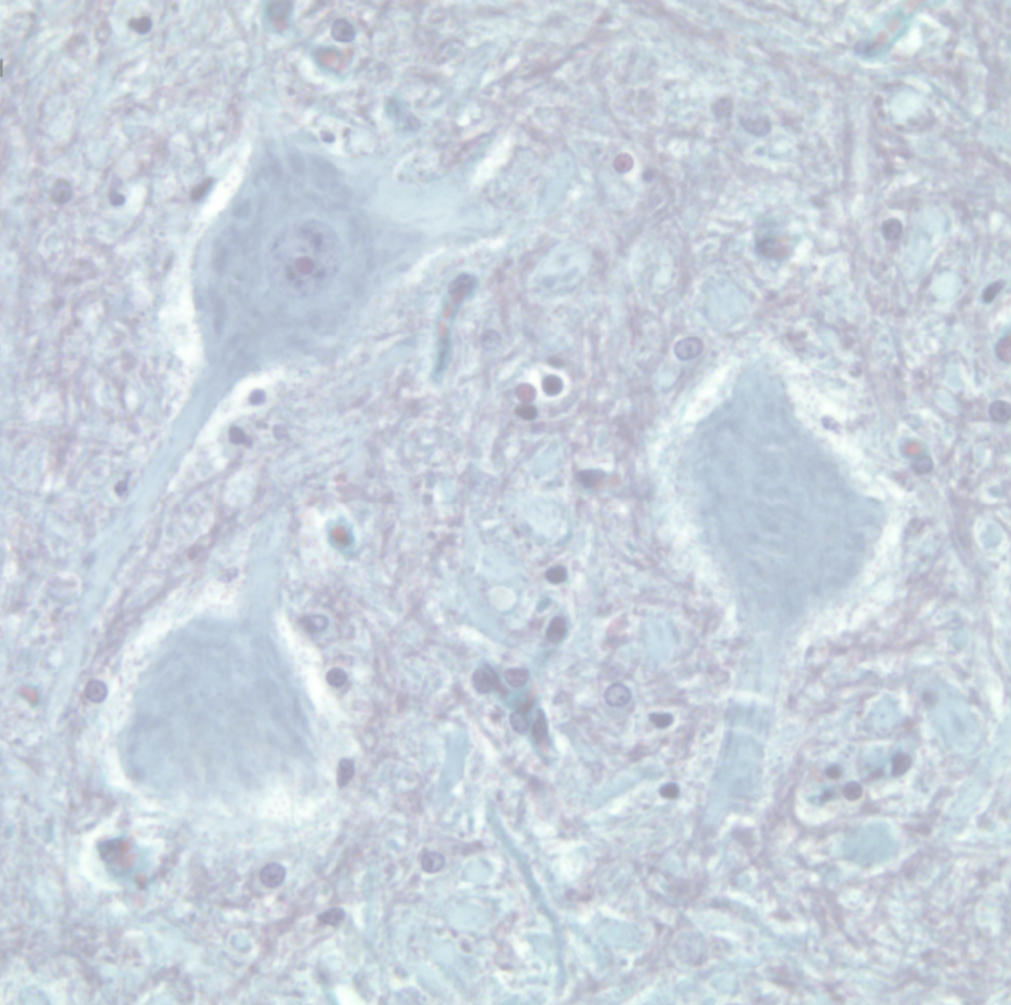
Referências

EYNARD, A. R.; VALENTICH, M. A.; ROVASIO, R. A. *Histologia e embriologia humanas*: bases celulares e moleculares. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 46-50.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. (Org.). *Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde*. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2010, v. 2, p. 89-187.

RIBEIRO, C. A. O.; FILHO, H. S. R.; GRÖTZNER, S. R. *Técnicas e métodos para utilização prática de microscopia*. São Paulo: Santos, 2012. p. 1-57.

TELSER, A. G.; YOUNG J. K.; BALDWIN, K. M. *Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.



CAPÍTULO 3

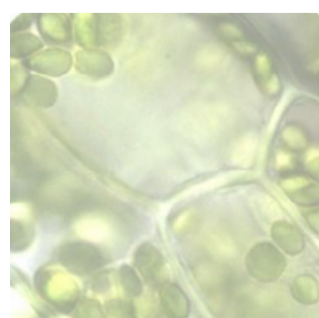
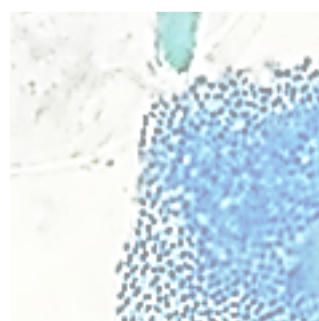
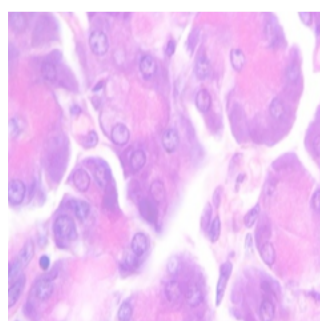
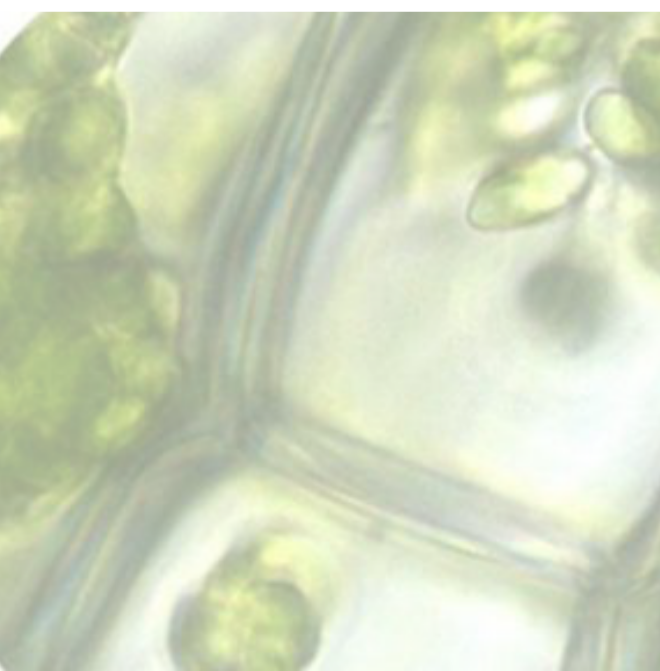
DIVERSIDADE CELULAR

José Eduardo Baroneza

Victor Costa da Silva

Amanda Ribeiro Bosch

Katheleen Kravicz



Introdução

Quantos tipos de células existem? Somente no corpo humano são encontradas mais de duas centenas de diferentes células. Ao considerar as plantas, as bactérias, os fungos e outros animais, esse número aumenta em muitos milhares e isso é uma evidência da enorme diversidade celular presente no universo dos seres vivos.

A diversidade que vemos hoje se deve a vários fatores, entre eles destacam-se a simbiose, que incorporou mitocôndrias e cloroplastos às células eucarióticas, as invaginações membranares, que possibilitaram o surgimento da rede interna de endomembranas, e as mutações, alterações no DNA que ocorreram ao longo dos bilhões de anos nos quais a vida tem se desenvolvido em nosso planeta. Cada ambiente ocupado pelas células é capaz de recompensar ou castigar as mudanças apresentadas por elas ao longo do processo evolutivo. Individualmente, as mudanças podem não representar muito, mas o acúmulo de mudanças ao longo das gerações acaba por transformar cada organismo de forma particular.

A presença no interior das células de uma membrana dupla que envolve o material genético e delimita o núcleo celular, a carioteca, as divide em dois grandes domínios: procariontes e eucariontes. Células procariontes não possuem carioteca e são exclusivas das bactérias. Células eucariontes, por sua vez, estão nos animais, vegetais e fungos, possuem carioteca e, portanto, são nucleadas. Além disso, há outras diferenças, tais como a completa ausência de compartimentos revestidos por membranas na célula procariótica. Esses compartimentos, tais como o retículo endoplasmático, os lisossomos, os peroxissomos, as mitocôndrias, os cloroplastos, o complexo de Golgi e as diversas vesículas de transporte, são características presentes nas células eucarióticas. Entre as células eucarióticas, as plantas e os fungos apresentam parede celular externa à membrana plasmática. Essa estrutura, rica em proteínas e carboidratos, tem função de proteger as células desses organismos. Até pouco tempo atrás acreditava-se que as células procarióticas não possuíam moléculas do citoesqueleto, entretanto novas pesquisas relatam a sua presença tanto quanto em células eucarióticas.

Nesta atividade, poderemos observar a diferença entre a célula bacteriana, a animal e a vegetal. No final, não se esqueça de desenhar o que foi observado e anotar suas observações.

Prática: observando as diferenças entre células procariontes e eucariontes

Objetivos

Visualizar células eucariontes e procariontes. Desenhar e anotar as diferenças.

Materiais para observação de células animais e bactérias

- Lâminas e lamínulas para microscopia;
- Palitos de madeira para a coleta de células de mucosa oral (caso não tenha os palitos, a coleta pode ser realizada utilizando lâminas de vidro limpas, higienizadas em etanol 70 % e secas);
- Corante azul de metileno;
- Pipetas *Pasteur*;
- Frasco com água e detergente para descarte de lâminas após a prática.

Metodologia para observação de células animais e bactérias

- Com a boca aberta, pressionar pelo lado externo a lateral da bochecha com ajuda do dedo polegar.
- Raspar a mucosa interna da bochecha com o auxílio do palito ou da lâmina de vidro.
- Realizar um esfregaço das células coletadas sobre a lâmina de vidro. Para tanto, caso tenha coletado com o palito, arrastar as células coletadas sobre a superfície da lâmina. Caso tenha coletado com a lâmina, realizar o esfregaço com o auxílio de uma segunda lâmina de vidro.

- Esperar secar.
- Gotejar sobre as células a solução corante azul de metileno.
- Esperar 5 minutos.
- Colocar a lamínula sobre a lâmina.
- Retirar o excesso de corante com papel absorvente.
- Levar a lâmina preparada para o microscópio de luz e observar nas objetivas 4x, 10x, 40x e 100x.

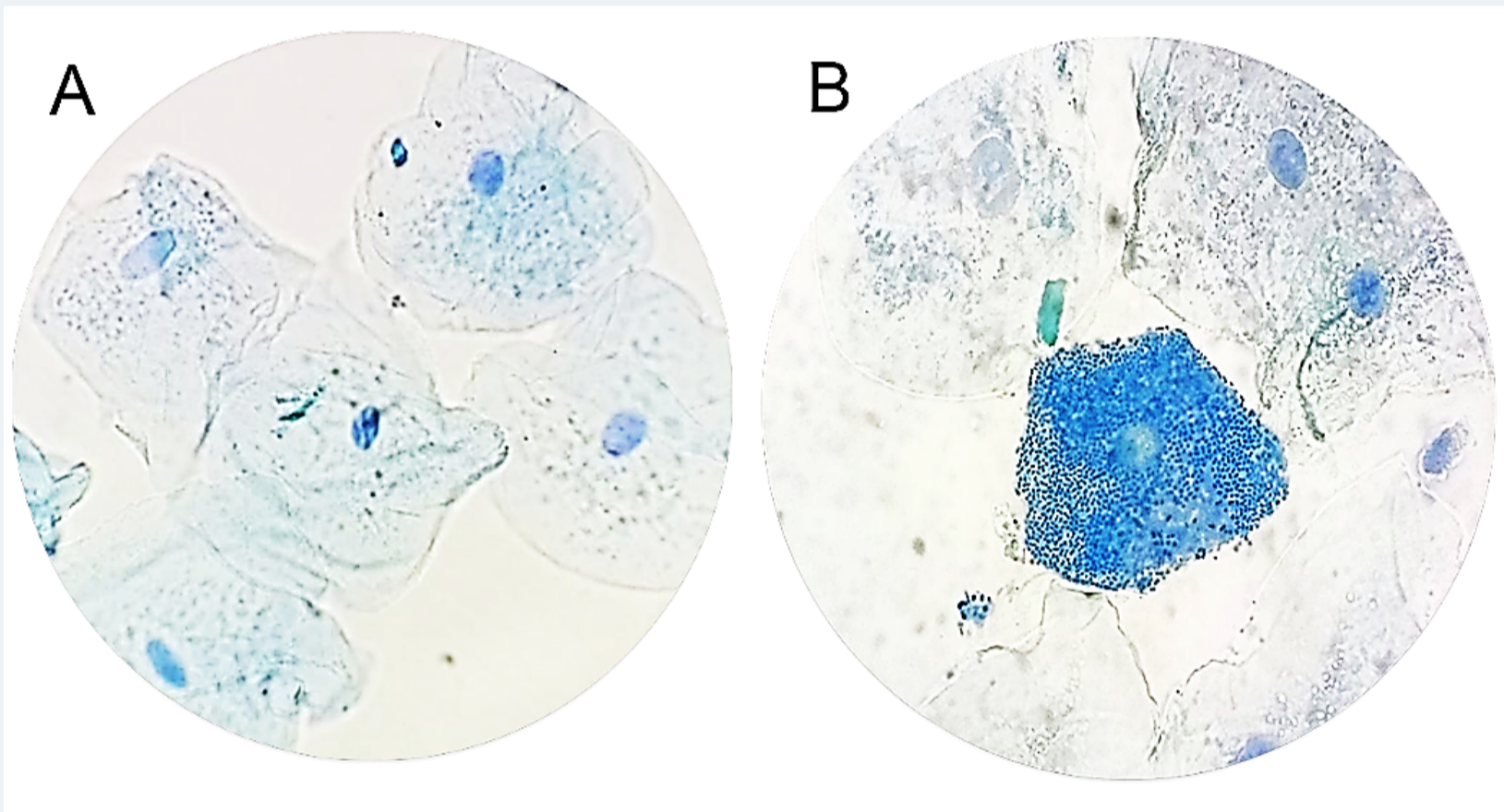


Figura 3.1 – Observação de células da mucosa oral. A) Células eucariontes da mucosa oral em aumento de 400x. Observar o núcleo em tom de azul mais escuro que o citosol. B) Bactérias diplococos comuns da mucosa oral sobre uma das células em aumento de 400x.

Materiais para observação de células vegetais

- Lâminas e lamínulas para microscopia;
- Folhas de *Elodea sp.*;
- Frasco com água;
- Pipeta *Pasteur*.

Metodologia para observação de células vegetais

- Retirar uma folha de *Elodea* do ramo com o auxílio da pinça.
- Colocar a folha sobre a lâmina e adicionar uma gota de água.
- Cobrir a folha com uma lamínula de vidro e levar ao microscópio óptico.
- Observar e ilustrar a célula.

Questões para discussão

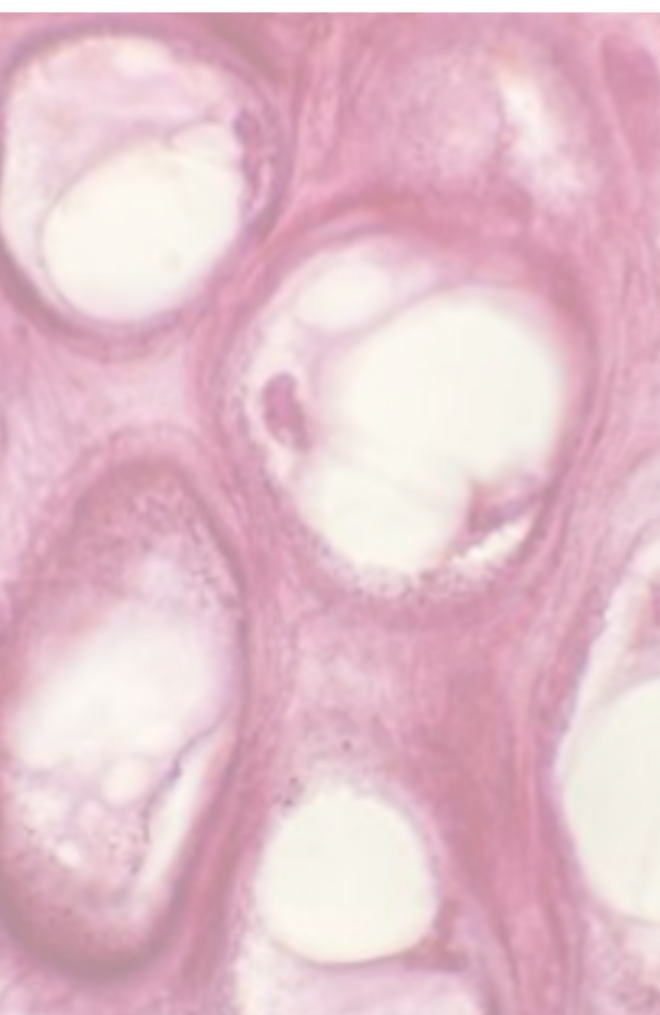
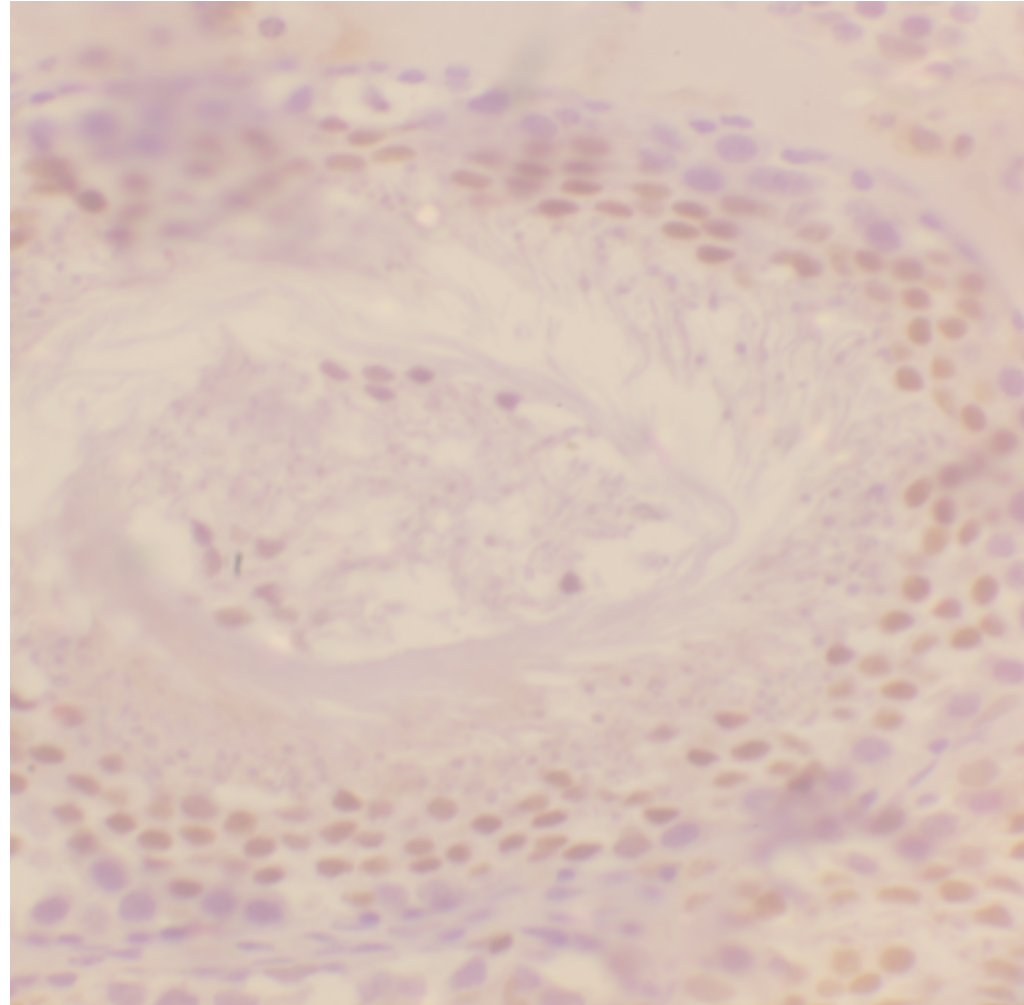
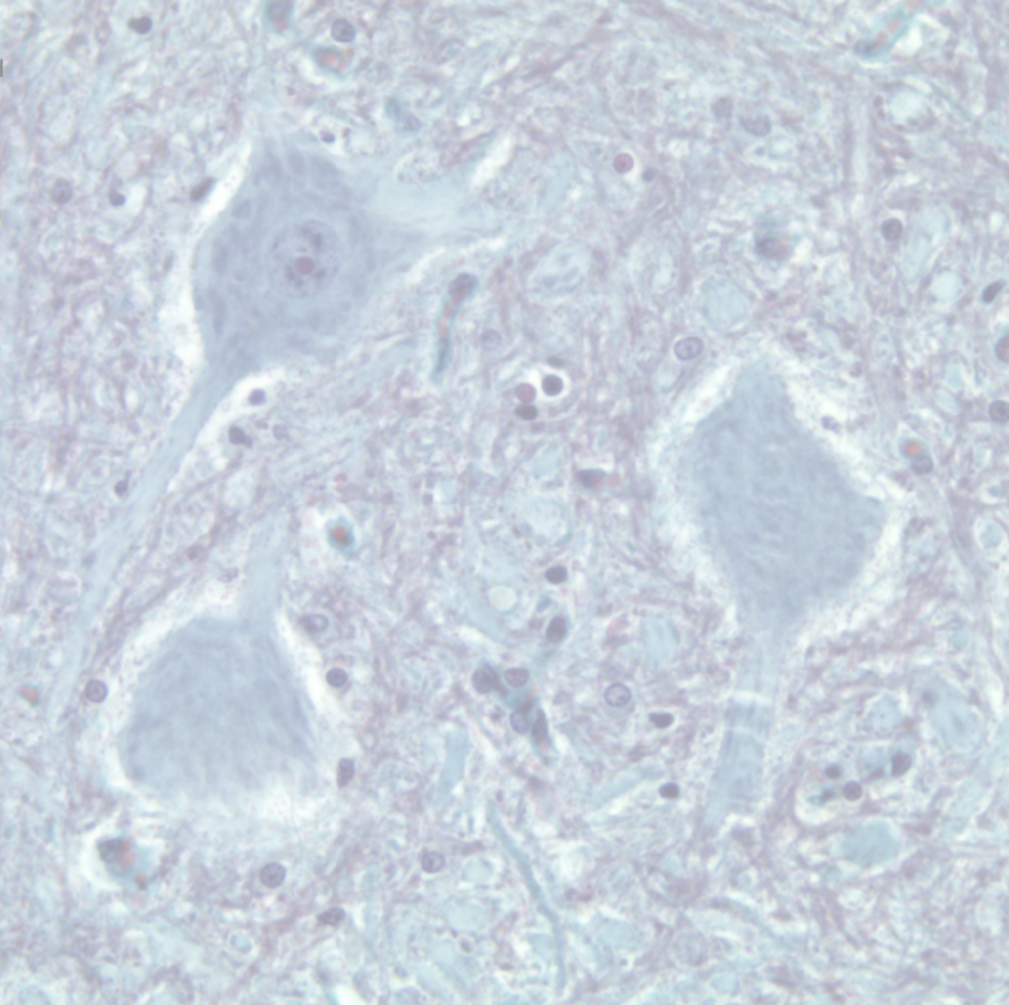
1. De que maneira as mutações podem ser benéficas para as células?
2. Que vantagens a presença de parede celular fornece às células que a possui?
3. Por que células procarióticas e eucarióticas variam em volume?
4. Na prática realizada, por qual motivo o núcleo das células de mucosa oral se corou mais intensamente que o citosol?
5. Que organelas foram observadas nas células vegetais e por qual motivo não foi necessário corar essas células durante a metodologia empregada?
6. Por que motivo ocorre movimento das organelas observadas na célula vegetal?

Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Biologia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

JUNQUEIRA, L. C. U.; SILVA FILHO, J. C. da (coautor). *Biologia celular e molecular*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. (coautor). *Microbiologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

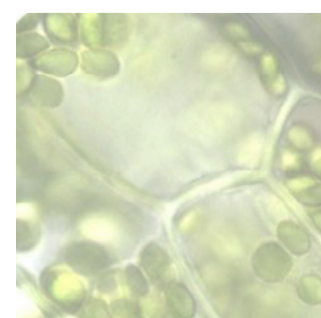
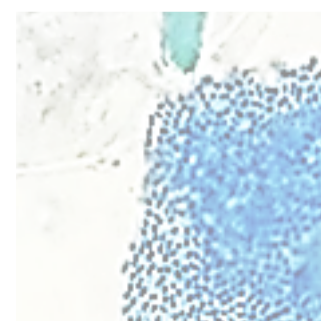
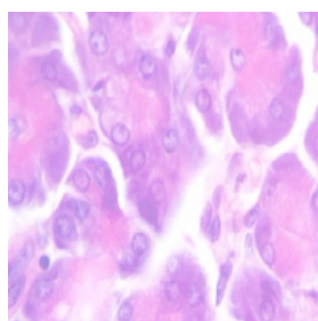
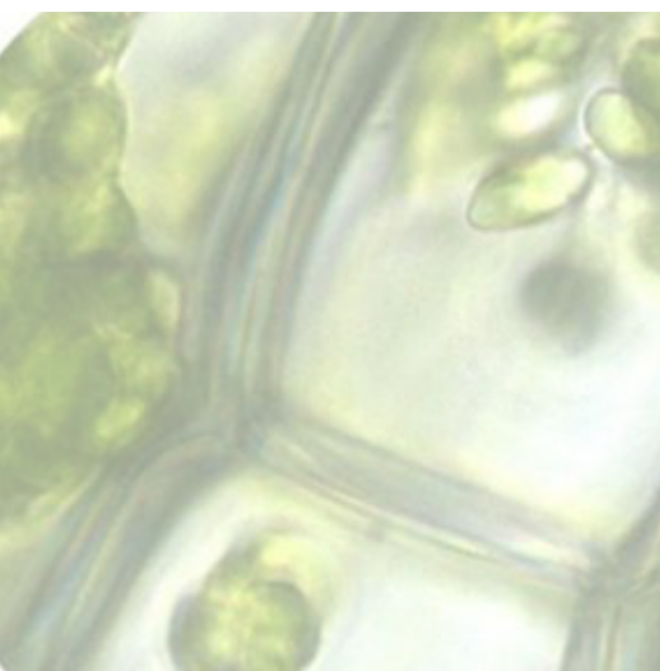


CAPÍTULO 4

CONSTRUÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS EM BIOLOGIA CELULAR

Carla Maria Medeiros y Araujo

Amanda dos Santos Lima Marinho



Introdução

Há quase duzentos anos, o botânico alemão Matthias Schleiden, o zoólogo alemão Theodor Schwann e o médico polonês Rudolf Virchow lançaram mão de proposições que persistem nos livros de Biologia Celular. Tais proposições foram compiladas na popular “teoria celular”, por meio da qual se passou a considerar que a célula é a unidade básica estrutural e funcional de todos os organismos vivos e que todas as células se originam de células preexistentes. São trilhões dessas “unidades básicas” compondo o corpo humano, com mais de 200 tipos celulares que se distinguem tanto na forma como na função que desempenham.

No transcorrer do complexo processo de diferenciação celular, dá-se o estabelecimento da forma celular com intensa participação das moléculas proteicas que compõem o citoesqueleto. Além dessa diversificada e dinâmica rede de fibras e filamentos proteicos, a variedade de formas celulares também é dependente da tensão superficial, da viscosidade do citoplasma, da proximidade entre as células, da composição química da membrana plasmática e da função que cada célula está programada para exercer.

No corpo humano, é possível encontrar células já diferenciadas com capacidade de modificar sua forma, como é o caso dos leucócitos. A passagem dessas células do interior dos vasos capilares sanguíneos para o tecido conjuntivo, movimento conhecido como diapedese, transforma temporariamente o formato esférico dessas células. Além da capacidade de mudança de suas configurações, em situações específicas, cabe ressaltar a variedade de formas apresentadas pelas células nos tecidos humanos. Como exemplos, podem ser citadas as células esféricas (como os neutrófilos), as de formato achatado (como as células epiteliais da superfície da pele), as alongadas (como os sincícios que formam as fibras musculares) e as ramificadas (como os neurônios da medula espinhal).

Para estudar a variedade de formas de células que exercem suas funções de maneira cooperativa e complexa nos tecidos, órgãos e sistemas dos organismos multicelulares, empregam-se desde métodos de pesquisa simples, tradicionais e eficientes até os mais sofisticados. Para as aulas de Biologia Celular e Molecular, hoje em dia temos a possibilidade de recorrer a *softwares* de realida-

des aumentada e virtual para melhor compreender a relação entre a forma e a função dos tipos celulares criando e usando modelos didáticos interessantes e eficientes para a aprendizagem.

Também podemos construir pequenas esculturas celulares utilizando e reciclando materiais de baixo custo financeiro e privilegiando o uso do tato e da concepção de modelos mentais na manufatura de objetos didáticos no transcorrer de processos de aprendizagem em qualquer espaço de ensino formal ou informal. Uma montagem de material didático com essas características é apresentada nesta atividade prática.

Prática: construindo modelos de células

Modelo de neurônio multipolar mielinizado

Objetivo

Construir modelo didático de neurônio multipolar mielinizado por meio da prática da escultura. Estruturar, com um conjunto de modelos produzidos, uma rede neuronal para discutir tópicos como a comunicação celular e a constituição e o funcionamento de fibras nervosas e nervos periféricos. Comparar os modelos com imagens científicas (fotomicrografias) para ressaltar a complementaridade entre materiais didáticos diversificados.

Materiais

- Dois bastões de massinha de modelar COR 1 (não utilizar a do tipo *soft*, independentemente da marca);
- Um bastão de massinha de modelar COR 2 (não utilizar a do tipo *soft*, independentemente da marca);
- Seis pedaços de arame fino de 5 cm de comprimento cada para representar o citoesqueleto dos dendritos principais;
- Oito a doze pedaços de arame fino de 1 a 1,5 cm de comprimento cada para o citoesqueleto das ramificações dos dendritos principais, isto é, a "árvore dendrítica";

- Um pedaço de arame grosso de 13 cm de comprimento para o citoesqueleto do axônio;
- Dois pedaços de arame fino de 4 cm de comprimento cada para o citoesqueleto do telodendro do axônio, isto é, as ramificações finais do axônio;
- Uma placa de madeira (ou papelão ou um azulejo) de 10 cm x 10 cm x 1 cm;
- Uma etiqueta didática para colar no verso da placa;
- Cinco bandeirinhas de papel/palito de dente, cada qual com uma palavra-chave (corpo celular, dendrito, célula de Schwann ou internodo, nodo de Ranvier ou nodo).

Metodologia

Parte 1 – Construindo o modelo de neurônio multipolar mielinizado

- Separar um bastão e meio de massinha de modelar da COR 1 para esculpir o corpo celular e os dendritos. Construir uma bola de massinha e espetar seis arames (5 cm de comprimento cada) em diversas direções. Afundar cada pedaço de arame, deixando exposto 3 cm de cada um (Figura 4.1B).
- Puxar, com as pontas dos dedos, a massinha de modelar até cobrir totalmente cada um dos arames. À medida que se afastar da bola, diminuir o diâmetro de cada projeção, resultando em uma estrutura central (corpo celular) com ramificações dendríticas gradativamente mais delgadas (Figura 4.1C).
- Pegar os arames de 1 a 1,5 cm de comprimento e envolvê-los com pequena quantidade da metade do bastão de massinha COR 1. Deixar exposta uma das extremidades de cada arame e espetá-los nas extremidades dos dendritos principais (Figura 4.1D), formando uma árvore dendrítica.
- Pegar o arame de 13 cm de comprimento, curvar e recobrir com dois terços do restante do bastão de COR 1 a partir do centro do arame, mantendo o diâmetro ao longo de toda a estrutura. Deixar uma das pontas do arame sem recobrimento. Na outra ponta, que está recoberta, forme uma pequena protuberância para representar um botão axonal. Com os

arames de 4 cm, recobri-los do mesmo modo, inserindo-os a 2 cm da extremidade do axônio (Figura 4.1E-F-G).

- Para a bainha de mielina, cortar transversalmente o bastão de massinha COR 2 em 3 porções iguais. Achatar cada pedacinho para formar estruturas planas, longas e estreitas. Cada pedaço de massinha representa uma célula de Schwann e deve envolver concentricamente e sequencialmente o axônio (Figura 4.1H-I-J).
- Espetar as bandeirinhas conceituais concomitantemente à leitura dos conceitos da etiqueta didática do verso da plaquinha. Você pode pedir para os próprios alunos elaborarem a etiqueta didática como uma atividade de concepção de um glossário para os conceitos utilizados na montagem do modelo. Se finalizar a atividade nesta etapa, colar o modelo na superfície da plaquinha na face contrária à da etiqueta didática. Ao utilizar uma cola de boa qualidade (cola-tudo), a plaquinha poderá ser girada livremente (Figura 4.1L-M).

Parte 2 - Formando redes neuronais

- Após a conclusão dos modelos individuais, antes de inserir as bandeirinhas e colar os modelos nas plaquinhas, explorar o tema comunicação celular. Solicitar aos alunos que aproximem os seus modelos e formem uma rede neuronal em uma superfície plana, como, por exemplo, a mesa do professor ou o chão da sala de aula.
- Observar e discutir, com a turma, o posicionamento dos modelos adotados pelos alunos.
- Debater e consolidar conceitos como sinapses químicas, de como um neurônio pode formar conexões com vários outros neurônios ao mesmo tempo e ser influenciado por essas conexões. Explorar o fato de que as sinapses podem ocorrer entre botões axonais e dendritos, assim como entre os botões axonais e corpos celulares e também entre os botões axonais e axônios de outros neurônios.

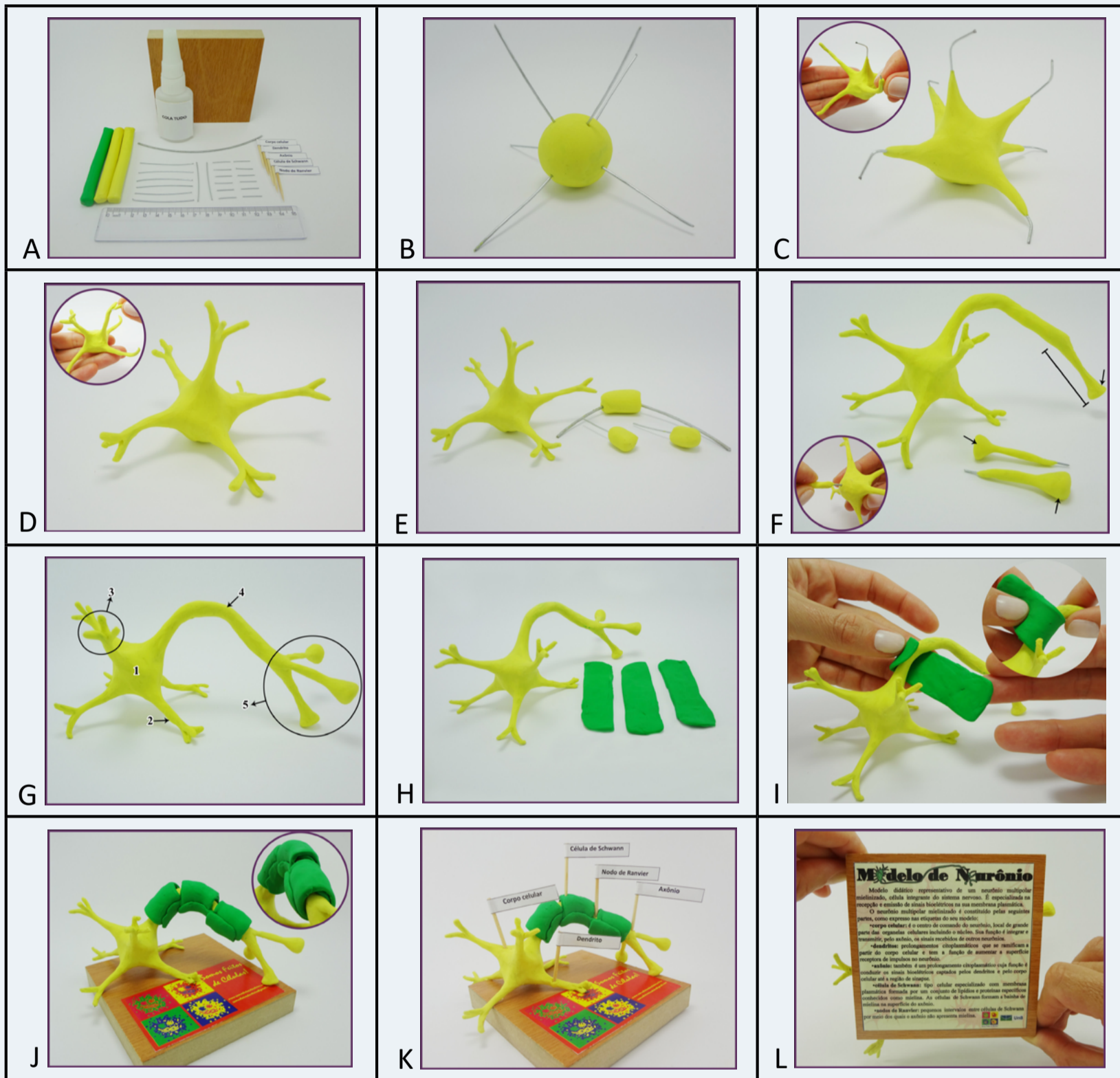


Figura 4.1 - Etapas da manufatura do modelo de neurônio multipolar mielinizado. A) Kit do aluno para a execução da atividade de modelagem. B) Início da modelagem do corpo celular e dos dendritos principais. C) Modelagem dos dendritos principais. D) Etapa concluída do corpo celular, dos dendritos principais e de suas ramificações. E/F) Modelagem do axônio e ramificações axonais (telodendro), com botões axonais (setas). G) Conclusão do modelo de neurônio multipolar com a representação do corpo celular (1), dendritos (2), ramificações dendríticas (3), axônio (4) e telodendro (5). H) Fase inicial da modelagem das células de Schwann (em verde) para a formação da bainha de mielina na superfície do axônio. I) Espiralização das células de Schwann ao redor do axônio. J) Três modelos de células de Schwann foram inseridos sequencialmente, representando três internodos com dois nodos (=nodo de Ranvier). K/L) Etapas de finalização do modelo, com inserção das bandeirinhas conceituais concomitantemente à leitura da etiqueta didática.

Parte 3 – Fibras nervosas e nervos periféricos

- Com o mesmo conjunto de modelos didáticos, solicitar aos alunos que conceituem fibras nervosas e representem nervos periféricos com auxílio dos modelos.
- Observar e discutir, com a turma, o posicionamento dos modelos adotados pelos alunos.
- Debater e consolidar o conceito de fibra nervosa e nervo periférico, o posicionamento e o comprimento dessas estruturas no corpo humano, a formação de sinapses com outros tipos celulares como as fibras musculares e as glândulas exócrinas.

Parte 4 – Comparando o modelo com outros materiais didáticos

- Com o modelo didático à mão, comparar este material didático com as fotomicrografias disponibilizadas a seguir.
- Observar e discutir quais as estruturas histológicas que estão evidenciadas nas fotomicrografias de corte de medula espinhal e que foram representadas no modelo de neurônio multipolar e quais das estruturas não foram representadas na escultura (Figura 4.2).
- Ao analisar as fotomicrografias do detalhe da substância cinzenta da medula espinhal, acentuar a presença do núcleo grande com cromatina pouco compactada e das manchas basófilas citoplasmáticas denominadas corpúsculos de Nissl (poliribossomos em alta quantidade e algumas cisternas de retículo endoplasmático rugoso). Relacionar essas características morfológicas com a síntese de neurotransmissores.
- Debater e consolidar as informações biológicas obtidas pelo processo de manufatura do modelo de neurônio e pela análise das fotomicrografias, acentuando a complementaridade dos materiais didáticos utilizados.

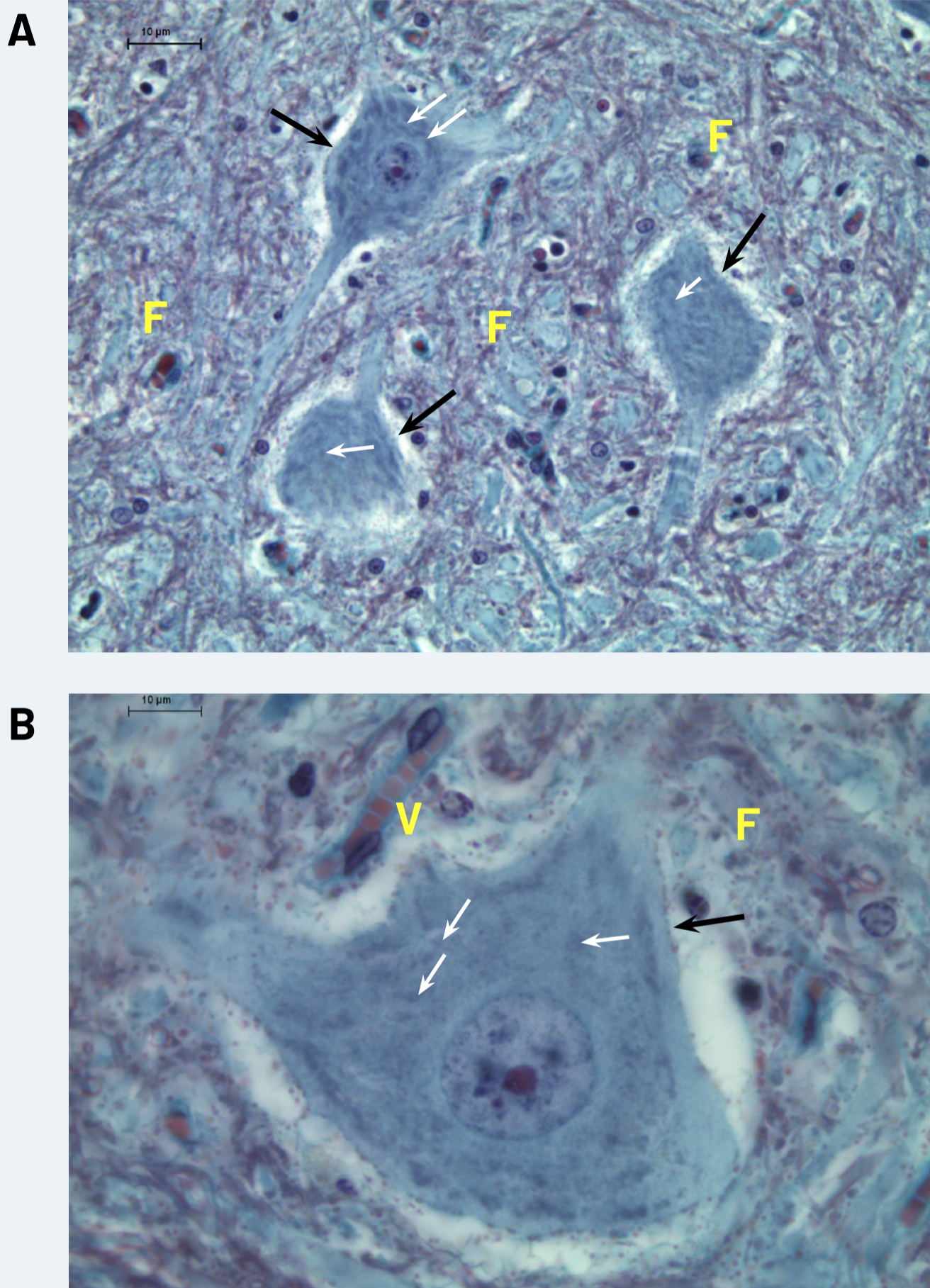


Figura 4.2 - A/B) Detalhes da substância cinzenta de uma medula espinhal. Observar os corpos celulares de neurônios (setas pretas) que se destacam por suas dimensões maiores e por conter granulações citoplasmáticas que correspondem a polirribossomos e retículos endoplasmáticos rugosos (setas brancas). O núcleo visível em dois neurônios apresenta cromatina pouco condensada e nucléolo evidente. Os prolongamentos citoplasmáticos dos corpos celulares correspondem aos dendritos e axônios. Os neurônios são circundados por grande quantidade de fibras nervosas (F) altamente entrelaçadas e por núcleos de células da glia. Em B, ao lado do corpo celular do neurônio, visualiza-se corte de vaso capilar (V).

Questões para discussão

1. Após a realização do modelo didático, analise-o. Quais as qualidades e as limitações que você considera que seu modelo didático apresenta para a sua aprendizagem sobre a morfologia deste tipo celular? Compare sua pequena escultura 3D com outras representações didáticas, como, por exemplo, as imagens do seu livro-texto.
2. As sinapses foram debatidas nesta atividade prática na Parte 2. Conceitue sinapses.
3. Definir a constituição histológica de uma fibra nervosa mielínica. Qual a diferença com a fibra nervosa amielínica?
4. Quais as razões biológicas para que os neurônios multipolares sejam células com o aspecto morfológico que você representou por meio do seu modelo didático e não com características morfológicas similares às células do tecido epitelial?

Referências

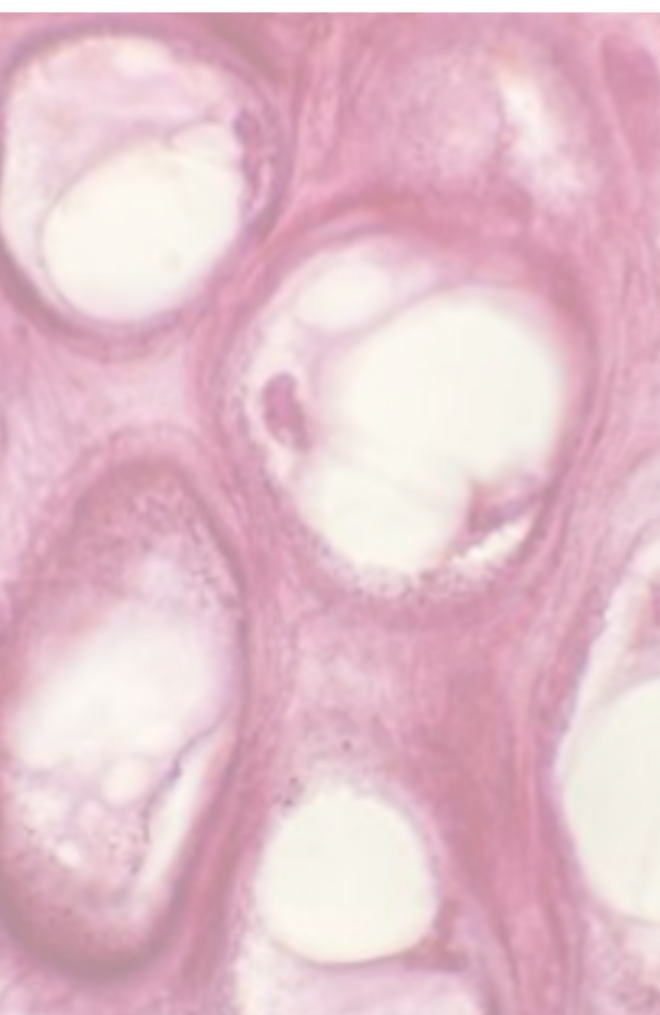
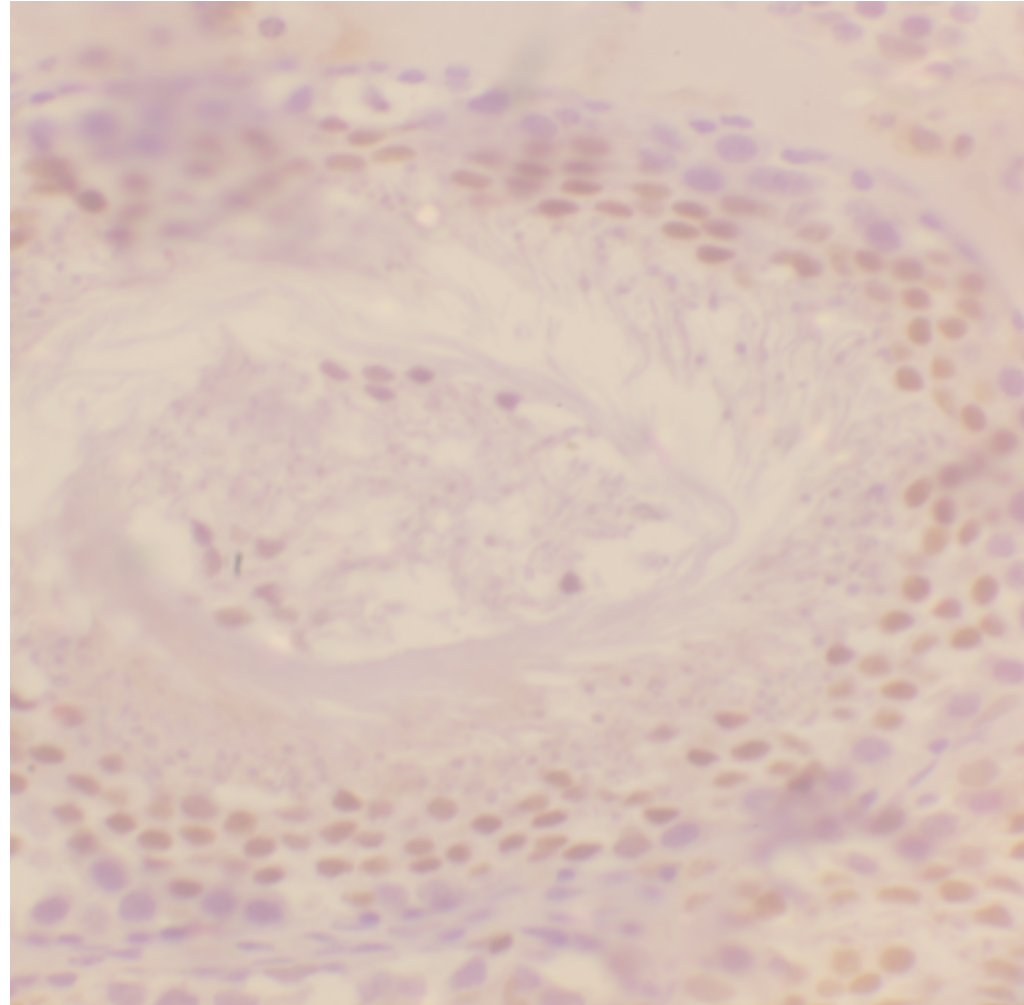
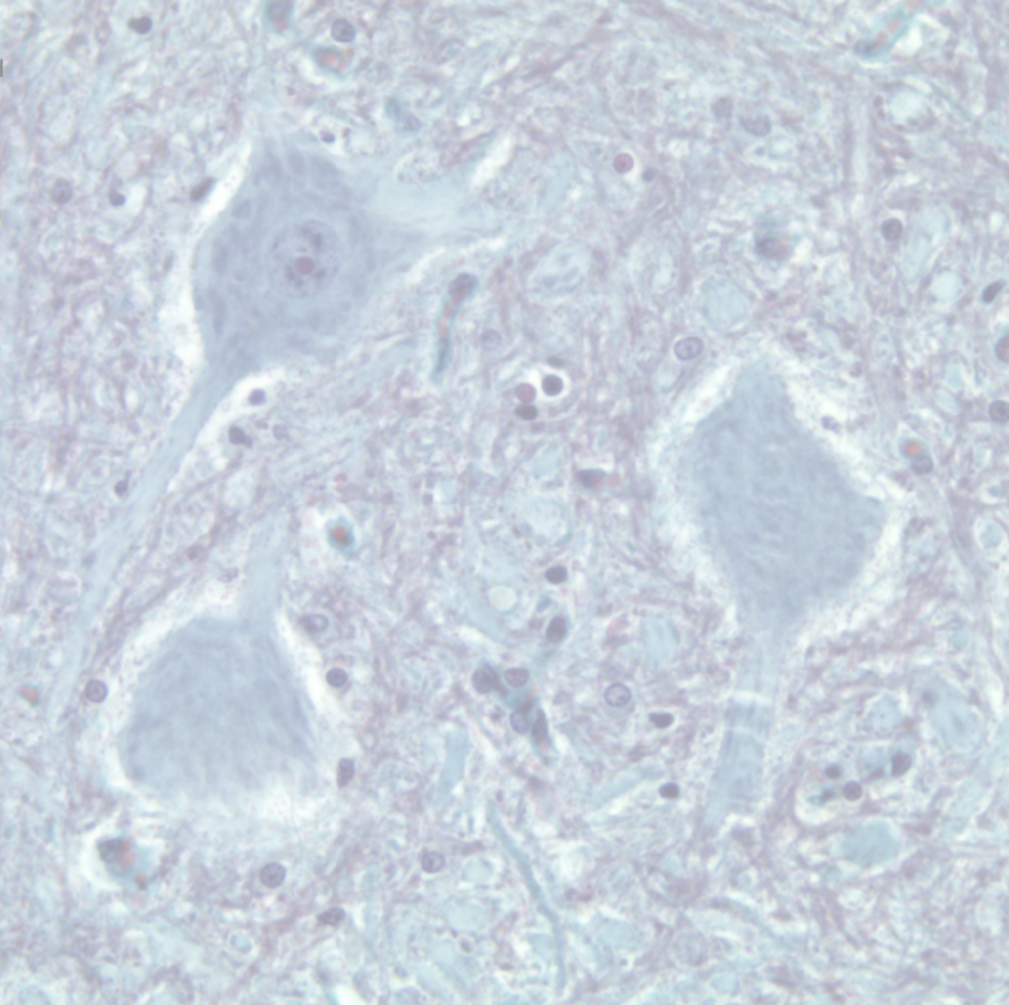
FERREIRA, P. F. M.; JUSTI, R. S. Modelagem e o “Fazer Ciência”. *Química Nova na Escola*, São Paulo, n. 28, maio 2008. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc28/08-RSA-3506.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2015.

HISTOLOGIA UnB (*Fanpage*). Disponível em: <<https://www.facebook.com/histologia.unb>>. Acesso em: 28 maio 2015.

JUSTI, R. S.; GILBERT, J. K. Modelling, teacher’s views on the nature of modelling, and implications for the education of modellers. *International Journal Science Education*, v. 24, n. 4, p. 369-387, abril 2002.

MORENO, N. P.; THARP, B. Z.; GRANDPRÉ, T. *Brain chemistry teacher’s guide*. 2013. Disponível em: <<http://www.bioedonline.org/lessons-and-more/teacher-guides/brain-chemistry>>. Acesso em: 28 maio 2015.

UnBTV: prazer em conhecer, canal universitário de Brasília. *Oficina modelando o seu neurônio*. 2013. Disponível em: <<http://www.youtube.com/watch?v=1Z2hZe-DYHIY>>. Acesso em: 28 maio 2015.



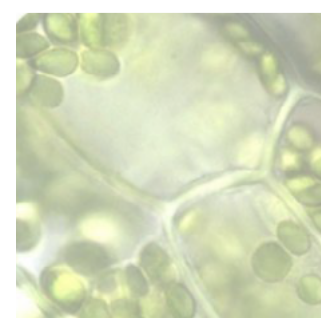
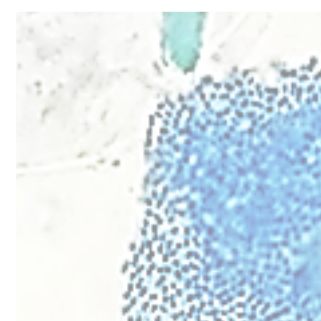
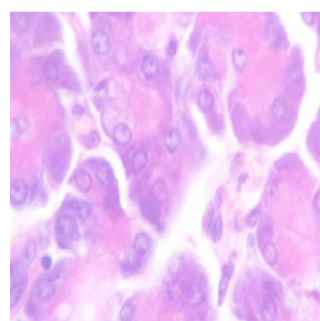
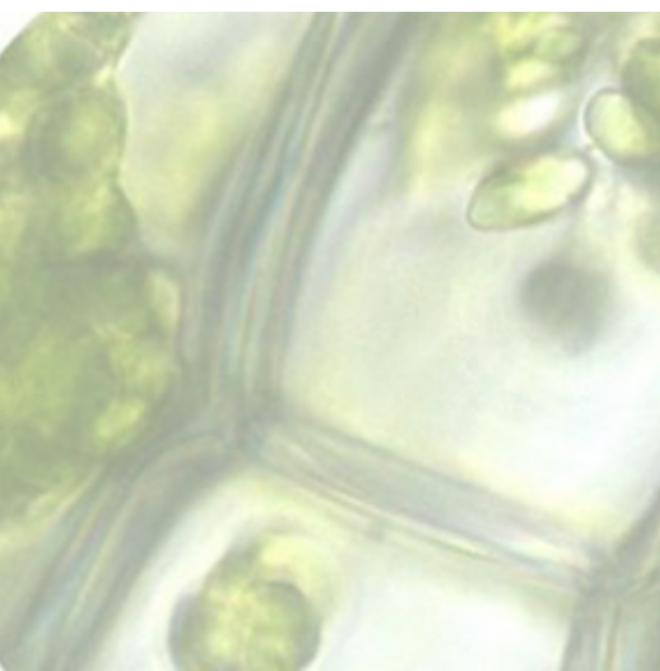
CAPÍTULO 5

COMPARTIMENTOS INTRACELULARES NA MICROSCOPIA ELETRÔNICA

José Eduardo Baroneza

Amanda Ribeiro Bosch

Katheleen Kravicz



Introdução

O microscópio eletrônico é assim denominado porque a imagem é formada a partir da incidência de elétrons no material que se deseja observar, diferentemente do microscópio óptico, que depende da incidência da luz. Inventado por um físico alemão, Ernst Ruska, o microscópio eletrônico foi apresentado à comunidade científica em 1931 como um avanço espetacular da tecnologia, permitindo, assim, a observação de estruturas microscópicas. Enquanto o microscópio óptico convencional nos permite observar estruturas até 1.000 vezes inferior ao limite do olho humano, capaz de revelar dois pontos separados a uma distância equivalente a $0,2 \mu\text{m}$, o microscópio eletrônico pode revelar dois pontos distantes a cerca de $0,2 \text{ nm}$, permitindo-nos observar detalhes de estruturas até 1 milhão de vezes inferior ao limite do olho humano.

Embora a tecnologia seja de interesse e uso de várias áreas da ciência, além das Biológicas, tais como a Química e a Física de Materiais, é inegável que a Biologia Celular tem se utilizado enormemente de sua tecnologia em função de revelar imagens relacionadas à estrutura de biomoléculas, organelas ou mesmo complexos moleculares organizados, tais como os vírus. É correto dizer que com o microscópio eletrônico a Biologia Celular iniciou uma nova era.

Há dois tipos de microscópio eletrônico de interesse para a Biologia Celular: o de transmissão e o de varredura. O microscópio eletrônico de transmissão (MET) possui maior poder de resolução e é utilizado para observação de estruturas intracelulares. Para tanto, a preparação do material a ser observado envolve várias etapas, entre elas a fixação, a inclusão em resina e a realização de cortes

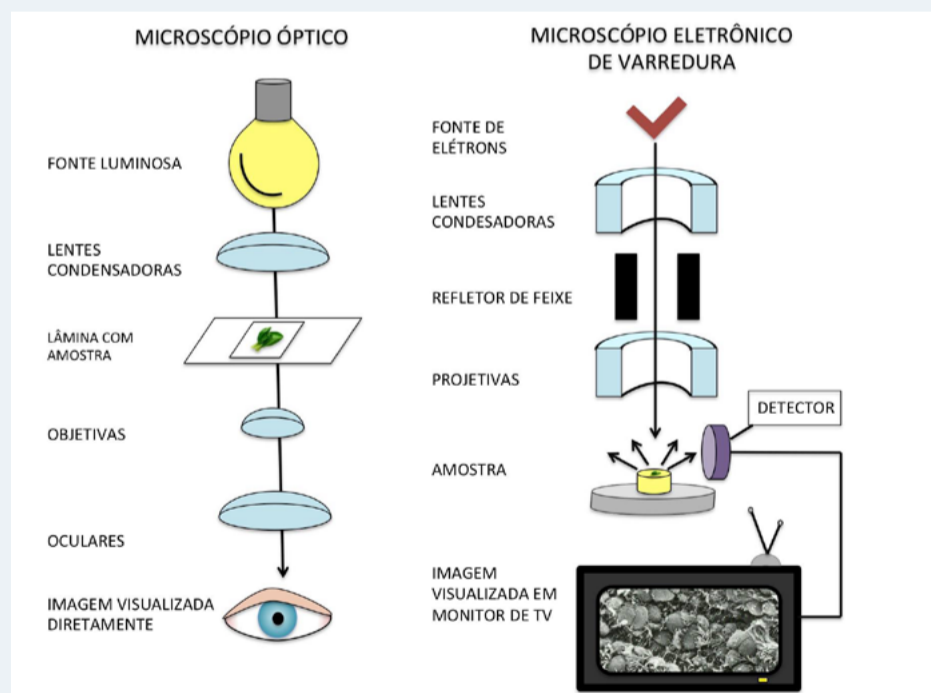


Figura 5.1 – Comparação da trajetória da luz no microscópio óptico e eletrônico de varredura.

ultrafinos de micrótomos especiais. Por outro lado, mesmo possuindo uma resolução inferior, o microscópio eletrônico de varredura (MEV) é importante, pois permite observar em detalhes a forma das células e estruturas tridimensionais, tais como cílios e flagelos. Durante o processamento do material para MEV, o mesmo recebe um banho metálico que funciona como refletor dos elétrons incidentes na amostra. A figura 5.1 compara o microscópio óptico com o microscópio eletrônico de varredura em relação às suas lentes e à trajetória da luz ou do feixe de elétrons.

Prática: diferenciando organelas em eletromicrografias

Observação do complexo de Golgi

Encontrado em diversos tipos celulares, o complexo de Golgi consiste de um conjunto de vesículas achatadas denominadas cisternas, geralmente de 4 a 8, com espessura entre 5 e 10 nm, sem comunicação física entre si, tendo entre elas uma matriz proteica. Sua membrana é constituída por 40 % de lipídios e 60 % de proteínas na forma de enzimas, proteínas estruturais e proteínas de formação e direcionamento de vesículas. Situado na *via biossintética secretora*, é o sítio principal onde ocorre modificação de proteínas que devem ser endereçadas aos lisossomos, à membrana plasmática ou ao meio extracelular. Em células especiais, pode ser modificado para originar estrutura com funções especiais, tal como o acrossomo nos espermatozoides. O complexo possui uma rede cis, convexa, voltada para o retículo e para o núcleo celular, responsável pelo sítio de entrada no complexo, e uma rede trans, côncava, voltada para a membrana plasmática responsável pelo sítio de saída. O transporte de proteínas entre o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi e outros departamentos celulares é realizado por meio de peptídeos-sinais, que possuem sequências de aminoácidos endereçadoras. O transporte ocorre por meio de vesículas que se soltam com compartimento doador e se prendem ao compartimento aceptor. Entre as funções do complexo de Golgi encontram-se o armazenamento, a transformação e o empacotamento de proteínas.

Objetivo

Visualizar o complexo de Golgi e identificar as cisternas cis, trans e mediais na figura a seguir.

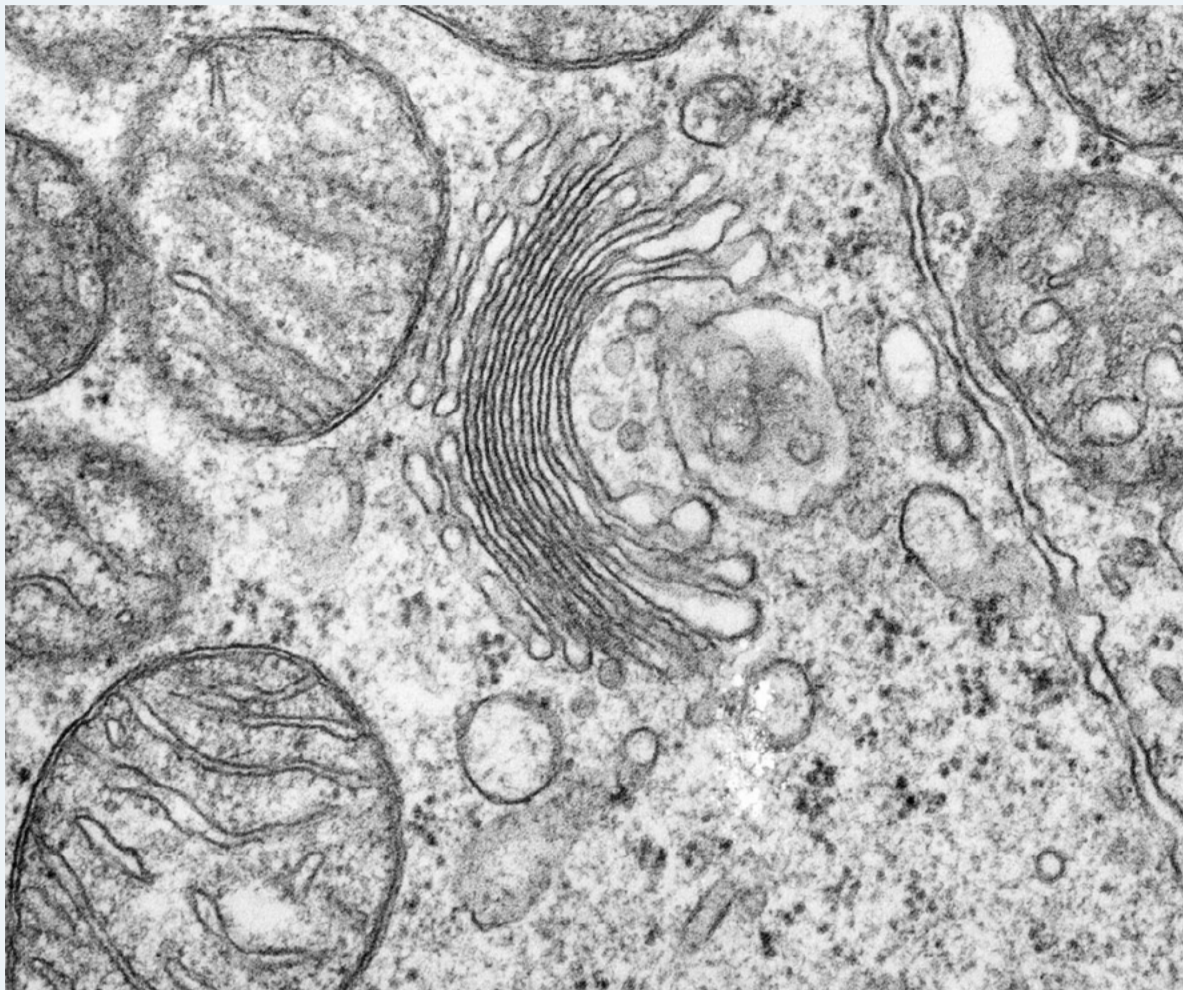


Figura 5.2 - Eletromicrografia de transmissão de área citosólica onde se observa a rede de cisternas do complexo de Golgi, vesículas de transporte intracelular, ribossomos e partes de mitocôndrias.

Observação da bainha de mielina

Bainha de mielina é o nome que se dá à membrana plasmática de oligodendrócitos e de células de Schwann quando se encontram enroladas em torno de segmentos de axônios neuronais. O nome se deve ao fato de que o principal lipídio contido nessa membrana é a esfingomielina, que desempenha função na transdução de sinais e atua como isolante elétrico, aumentando a velocidade do potencial de ação.

Objetivo

Visualizar a bainha de mielina, célula de Schwann e corte transversal de axônio em tecido nervoso na figura a seguir.

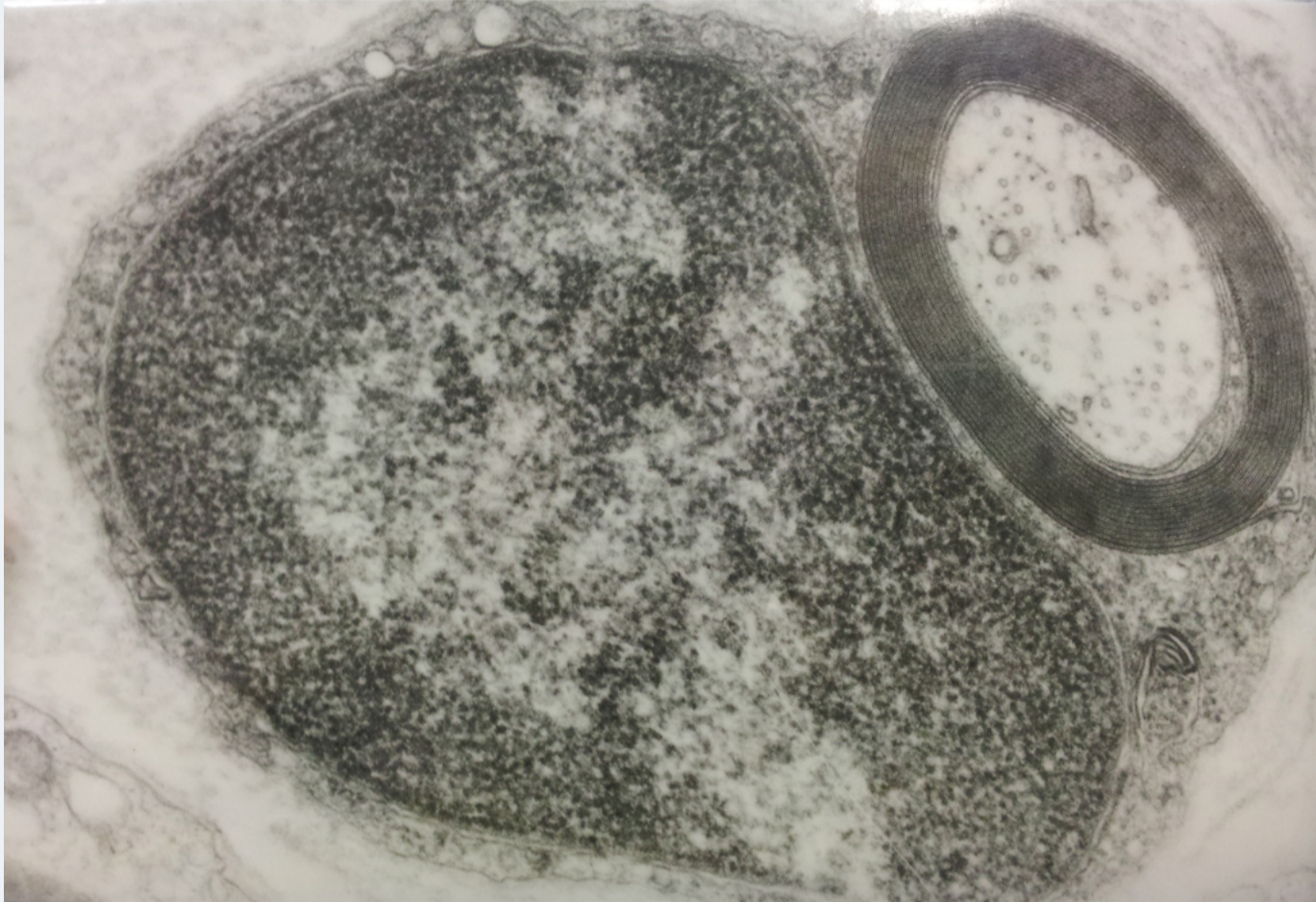


Figura 5.3 – Eletromicrografia de transmissão de corte transversal de célula de Schwann e de neurônio.

Observação dos lisossomos

Os lisossomos são pequenas organelas formadas a partir do complexo de Golgi e estão localizados no citoplasma. Possuem cerca de 40 enzimas hidrolíticas que atuam em um grande número de substratos e sua principal função é a digestão intracelular. Com isso, além de realizar a lise de corpos estranhos fagocitados, os lisossomos são capazes de eliminar partes da própria célula, tais como moléculas, organelas e fragmentos de membranas plasmáticas envelhecidas ou danificadas. Os lisossomos geralmente são esféricos e delimitados por membrana e com tamanhos variáveis. Eles apresentam uma camada de carboidratos associados à face interna da membrana, importantes para evitar a digestão da própria membrana do lisossomo. Quando existe um acúmulo de material não digerido nos lisossomos, eles tornam-se corpos residuais.

Objetivo

Visualizar e diferenciar lisossomos e outros compartimentos na figura a seguir.

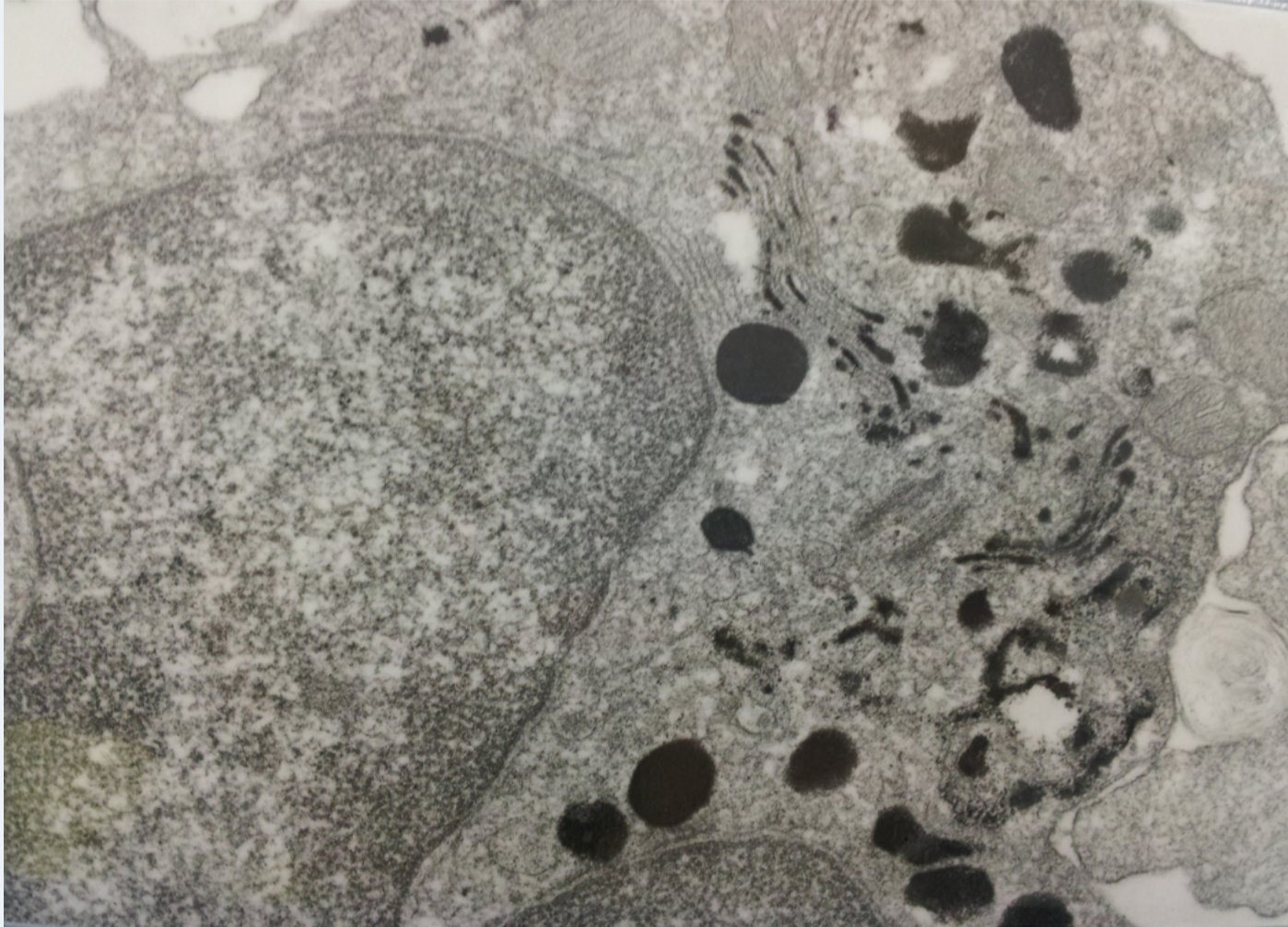


Figura 5.4 – Eletromicrografia de transmissão de área celular rica em lisossomos. Na imagem também podem ser observados parte do núcleo celular bem como retículo endoplasmático, complexo de Golgi e mitocôndrias.

Observação de mitocôndrias

Mitocôndrias são compartimentos intracelulares onde ocorre a maior parte da síntese de ATP (trifosfato de adenosina) nas células eucarióticas. Delimitadas por duas membranas, a externa, voltada para o citosol, possui grande quantidade de poros, enquanto a interna, voltada para a matriz mitocondrial, é altamente invaginada e possui proteínas de transporte e outras relacionadas ao processo de fosforilação oxidativa. O espaço intermembranas é identificado pelo seu baixo pH, em razão do constante bombeamento de íons H^+ oriundos da matriz mitocondrial em sua direção.

Objetivo

Identificar a mitocôndria, membranas externa e interna, matriz e crista mitocondriais na figura a seguir.



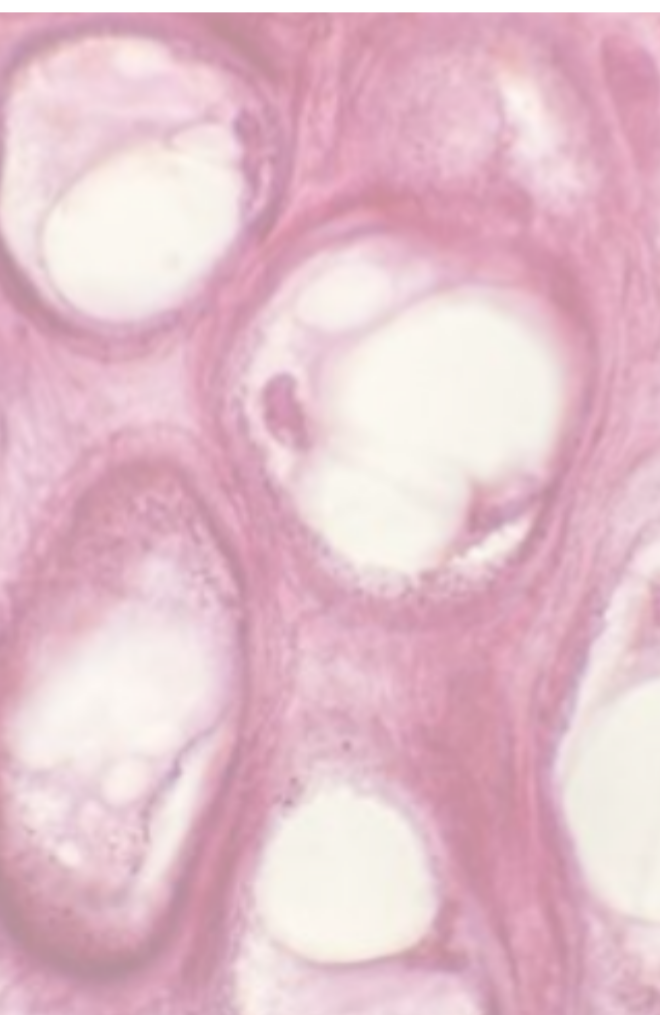
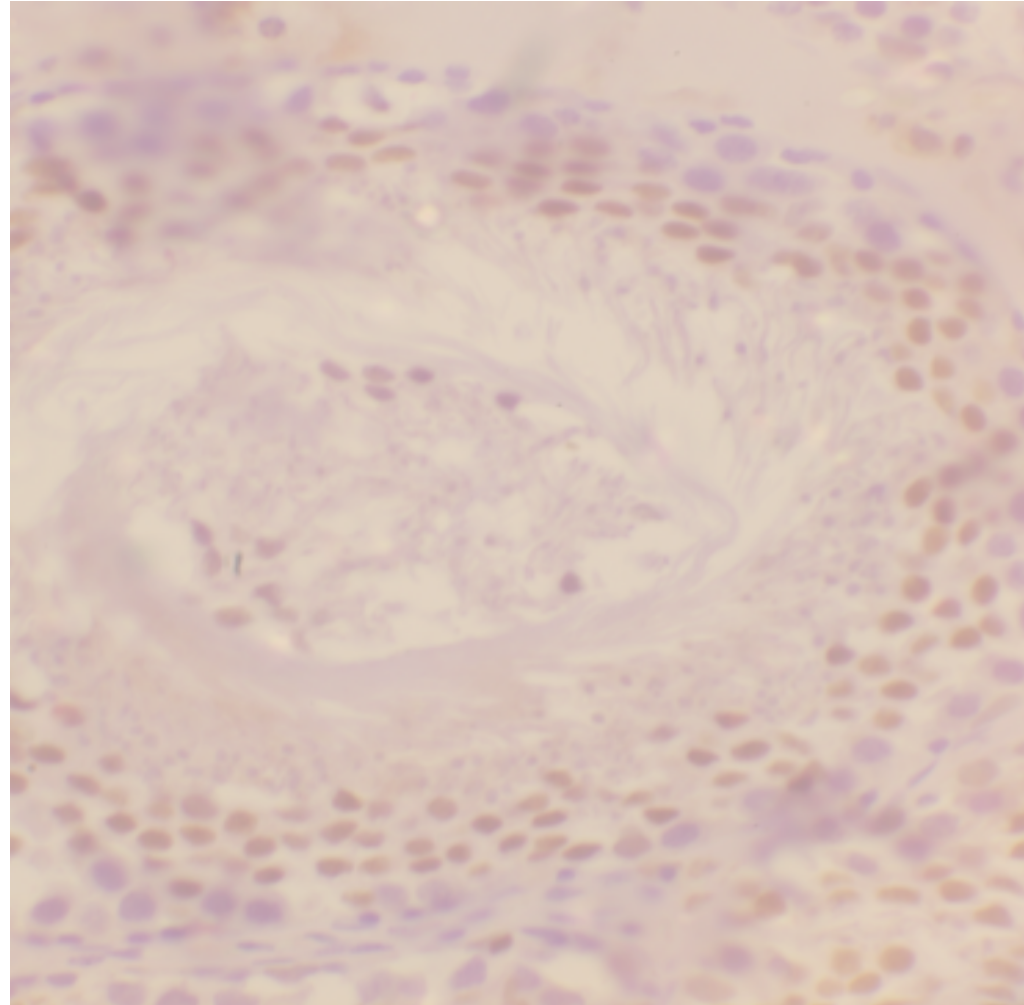
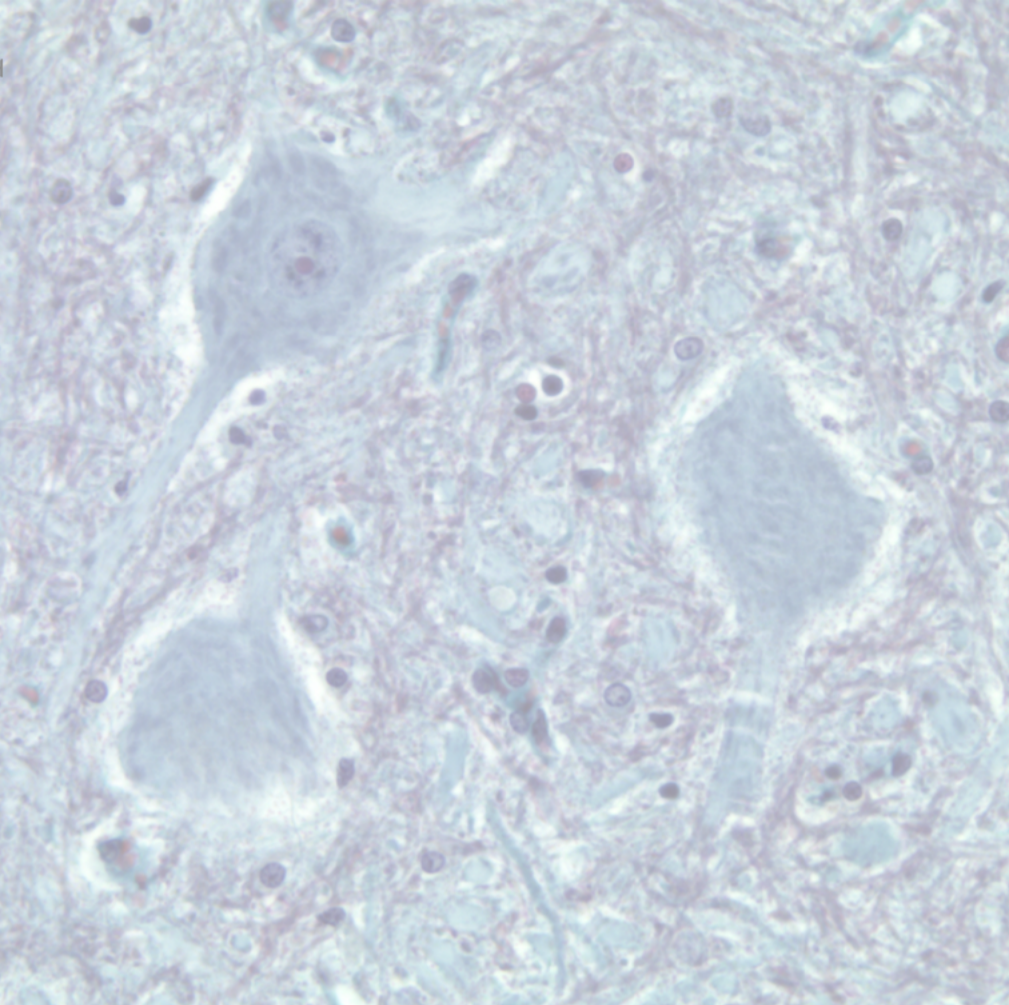
Figura 5.5 – Eletromicrografia de transmissão de área citosólica onde se observa uma mitocôndria.

Questões para discussão

1. Por qual motivo os lisossomos aparecem como estruturas altamente eletrodensas na MET?
2. Como podemos diferenciar as membranas pertencentes ao complexo de Golgi, ao retículo endoplasmático e às vesículas em trânsito em eletromicrografias?
3. Se as membranas celulares são bicamadas lipídicas com proteínas associadas, como se explica o fato de elas aparecerem de forma trilaminar (duas faixas escuras e uma faixa clara) em eletromicrografias?
4. O que poderiam ser as pequenas estruturas eletrodensas não associadas às membranas, que normalmente são observadas no citosol?
5. Que tipo de microscopia é mais recomendado para observar a forma externa das células?

Referências

- CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A célula 2001*. 3. ed. Barueri: Manole, 2013.
- DUARTE, F. C. *Microscópio de tunelamento com varredura (STM) e microscópio de força atômica (AFM)*. Disponível em: <http://www.dsif.fee.unicamp.br/~furio/IE607A/STM_AFM.pdf>. Acesso em: 4 fev. 2015.
- INSTITUTO DE BIOFÍSICA DA UFRJ. Marcia Attias. *Microscopia eletrônica em biologia*. Disponível em: <http://www.cbpf.br/~emecbpf/MET_Biologia_Attias.pdf>. Acesso em: 4 fev. 2015.
- JOHNSON, A. B. H.; WALTER, L. R. R. *Fundamentos da biologia celular*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. *Técnicas básicas de citologia e histologia*. Barueri: Manole, 2001.
- RIBEIRO, C. A. de O.; REIS FILHO, H. S.; GRÖTZNER, S. R. *Técnicas e métodos para utilização prática em microscopia*. São Paulo: Santos, 2012.



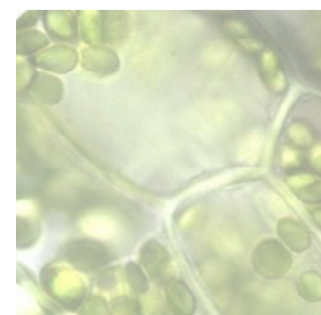
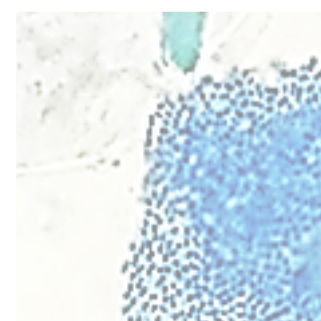
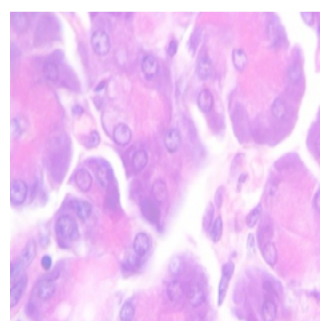
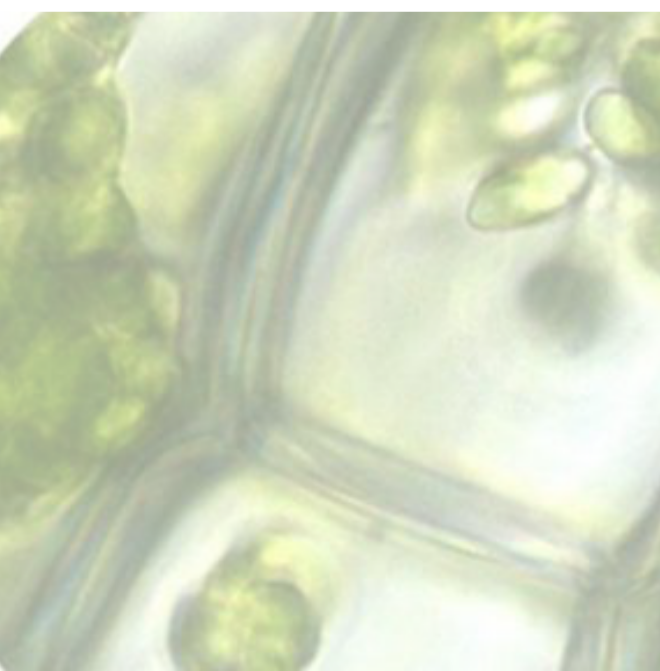
CAPÍTULO 6

COMPARTIMENTOS INTRACELULARES NA MICROSCOPIA ÓPTICA

José Eduardo Baroneza

Katheleen Kravicz

Amanda Ribeiro Bosch



Introdução

O microscópio óptico possui um limite de ampliação que impossibilita a visualização das membranas e dos compartimentos intracelulares em detalhes. Entretanto, devido às diferenças de pH entre as organelas e a segregação de moléculas específicas no interior da célula, é possível recorrer a estratégias bioquímicas para visualizar áreas que concentram determinados tipos de organelas. Neste capítulo, propomos uma atividade para observação de retículo endoplasmático rugoso e vesículas endocíticas.

Prática: evidenciando regiões intracelulares ricas em retículo endoplasmático rugoso

O retículo endoplasmático rugoso (RER) é um compartimento ligado à membrana externa do envelope nuclear e se estende por boa parte do citosol como uma rede de membranas que compartilham o lúmen, onde ocorre principalmente a biossíntese e modificação de moléculas endereçadas ao complexo de Golgi, aos lisossomos, à membrana plasmática e ao meio extracelular. Seu aspecto rugoso se deve aos vários polirribossomos aderidos à face externa de sua membrana. Os polirribossomos ligados ao retículo estão associados ao RNA mensageiro que possui códigos de proteínas endereçadas ao RER e são temporariamente aderidos à sua membrana por meio de um receptor de proteínas de reconhecimento de sinal SRPr. A concentração de ácido ribonucleico em torno das membranas do RER tem como consequência acidificar o ambiente intracelular em torno de sítios ricos em RER. Em vista disso, a observação de células secretoras, que possuem alta concentração de RER, coradas com substâncias básicas, permite-nos mapear no citosol a localização aproximada do RER.

Objetivos

Observar lâminas permanentes de corte de pâncreas preparados com:

1. Galocianina de Einarson.
2. Galocianina de Einarson e ribonuclease.
3. Hematoxilina e eosina.

A hematoxilina tem afinidade com regiões ácidas da célula, já a galocianina de Einarson tem afinidade com ácidos nucleicos distintos, RNA e DNA. A coloração com galocianina de Einarson em célula tratada com ribonuclease evidencia a área celular com DNA apenas, uma vez que a ribonuclease digere ácido ribonucleico. A comparação de cortes seriados de pâncreas com as três colorações é uma excelente forma de identificar no citosol áreas onde o RER se concentra.

Materiais

- Lâminas de corte de pâncreas de rato preparadas com hematoxilina e eosina;
- Galocianina de Einarson;
- Galocianina de Einarson após tratamento com ribonuclease.

Metodologia

- Observar as 3 lâminas no microscópio e discutir conforme proposto nos objetivos.

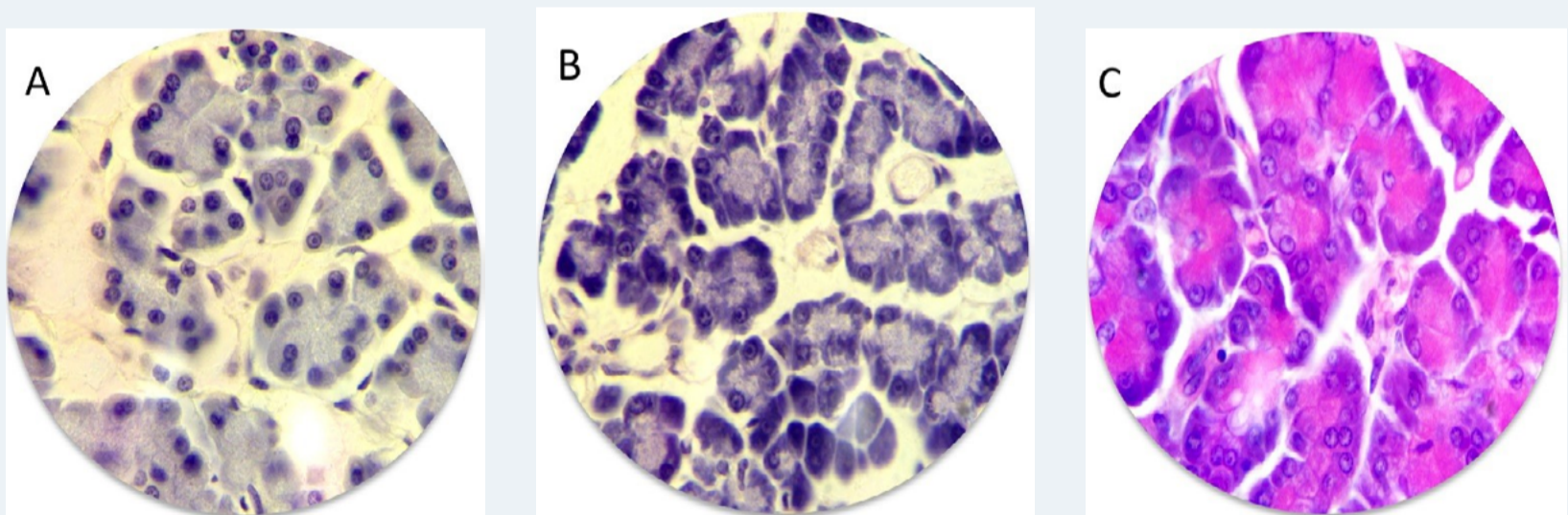


Figura 6.1 – Fotomicrografias de ácinos pancreáticos em aumento de 400x. Coloração – A) Galocianina de Einarson em célula tratada com ribonuclease. B) Galocianina de Einarson. C) Hematoxilina e eosina.

Prática: observando fagossomos

A fagocitose é um processo no qual as células internalizam corpos estranhos na tentativa de digeri-los, em um processo que envolve modificações na membrana plasmática, formação de vesículas intracelulares de transporte, fu-

são de vesículas com lisossomos e digestão intracelular dos conteúdos internalizados. Em organismos unicelulares, a fagocitose é importante para que os mesmos internalizem moléculas que possam ser utilizadas em seu metabolismo. Nos multicelulares, tais como os seres humanos, a fagocitose é realizada sobretudo por células do sistema imunológico, visando à eliminação de patógenos parasitas, resíduos metabólicos e corpos estranhos. A partícula alvo da célula é englobada através de uma expansão de uma área da membrana plasmática que recebe o nome de pseudópodo. Após a incorporação da partícula, desprende-se da membrana uma vesícula (fagossomos) direcionada ao lisossomo, o sítio onde ocorre a digestão intracelular. Após a digestão, a célula pode aproveitar os resíduos que a ela são úteis, tais como os aminoácidos.

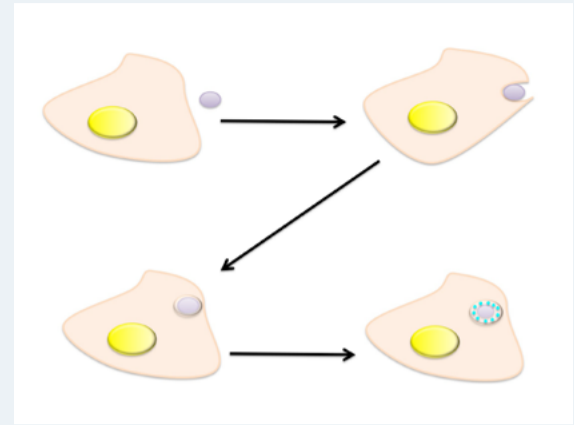


Figura 6.2 – Fagocitose. Para englobar o corpo estranho a célula emite pseudópodos e posteriormente libera no citosol uma vesícula com o conteúdo fagocitado que se funde com o lisossomo.

Objetivo

Visualizar macrófagos fagocitando leveduras em cultura celular.

Materiais

- Lâmina permanente de macrófagos cultivados com leveduras.

Metodologia

- Levar a lâmina ao microscópio, focalizar e observá-la nos diferentes aumentos e desenhar (Figura 6.3).
- Visualizar macrófagos e leveduras isoladamente e em processo de fagocitose.
- Discutir o que se vê.

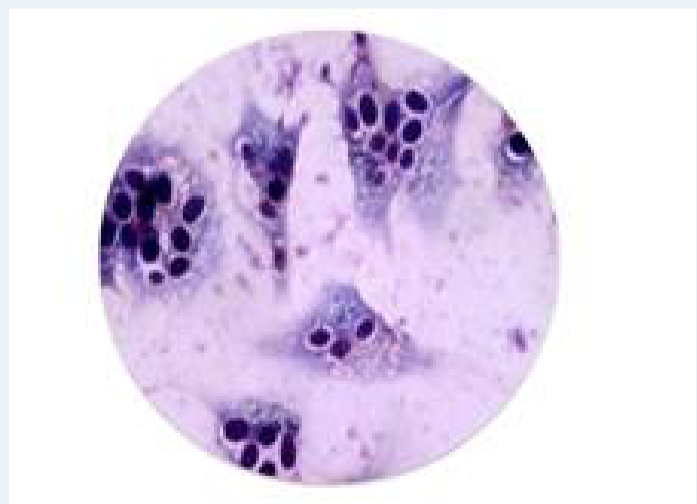


Figura 6.3 – Fotomicrografia de macrófagos cultivados com leveduras, aumento de 400x.

Questões para discussão

1. Quais tipos de corantes devemos utilizar para identificar estruturas celulares ricas em A: ácidos nucleicos, B: carboidratos?
2. Como deve ser a preparação histológica caso se deseje observar lipídios no interior de adipócitos?
3. O citosol de células ricas em lisossomos, tais como as fagocíticas, tende a se corar melhor com que tipo de corante?
4. Como funciona os microscópios ópticos de fluorescência e de que maneira eles são importantes na identificação de estruturas celulares que não podem ser vistas no microscópio óptico convencional?

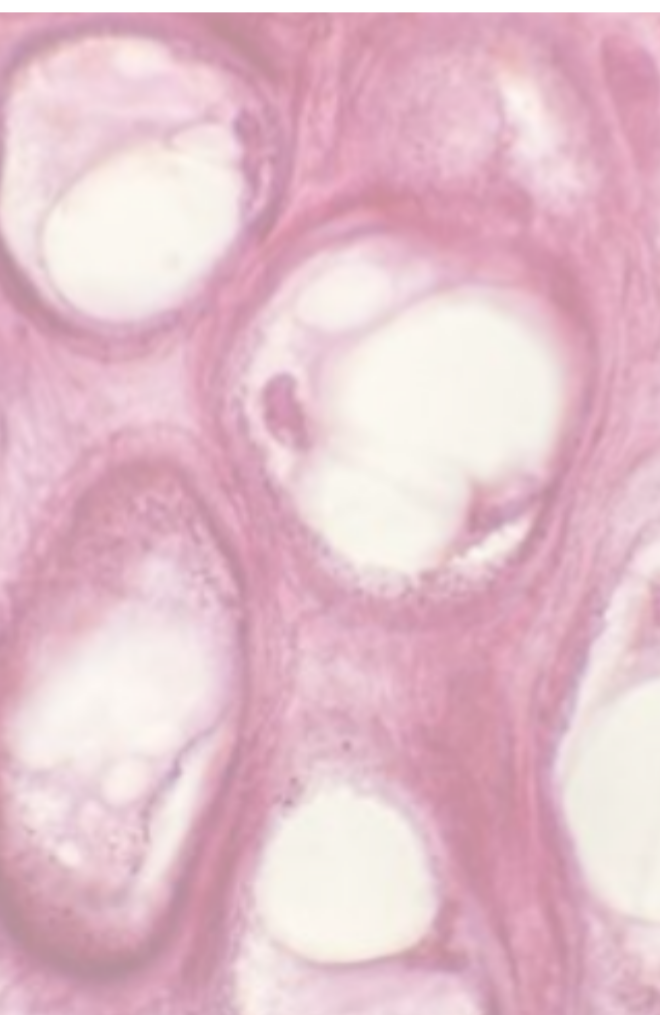
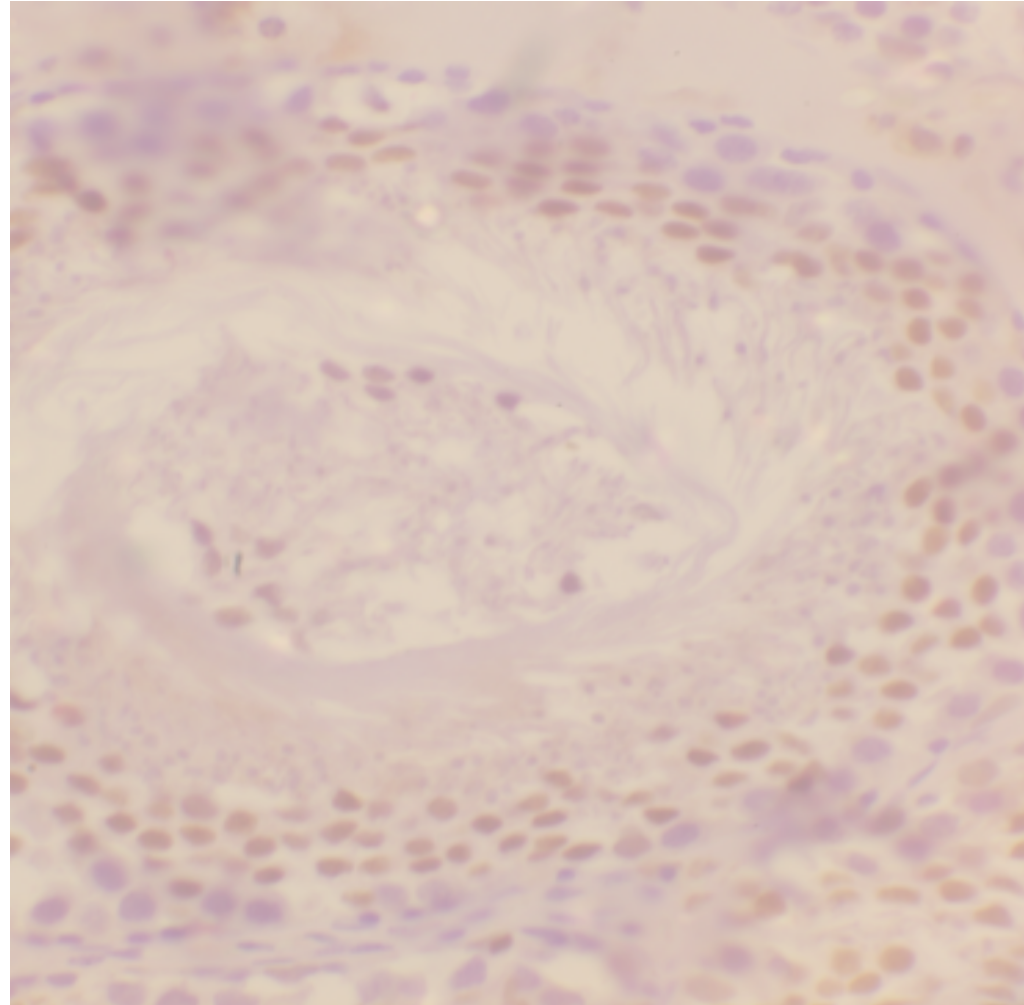
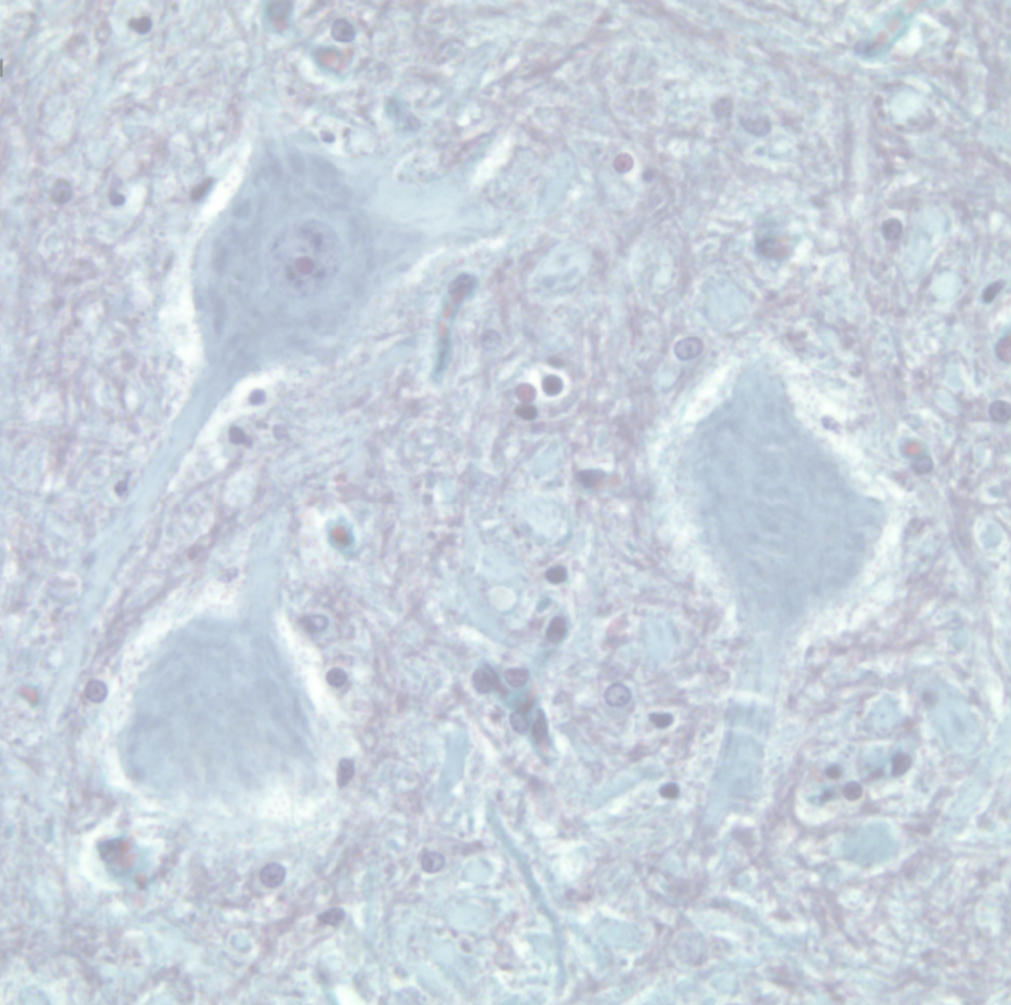
Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Biologia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

ROBERTIS, E. D. P.; JÚNIOR, E. M. F. R. *Bases da biologia celular e molecular*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Biologia Celular Atlas Digital. *Organelas*. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/biologiacelularatlas/org6.htm>>. Acesso em: 25 nov. 2014.



CAPÍTULO 7

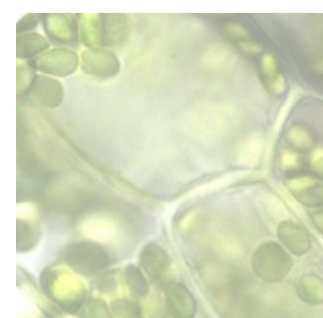
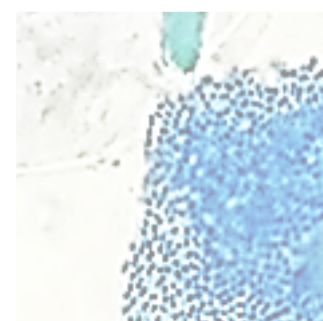
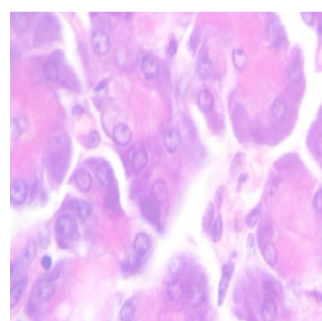
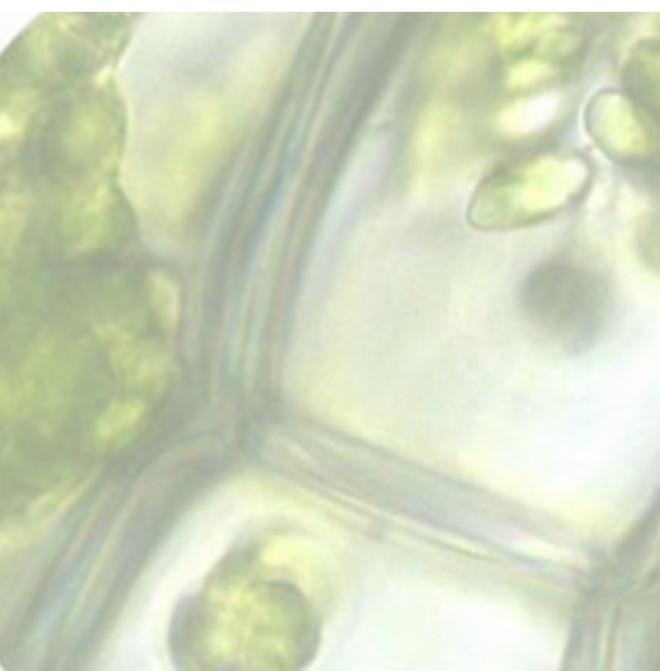
TRANSPORTE ATRAVÉS DE MEMBRANAS CELULARES

José Eduardo Baroneza

Katheleen Kravicz

Amanda Ribeiro Bosch

Victor Costa da Silva



Introdução

O fluxo de substâncias através das membranas que delimitam a célula e as organelas internas é essencial para a saúde celular e é responsável pelas diferenças na concentração de solutos diversos entre o meio extracelular, o citosol e os meios intraorganelares. Por meio de sofisticados mecanismos de controle, água, açúcares, aminoácidos, nucleotídeos, gases, íons, hormônios e outras moléculas bioativas podem circular entre diferentes meios celulares de diferentes formas.

Membranas biológicas são semipermeáveis devido à natureza físico-química dos lipídios e das proteínas que as constitui. De modo geral, admite-se que moléculas hidrofóbicas isoladas atravessam com facilidade a bicamada lipídica, enquanto moléculas hidrofílicas transitam por meio de proteínas ou de lipídios, na dependência da afinidade, da carga elétrica e do tamanho molecular. Complexos moleculares encontram maior resistência para atravessar membranas celulares e, quando o fazem, normalmente envolvem a formação de vesículas endereçadas às rotas endocíticas ou secretoras.

O transporte passivo é o nome do processo que envolve o trânsito de moléculas através da membrana celular independente do gasto de energia química. Algumas moléculas, entretanto, utilizam o transporte ativo para atravessar membranas na dependência de energia química, normalmente disponibilizada por meio da hidrólise da molécula de adenosina trifosfato, o ATP. Entre as formas de transporte passivo, difusão e osmose são termos utilizados para definir o trânsito de solutos e solventes, respectivamente, pela membrana.

A difusão ocorre a favor do gradiente de concentração de modo que o soluto se move do meio mais concentrado para o meio menos concentrado. Denomina-se difusão simples o transporte de solutos sem gasto de energia química pela bicamada lipídica ou por poros. Nessa forma de difusão, a velocidade do transporte é diretamente proporcional à concentração do soluto a ser transportado, à área da membrana envolvida no processo e à temperatura. Entre as substâncias transportadas por difusão passiva encontram-se os íons, a água, os gases e alguns hormônios, em especial os esteroides.

Outra modalidade de difusão, denominada difusão facilitada, envolve a passagem de soluto pela membrana por meio de proteínas carreadoras. Na difusão facilitada, o transporte só ocorre caso o soluto tenha afinidade com proteínas carreadoras específicas, que apresentam domínios de ligação com moléculas distintas. Proteínas carreadoras quando ligadas a moléculas que possuem afinidade mudam de conformação e permitem a passagem da molécula pela membrana.

Osmose é o nome dado ao processo de transporte passivo da água entre meios com solutos em concentrações distintas. Esse processo ocorre em membranas semipermeáveis, onde a água passa de um meio hipotônico, menos concentrado, para um meio hipertônico, mais concentrado. Meios separados por membranas semipermeáveis que possuem a mesma concentração de solutos são chamados de isotônicos. A osmose é essencial às células na medida em que equilibra a osmolaridade entre os diversos microambientes, entretanto, pode ser prejudicial, especialmente às células animais, uma vez que o trânsito de água pela membrana plasmática sem a proteção da parede celular acarreta no risco de lise celular, quando a célula se encontra em meio hipotônico. A célula vegetal é protegida da lise por meio da membrana celulósica ou da parede celular, externas à membrana plasmática. Ambas as células, entretanto, estão sujeitas à retração do volume por perda de água, processo denominado de plasmólise, quando se encontram em meio hipertônico.

Prática: observando a osmose em células vegetais

Osmose em Células de *Elodea sp.*

Objetivo

Montar uma lâmina a fresco com amostra de *Elodea sp.* e observar o efeito da mudança na concentração extracelular sobre a disposição dos cloroplastos no interior da célula vegetal.

Materiais

- Ramo de *Elodea sp.*;
- Frasco com água destilada;
- Frasco com solução saturada de cloreto de sódio;
- Pipeta Pasteur;
- Pinça;
- Lâmina e lamínula para microscopia;
- Microscópio de luz;
- Papel absorvente;
- Óleo de imersão.

Metodologia

Parte 1

- Retirar uma folha de *Elodea* do ramo com o auxílio da pinça.
- Colocar a folha sobre a lâmina, cobrir com uma gota de água destilada e em seguida posicionar a lamínula sobre a gota.
- Levar a lâmina ao microscópio, focalizar, observar, desenhar e identificar as partes da folha com diferentes aumentos (Figura 7.1).

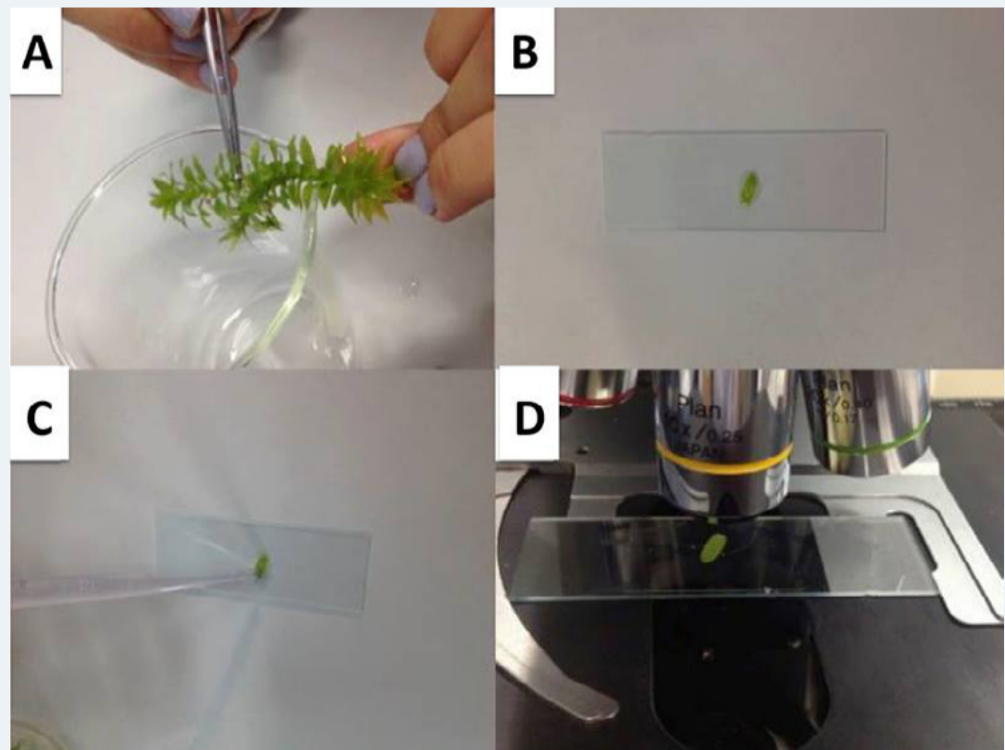


Figura 7.1 – A) Coleta da folha. B) Folha sobre lâmina de vidro. C) Gotejamento de água sobre a folha e montagem com lamínula. D) Visualização em microscopia óptica.

A figura 7.2 mostra fotomicrografias obtidas após a técnica descrita anteriormente.

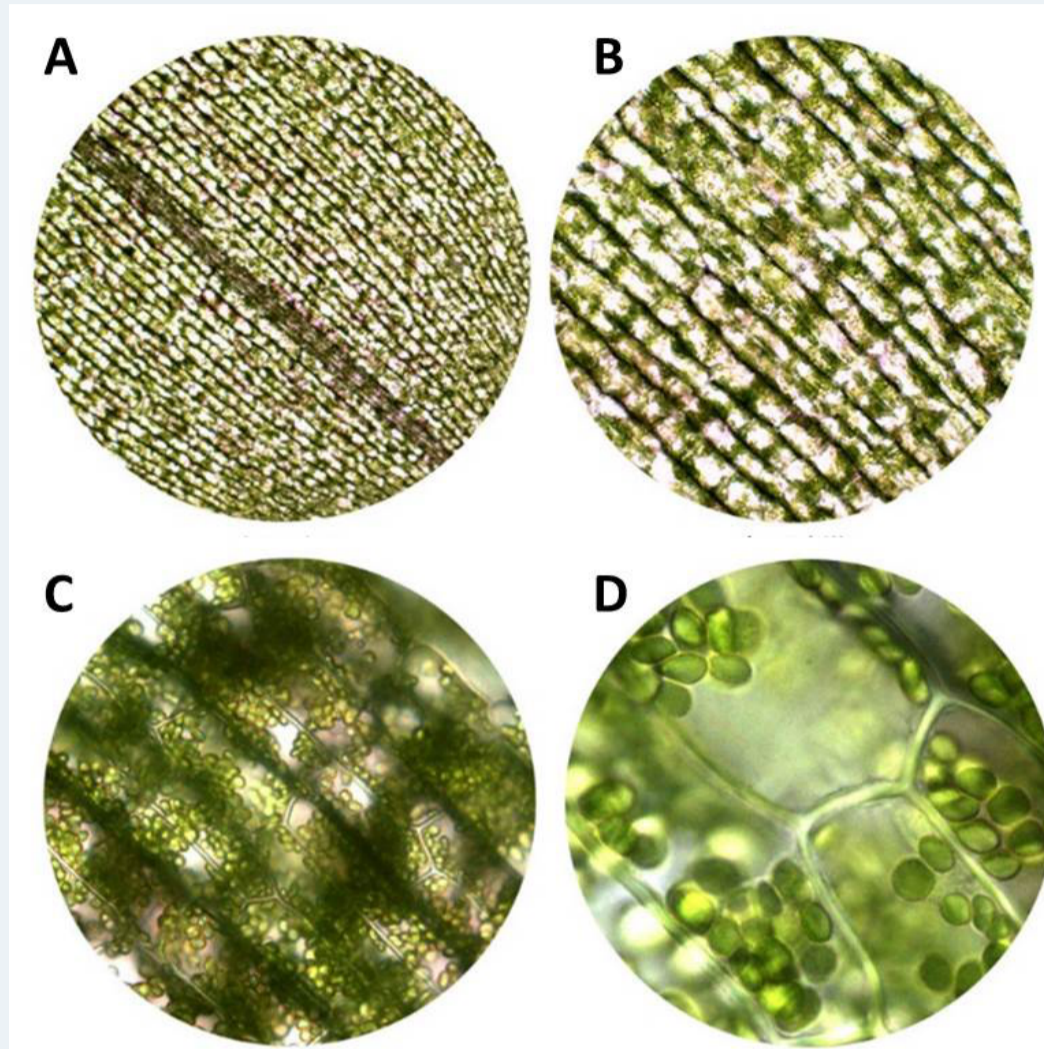


Figura 7.2 - Folhas de *Elodea sp.* observadas em diferentes aumentos por meio de microscopia óptica. Aumentos de 40x(A), 100x(B), 400x(C) e 1.000x(D).

Parte 2

- Após observação, retirar a lâmina do microscópio e gotejar solução saturada de cloreto de sódio em um dos lados da lamínula. Do lado oposto, com o papel filtro, absorver através de capilaridade a água destilada, de modo que a solução saturada ocupe a posição onde anteriormente estava a água (Figura 7.3).
- Levar novamente a lâmina ao microscópio, focalizar, observar, desenhar e identificar as partes da folha com os diferentes aumentos, não se esquecendo de inserir o óleo de imersão antes da lente de maior aumento (Figura 7.4).

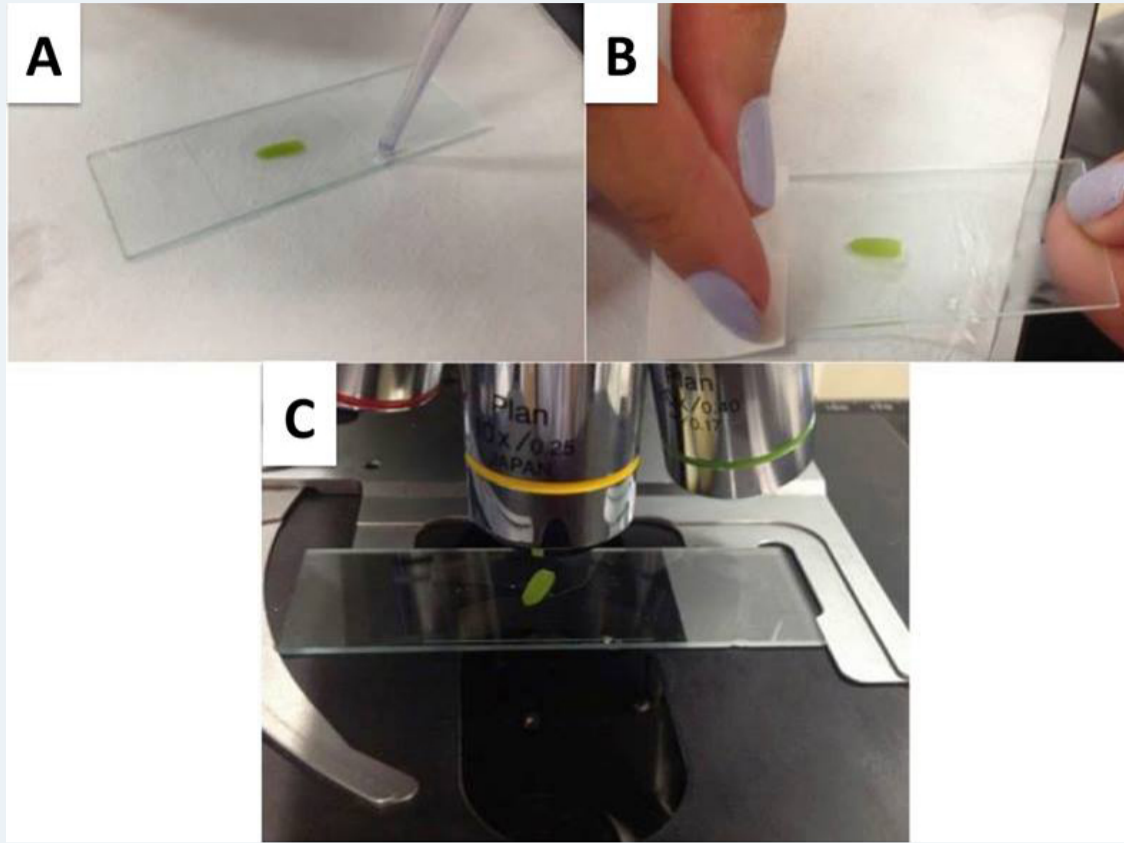


Figura 7.3 – A) Gotejamento da solução saturada de NaCl. B) Capilaridade por meio do papel absorvente. C) Observação em microscópio óptico.

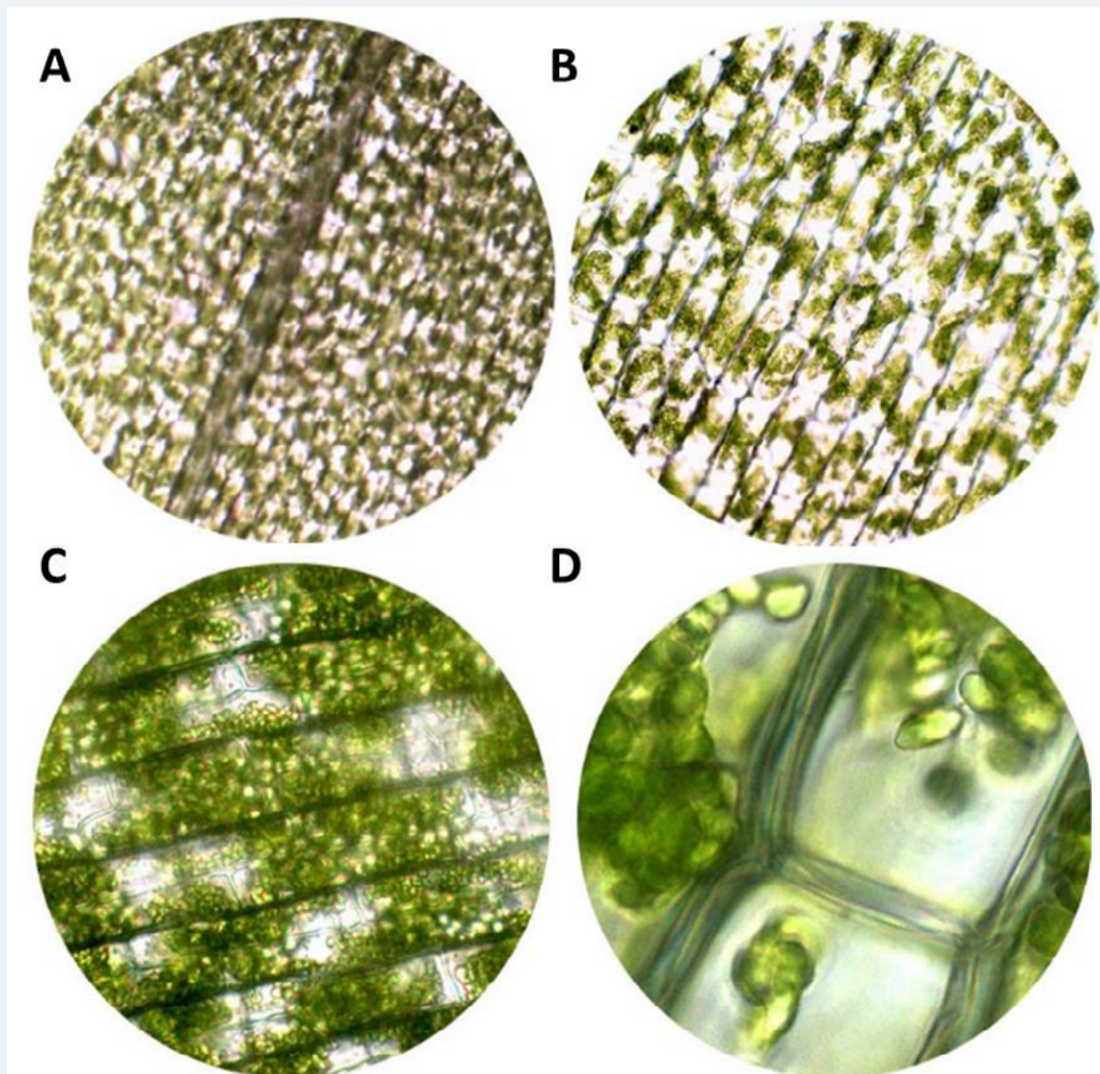


Figura 7.4 – Folhas de *Elodea sp.* observadas em diferentes aumentos por meio de microscopia óptica. Observar o efeito do aumento na concentração extracelular sob as células. Aumentos de 40x(A), 100x(B), 400x(C) e 1.000x(D).

Osmose em células de cebola roxa

Objetivo

Observar o efeito da osmose em células de cebola roxa após exposição celular à solução saturada de NaCl. O uso da cebola roxa é interessante. Ao utilizá-la, pode-se dispensar o uso de corantes.

Materiais

- Uma cebola roxa;
- Água destilada;
- Solução saturada de cloreto de sódio (NaCl);
- Pipeta Pasteur;
- Pinça;
- Lâmina e lamínula para microscopia;
- Microscópio de luz;
- Papel filtro;
- Óleo de imersão.

Metodologia

- Retirar, de uma camada inferior, a pele da cebola com o auxílio da pinça.
- Colocar a pele sobre a lâmina, cobrir com uma gota de água destilada e em seguida posicionar a lamínula sobre a gota.
- Levar a lâmina ao microscópio, focalizar, observar, desenhar e identificar as partes da folha com diferentes aumentos (Figuras 7.5 e 7.6).

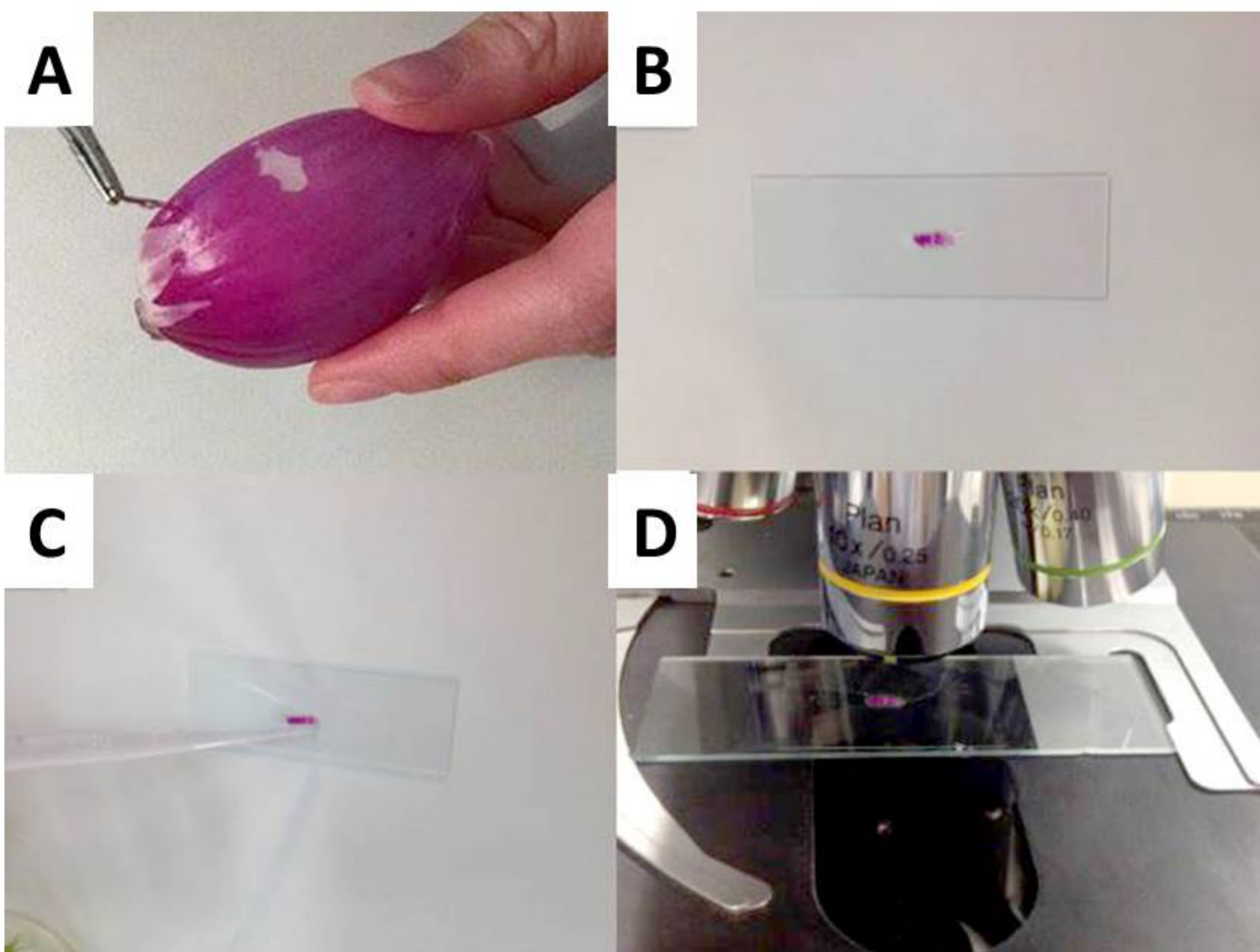


Figura 7.5 – Preparação da cebola para a prática de osmose. A) Retirada parte da epiderme de uma pétala de cebola. B) Epiderme sobre a lâmina de vidro. C) Gotejamento de água e montagem com lamínula. D) Observação em microscopia óptica.

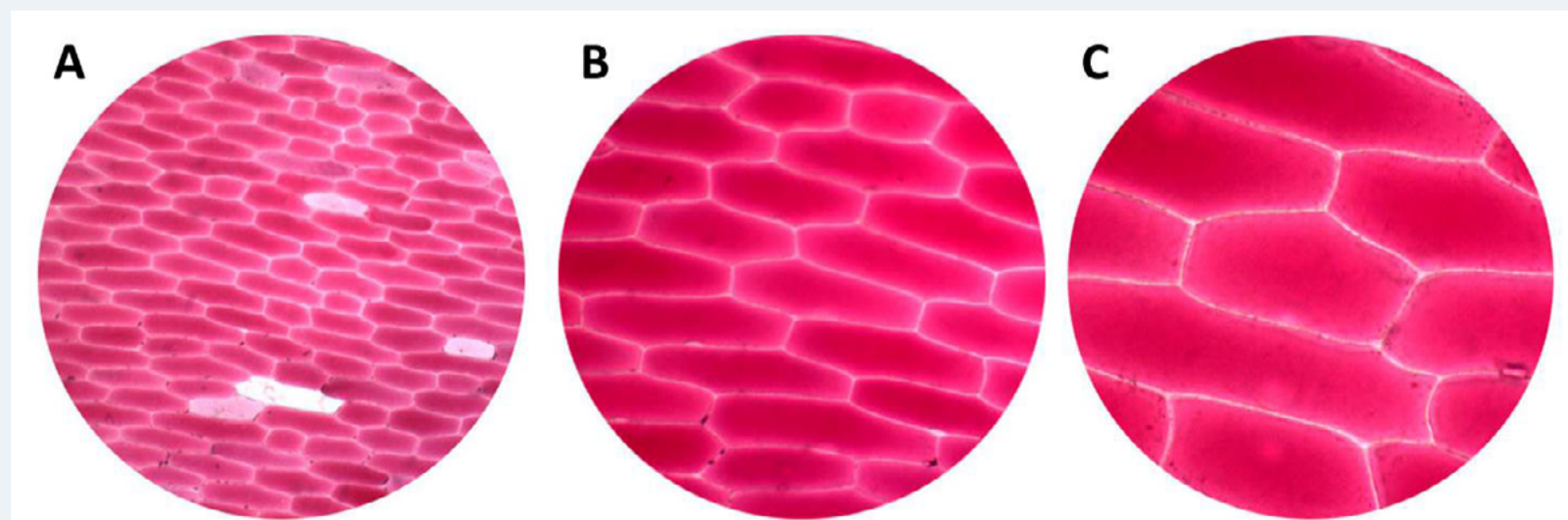


Figura 7.6 – Fotomicroscopia de células de epiderme de cebola roxa. Aumentos de 40x(A), 100x(B) e 400x(C).

- Após observação, retirar a lâmina do microscópio e pingar a solução saturada de cloreto de sódio em um dos lados da lamínula. Do lado oposto, com o papel filtro, absorver através de capilaridade a água destilada como descrito na figura 3 deste capítulo (Figura 7.7).

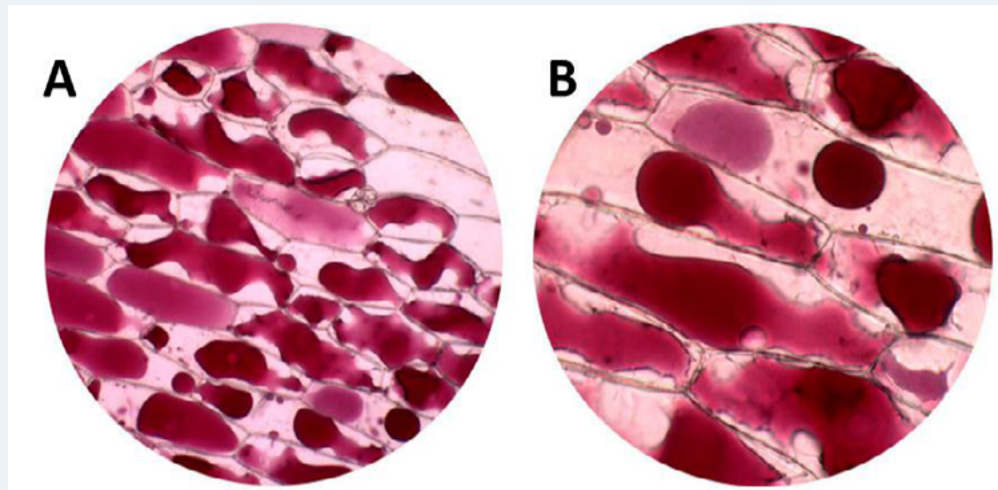


Figura 7.7 – Efeito da diferença de concentração extracelular de sais sob células de cebola roxa. Aumentos de 100x(A) e 200x(B).

Prática: observando a osmose em células animais

Objetivo

Montar uma lâmina a fresco com amostra de sangue e observar o efeito da mudança na concentração extracelular sobre a disposição das hemácias no interior da célula animal.

Materiais

- Amostra de sangue;
- Lancetas descartáveis;
- Álcool etílico 70 %;
- Algodão;
- Frasco com água;
- Frasco com solução de NaCl 0,9 %;
- Frasco com solução saturada de NaCl;

- Pipeta Pasteur;
- Papel absorvente;
- Lâmina e lamínula para microscopia;
- Microscópio de luz;
- Óleo de imersão.

Metodologia

- Limpar a ponta do dedo polegar com álcool 70 % e algodão.
- Furar o dedo com a lanceta descartável.
- Pingar, sobre a lâmina de vidro, três pequenas gotas de sangue. Caso necessário, utilizar três lâminas diferentes.

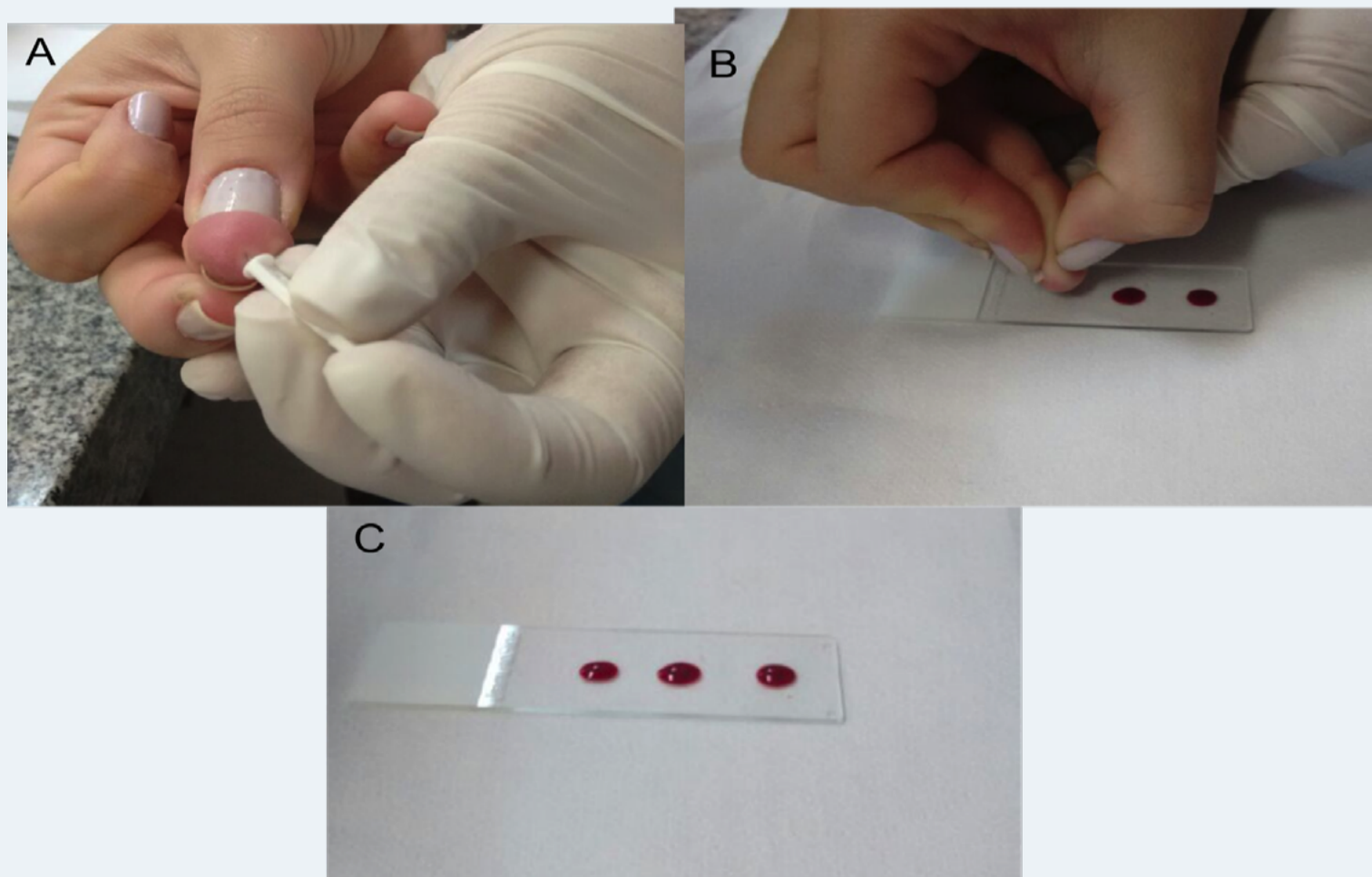


Figura 7.8 – A) Furo com a lanceta descartável, após a higienização do dedo. B) Gotejamento sobre a lâmina.

- Identificar as lâminas.
- Pingar sobre as diferentes gotas de sangue, de modo que não se misturem, água, NaCl 0,9 % e NaCl saturado.

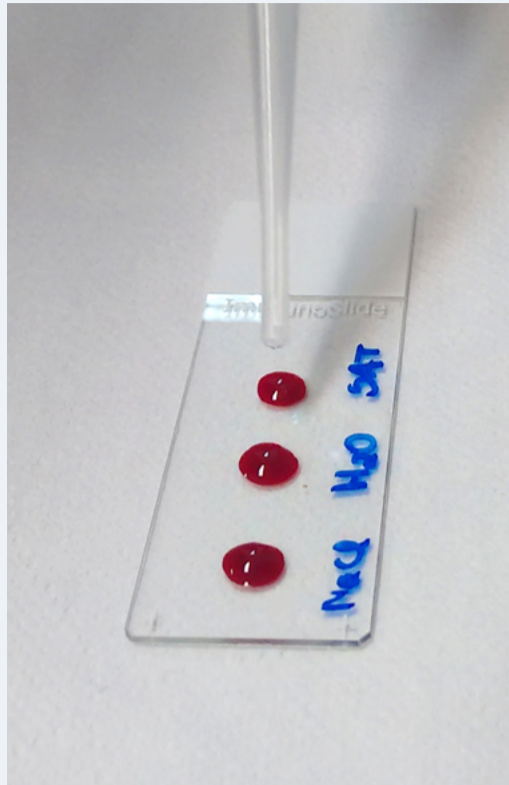


Figura 7.9 – Gotejamento de NaCl 0,9 %, água e NaCl saturado com pipetas diferentes.

- Aguardar entre 5 e 10 minutos e cobrir com a lamínula.
- Levar a lâmina ao microscópio, focalizar, observar com os diferentes aumentos e anotar os resultados, não se esquecendo de inserir o óleo de imersão antes da lente de maior aumento.

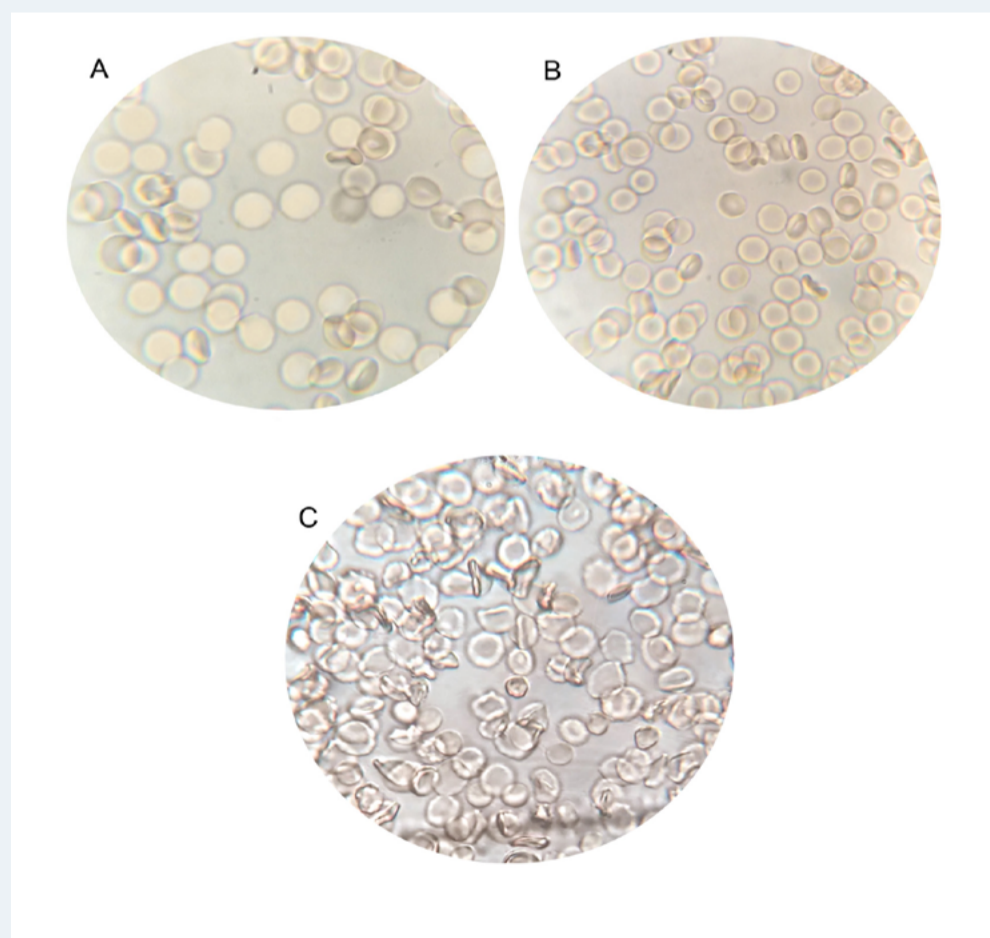


Figura 7.10 – A) Hemácias com água. B) Hemácias com NaCl 0,9 %. C) Hemácias com NaCl saturado em aumento de 400x.

Prática: verificando o efeito da diferença de concentração extracelular de sal de cozinha e açúcar em batatas

Objetivo

Por meio de uma prática simples e sem necessidade de microscópios, observar o efeito da diferença de concentração extracelular de sal de cozinha e açúcar em células vegetais.

Materiais

- Duas batatas inglesas;
- Sal de cozinha;
- Açúcar;
- Colher;
- Faca de plástico;
- Guardanapos.

Metodologia

- Cortar ao meio as duas batatas, com o auxílio da faca de plástico.
- Posicionar três metades de forma a identificá-las como: AÇÚCAR, SAL e CONTROLE.
- Com um guardanapo, seque as batatas cortadas.
- Em duas das metades, com o auxílio de uma colher, faça um buraco para retirar o miolo (Figura 7.11 A).
- Em uma das metades sem o miolo, adicione uma colher de sal e na outra metade, uma colher de açúcar. A terceira metade deverá ficar intacta (Figura 7.11 B).
- Posicione-as conforme a identificação e aguarde cerca de 30 minutos. Conforme o tempo passa, pode-se notar a transferência de água através das membranas (Figura 7.11 C).

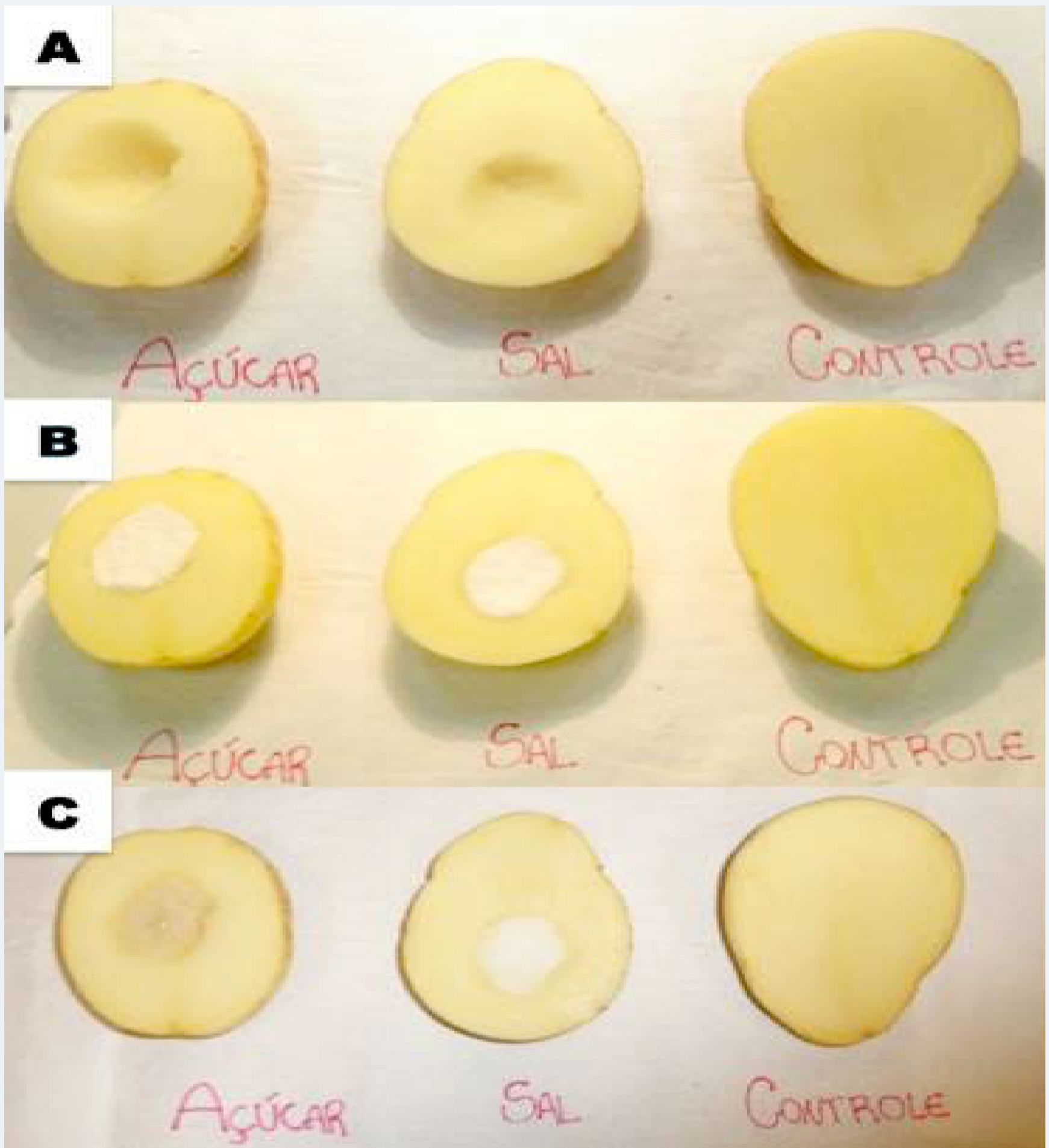
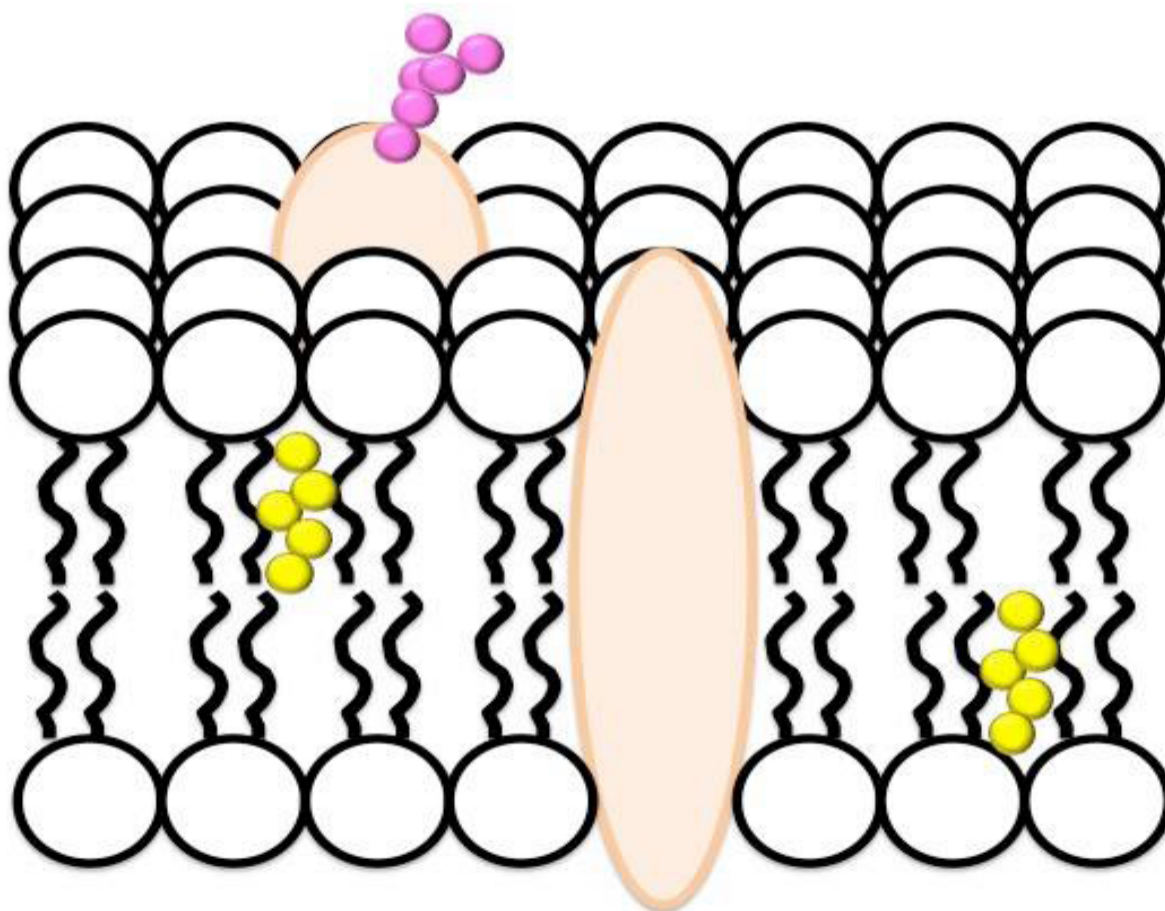


Figura 7.11 - Efeito da concentração extracelular de sal e açúcar em batata. A) Preparação das batatas. B) Adição de sal e açúcar nas batatas. C) Observação do efeito osmótico após 30 minutos.

Questões para discussão

1. Alguns animais, como as lesmas, caracóis e minhocas, possuem a pele composta por apenas uma fina camada de células bastante permeável que facilita a troca de gases e, conseqüentemente, a respiração; porém, esses animais são muito sensíveis à desidratação. Em vista disso, explique o efeito do excesso de sais no meio em que essas espécies vivem.
2. Os batimentos cardíacos impulsionam o sangue oxigenado através de artérias e permitem que ele se distribua por todo o corpo. A pressão alta arterial pode ocorrer por excesso de líquido no interior dos vasos ou devido à diminuição no diâmetro das artérias. Explique por que o consumo de sal em excesso não é recomendado para pessoas que possuem pressão alta.
3. Aponte e identifique na figura abaixo os componentes da membrana plasmática, descrevendo como cada componente interfere no trânsito de moléculas pela membrana.



Referências

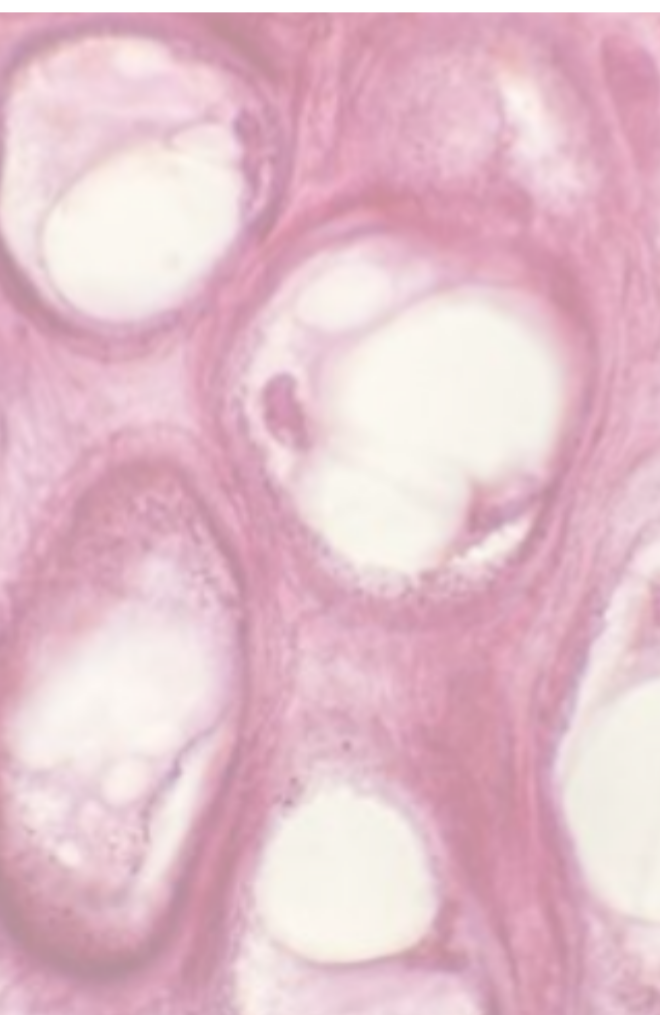
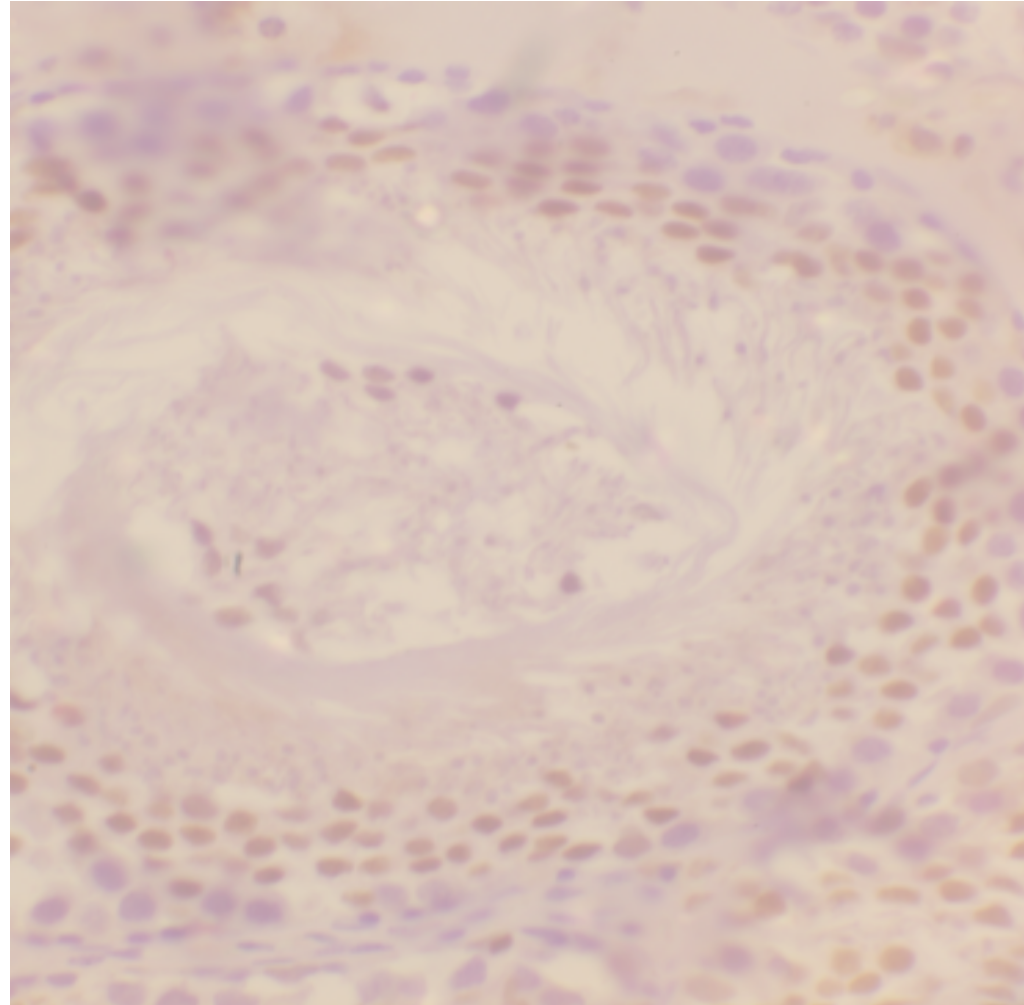
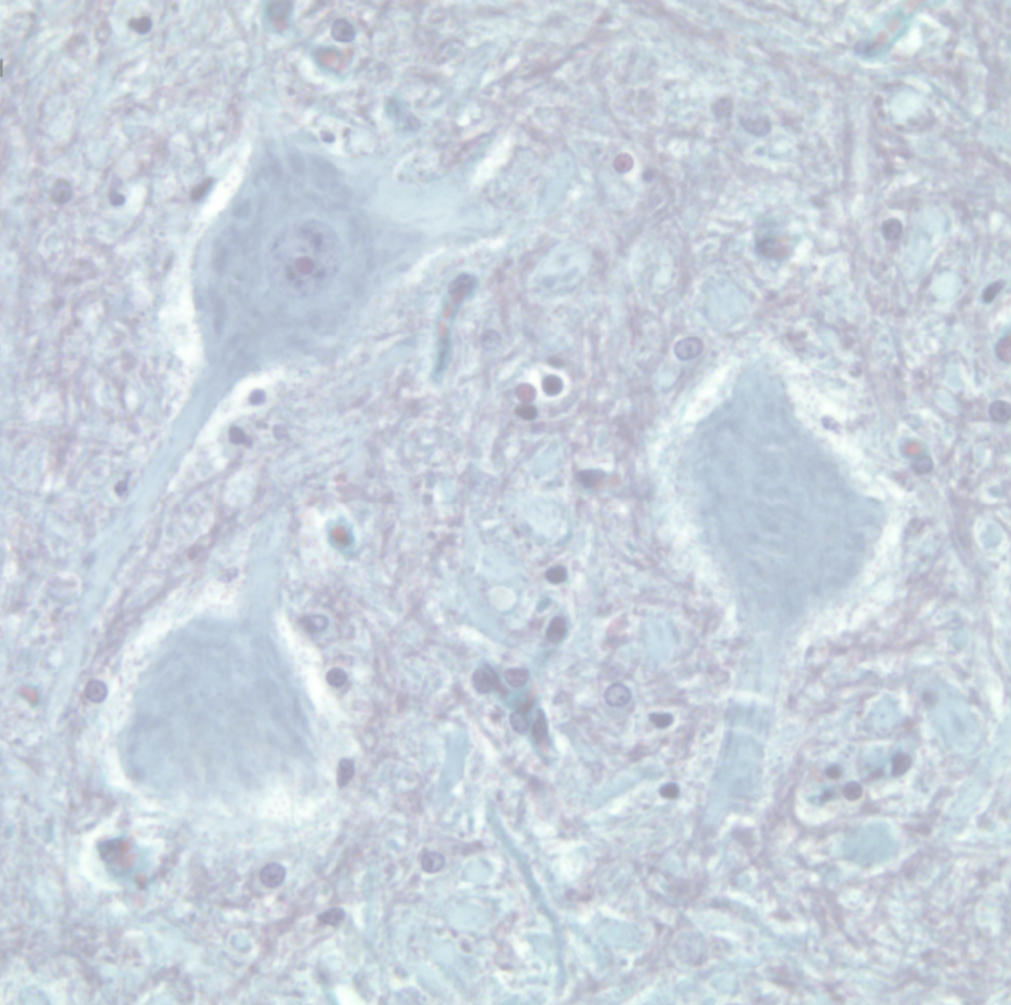
ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Bio-
logia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

JOHNSON, A. B. H.; WALTER, L. R. R. *Fundamentos da biologia celular*. 3. ed. Por-
to Alegre: Artmed, 2011.

JORDÃO, B. Q.; ANDRADE, C. G. T. J.; RUAS, C. F.; CÓLUS, I. M.; BUIM, M. E. *Práti-
cas de biologia celular*. Londrina: UEL, 1998.

LUIZ, M. *Importância da osmose nos organismos vivos*. Lyfe Styles. Disponível
em: <[http://www.lifestyles.com.br/index.htm/2012/07/importancia-da-osmo-
se-nos-organismos-vivos/](http://www.lifestyles.com.br/index.htm/2012/07/importancia-da-osmo-
se-nos-organismos-vivos/)>. Acesso em: 23 out. 2014.

RIBEIRO, G. Membranas celulares. *BioGeraldo*, 2011. Disponível em: <[http://pt.s-
lideshare.net/biogeraldo/membrana-plasmatica-8698102](http://pt.s-
lideshare.net/biogeraldo/membrana-plasmatica-8698102)>. Acesso em: 25 out.
2014.



CAPÍTULO 8

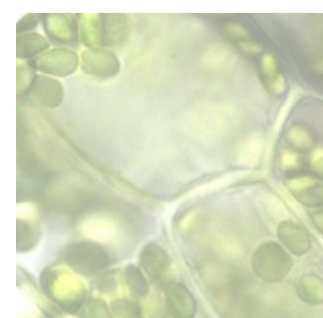
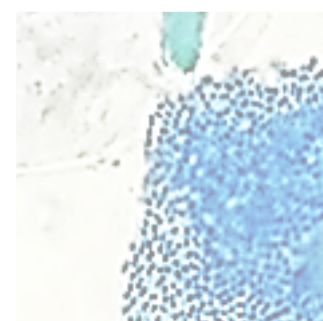
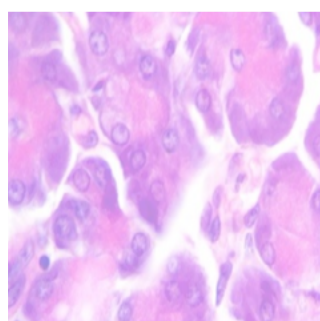
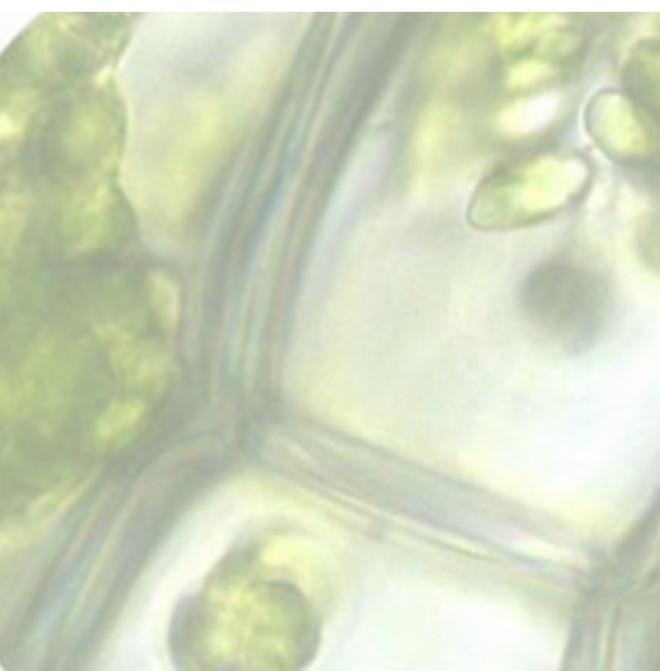
O CITOESQUELETO E SUAS IMPLICAÇÕES PARA AS CÉLULAS

José Eduardo Baroneza

Amanda Ribeiro Bosch

Katheleen Kravicz

Victor Costa da Silva



Introdução

O citoesqueleto é constituído por uma rede de proteínas que se estende por todo o citoplasma e auxilia as células a manter ou alterar sua forma, deslocar-se no espaço, posicionar organelas, controlar o tráfego intracelular de vesículas e formar estruturas contráteis. Além disso, em conjunto com outras moléculas, participa de processos como a divisão celular e a adesão célula-célula ou célula-matriz. Embora por muito tempo se aceitou que essas moléculas eram exclusivas de células eucarióticas, hoje sabemos que procariotos também possuem citoesqueleto, formado por proteínas análogas àquelas encontradas em eucariotos, com funções similares. Para efetuar sua função, algumas moléculas do citoesqueleto dependem de proteínas acessórias, tais como os motores moleculares dinamina e cinesina, associados ao citoesqueleto de microtúbulos, e miosina, associada ao citoesqueleto de actina.

O citoesqueleto pode ser dividido em três componentes principais:

- **Microtúbulos:** formados por uma sequência circular fechada de treze tubulinas que nascem do centrosomo e podem se estender por toda a célula. Os microtúbulos são observados exercendo função no transporte intracelular, organização da divisão celular e estão presentes, inclusive, em flagelos e cílios de células eucarióticas.
- **Filamentos intermediários:** formados por uma grande família de proteínas heterogêneas. São resistentes ao estiramento e desempenham um papel estrutural na célula, mantendo sua integridade e proporcionando estabilidade mecânica.

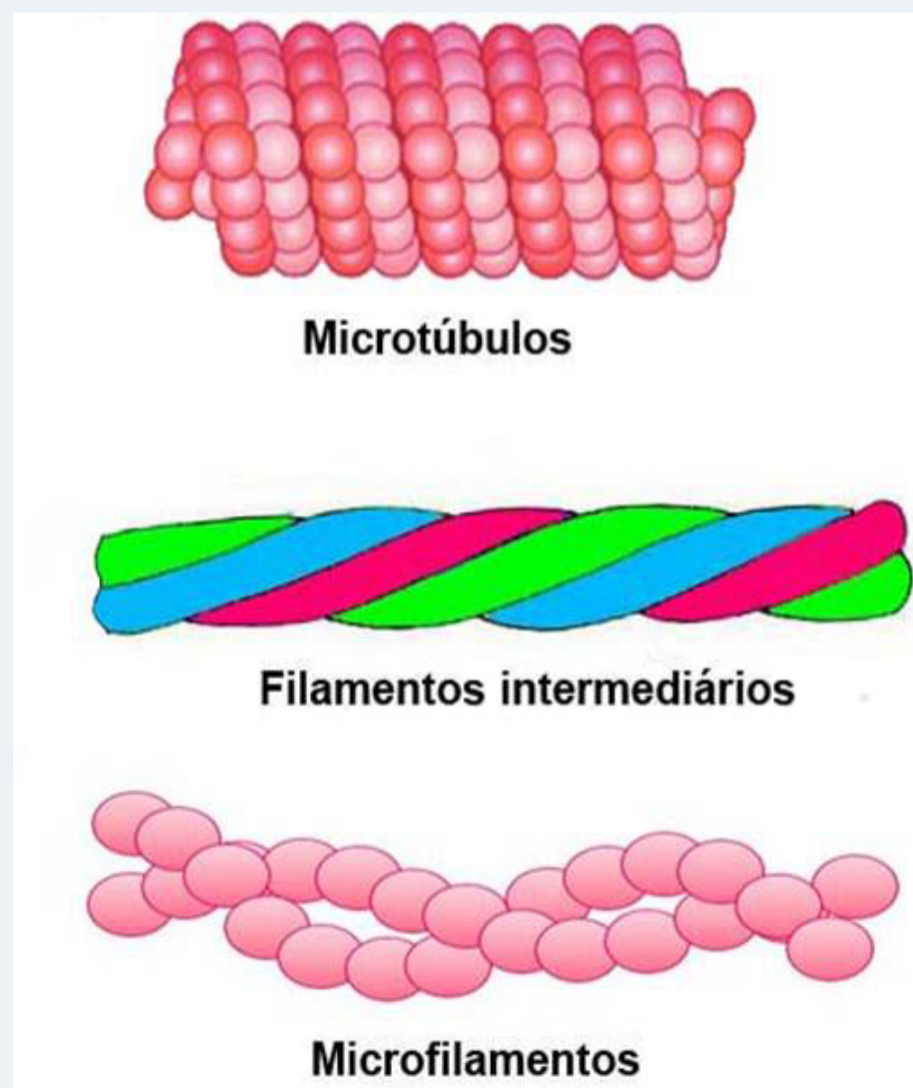


Figura 8.1 – Componentes do citoesqueleto.

- Microfilamentos: também conhecidos como filamentos de actina, são polímeros helicoidais de fita dupla da proteína actina. Concentram-se abaixo da membrana plasmática controlando a forma celular e auxiliando deslocamentos no espaço. Em células vegetais, a actina tem papel central no tráfego intracelular de vesículas e, em células musculares, organizam-se com outras moléculas para formar a estrutura contrátil conhecida como sarcômero.

Prática: encontrando organismos de vida livre na água

Objetivo

Montar uma lâmina a fresco com amostra de água e observar a movimentação celular de micro-organismos aquáticos.

Materiais

- Béquer;
- Amostra de água coletada em local de água doce rico em matéria orgânica (poças, lagos, rios);
- Rede de plânctons;
- Lâmina e lamínula para microscopia;
- Pipeta Pasteur;
- Microscópio.

Metodologia

- Coletar, com o auxílio da rede de plânctons, a amostra da água a ser utilizada e reservar em um béquer (Figura 8.2).
- Na sala de práticas, com o auxílio da pipeta Pasteur, gotejar parte do sobrenadante da amostra em uma lâmina (Figura 8.3 A e B).
- Colocar a lamínula sobre a gota.
- Observar no microscópio em diferentes aumentos e procurar protozoários de vida livre, a maioria ciliados e amebóides. Como o material não é

corado, recomenda-se melhorar o contraste diminuindo a abertura do diafragma do microscópio (Figura 8.3 C).

- Discutir e desenhar o que se vê e qual a relação do movimento observado com o citoesqueleto.



Figura 8.2 – Coleta de amostra com o auxílio da rede de plâncton e um béquer.

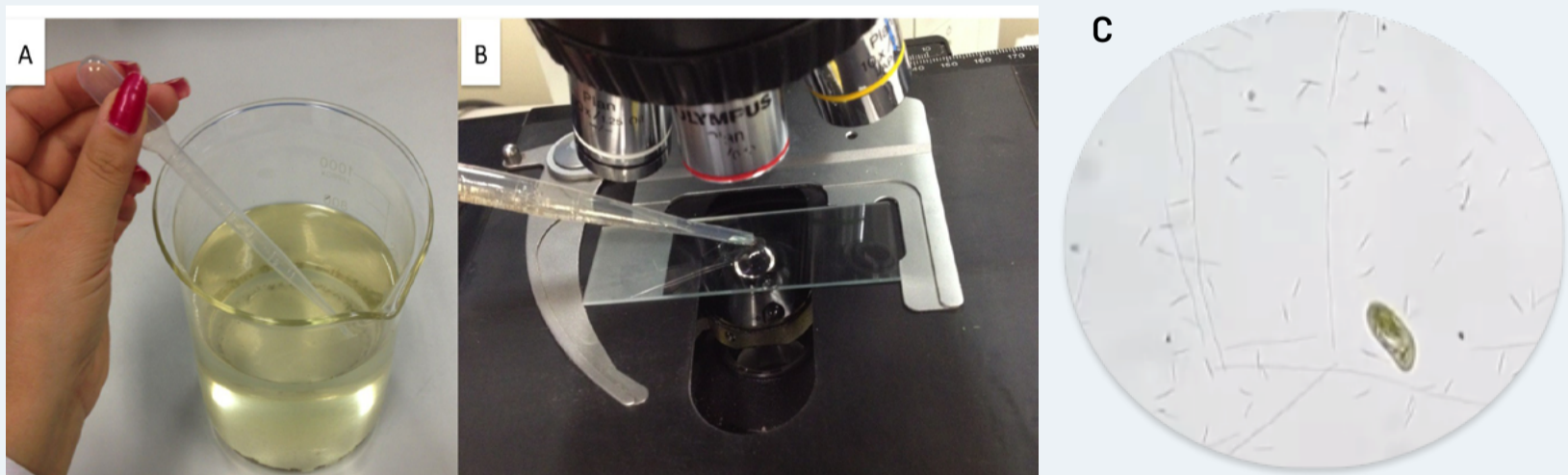


Figura 8.3 – A) Amostra sendo coletada com a pipeta de Pasteur. B) Amostra sendo preparada na lâmina. C) Fotomicrografia de amostra observada em aumento de 400x.

Prática: observando flagelos e mobilidade celular em espermatozoides

Objetivo

Montar lâminas a fresco com amostra de sêmen e observar o flagelo e a motilidade celular.

Materiais

- Amostra de sêmen (para motilidade é importante que seja colhido até 2 horas antes da prática);
- Água destilada;
- Álcool absoluto;
- Pipeta Pasteur;
- Corante Giemsa;
- Lâmina e lamínula para microscopia;
- Microscópio de luz;
- Óleo de imersão.

Metodologia

- LÂMINA 1: gotejar sêmen sobre uma lâmina de vidro, cobrir com uma lamínula e observar nos aumentos de 40x, 100x, 400x a 1.000x. Como o material não está corado, a observação se torna mais fácil de diminuir a abertura do diafragma do microscópio.
- LÂMINA 2: com a pipeta de Pasteur, gotejar sêmen sobre a lâmina e em seguida, com o auxílio de uma segunda lâmina, realizar o esfregaço. Aguarde até que a lâmina seque ao ar. A lâmina utilizada para o esfregaço pode ser descartada. É importante esperar secar bem.
- Com outra pipeta, gotejar álcool absoluto sobre a lâmina de vidro. Esperar secar ao ar.

- Gotejar o corante Giemsa e aguardar durante dez minutos.
- Sob uma torneira levemente aberta, lavar a lâmina em água corrente para tirar o excesso de corante.
- Montar a lâmina com a lamínula.
- Levar ao microscópio, focalizar, observar, desenhar e identificar as partes do espermatozoide com os diferentes aumentos, não se esquecendo de inserir o óleo de imersão antes da lente de maior aumento (100x)(Figura 8.4).

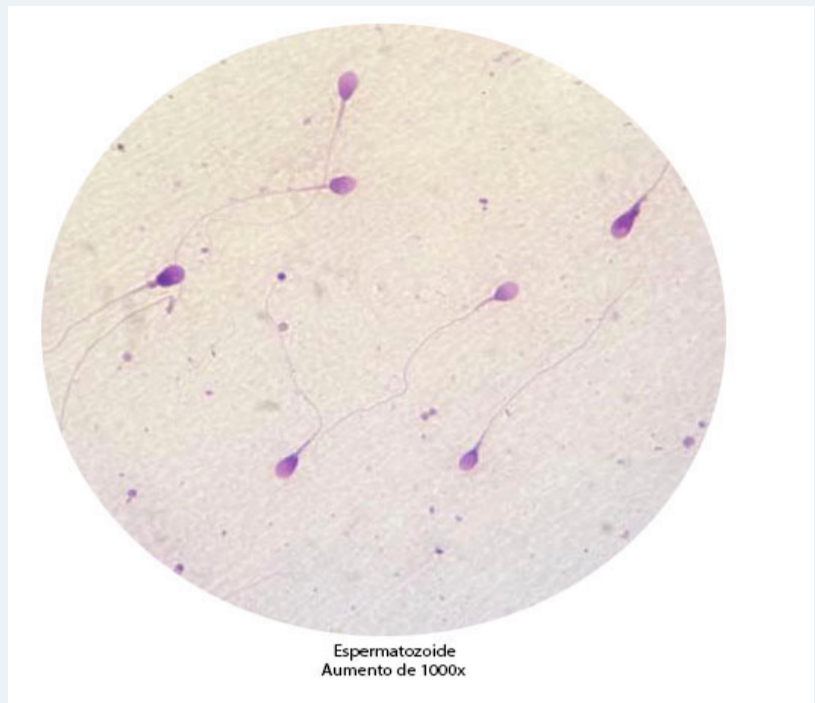


Figura 8.4 - Observação de espermatozoide corado através de fotomicrografia em aumento de 1.000x.

Prática: analisando a organização dos microfilamentos na célula muscular estriada esquelética

Objetivo

Observar em microscópio de luz uma lâmina com corte transversal de músculo estriado esquelético. Discutir qual a relação do que se vê com o citoesqueleto e desenhar.

Materiais

- Lâmina permanente de corte longitudinal de músculo estriado esquelético corado com hematoxilina e eosina.

Metodologia

- Observar nos aumentos de 40x a 1.000x. Visualizar as bandas claras e escuras, desenhar e discutir o que se vê.

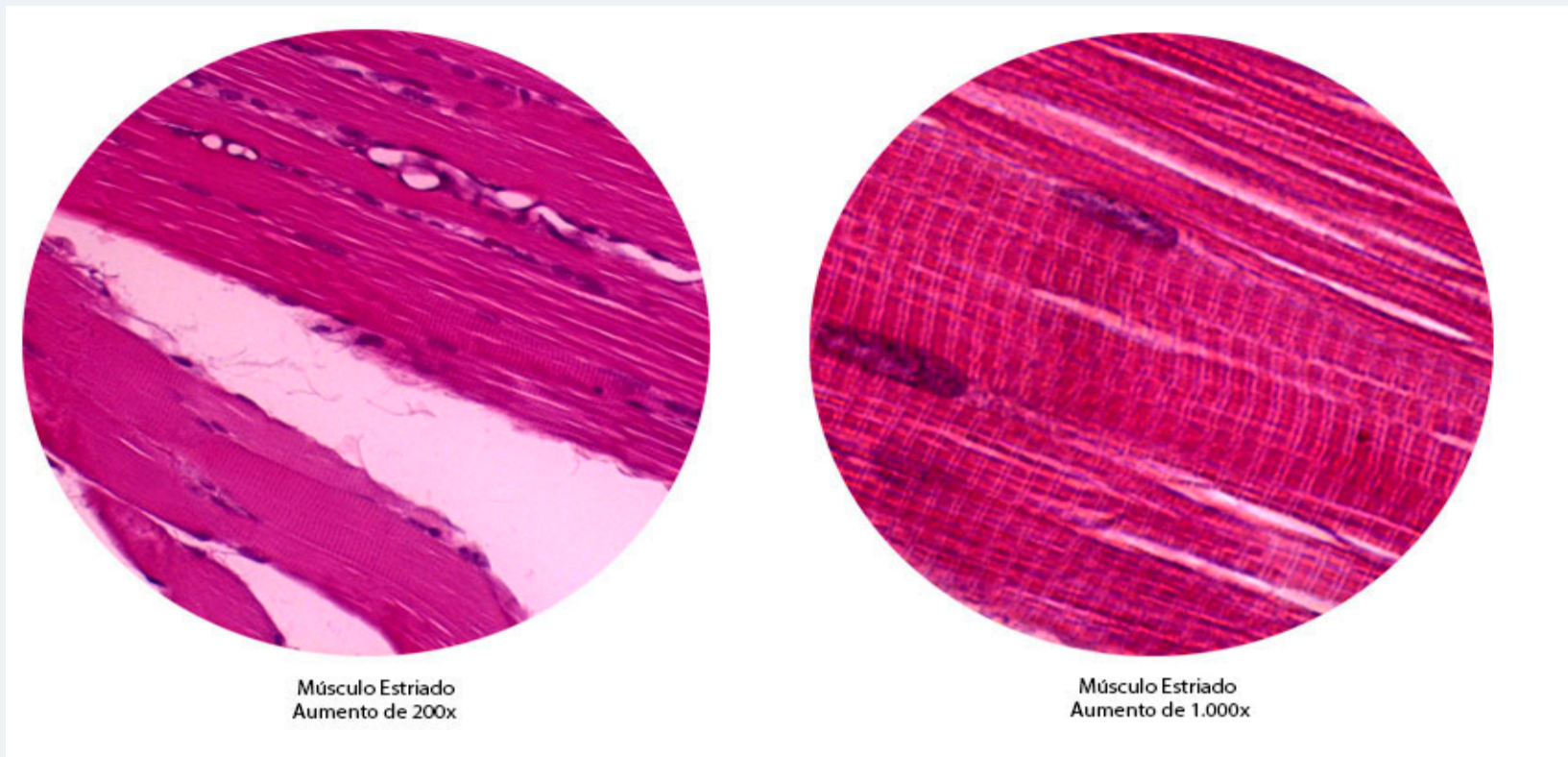


Figura 8.5 - Observação de músculo estriado nos aumentos de 200x e 1.000x respectivamente.

Prática: visualizando microvilosidades no intestino delgado e cílios na traqueia

Objetivo

Observar em microscopia óptica microvilosidades e cílios. Discutir qual a relação dessas estruturas com o citoesqueleto e desenhar.

Materiais

- Lâmina permanente de intestino delgado corado com hematoxilina e eosina;
- Lâmina permanente de traqueia corada com hematoxilina e eosina.

Metodologia

- Observar as lâminas sugeridas em microscopia óptica, desenhar e discutir o que se vê.

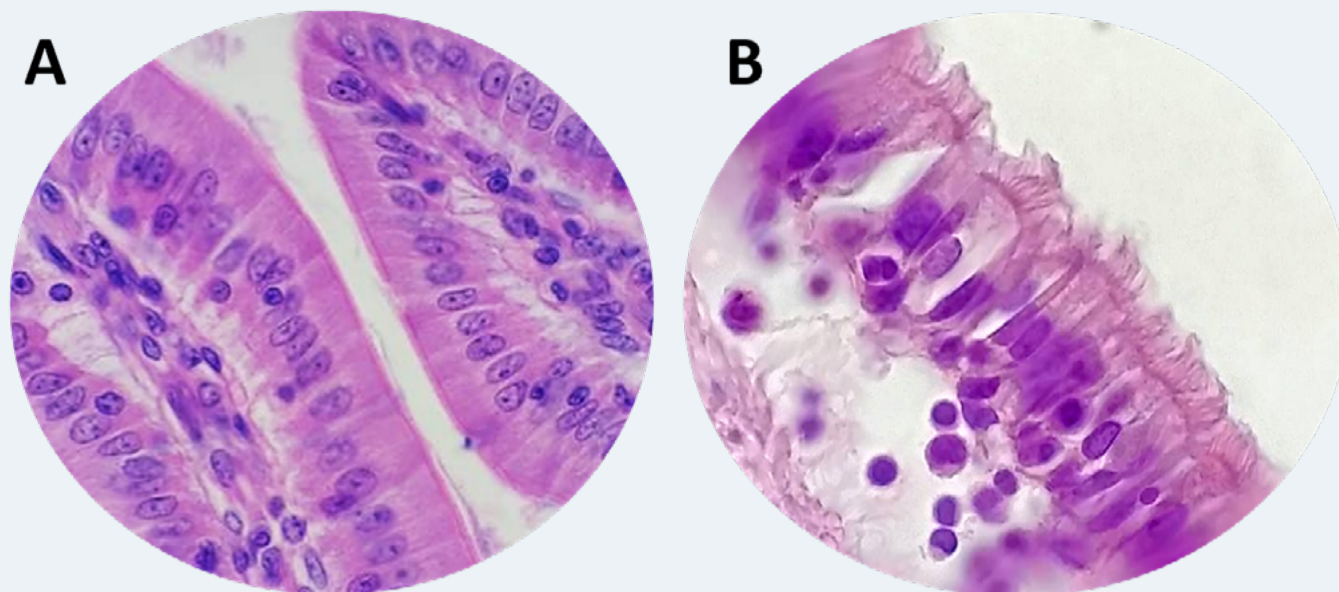


Figura 8.6 – Especializações de membrana associadas ao citoesqueleto em aumento de 400x. A) Borda em escova com microvilosidades no epitélio que reveste o intestino delgado. B) Cílios em células de traqueia.

Questões para discussão

1. Quais funções são desempenhadas pelo citoesqueleto de actina, pelos microtúbulos e pelos filamentos intermediários nas células animais? Que diferenças existem nas funções dessas moléculas em células vegetais?
2. Entre as especializações de membrana plasmática nas quais o citoesqueleto exerce função essencial estão desmossomos, hemidesmossomos e junções do tipo zônula de adesão. O que diferencia essas especializações e que tipo de molécula do citoesqueleto está associado a cada uma?
3. A que se deve a diferença no padrão de movimentação de cílios e flagelos?
4. No citosol das células musculares estriadas, a distribuição de moléculas do citoesqueleto difere, por exemplo, das células epiteliais. Compare a organização e a função das moléculas do citoesqueleto nesses dois tipos celulares.

Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Bio-logia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

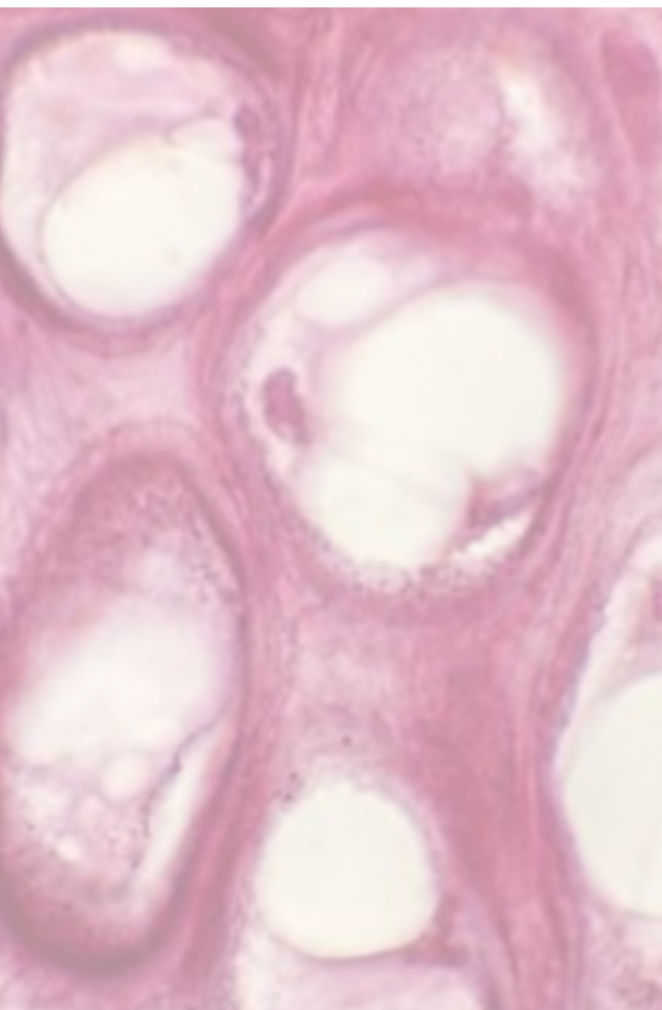
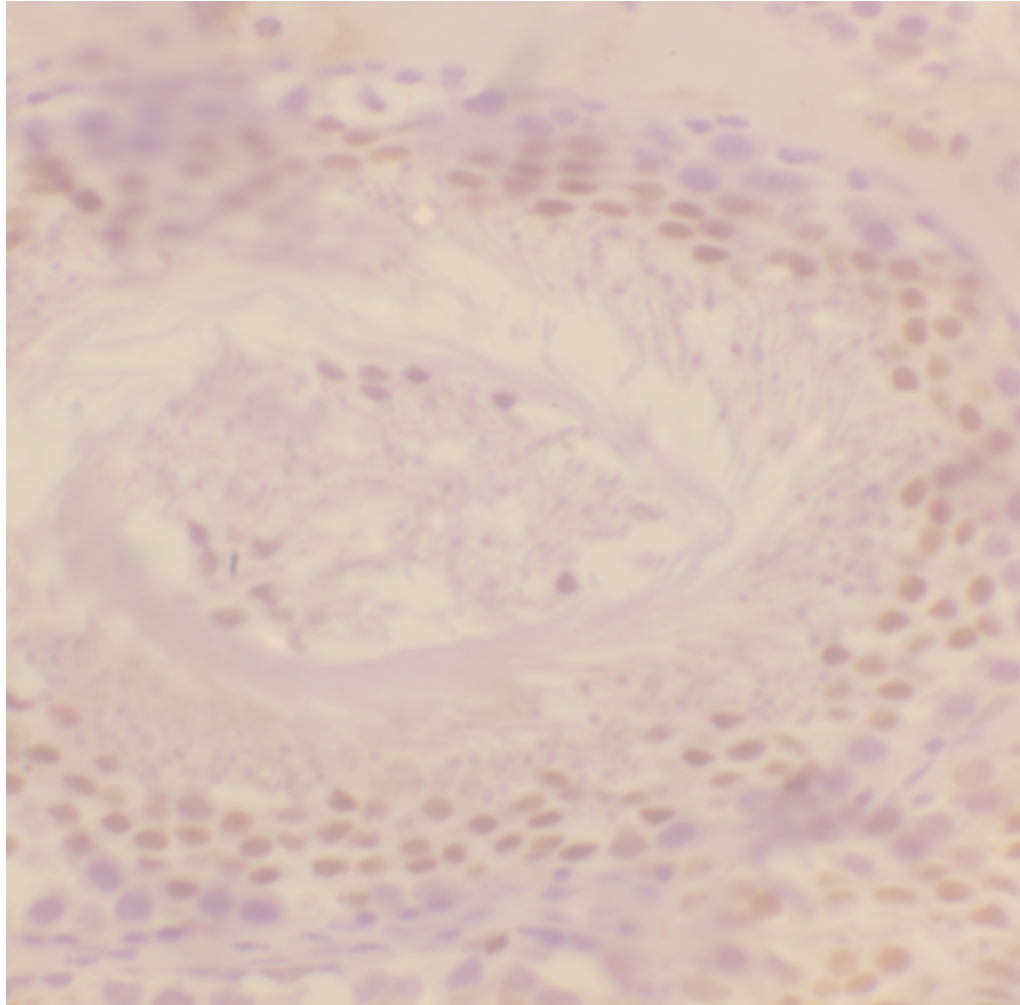
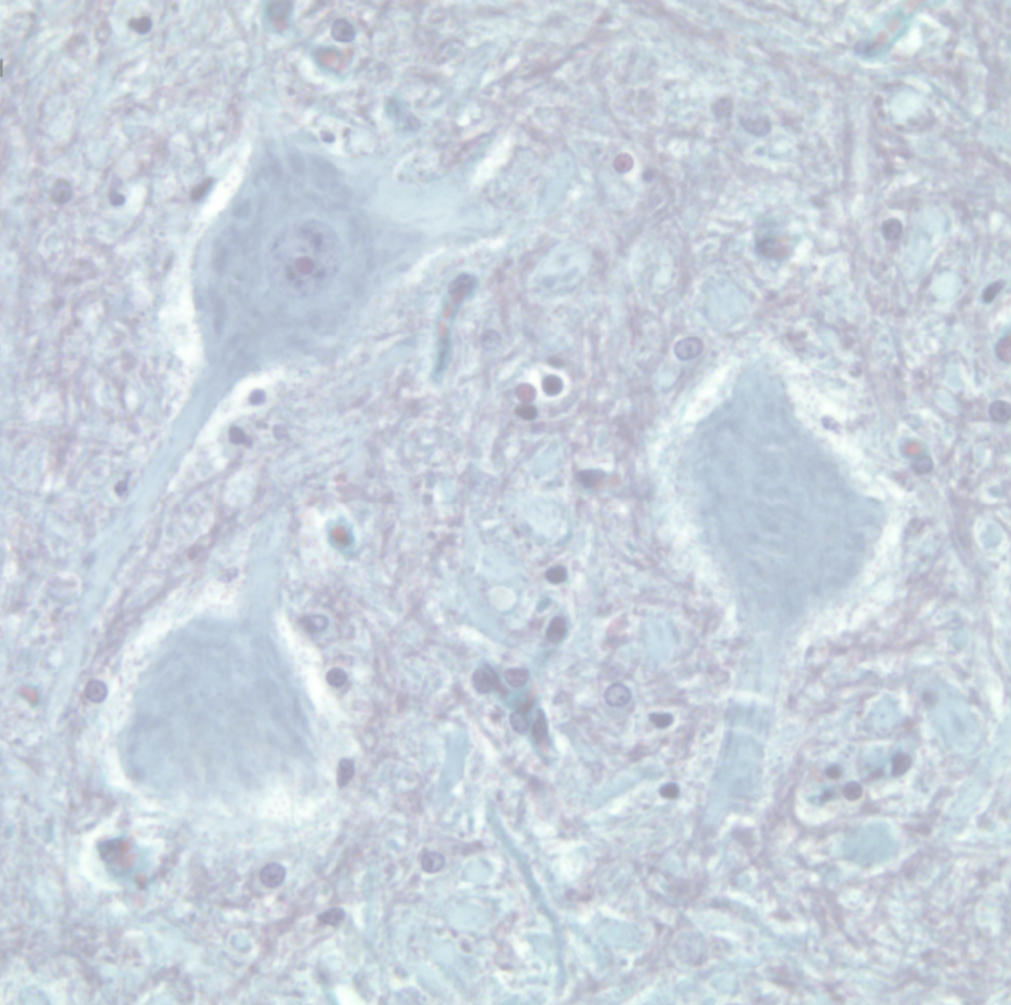
JOHNSON, A. B. H.; WALTER, L. R. R. *Fundamentos da biologia celular*. 3. ed. Por-to Alegre: Artmed, 2011.

MAGALHÃES, F.; COSTA, I.; FARIA, L. L. Filamentos de actina, miosina e filamentos intermediários. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, Aracaju, v. 2, n. 2, 2º semestre 2002.

MAYER, F. Cytoskeletons in prokaryotes. *Cell Biol.*, v. 27, n. 5, p. 429-38.

SILVA, R. Paramécios em fá maior. *Ponto Ciência*, 2010. Disponível em: <<http://pontociencia.org.br/gerarpdf/index.php?experiencia=686>>. Acesso em: 26 out. 2014.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Biologia Celular Atlas Digital. *Citoesqueleto*. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/biologiacelularatlas/cito.htm>>. Acesso em: 30 out. 2014.

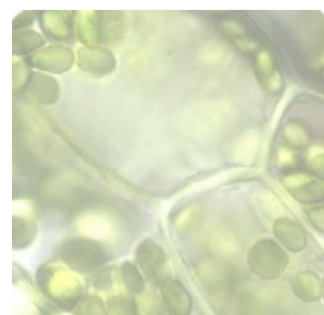
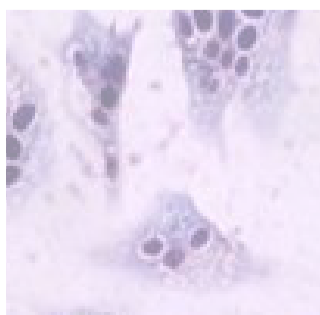
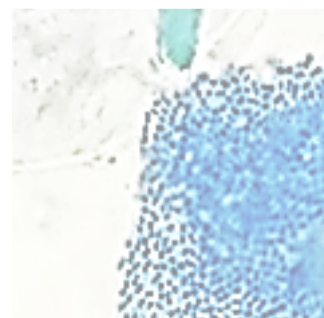
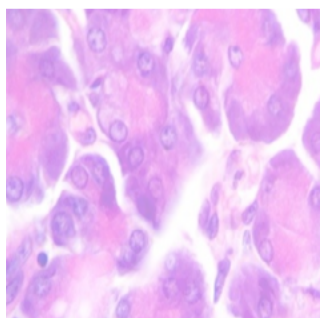
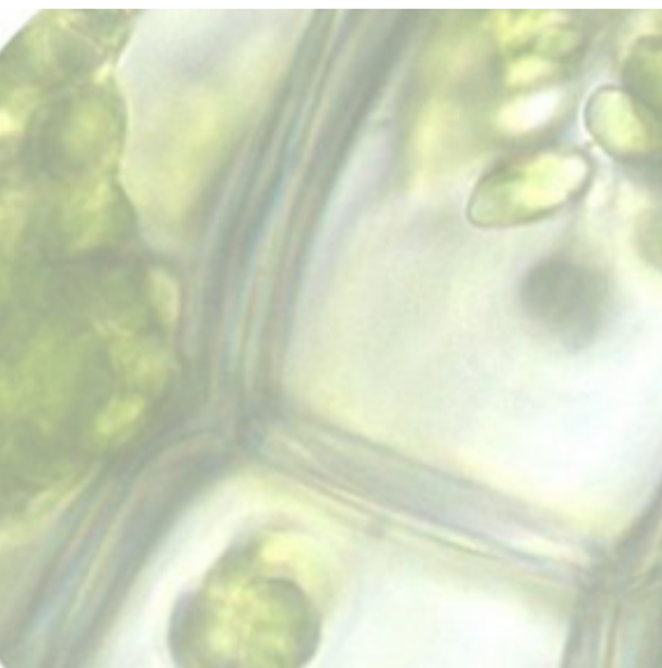


CAPÍTULO 9

PEROXISSOMOS

Rafael Monteiro de Oliveira

Thiago Roncini Gomes da Costa



Introdução

Muitos estudos bioquímicos conduzidos entre o final do século XIX e metade do século XX tinham como objetivo caracterizar a ação de diversas enzimas, entre as quais estavam a catalase e a urato oxidase, que até então acreditava-se serem constituintes dos lisossomos. Somente em 1963 foi demonstrado que ambas estavam contidas em uma nova organela, diferente dos lisossomos, a qual não havia sido descrita até aquele momento. Dois anos depois, em 1965, De Duve propôs o nome *peroxissomo* devido à capacidade que a catalase possui para degradar o peróxido de hidrogênio.

Hoje sabemos que há mais de 50 enzimas contidas nos peroxissomos, com destaque para as já citadas catalase e urato oxidase, além daquelas participantes no metabolismo de lipídios, via β -oxidação, como a D-aminoácido oxidase. Tais enzimas oxidativas transferem átomos de hidrogênio de diversos substratos (R) para o oxigênio molecular (O_2), produzindo assim peróxido de hidrogênio (H_2O_2), conforme a reação $RH_2 + O_2 \rightarrow R + H_2O_2$.

A enzima catalase, por sua vez, utiliza o peróxido de hidrogênio para oxidar outros substratos (R'). Essa via é importante nos processos de detoxificação, como ocorre com o álcool das bebidas, que é oxidado a acetaldeído numa reação genericamente chamada de peroxidativa. Em geral, as reações peroxidativas podem ser descritas da seguinte maneira: $H_2O_2 + R'H_2 \rightarrow R' + 2 H_2O$.

Por fim, sendo o peróxido de hidrogênio um oxidante prejudicial à célula, a catalase decompõe o excesso que não foi utilizado nas reações peroxidativas em oxigênio molecular e água, conforme a reação $2 H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2 H_2O$.

A morfologia dos peroxissomos é relativamente simples, sendo quase sempre esféricos, com diâmetro variando entre 0,2 e 1 μm . São delimitados por uma única membrana lipoproteica e a maior parte de suas enzimas está dispersa pelo lúmen da organela (matriz peroxissomal). Devido à grande concentração de tais enzimas na matriz, comumente ocorre a formação de um núcleo cristalóide, visível ao microscópio eletrônico. Os peroxissomos estão presentes em todas as células eucarióticas, porém seu número e forma podem variar de acordo com os diferentes tipos celulares.

Apesar de seu papel central no metabolismo celular, geralmente são poucas as páginas destinadas ao estudo dos peroxissomos nos livros didáticos atuais. Tendo em vista a proposta inicial do presente material, sugerimos a seguir algumas abordagens práticas que visam evidenciar a existência e funcionalidade dos peroxissomos.

Prática: constatando a presença e a ação da catalase

Objetivo

A enzima catalase é um dos principais componentes dos peroxissomos, atuando na conversão do peróxido de hidrogênio em produtos inócuos (H_2O e O_2). A prática a seguir tem por objetivo evidenciar a presença e ação da catalase em tecidos biológicos, sob diferentes condições.

Materiais

- 1 peça de fígado de boi cru (aproximadamente 50 gramas);
- 1 frasco de peróxido de hidrogênio (água oxigenada) 10 volumes;
- Suco de um limão fresco;
- Pipeta Pasteur ou conta-gotas;
- Faca lisa;
- 4 recipientes transparentes;
- 1 pincel para quadro branco;
- 1 chapa aquecedora ou béquer com água e bico de Bunsen, para cozinhar frações do fígado.

Metodologia

O fígado deve ser inicialmente cortado em quatro porções iguais, as quais serão depositadas uma em cada recipiente. Com a caneta para quadro branco, identifique os recipientes da seguinte forma: 1) fígado cru; 2) fígado cozido; 3) fígado cru + suco de limão; 4) fígado cozido + suco de limão. Nos recipientes 2 e

4, as frações de fígado utilizadas devem ser previamente cozidas, enquanto nos recipientes 3 e 4 (presença de ácido), deverá ser adicionado um pouco de suco de limão.

Com a pipeta Pasteur ou conta-gotas, adicione uma quantidade equivalente de água oxigenada em cada um dos recipientes. Se desejar, após o acréscimo da água oxigenada, os recipientes podem ser vedados com papel filme para observação do aumento no volume de gás interno.

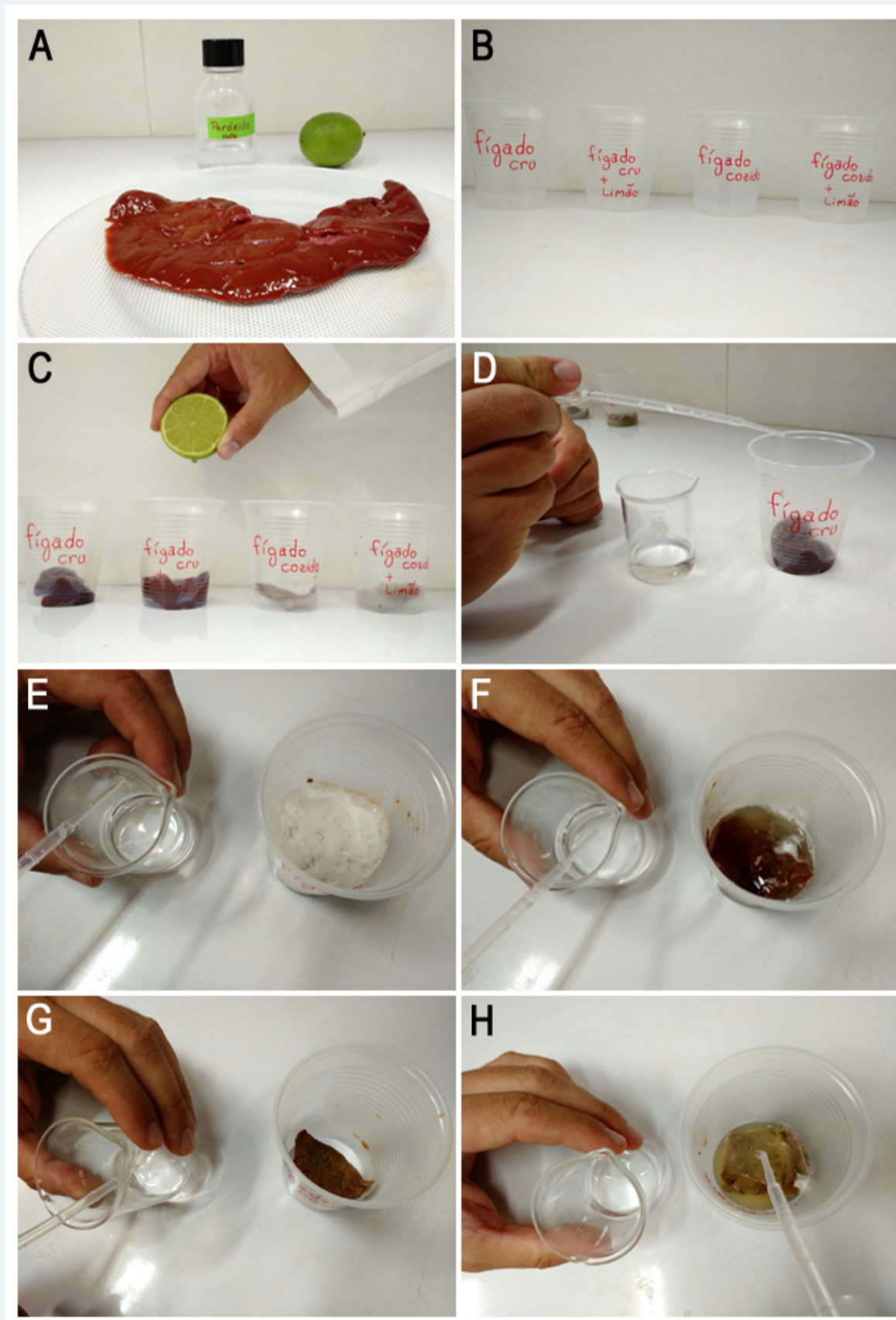


Figura 9.1 - Prática com fígado bovino. A) Materiais utilizados. B) Preparação do experimento. C) Adição do suco de limão para alteração no pH do meio. D) Aplicação do peróxido com auxílio de pipeta Pasteur. E) Resultado do fígado cru. F) Resultado do fígado cru com suco de limão. G) Resultado do fígado cozido. H) Resultado do fígado cozido com suco de limão.

Prática: relacionando peroxissomos, catalase e ferimentos

Objetivo

A utilização de água oxigenada em farmácias, postos de saúde e hospitais para assepsia de ferimentos é uma prática bastante comum ainda nos dias de hoje. O experimento a seguir tem por objetivo simular um ferimento e, por meio da utilização da água oxigenada, fornecer evidências experimentais que fomentem a discussão a respeito do papel da catalase, dos peroxissomos e dos mecanismos pelos quais a degradação do H_2O_2 promove a assepsia de feridas.

Materiais

- 1 microlanceta estéril descartável ou agulha de seringa descartável;
- 1 lâmina de vidro para microscopia;
- 1 gota de peróxido de hidrogênio (água oxigenada) 10 volumes;
- 1 pipeta Pasteur ou conta-gotas;
- Algodão;
- Álcool 70 %.

Metodologia

Será necessário um voluntário para a prática, o qual fornecerá algumas gotas de sangue para o experimento. O sangue será obtido por meio de um pequeno furo feito em um dos dedos, previamente limpo com algodão embebido em álcool 70 %. O furo deve ser realizado com o auxílio de uma microlanceta estéril. Na ausência de microlancetas, poderão ser utilizadas agulhas de seringas descartáveis, desde que sejam novas e estejam lacradas na embalagem antes do uso.

Uma gota de sangue deve ser depositada sobre a lâmina de microscopia onde, posteriormente, uma gota de água oxigenada será adicionada ao sangue. O resultado deve ser observado e comparado àquele normalmente visto em situações de ferimentos reais.

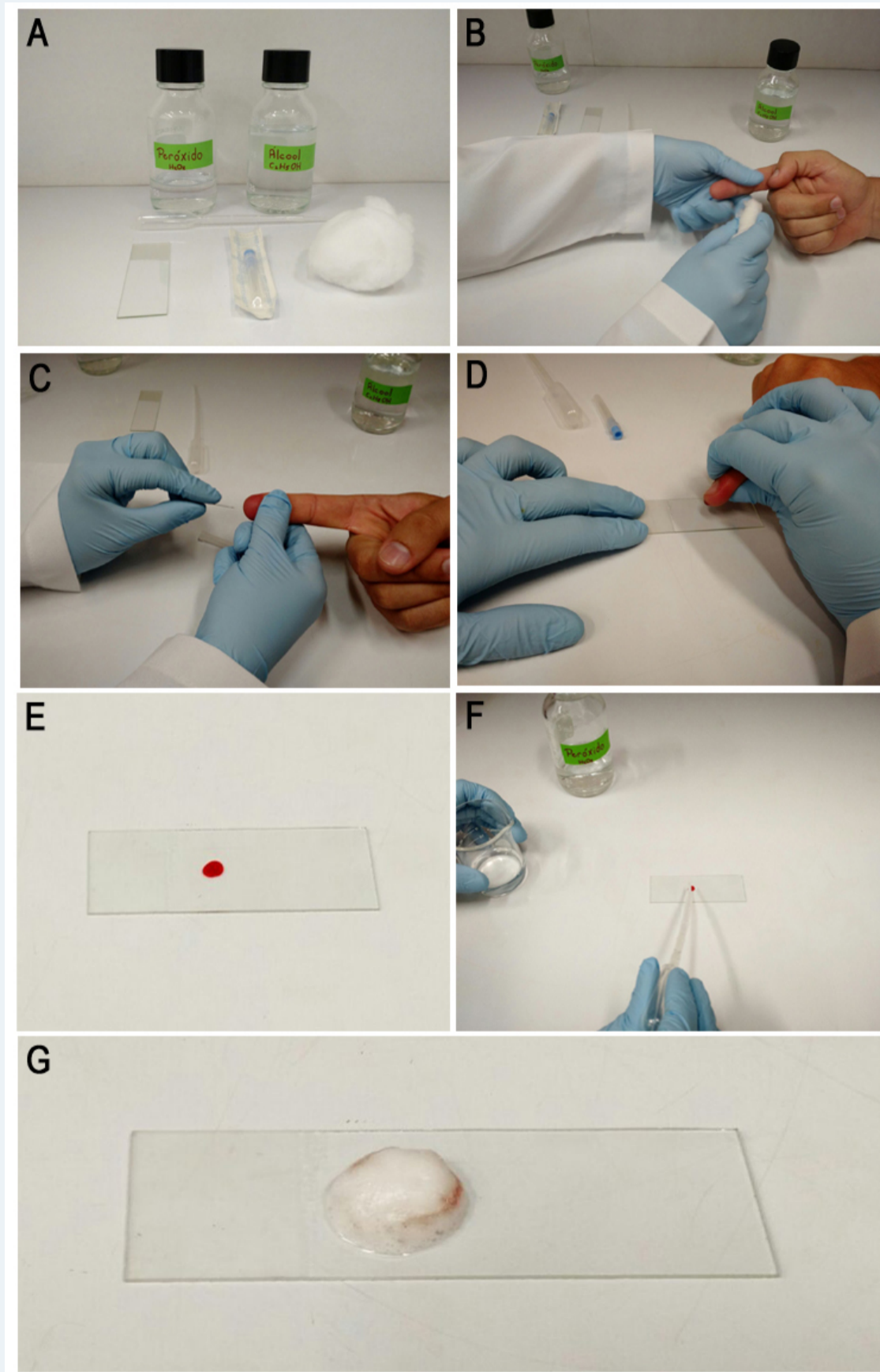


Figura 9.2 – Prática com sangue. A) Materiais utilizados. B) Higienização local para coleta de sangue. C) Dedo indicador sendo levemente perfurado para obtenção do sangue. D) Disposição do sangue em lâmina de microscopia. E) Uma única e pequena gota é suficiente para o experimento. F) Aplicação do peróxido de hidrogênio sobre a gota de sangue. G) Resultado do experimento.

Questões para discussão

1. Como é produzido o peróxido de hidrogênio endógeno (natural da célula)?
2. De qual forma o peróxido de hidrogênio pode ser tóxico para as células? Quais são os efeitos do seu acúmulo no organismo?

3. Uma vez que o peróxido de hidrogênio é tóxico para as células, porém produzido naturalmente por elas próprias, qual foi a solução evolutiva encontrada para esse problema?
4. Qual a importância da compartimentalização das reações químicas promovidas pelas peroxidases?
5. Qual o padrão de localização dos peroxissomos no interior da célula e qual a substância precipitada na prática 3 nos fornece essa evidência?
6. Qual a importância dos peroxissomos no metabolismo celular?
7. Por que se utiliza água oxigenada na assepsia de ferimentos?

Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular biology of the cell*. 6. ed. New York: Garland Science, 2015.

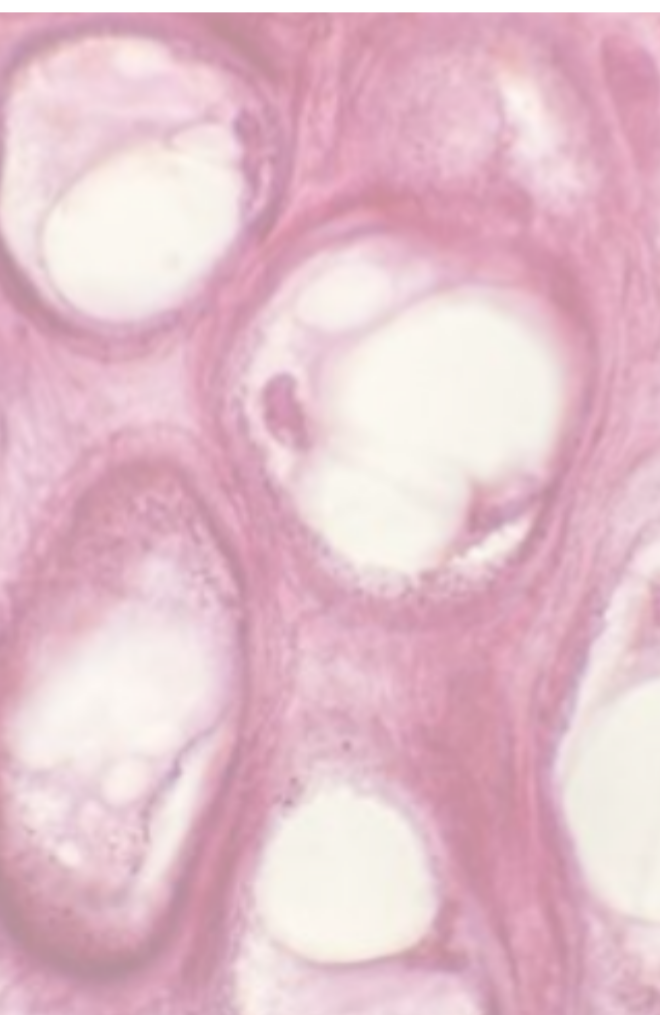
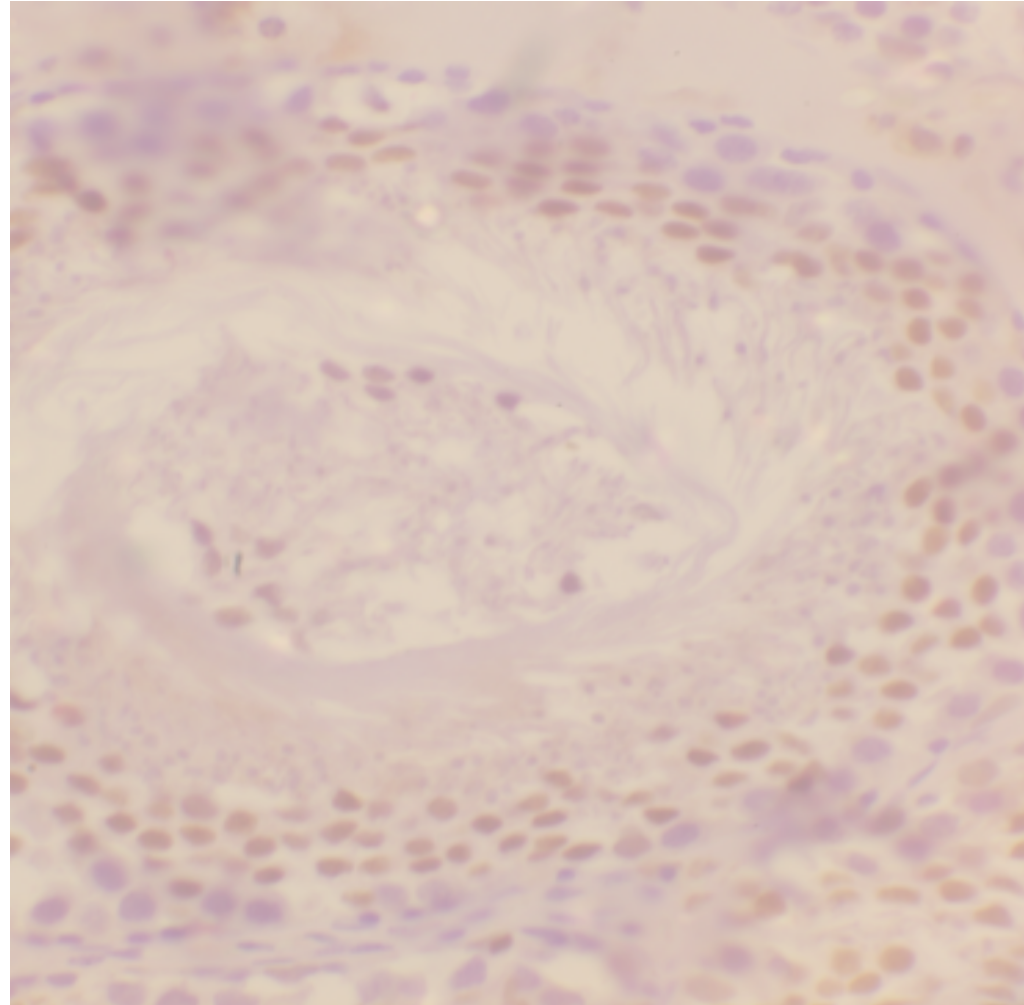
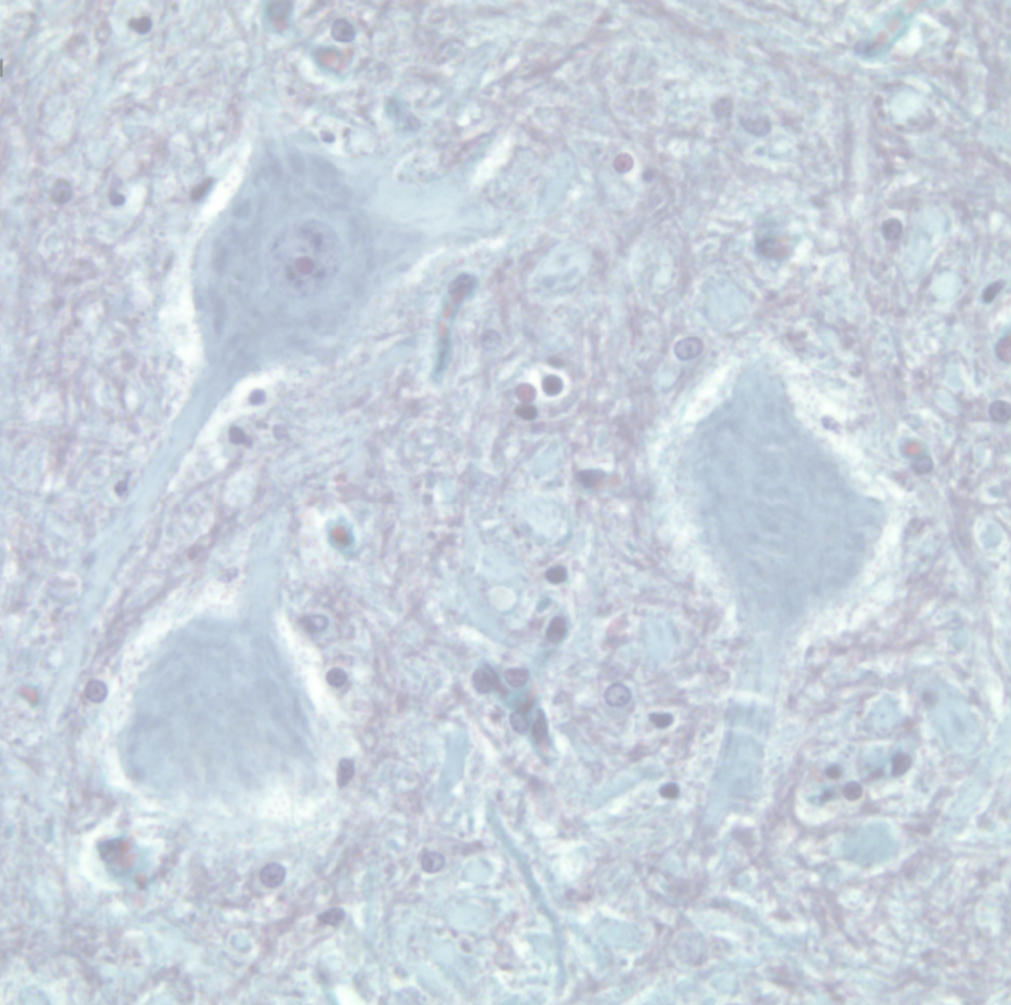
CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. *A célula*. 2. ed. Barueri: Manole, 2007.

EXPERIMENTOS PRÁTICOS DE BIOLOGIA. *Ponto Ciência*. Disponível em: <<http://www.pontociencia.org.br/categorias/biologia/1>>. Acesso em: 15 nov. 2015.

FUNDAÇÃO CECIERJ. *Histórico da descoberta*. Disponível em: <http://200.156.70.12/sme/cursos/BIO/BBC1/modulo5/aula30/imagens/04_BBC1_30_peroxissomos_historico_Isabela.swf>. Acesso em: 20 nov. 2015.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

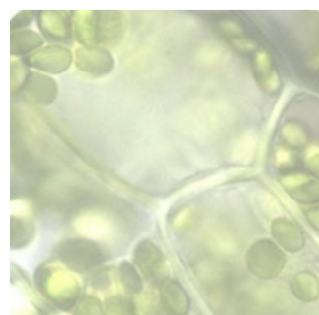
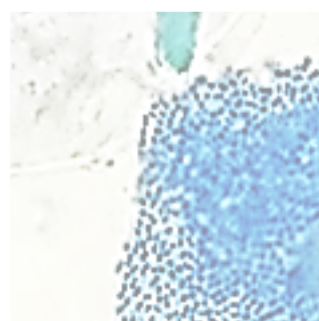
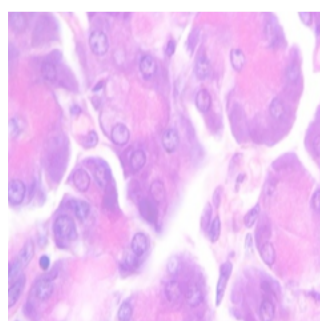
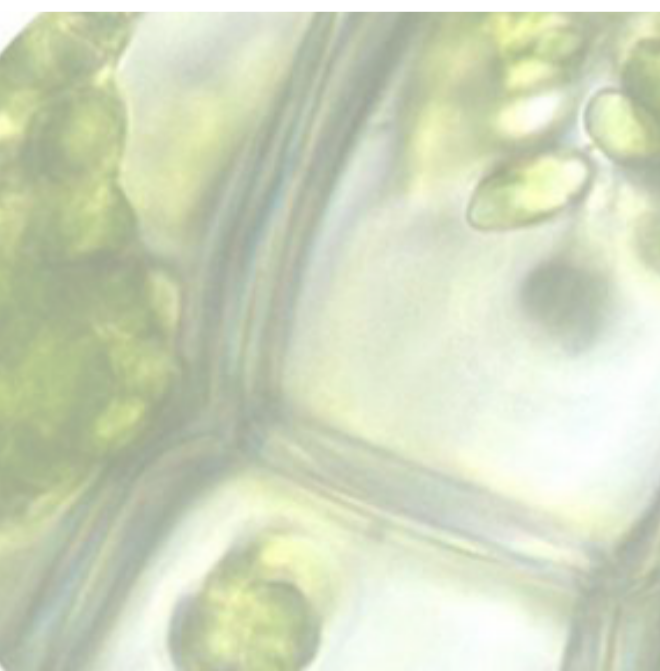
_____. *Histologia básica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.



CAPÍTULO 10

MATRIZ EXTRACELULAR

José Eduardo Baroneza



Introdução

Tecidos biológicos são constituídos por células e por moléculas diversas situadas no ambiente extracelular. Ao conjunto de moléculas que se encontram fora das células nos tecidos biológicos dá-se o nome de matriz extracelular. O organismo animal é constituído por órgãos nos quais é comum estarem presentes quatro tecidos fundamentais, o epitelial, conjuntivo, muscular e nervoso, onde em cada um deles a relação entre o volume ocupado pelas células e pela matriz pode variar enormemente.

Os papéis que desempenham as moléculas da matriz variam muito pouco nos diferentes tipos de tecidos fundamentais. De modo geral, essas moléculas são sintetizadas e exportadas por células e possuem funções associadas à hidratação do meio extracelular, à adesão, à migração celular, à diferenciação celular, ao armazenamento de substâncias diversas e à barreira contra infecções.

Entre os constituintes da matriz extracelular podemos citar as proteínas fibrosas e as moléculas altamente hidrofílicas que constituem a substância fundamental amorfa, uma malha molecular hidratada com moléculas que desempenham funções variadas e preenchem os espaços entre as células e as proteínas fibrosas. Diversos tipos de colágenos, além de fibras elásticas, ácido hialurônico, água, proteoglicanas, glicoproteínas, fatores de crescimento e outras substâncias, podem variar na constituição da matriz dos diferentes tecidos. Os ossos, por exemplo, constituem uma variedade de tecido conjuntivo de função estrutural cuja matriz inorgânica é rígida em função da deposição de cristais de hidroxiapatita, que representam cerca de 99 % do depósito de cálcio e 80 % do depósito de fósforo do corpo humano.

Prática: examinando a organização da matriz extracelular

Objetivo

Observar e descrever as diferenças na organização da matriz extracelular da pele, do cordão umbilical e da cartilagem da orelha.

Materiais

- Lâmina permanente de pele corada com tricrômico de Mallory;
- Lâmina permanente de orelha corada com orceína;
- Lâmina permanente de cordão umbilical corado com hematoxilina e eosina.

Obs.: os corantes utilizados nessas preparações histológicas podem ser distintos para a realização desta prática sem prejuízo das conclusões sobre a mesma.

Metodologia

- Observar as lâminas nos aumentos de 40x, 100x e 400x.
- Identificar as fibras da matriz extracelular no tecido conjuntivo não modelado da derme (lâmina de pele), no tecido cartilaginoso elástico da orelha e no tecido conjuntivo frouxo do cordão umbilical.



Figura 10.1 - Observação de matriz extracelular na derme (A), orelha (B) e cordão umbilical (C) em aumento de 400x.

Questões para discussão

1. De acordo com o observado na prática, descreva a organização das proteínas fibrosas da matriz extracelular nos 3 tecidos observados.
2. O que são as cavidades encontradas no meio da matriz na cartilagem da orelha?

3. Comparando as lâminas da derme e do cordão umbilical, qual dos tecidos possui maior relação entre o volume ocupado pelas fibras e pelas células?
4. De que modo a matriz extracelular se relaciona com a migração das células e com o processo de defesa dos organismos multicelulares?

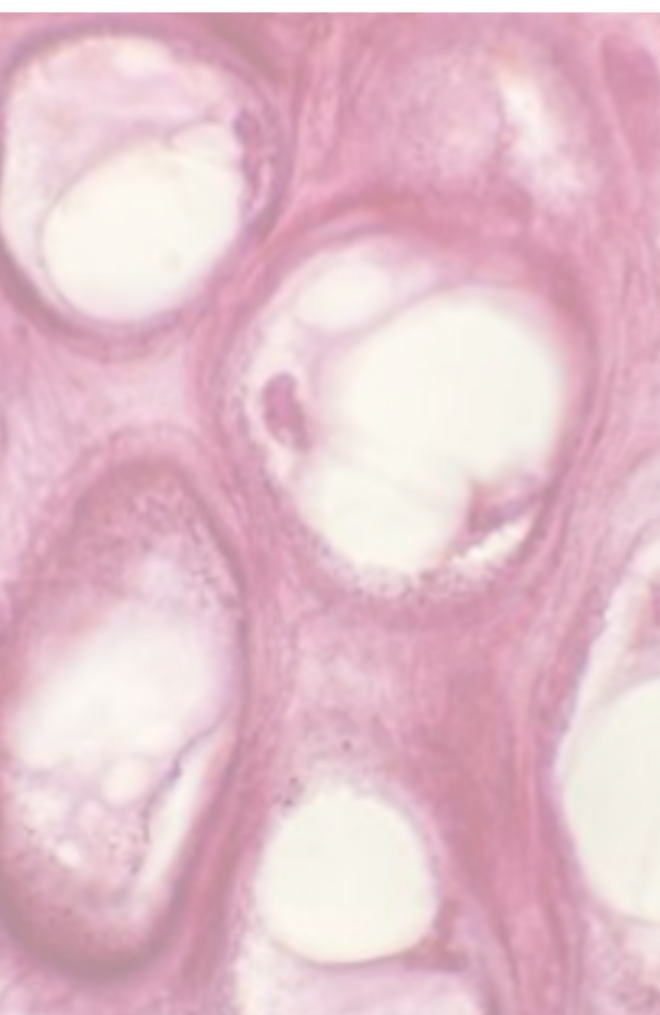
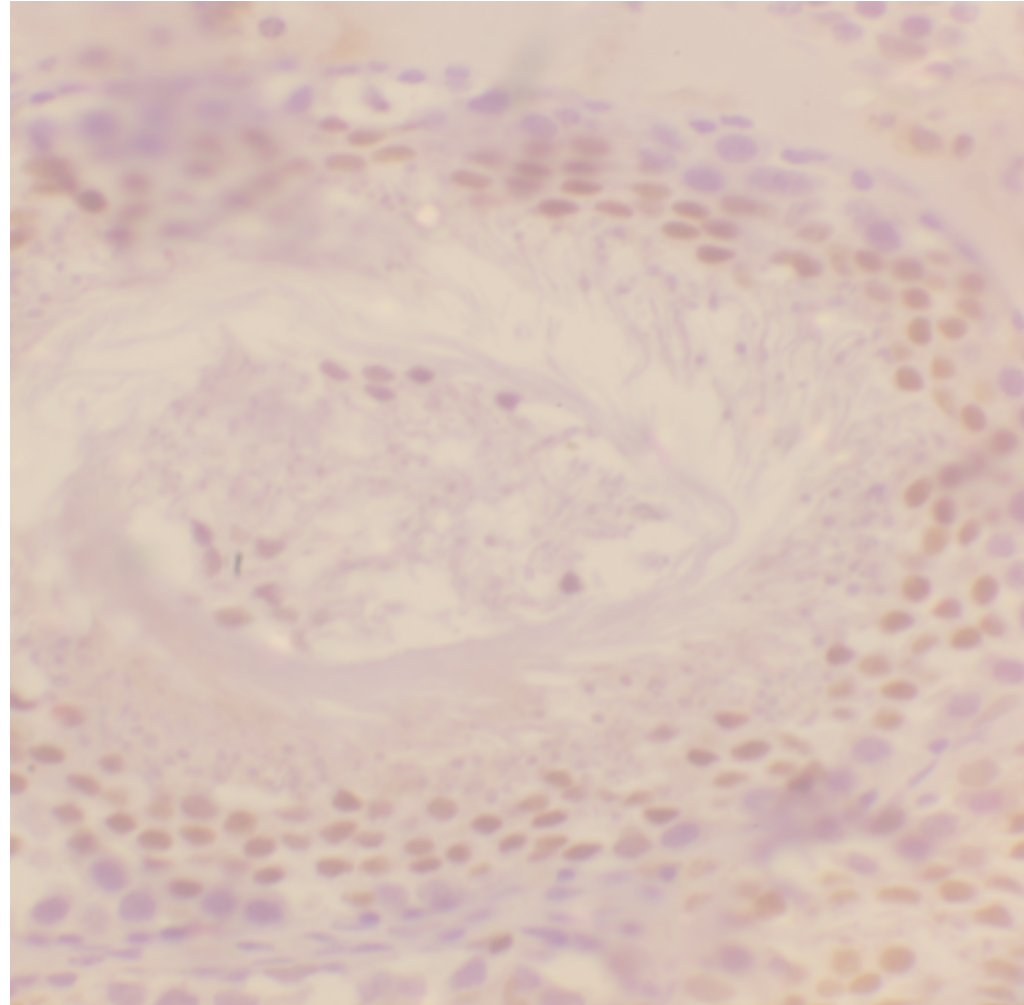
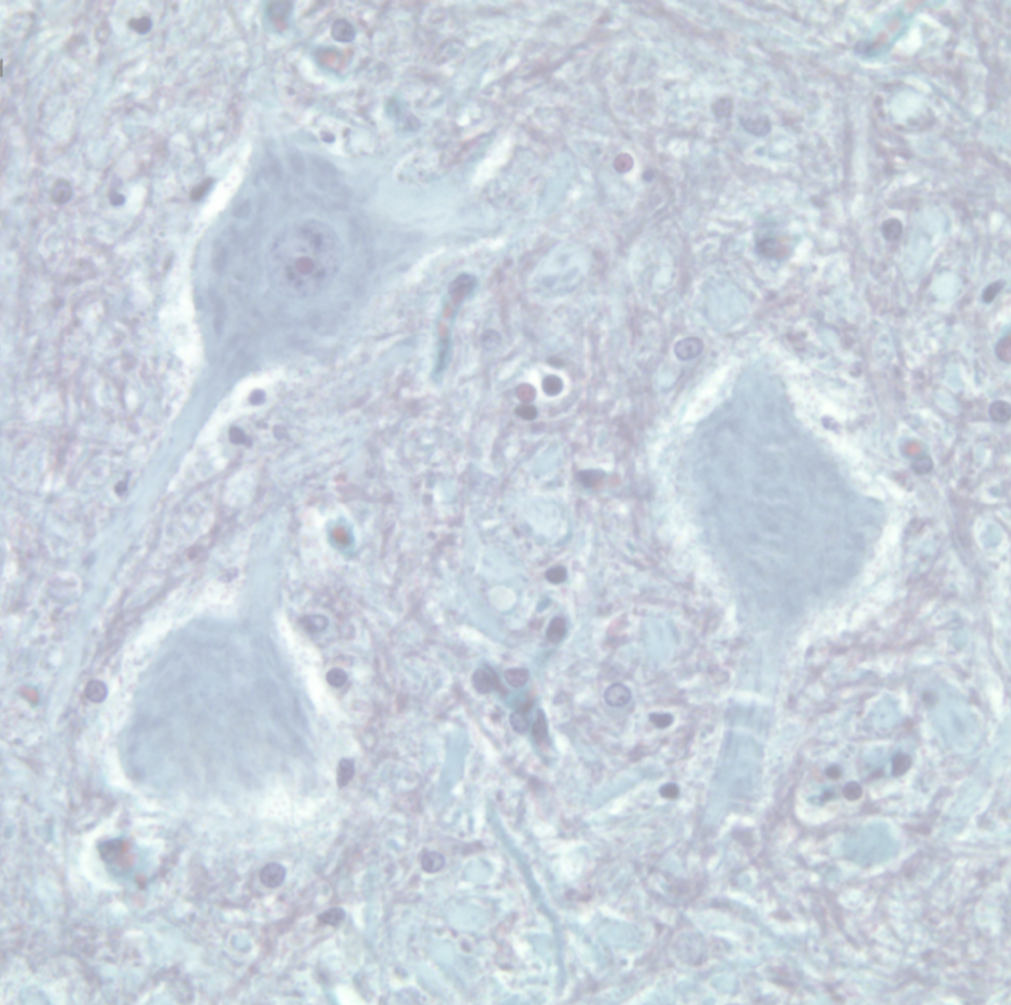
Referências

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Atlas colorido de histologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KIERSZENBAUM, A. L.; TRES, L. L. *Biologia celular e histologia: uma introdução à patologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

TELSER, A. G.; YOUNG J. K.; BALDWIN, K. M. *Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

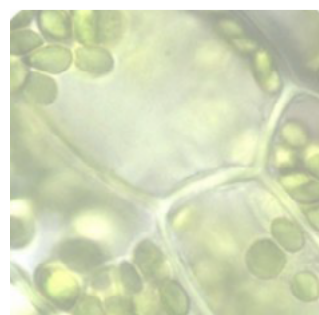
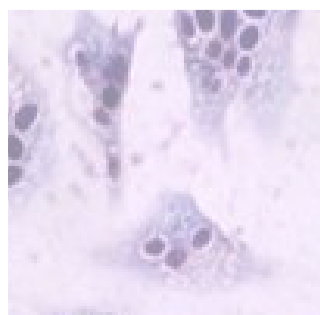
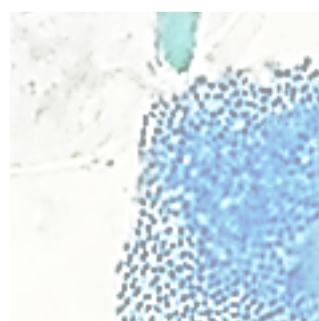
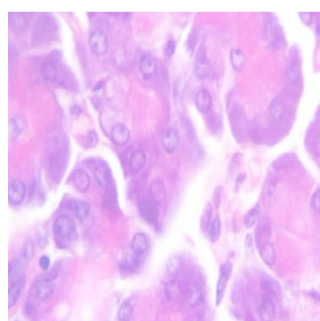
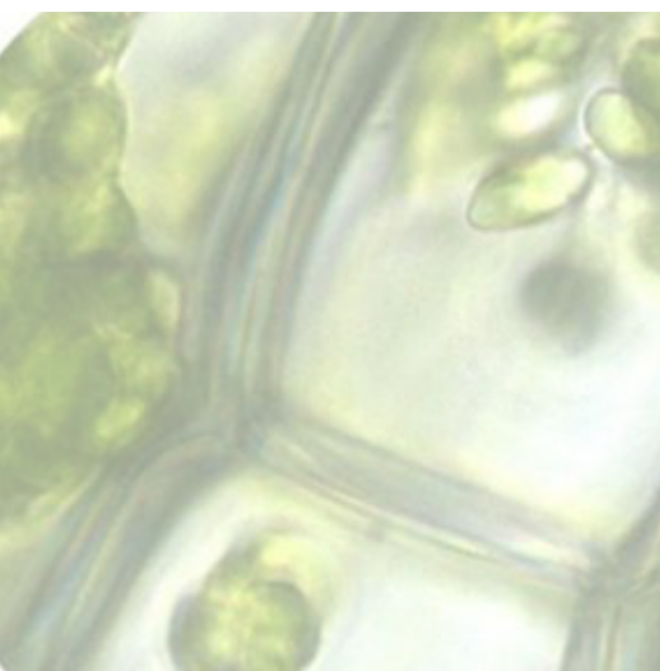


CAPÍTULO 11

COMUNICAÇÃO CELULAR

José Eduardo Baroneza

Victor Costa da Silva



Introdução

A comunicação celular é um processo complexo que envolve o trânsito de sinais químicos entre as células, a interpretação desses sinais e a geração de respostas adequadas. Dependendo da natureza do sinal, as células possuem moléculas receptoras que podem estar no citosol ou em membranas. Sinais hidrofóbicos, tais como os hormônios esteróis e gases, podem passar pela membrana plasmática e atuar em receptores intracelulares. Sinais hidrofílicos, entretanto, não atravessam a membrana plasmática com facilidade e necessitam de receptores de membrana. Uma vez associado ao sinal, o receptor se altera de modo a induzir a uma resposta celular, na maioria das vezes indiretamente, por meio de segundos mensageiros e proteínas efetoras.

As respostas celulares podem ser diversas, tais como a alteração na forma celular, que envolve a mobilização do citoesqueleto, a ativação de uma enzima silenciada ou a transcrição de um gene-alvo. Entre as vias de comunicação celular mais estudadas e utilizadas pelas células estão as dependentes de receptores associados às proteínas G, as dependentes de receptores associados à tirosina-cinase, a do óxido nítrico e aquelas que agem via proteólise regulada de reguladores gênicos latentes. Neste capítulo, propomos alguns jogos para facilitar o entendimento do processo de comunicação celular.

Prática: jogando cartas e aprendendo comunicação celular

Jogo A

Consiste em um jogo de cartas com perguntas e respostas. Cada carta apresenta uma pergunta textualizada e três alternativas de possíveis respostas, sendo apenas uma delas correta, podendo ser realizado de duas formas:

- **Sem tabuleiro:** o primeiro jogador, escolhido anteriormente, retira uma carta do monte e lê a pergunta, assim como as alternativas, para o jogador à sua direita. Caso o jogador responda corretamente, ele ganha a carta como forma de manter uma contagem de pontos da partida. Se

o jogador errar a pergunta, a carta volta para o final do monte. A seguir, o jogador que respondeu a pergunta retoma o jogo retirando a próxima carta. Depois de passado o tempo previamente determinado, ou que as cartas tenham terminado, o jogo acaba e o jogador que tiver em sua posse o maior número de cartas vence o jogo.

- **Com tabuleiro:** as regras são essencialmente as mesmas do jogo sem tabuleiro. A diferença reside na recompensa ou punição caso o jogador acerte ou erre a pergunta que lhe foi feita. A recompensa confere ao jogador o direito de avançar pelo tabuleiro tantos “espaços” quantos forem determinados anteriormente. A punição impede o avanço do jogador, que deve retroceder espaços, igualmente determinados anteriormente. O jogo acaba assim que algum dos jogadores chegue ao final do tabuleiro. O tabuleiro pode ser montado de acordo com a criatividade da própria turma. As cartas podem ser formuladas pelos alunos com a supervisão do professor.

Exemplos de cartas

Segundo mensageiro relacionado à via das tirosino-cinases:

- a) IP3
- b) Adenilil ciclase
- c) MAPKK



Mensageiro relacionado à diminuição da pressão arterial:

- a) Óxido nítrico
- b) Acetilcolina
- c) FGF



Jogo B

Consiste em um baralho formado por cartas que somam quatro vezes o número de jogadores mais uma carta “coringa”. Por exemplo, se for jogado por quatro pessoas, o baralho deverá conter um total de dezessete cartas (4×4 {jogadores} + 1), onde cada bloco de 4 cartas deve estar associado a um tema.

Como jogar (tendo como exemplo uma partida com quatro jogadores)

Exemplo de temas:

1. Sinalização sináptica
2. Sinalização endócrina
3. Sinalização parácrina
4. Sinalização por contato

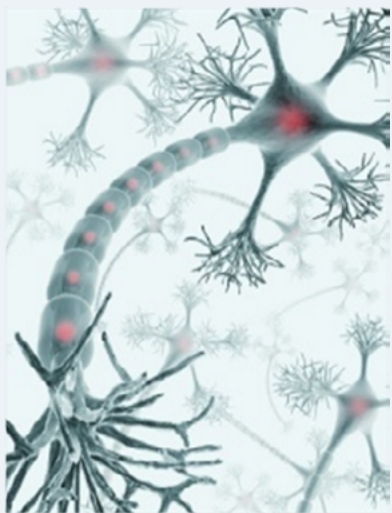
Depois de verificar a quantidade correta de cartas para a partida (nesse caso, dezessete cartas) e elaborar quatro cartas de cada tema, elas devem ser embaralhadas. A seguir, os jogadores devem se sentar em um círculo e três deles receberão quatro cartas, enquanto um deles receberá cinco, todas elas aleatoriamente escolhidas. Cada jogador deve posicionar as cartas em cima da mesa de forma que somente ele consiga lê-las.

O jogador que tiver cinco cartas começa a partida. Ele deve escolher uma de suas cartas e passá-la para o jogador que estiver à sua direita, que deve olhar a carta e escolher uma das suas para passar, também, ao jogador à sua direita. A carta “coringa” não pode ser passada adiante na mesma rodada que foi recebida, o jogador deve escolher outra carta para passar e segurar o “coringa” por uma rodada inteira.

O objetivo do jogo é ter em mãos apenas as quatro cartas que se relacionam entre si, sendo uma delas uma imagem representativa do conjunto e as outras três sendo características específicas do conjunto. Ao reunir as respectivas quatro cartas, o jogador deve soltar as cartas na mesa viradas para baixo. Os demais jogadores, ao perceberem que ele reuniu e soltou as cartas na mesa, devem fazer o mesmo, independente de terem juntado um conjunto completo ou não. O último jogador que deixar cair suas cartas na mesa perde a partida e sofre a punição previamente determinada pelo grupo.

Para uma melhor compreensão das regras da partida, esse jogo pode ser relacionado com o tradicional jogo de cartas denominado Dorminhoco. As cartas podem ser elaboradas pelos alunos com a supervisão do professor.

Sinalização Sináptica



Funciono por liberação de neurotransmissor que se difunde através das fendas sinápticas

Produzo sinais elétricos que são convertidos, na fenda sináptica, em sinais químicos

Sou a forma mais rápida de comunicação à distância

Questões para discussão

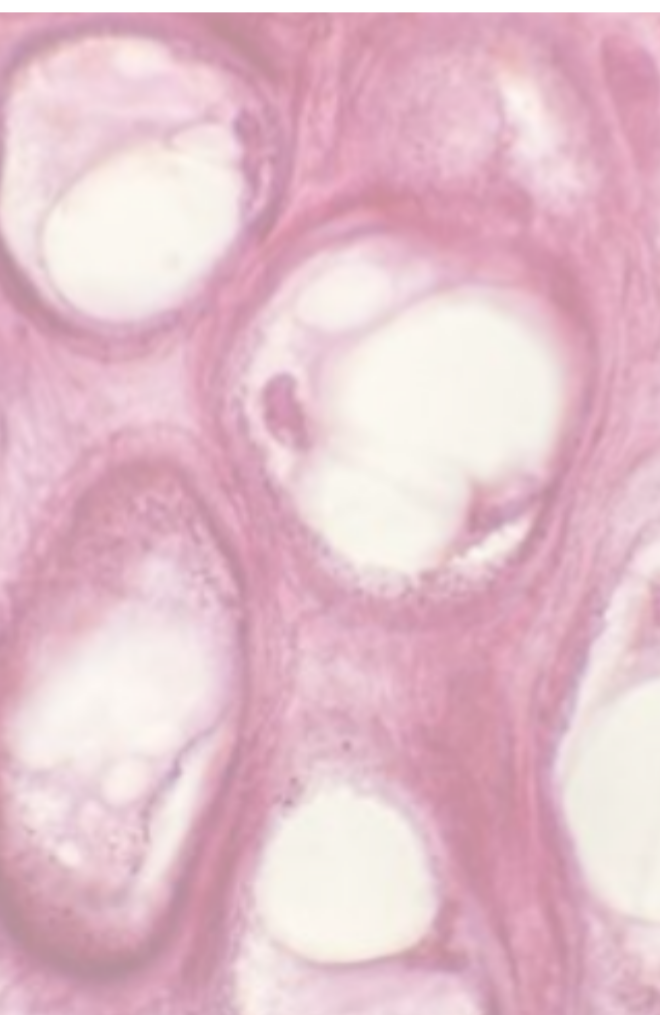
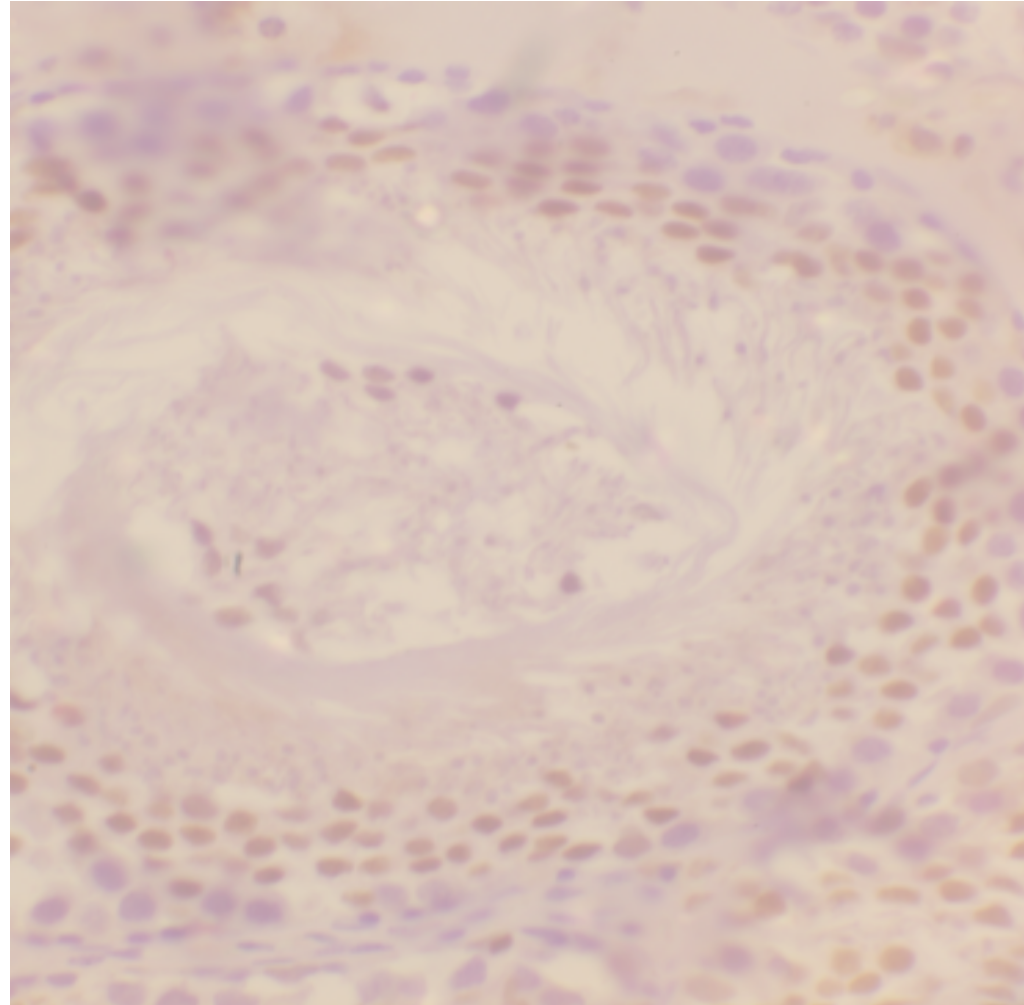
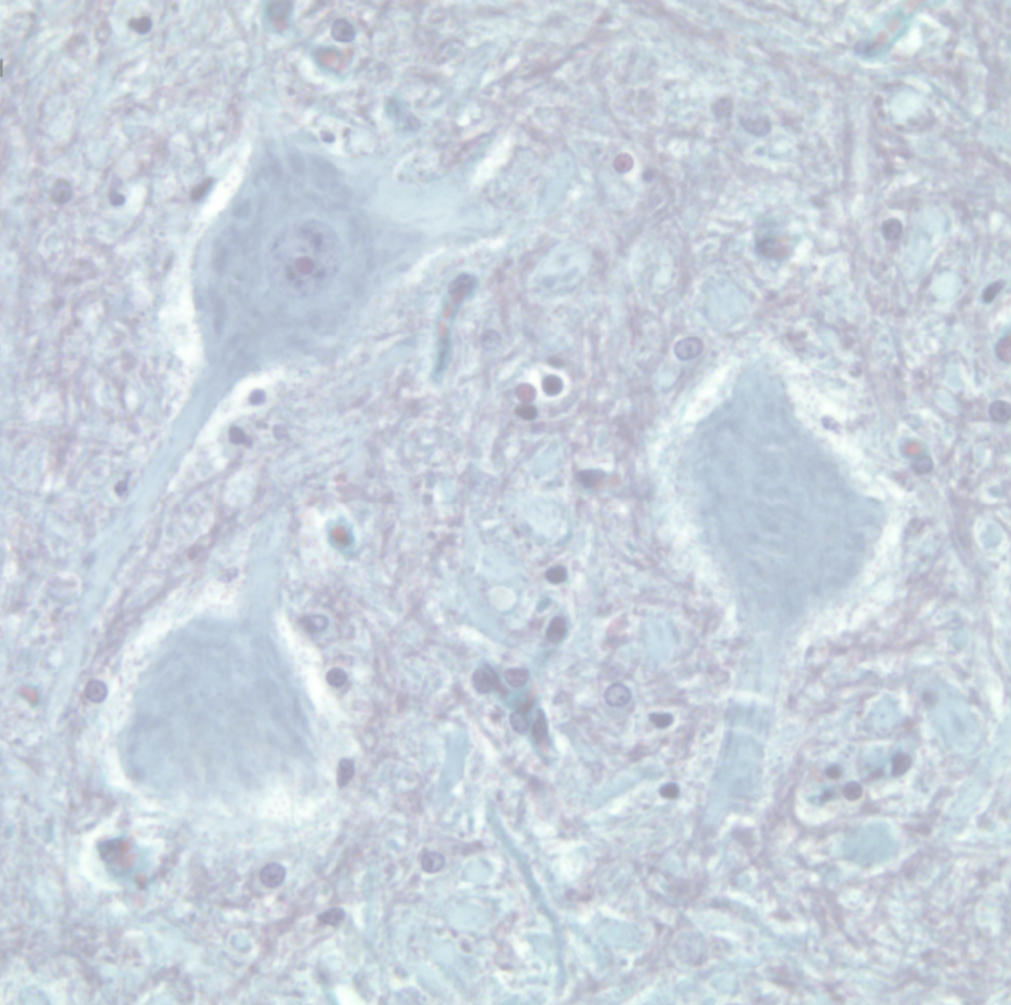
1. O que são as formas de comunicação por contato parácrina, endócrina e sináptica e quais vantagens e desvantagens estão associadas a elas?
2. Qual o conceito de moléculas agonistas e antagonistas, utilizadas normalmente na constituição de fármacos, e de que maneira o emprego dessas moléculas interfere no processo de comunicação celular?
3. De que maneira a presença de patógenos no interior dos tecidos corporais induz a uma resposta de células do sistema imunológico?

Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Biologia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

ROBERTIS, E. D. P.; JÚNIOR, E. M. F. R. *Bases da biologia celular e molecular*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS. José de Carneiro. *Mitocôndria*. Disponível em: <www.fug.edu.br/adm/site_professor/arq_download/arq_132.ppt>. Acesso em: 25 nov. 2014.

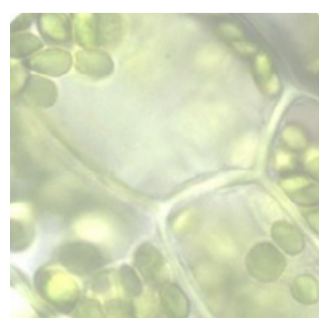
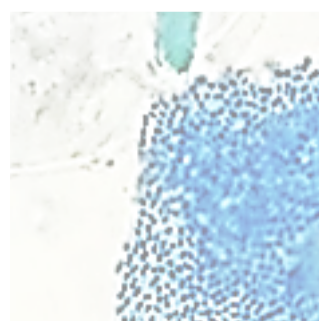
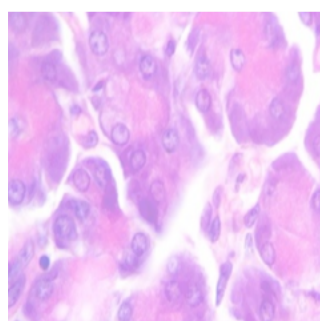
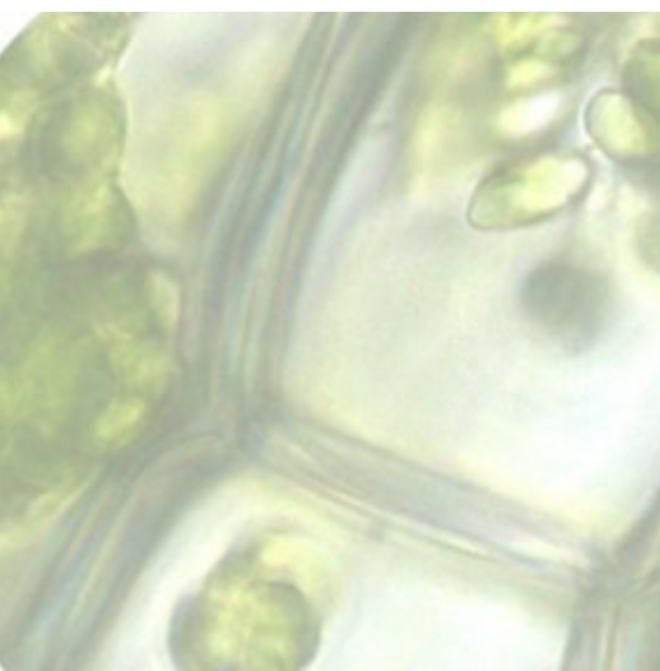


CAPÍTULO 12

DIFERENCIAÇÃO CELULAR

Shirlei Octacílio da Silva

Lívia Maria Rosatto Moda



Introdução

Todas as células de nosso corpo, de todas as classes de organismos multicelulares, incluindo as plantas, iniciam seu desenvolvimento a partir de uma ou poucas células com um padrão básico, ou seja, sem características – morfologia e funções – específicas de um tipo celular especializado. O caminho percorrido por essas células desde o padrão básico até chegar ao estado mais especializado, que é um caminho longo, lento e árduo, pelo qual as células das várias gerações passam, é chamado *diferenciação celular*.

Nos organismos multicelulares com reprodução sexuada ou com fase sexuada, a primeira célula é resultado da junção do gameta masculino com o feminino. Essa célula única dá origem aos mais diversos tipos celulares, com morfologias e funções muito específicas.

Antes de mais nada, uma célula sozinha não conseguiria formar todos os tipos de células que o adulto possui. Então ocorrem, ao longo do desenvolvimento, milhares de divisões celulares – as mitoses, que aumentam enormemente o número de células. Enquanto novas gerações de células são formadas, estas células vão se tornando cada vez mais diferentes de suas irmãs, formando populações de células com potencial diferente para formar um ou outro tipo celular adulto.

Inicialmente, é importante conhecer o conceito de plasticidade. As células menos diferenciadas são aquelas com potencialidade para formar qualquer tipo celular do adulto, incluindo, nos mamíferos, as células extraembrionárias (como da placenta), as quais são designadas como totipotentes. As células que formam o embrião em si são capazes de formar células de qualquer uma das 3 camadas germinativas, as quais são designadas como pluripotentes. Conforme estas células vão se tornando, a cada geração, mais envolvidas com um determinado destino (por exemplo, tornando-se comprometidas com ectoderme ou mesoderme ou endoderme), elas têm uma potencialidade um pouco menor, uma vez que seguiram um caminho mais específico e formarão somente células daquele caminho (por exemplo, se uma célula se comprometeu com o destino de mesoderme, ela somente irá formar células de origem mesodérmica: músculo, células do tecido

conjuntivo etc.). Estas células são designadas como multipotentes. Assim, a potencialidade de uma célula depende de sua plasticidade, que é sua capacidade de se diferenciar em vários, alguns ou somente um tipo celular. Como podemos observar, a diferenciação celular é inversamente proporcional à plasticidade, ou seja, quanto mais diferenciada uma célula está, menor número de tipos celulares uma célula pode produzir. Essa ideia está esquematizada na figura 12.1.

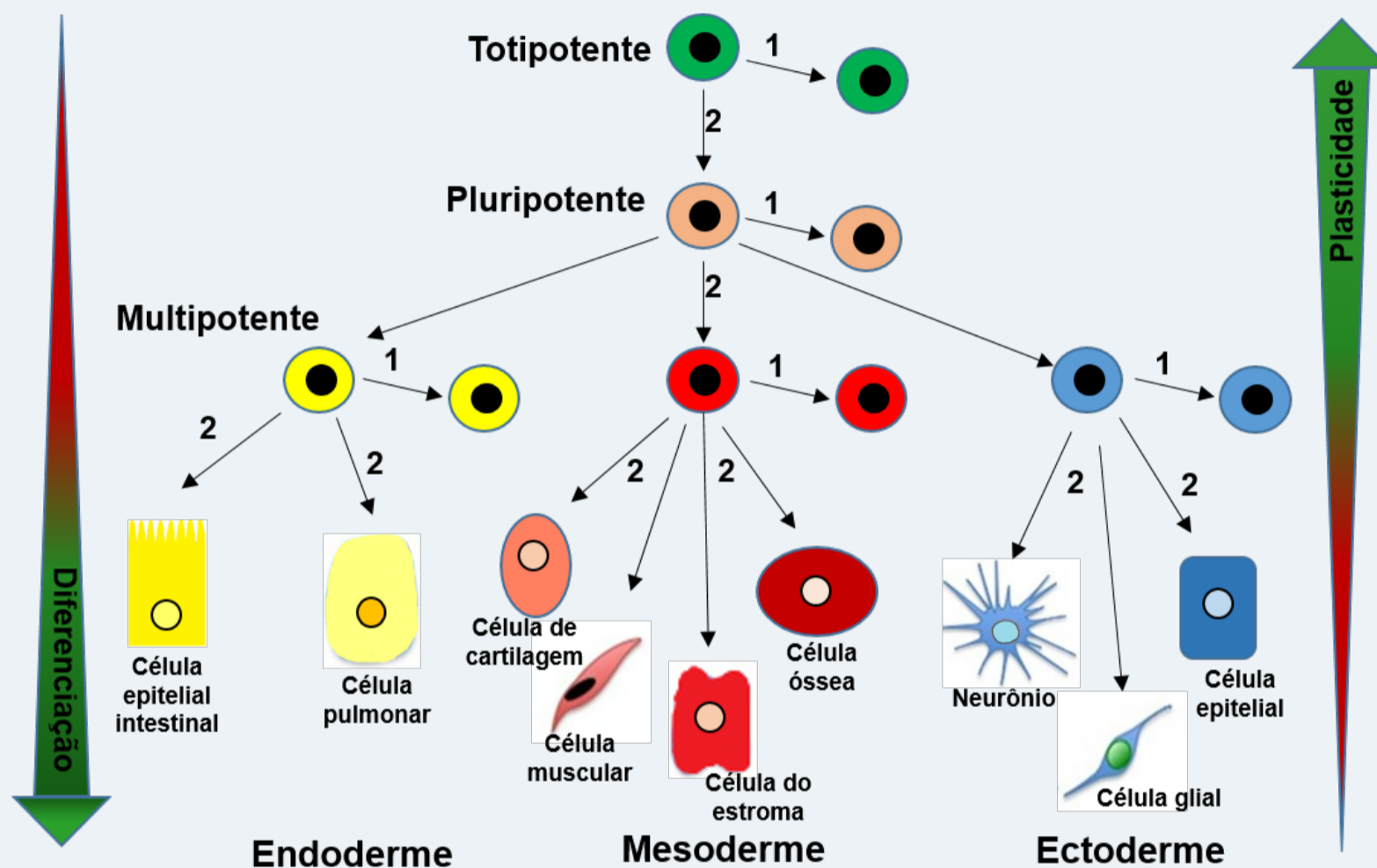


Figura 12.1 – Representação esquemática demonstrando a relação inversa entre diferenciação e plasticidade celular. As setas coloridas mostram que a direção da diferenciação e da potencialidade são opostas. As setas pretas representam as duas características das células-tronco: 1. autorrenovação e 2. potencial de diferenciação.

Dentro deste contexto, é importante mencionar e definir célula-tronco. Esse tipo de célula é importante em várias áreas de pesquisa, uma vez que vem permitindo a descoberta dos mecanismos de diferenciação celular e, além disso, vem sendo testado e utilizado para a cura de doenças degenerativas. As chamadas células-tronco ainda não são especializadas e apresentam duas propriedades peculiares: a *autorrenovação*, que é a capacidade de gerar outras células-tronco, e o *potencial de diferenciação*, que é a capacidade de gerar células especializadas de diferentes tecidos, quando submetidas a condições favoráveis à sua diferenciação.

Como já mencionado, as células vão se tornando cada vez mais especializadas ao longo das gerações, conforme vão se dividindo. Essa especialização é resultado da expressão de genes específicos de cada fase em que a célula se encontra. Assim, no zigoto (a primeira célula formada a partir da fusão do ovócito com o espermatozoide), genes de início de desenvolvimento estão ligados e genes específicos de tipos celulares estão desligados. Com o passar do tempo e o andar do desenvolvimento, genes cada vez mais específicos vão sendo ligados. Dessa forma, a sinalização e a comunicação entre células são extremamente importantes e cada população celular vai seguindo seu caminho até formar um tecido no adulto.

A diferenciação celular, no entanto, não está restrita ao embrião e feto; ela existe também no organismo adulto. Pode-se citar como exemplo a diferenciação das células do sistema hematopoiético, originárias na medula óssea e que vão sendo produzidas conforme as necessidades do corpo. Outros exemplos que podem ser citados são a diferenciação dos gametas masculino e feminino através da gametogênese.

A diferenciação do gameta feminino – o ovócito – é acompanhada pelo desenvolvimento de células acessórias presentes no ovário, que, além de nutrir os ovócitos, participam ativamente de sua diferenciação: as células foliculares. O conjunto ovócito mais as *células foliculares formam* o folículo, que apresenta várias fases de desenvolvimento. Esse processo de maturação é chamado de foliculogênese.

Durante o desenvolvimento fetal, as células sexuais primordiais – ovogônias – se proliferam e crescem, formando os ovócitos primários. Logo que se formam, esses ovócitos são circundados por células do estroma ovariano, que formam uma camada única de células epiteliais achatadas – as células foliculares. Quando essa camada única de células achatadas envolve o ovócito, o folículo é chamado de folículo primordial. As mulheres já nascem com esse tipo de folículo, que já completam todo o aporte de folículos durante suas vidas, não havendo mais produção após o nascimento.

Na puberdade, o ovócito primário cresce e, durante esse momento, as células foliculares tornam-se cuboides e depois colunares, formando o folículo primário. Em resposta aos hormônios sexuais secundários, alguns folículos primá-

rios iniciam sua maturação por mês, no chamado *ciclo menstrual*, que prepara a mulher para a fertilização e gestação. Durante a maturação, as células foliculares ao redor de um ovócito se proliferam, formando o folículo em crescimento. Essas células se reorganizam, formando uma cavidade chamada antro, e iniciam a produção de fluido, que preenche essa cavidade. A maturação do folículo segue, com o aumento do antro, e o ovócito continua sua maturação, terminando a meiose I, que produz um ovócito secundário e um corpúsculo polar. Nesse momento, as células foliculares estão organizadas em uma camada que recobre o antro e uma camada que envolve o ovócito – o *cumulus oophorus*. Externamente, estão localizadas as células foliculares produtoras de hormônios – a teca interna, que é revestida externamente por uma cápsula fibrosa chamada teca externa.

As principais funções das células foliculares durante a ovogênese são, entre outras: produção de inibidor de maturação do ovócito, que mantém os ovócitos quiescentes até a puberdade; produção de fluido, que preenche o antro e auxilia na liberação do ovócito durante a ovulação; formação de uma camada ao redor do ovócito, liberada no ovócito na ovulação, formando uma barreira que somente os espermatozoides capacitados romperão durante a fertilização; formação de prolongamentos, que se estendem até as microvilosidades dos ovócitos, onde é realizado o transporte de materiais das células foliculares aos ovócitos.

Como pode ser observado, as células foliculares passam por uma série de transformações, proliferando, reorganizando-se e produzindo diversos materiais importantes para as diferentes fases do desenvolvimento do ovócito. Essas transformações, que ocorrem lenta e progressivamente, são chamadas em conjunto de *diferenciação*, que é acompanhada pela ativação e inativação de genes necessários em cada passo da maturação do folículo.

Prática: observando a diferenciação celular em folículos ovarianos

Objetivo

Observar estágios de diferenciação das células foliculares durante o ciclo reprodutivo feminino.

Material

- Lâmina permanente de ovário.

Metodologia

- Focalize a lâmina com a objetiva de menor aumento (ou 10x) e observe o corte de ovário. Os folículos ovarianos encontram-se dispersos por toda a parte cortical do órgão, em vários estágios de desenvolvimento (Figura 12.2).
- Usando a objetiva 10x ou 40x, esquematize os seguintes folículos ovarianos, dando ênfase no padrão de desenvolvimento/proliferação e diferenciação das células foliculares:
 1. Folículo primordial, formado pelo ovócito I e pelas células foliculares achatadas (uma lâmina simples de células – figura 12.3 A).
 2. Folículo primário unilaminar, formado pelo ovócito I e por uma camada única de células foliculares cuboides, também chamadas células da granulosa (Figura 12.3 B).
 3. Folículo primário multilaminar, formado por várias camadas de células da granulosa, apresentando zona pelúcida (Figura 12.3 C).
 4. Folículo de Graaf e seus componentes: ovócito II, zona pelúcida, *corona radiata*, antro folicular, camada granulosa, tecas interna e externa, *cumulus oophorus* (Figura 12.3 D).

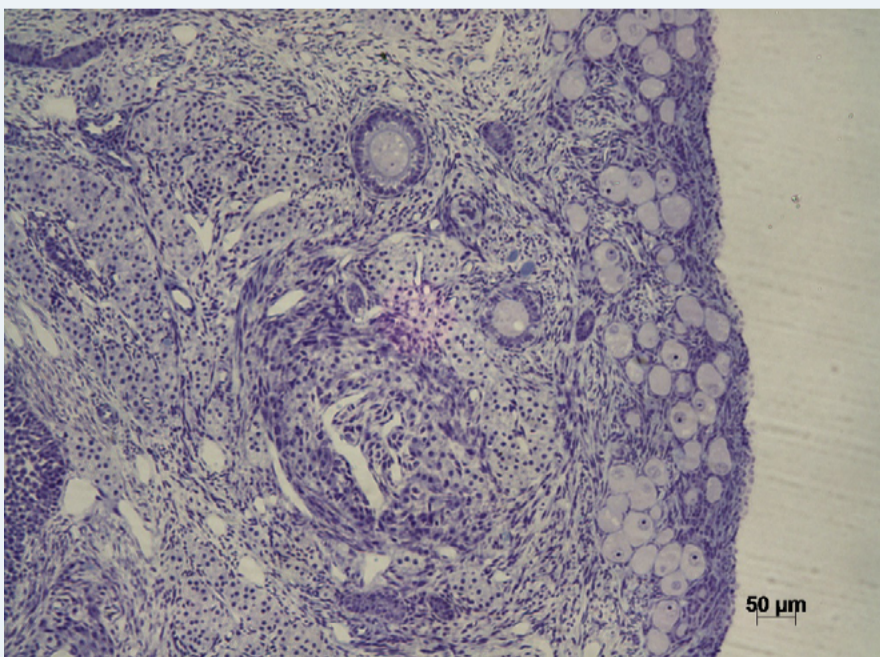


Figura 12.2 – Corte transversal de ovário de gata mostrando a região cortical e alguns estágios do desenvolvimento dos folículos ovarianos (aumento de 10x).

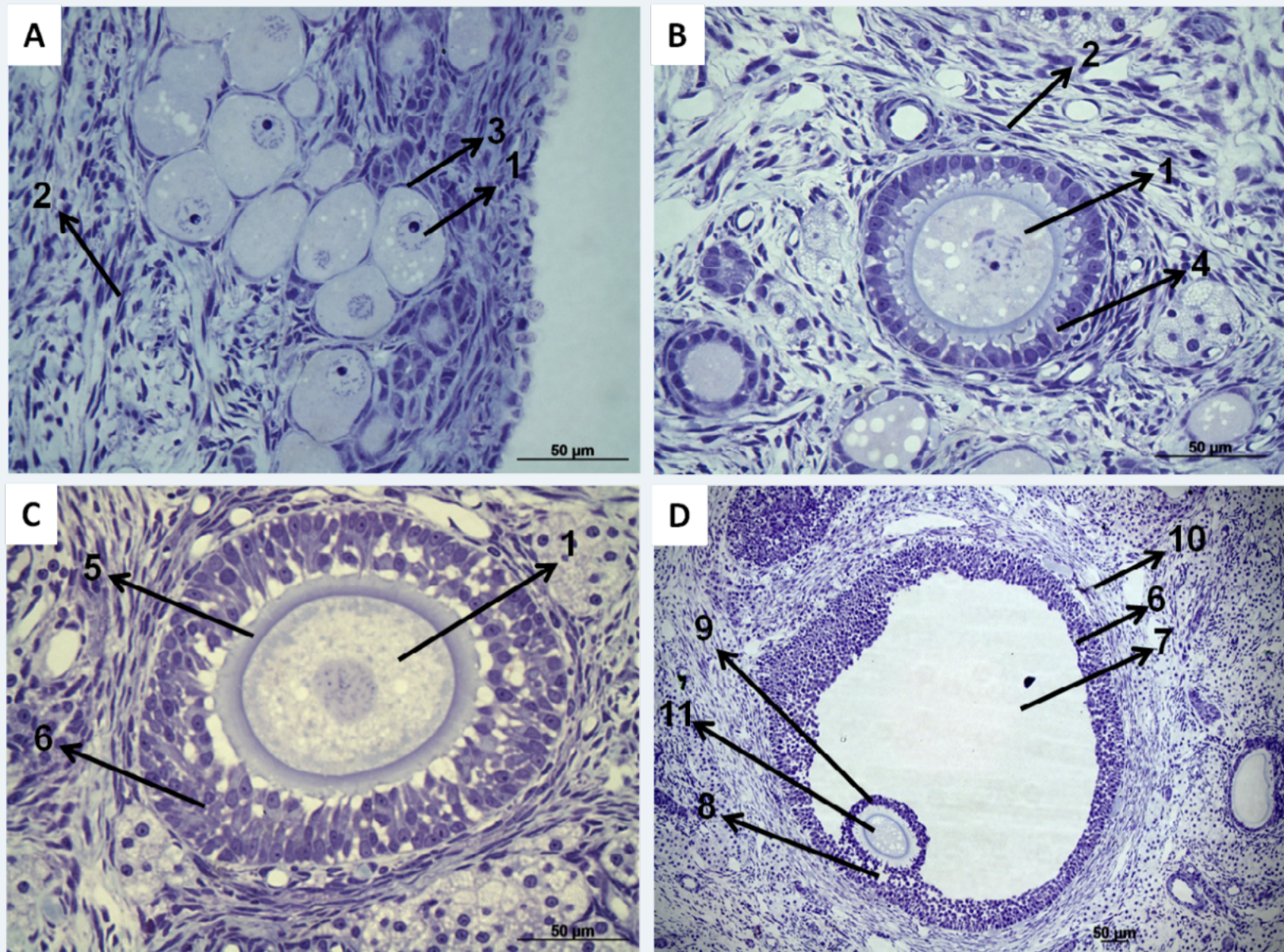


Figura 12.3 – Cortes transversais de ovário de gata corados com hematoxilina e eosina, enfatizando diferentes etapas do desenvolvimento dos folículos ovarianos. A) Folículo primordial: 1. ovócito primário, 2. tecido conjuntivo do ovário, 3. células foliculares achatadas. B) Folículo primário unilaminar: 4. células foliculares cuboides. C) Folículo primário multilaminar: 5. zona pelúcida, 6. células da granulosa. D) Folículo maduro ou de Graaf: 7. antro folicular, 8. *cumulus oophorus*, 9. *corona radiata*, 10. células das tecas interna e externa (aumento de 40x A-C; aumento de 20x D).

Questões para discussão

1. Como a foliculogênese está relacionada com a ovogênese?
2. Qual a relação entre as células foliculares e o corpo lúteo?
3. O que caracteriza um célula-tronco e uma célula diferenciada?
4. As células foliculares podem ser consideradas um bom modelo para demonstrar a diferenciação celular? Por quê?

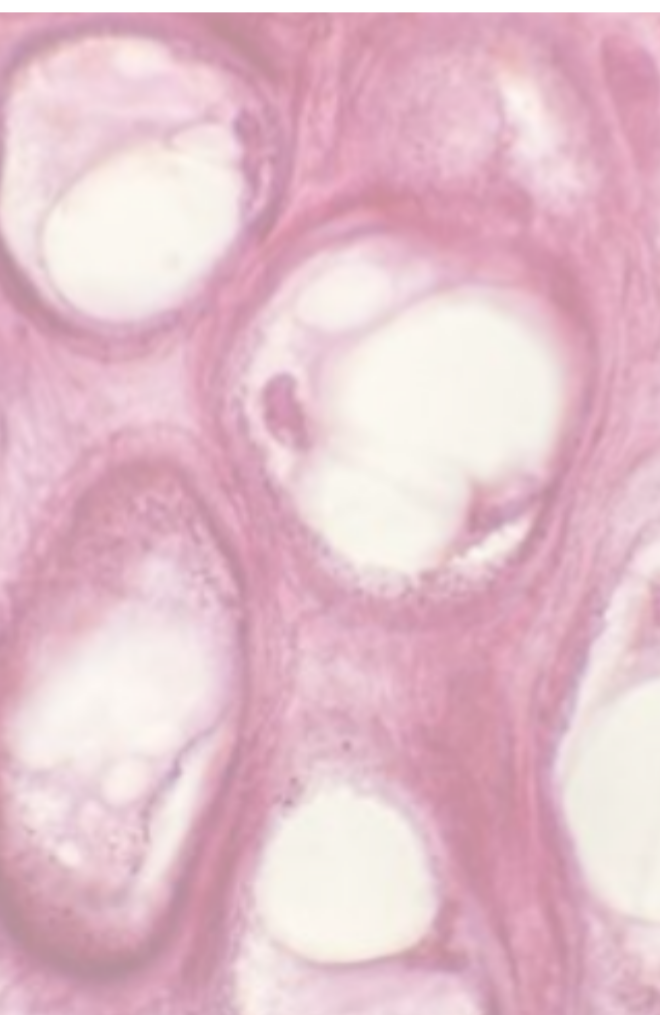
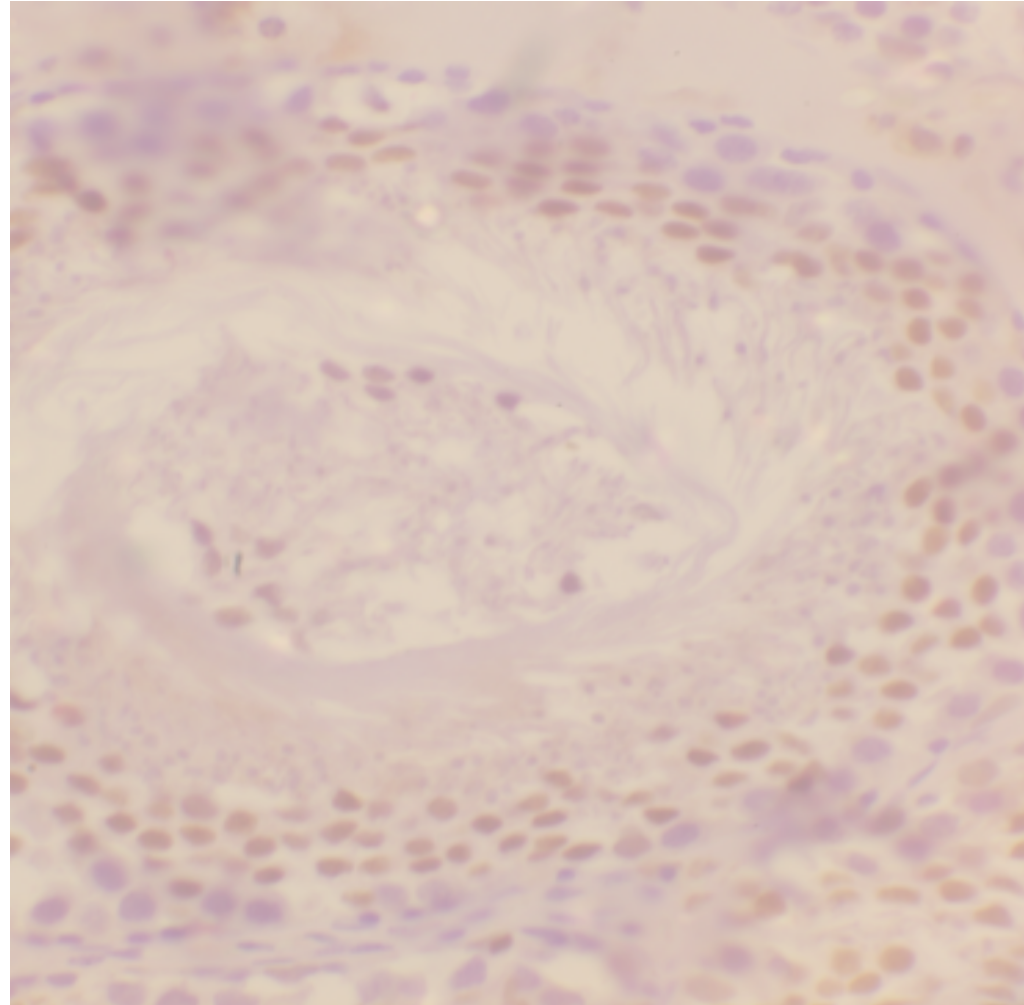
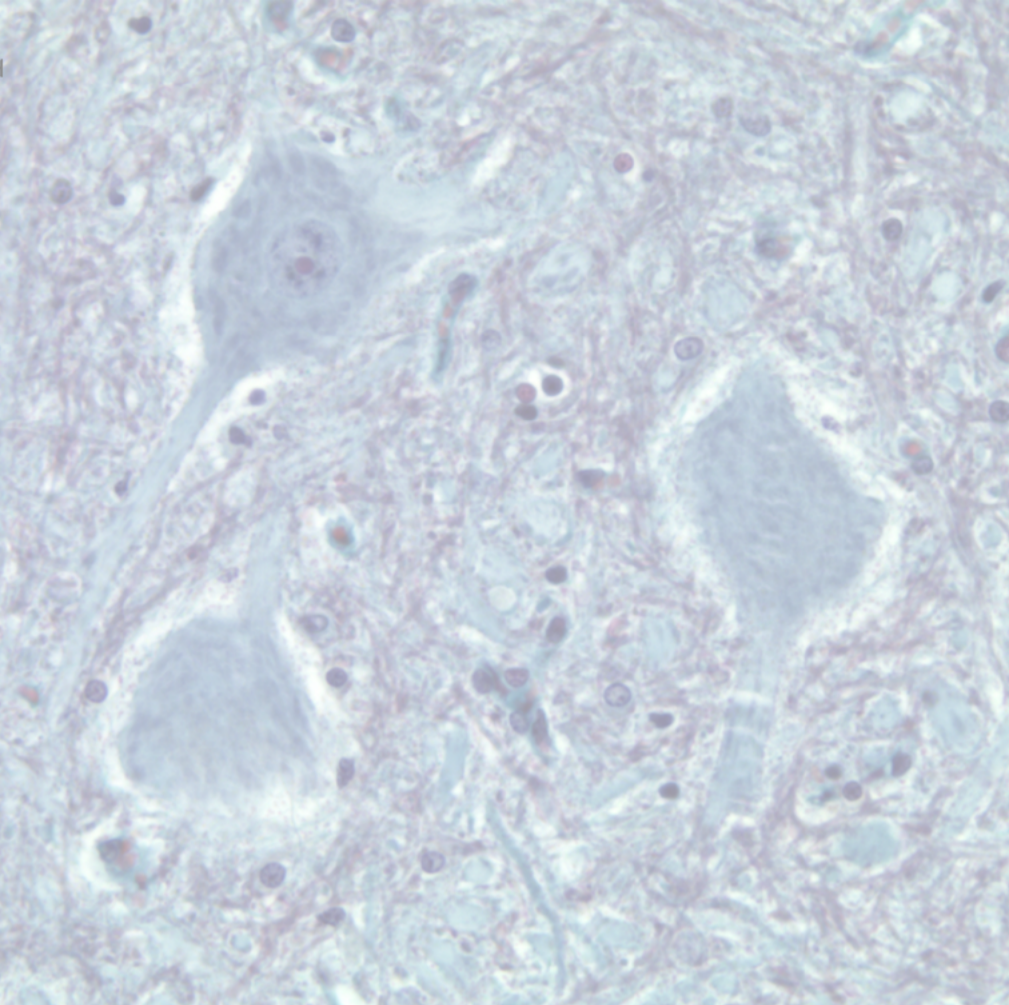
Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Bio-
logia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 12. ed. Rio de Janeiro: Gua-
nabara Koogan, 2013.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. *Embriologia clínica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Else-
vier, 2013.

SADLER, T. W. *Langman: embriologia médica*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara
Koogan, 2013.

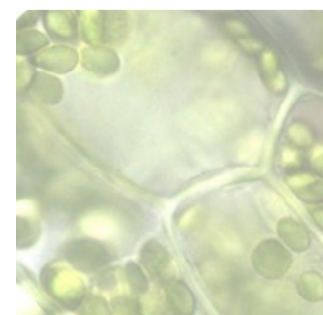
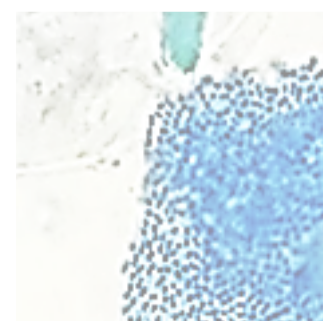
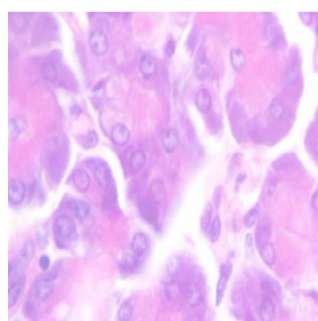
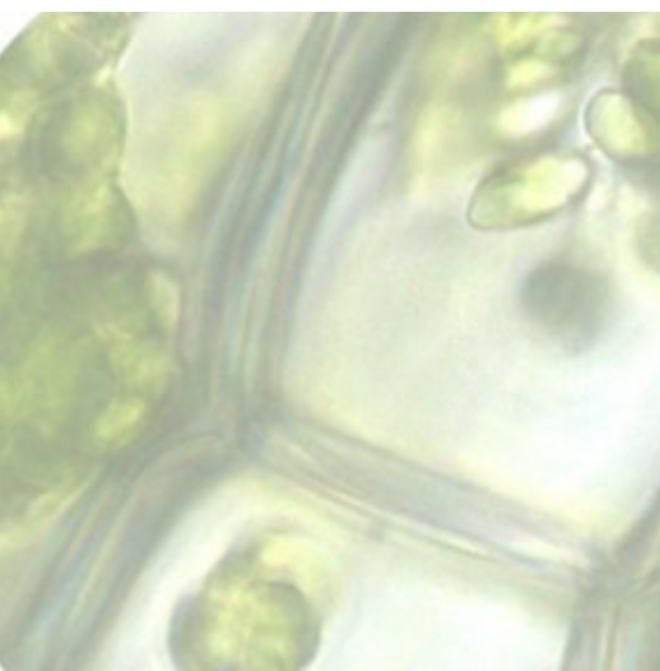


CAPÍTULO 13

NÚCLEO CELULAR

Allysson Coelho Sampaio

Marianna Picarelli Ribeiro Porto



Introdução

O termo “núcleo” foi cunhado por Robert Brown (1829-1832), com suas observações em uma variedade de células vegetais, para comunicar sua localização central. Obviamente que essas primeiras observações não descreveram a importância desse compartimento celular, bem como sua estrutura e seus componentes.

Como estrutura que separa os organismos eucariotos dos procariotos, o núcleo possui uma dupla membrana, o envelope nuclear ou carioteca, a qual é contígua com o retículo endoplasmático rugoso em muitas células. Esse envelope nuclear contém poros formados por um complexo de proteínas importantes para o controle de entrada e saída de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. Internamente, a membrana nuclear está ligada a vários filamentos intermediários, as lamínas, que possuem importantes papéis celulares, como a organização da cromatina. A cromatina, por sua vez, é um complexo formado por proteínas (histonas e não histonas) e o material genético (DNA) em vários graus de condensação, refletindo a atividade gênica. Assim, a cromatina mais frouxa (eucromatina) denota regiões de maior atividade gênica, enquanto aquela mais condensada (heterocromatina) representa regiões de menor atividade.

O DNA só foi descoberto no final dos anos 1860 por Friedrich Miescher, o qual se tornou interessado naquela molécula diferenciada, que era constituída por um elemento não encontrado em outras macromoléculas, o fósforo.

Durante o processo de divisão celular, a cromatina se enovela no grau máximo de condensação, revelando estruturas em forma de bastão denominadas cromossomos. Um cariótipo humano normal de uma célula somática é constituído de 46 cromossomos, sendo 44 cromossomos autossomos e 2 cromossomos sexuais, sendo estes últimos XX para as mulheres e XY para os homens.

Para estudar esse importante compartimento celular e/ou seus constituintes, emprega-se desde métodos de pesquisa simples, tradicionais e eficientes até aqueles mais modernos.

Esta atividade será constituída de duas práticas: a visualização da cromatina sexual no núcleo de neutrófilos do sangue periférico e a observação de cromossomos pela montagem de cariótipos humanos.

Prática: identificando a cromatina sexual em esfregaço de sangue periférico

A cromatina sexual, também conhecida como corpúsculo de Barr (identificada em 1949 por Barr e Bertram), corresponde a um dos cromossomos X nas fêmeas de mamíferos, com constituição cromossômica normal XX, que aparece condensado e geneticamente inativo nos núcleos das células somáticas. A cromatina sexual é considerada um exemplo de heterocromatina facultativa.

O comportamento diferencial dos cromossomos X foi corretamente interpretado por Mary Lyon que, na década de 1960, propôs a teoria da inativação como um mecanismo para compensar a dosagem do produto dos genes localizados no cromossomo X, uma vez que as fêmeas possuem dois X e os machos possuem apenas um único cromossomo X.

Em mulheres, o material mais usualmente empregado para a visualização da cromatina sexual tem sido as células epiteliais da mucosa oral e os neutrófilos do sangue periférico. Embora o fenômeno da compensação de dose seja comprovado citológica, genética e bioquimicamente, a frequência da cromatina sexual em amostras dos dois tipos de células não atinge 100 % dos núcleos.

Nas células epiteliais da mucosa bucal, a cromatina sexual pode ser visualizada como um corpúsculo ligeiramente ovalado e colado à face interna do envelope nuclear.

Na extensão hematológica (esfregaço de sangue), a cromatina é visualizada mais facilmente nos neutrófilos polimorfonucleares sob a forma de um corpúsculo arredondado, presa a um dos lobos do núcleo por um pedúnculo, sendo denominada baqueta.

Objetivo

Preparação de material, observação e identificação de cromatina sexual em neutrófilos polimorfonucleares.

Materiais

- 2 lâminas histológicas;
- Algodão;
- Álcool 70 %;
- Lanceta descartável;
- Papel filtro;
- Corante Panótico 1, 2 e 3.

Metodologia de preparo de esfregaço de sangue periférico

- Antes de iniciar os procedimentos, lave as mãos com água e sabão e desinfete com álcool 70 %.
- Com a lanceta descartável, perfure a lateral do quarto dedo (anelar).
- Pingue uma gota de sangue na extremidade de uma lâmina e, com o auxílio de uma segunda lâmina, realize a extensão (esfregaço), de modo que se obtenha uma camada fina de células.
- Secar o material ao ar.
- Coloração:
 1. Solução Panótico nº 1 (solução de triarilmetano a 0,1 %), por 10 segundos.
 2. Escorrer durante 5 segundos.
 3. Solução Panótico nº 2 (solução de xantenos a 0,1 %), por 10 segundos.
 4. Escorrer durante 5 segundos.
 5. Solução Panótico nº 3 (solução de tiazinas a 0,1 %), por 20 segundos.
 6. Escorrer durante 5 segundos.
 7. Lavar em um pequeno filete de água corrente.
- Secar a lâmina ao ar.
- Observar e identificar em um neutrófilo a cromatina sexual na objetiva de 100x.

Prática: identificando os cromossomos e montando o cariótipo (idiograma)

Objetivo

Montagem de cariótipo humano e confirmação diagnóstica de alterações cromossômicas.

Instruções gerais

Para executar esta prática, você deverá imprimir os cariótipos a seguir, bem como a folha que possui marcas de orientação para montar o cariótipo (gabarito).

Siga as instruções de 1 a 12 para identificar os cromossomos. Em alguns casos, você terá de medi-los com a régua milimetrada, para auxiliar a identificação, pois eles devem ser dispostos em ordem decrescente de tamanho. Recorte os cromossomos com a tesoura e organize-os sobre o gabarito. É preferível colá-los apenas no final, para evitar enganos.

Ao recortar os cromossomos da folha de desenhos, deixe uma pequena margem dos lados, como foi sugerido para o cromossomo 1.

Cole cada cromossomo recortado no local correspondente ao seu número na folha do cariótipo, fazendo o centrômero coincidir com a linha tracejada. A título de exemplo, um dos homólogos do par de cromossômico 1 já foi aplicado no gabarito. Oriente cada cromossomo com o braço mais longo para baixo da linha tracejada.

Materiais

- Tesoura;
- Cola;
- Régua milimetrada.

Metodologia

- Cada uma das figuras representa um desenho esquemático (idiograma) de um campo microscópico visual de um núcleo de leucócito lisado proveniente de diferentes pacientes. Siga o roteiro abaixo para diagnosticar, através do cariótipo, cada um desses pacientes.

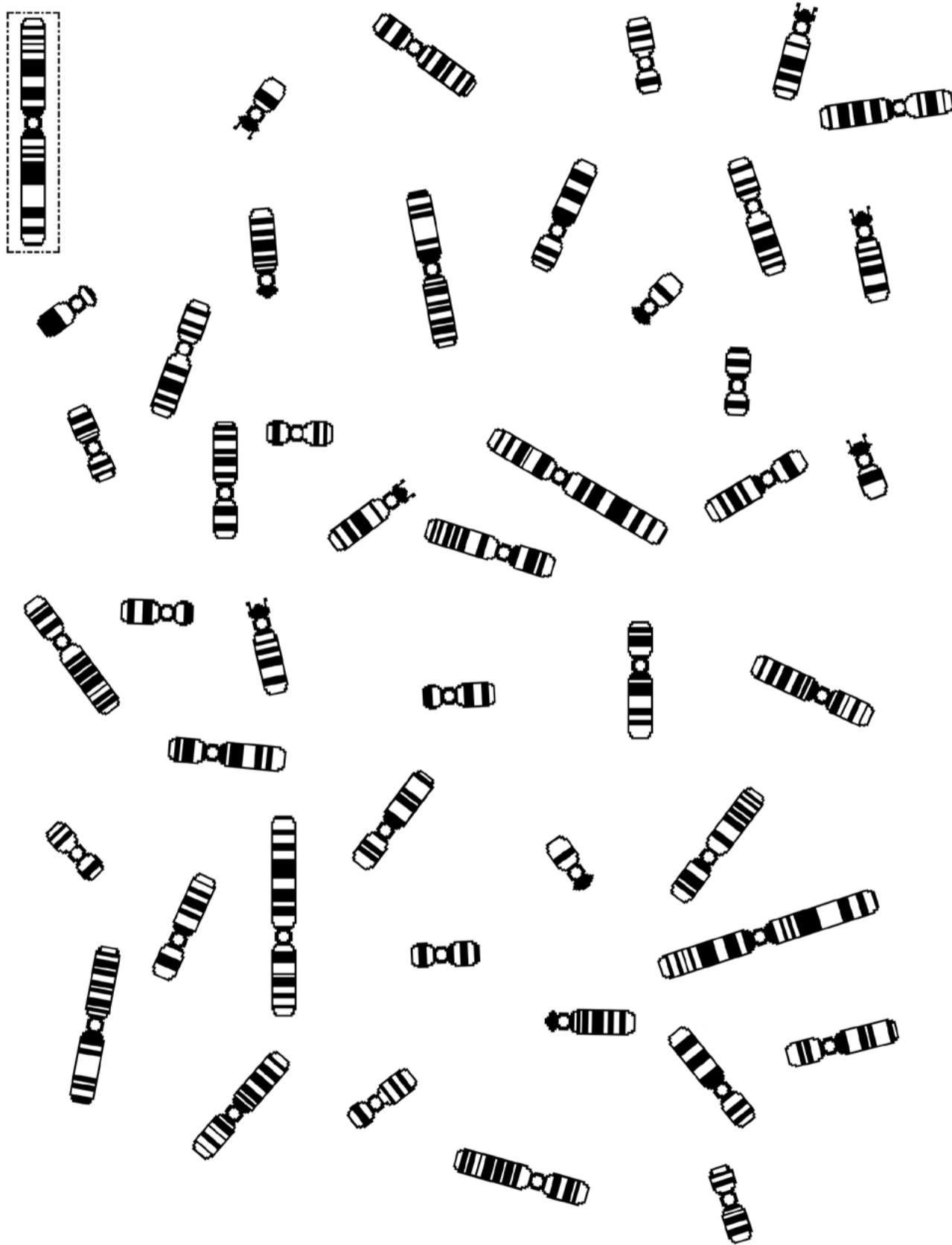
Obs.: o roteiro abaixo é para um cariótipo de um indivíduo normal do sexo masculino. Caso seu paciente seja do sexo feminino, ignore o item referente ao cromossomo Y.

1. Leia atentamente as instruções gerais da prática.
2. Conte o número de cromossomos no campo visual.
3. Localize os três pares cromossômicos de maior tamanho, que constituem o grupo A. Os cromossomos dos pares 1 e 3 são do tipo metacêntricos e os do par 2 são submetacêntricos. O braço longo do cromossomo 1 possui uma grande faixa clara, assim como o braço curto do cromossomo 3.
4. Dos cromossomos restantes, identifique dois pares de maior tamanho, que constituem o grupo B. Utilize uma régua milimetrada para comparar o tamanho dos cromossomos. Esses cromossomos são grandes, submetacêntricos e pouco menores que o cromossomo 3. O que tem uma grande faixa clara no braço longo é o cromossomo 5.
5. Localize agora os pares de cromossomos 21 e 22, que constituem o grupo G. São os menores do conjunto e tipo acrocêntrico. O cromossomo que apresenta faixa negra mais larga é o 21.
6. Procure os pares de cromossomos 19 e 20, que constituem o grupo F. Eles são um pouco maiores que os do grupo G e submetacêntricos. A diferença de tamanho entre os dois braços é bem discreta. Utilize a régua milimetrada para identificar cada braço. O cromossomo 19 apresenta uma faixa negra no braço longo próximo ao centrômero. O cromossomo 20 tem duas faixas negras mais estreitas no braço longo.
7. Localize os pares cromossômicos 13, 14 e 15, que constituem o grupo D. Eles são do grupo acrocêntrico. O que apresenta faixas negras mais lar-

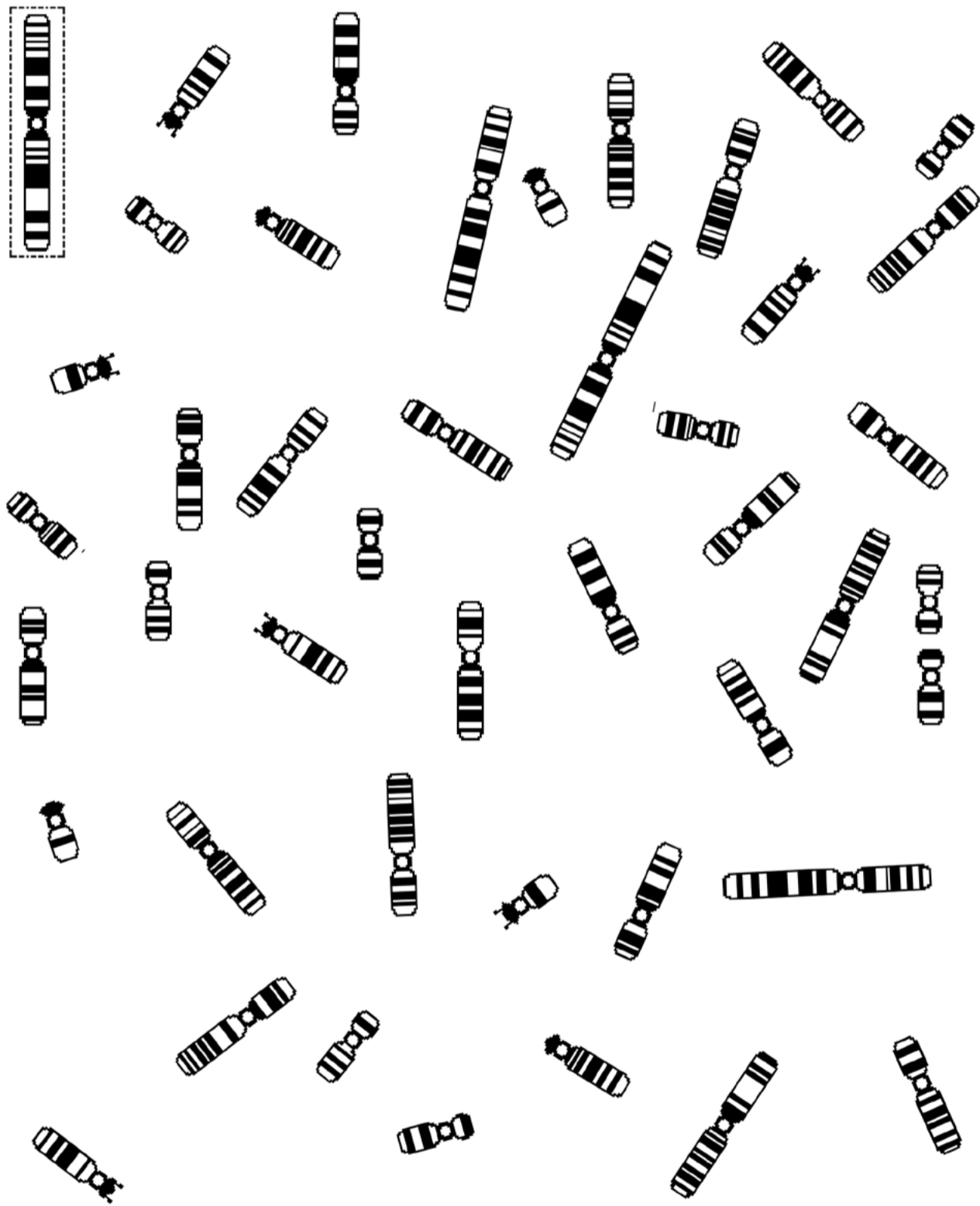
gas é o cromossomo 13. O que não apresenta antenas no braço curto é o cromossomo 15.

8. Identifique os pares de cromossomos 6 e 7, os primeiros do grupo C. Eles são os maiores entre os cromossomos que restaram e são do tipo submetacêntrico. O menor dos dois apresenta uma faixa negra mais larga no braço longo, correspondente ao cromossomo 7.
9. Dos cromossomos restantes, descubra agora os três pares de menor tamanho, de tipo submetacêntrico. São os cromossomos 16, 17 e 18, que constituem o grupo E. O cromossomo 18 é facilmente identificável por apresentar uma faixa escura na extremidade do braço menor. O cromossomo 17 possui apenas uma faixa negra no meio do braço menor.
10. Selecione o menor dos cromossomos restantes. Trata-se do cromossomo sexual Y. Além de não apresentar homólogo, ele possui uma faixa negra bem larga no braço maior.
11. Dos onze cromossomos restantes, identifique o cromossomo sexual X. Ele apresenta somente 5 faixas negras no braço maior, sendo uma bem próxima ao centrômero.
12. Selecione, entre os cromossomos restantes, o par que possui uma faixa grande e uma faixa mais estreita no braço curto: é o cromossomo 9. Procure agora o par que apresenta apenas uma faixa negra larga no braço menor: trata-se do cromossomo 12.
13. Faltam apenas três pares de cromossomos para identificar. O que não apresenta faixa negra próxima ao centrômero é o cromossomo 8. Dos dois pares restantes, o que possui faixas negras mais largas no braço maior é o cromossomo 10.

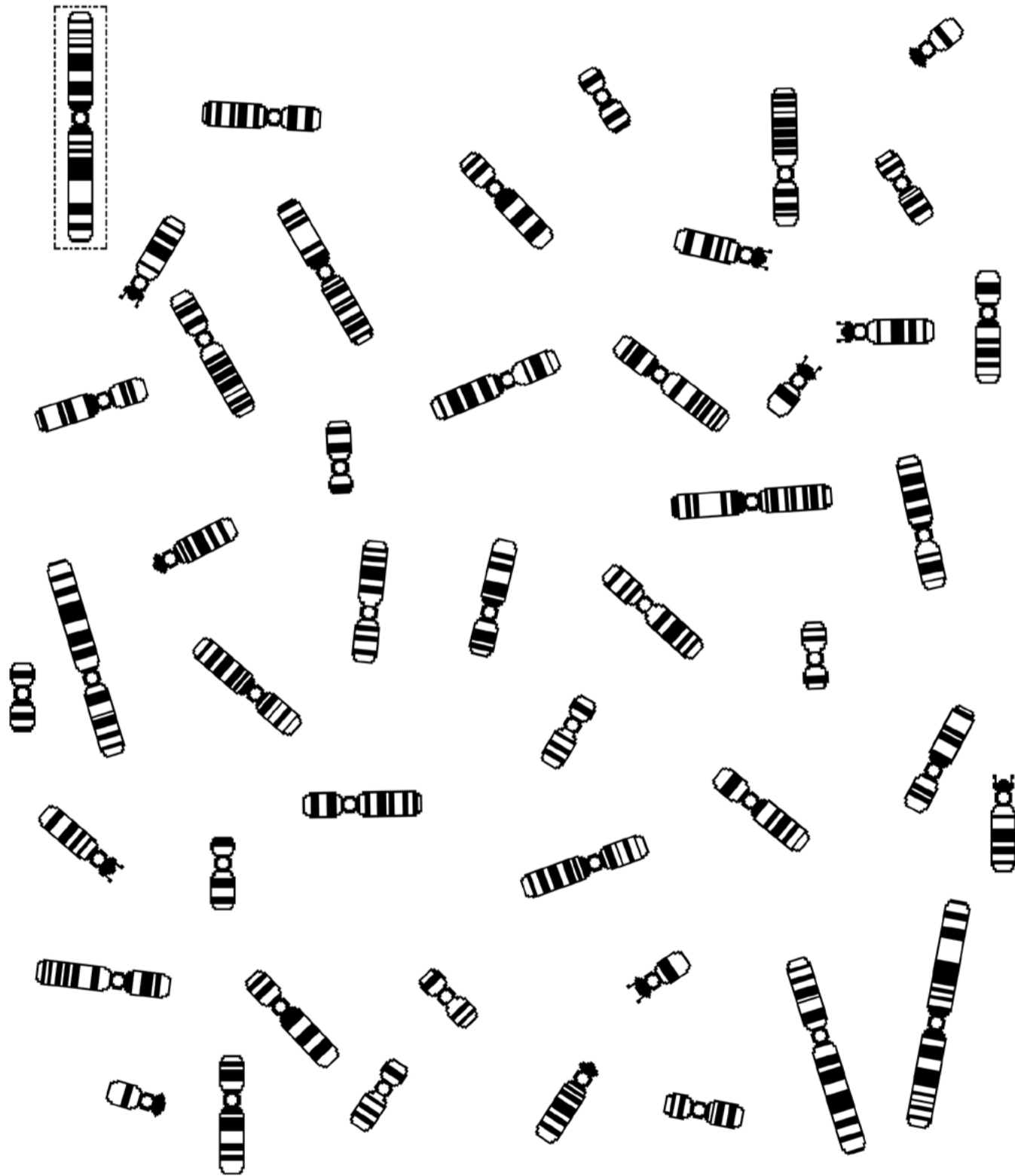
CARIÓTIPO NÚMERO 01



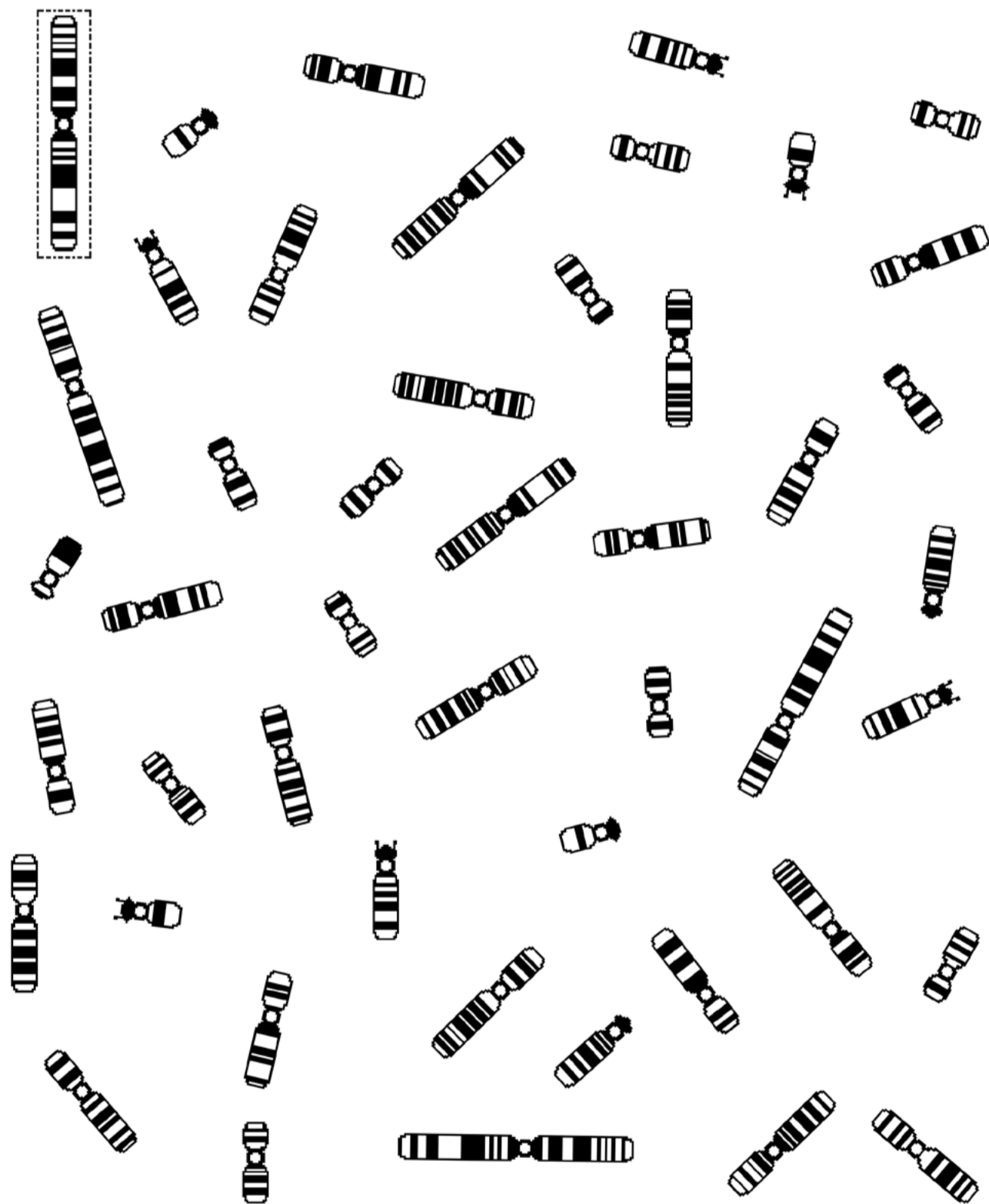
CARIÓTIPO NÚMERO 02



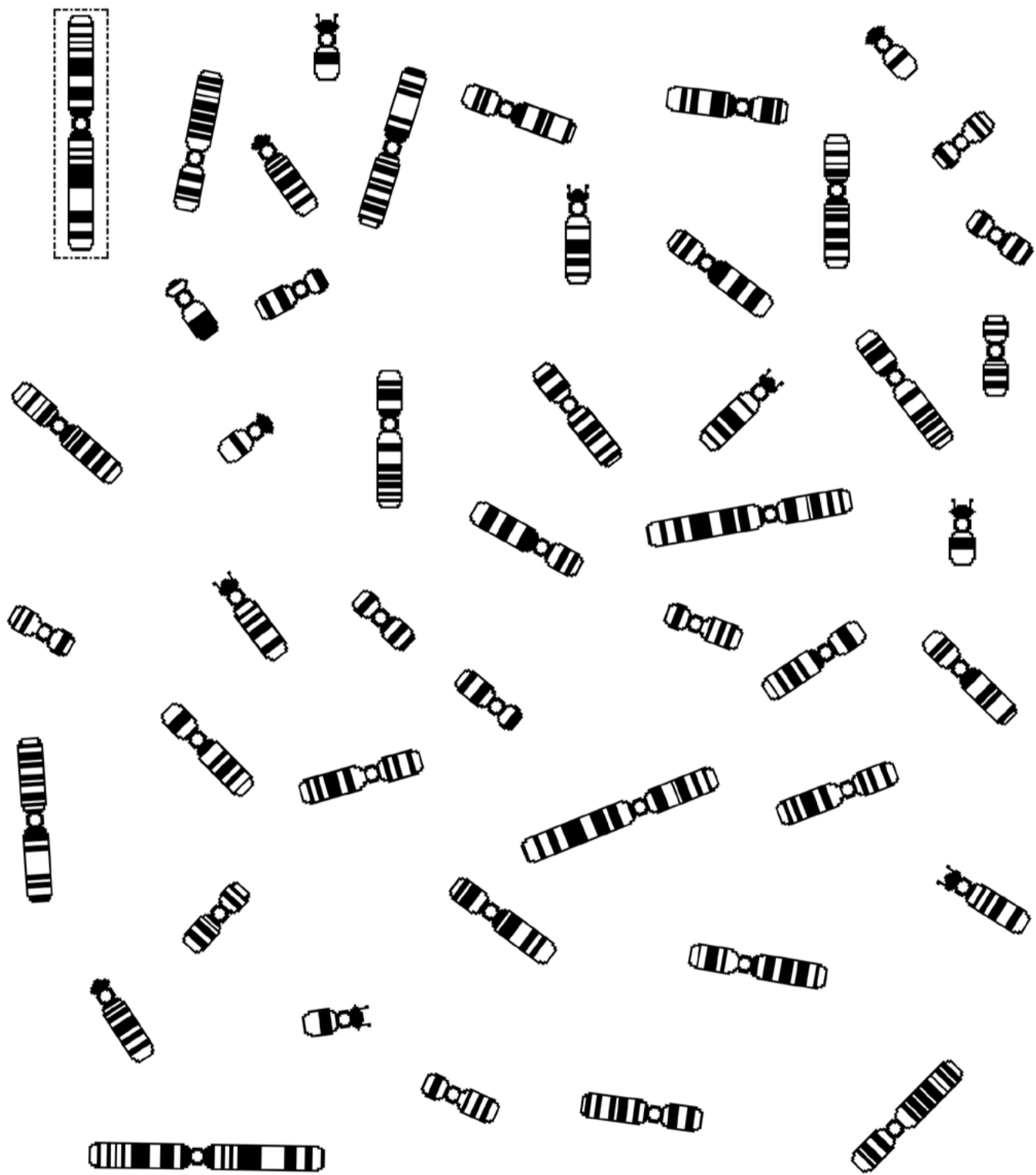
CARIÓTIPO NÚMERO 03



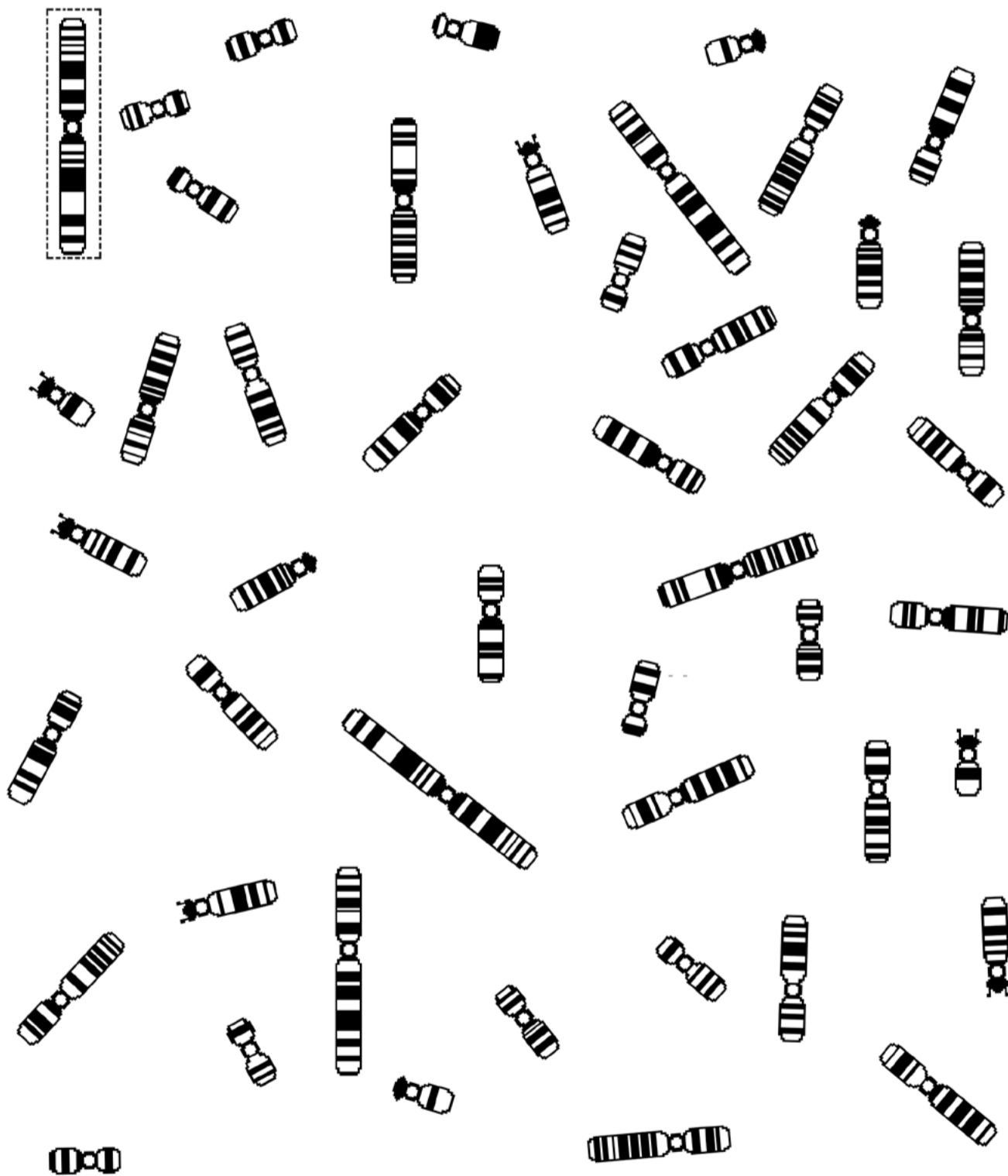
CARIÓTIPO NÚMERO 04



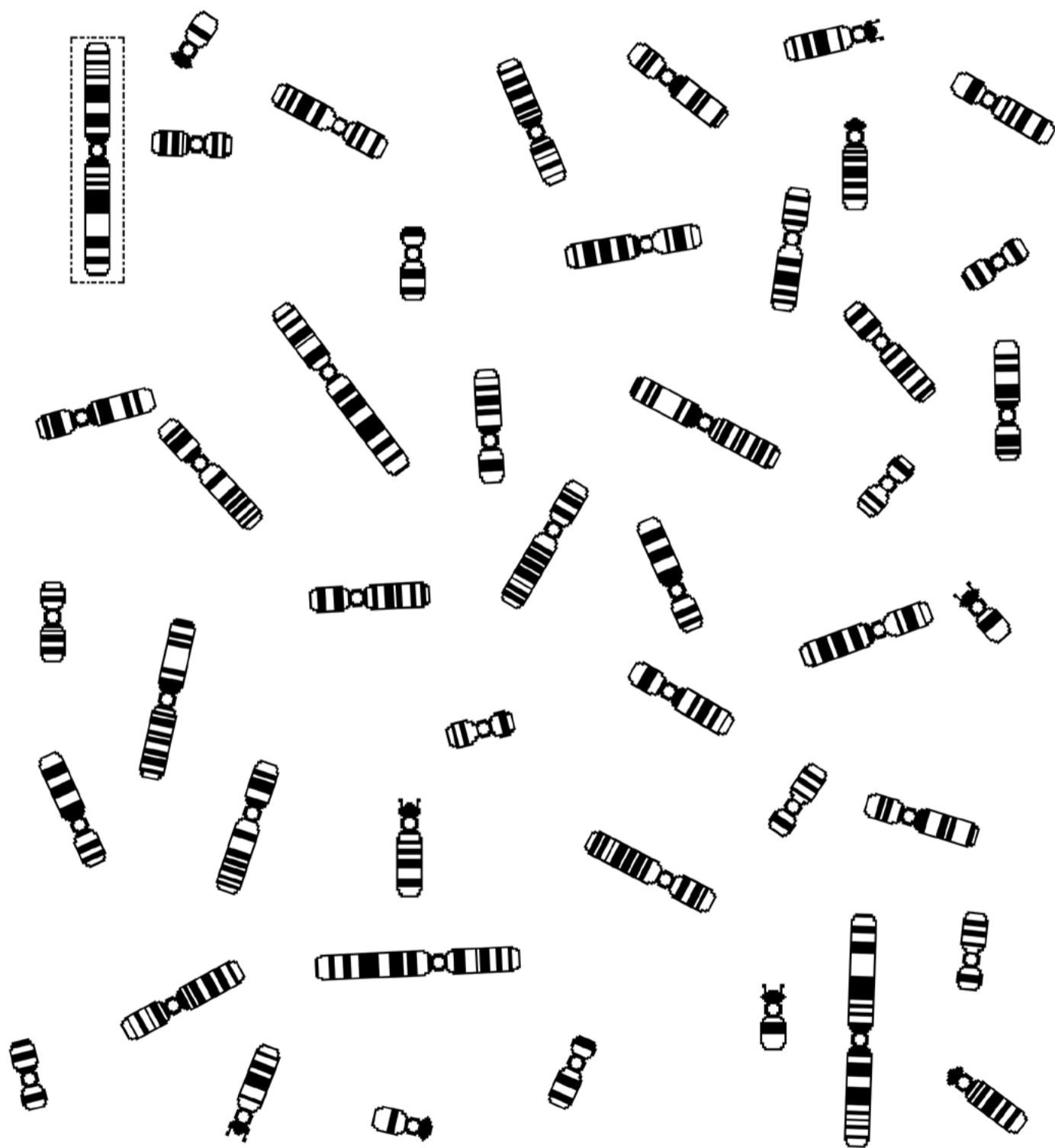
CARIÓTIPO NÚMERO 05



CARIÓTIPO NÚMERO 06



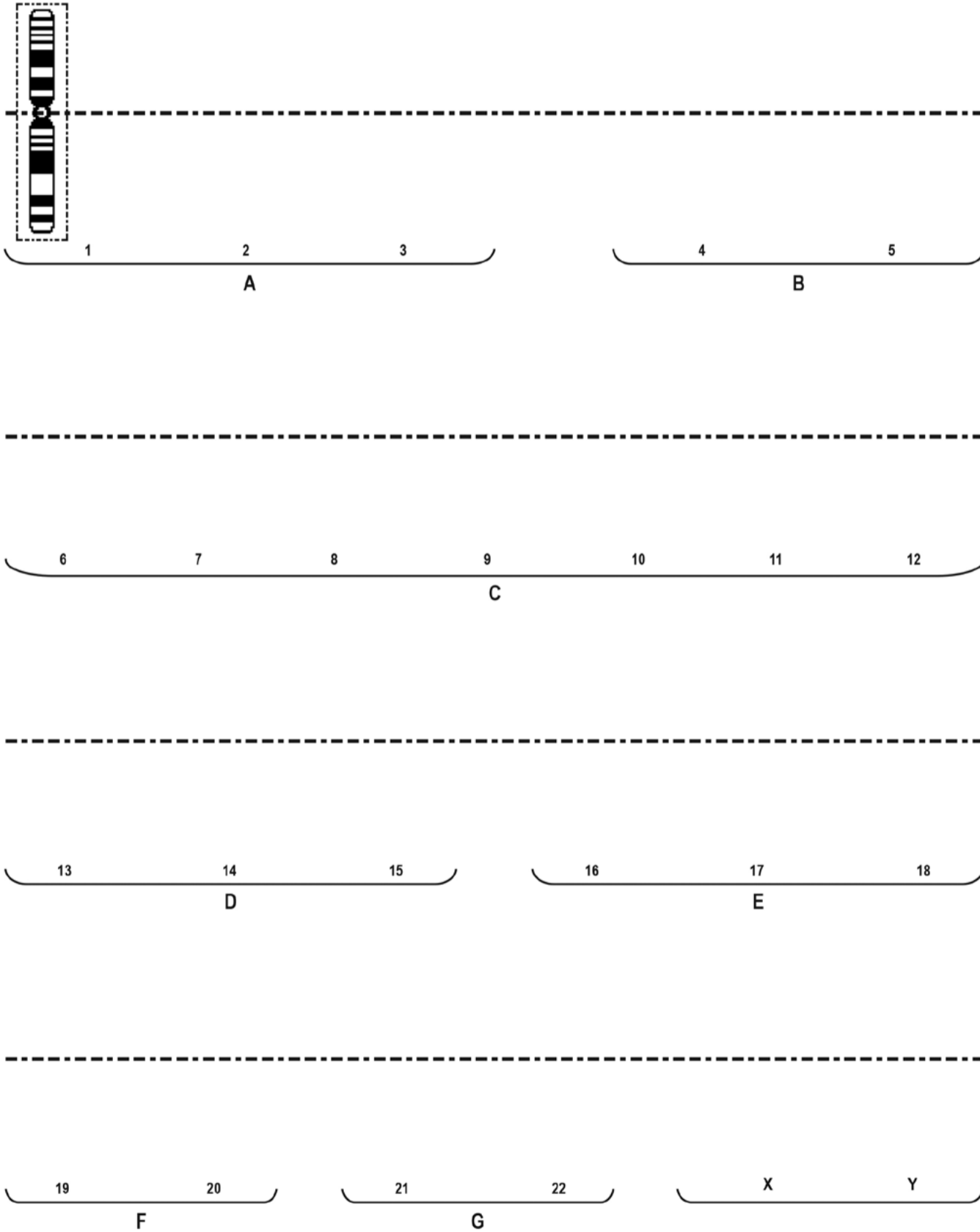
CARIÓTIPO NÚMERO 07



GABARITO ORGANIZANDO OS CROMOSSOMOS HUMANOS

IDIograma DO CARIÓTIPO Nº: _____ DIAGNÓSTICO CITOGENÉTICO: _____

DIAGNÓSTICO CLÍNICO: _____



Questões para discussão referentes à prática sobre cariótipo

1. Qual o diagnóstico citogenético do paciente?
2. Qual o diagnóstico clínico do paciente?
3. Quais os principais mecanismos envolvidos com a ocorrência da alteração cromossômica encontrada em seu cariótipo?

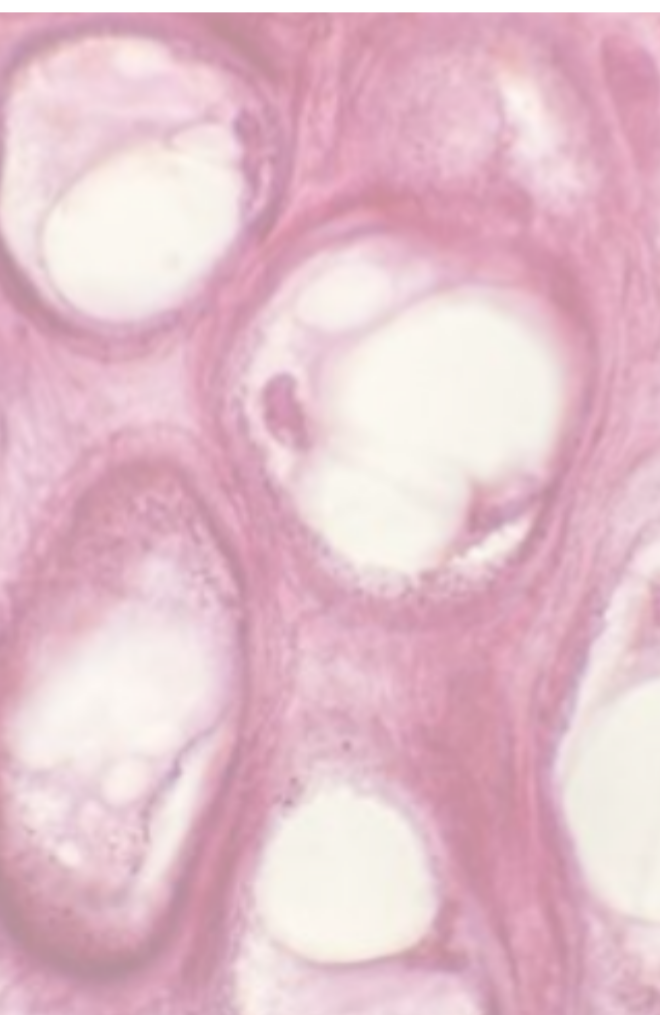
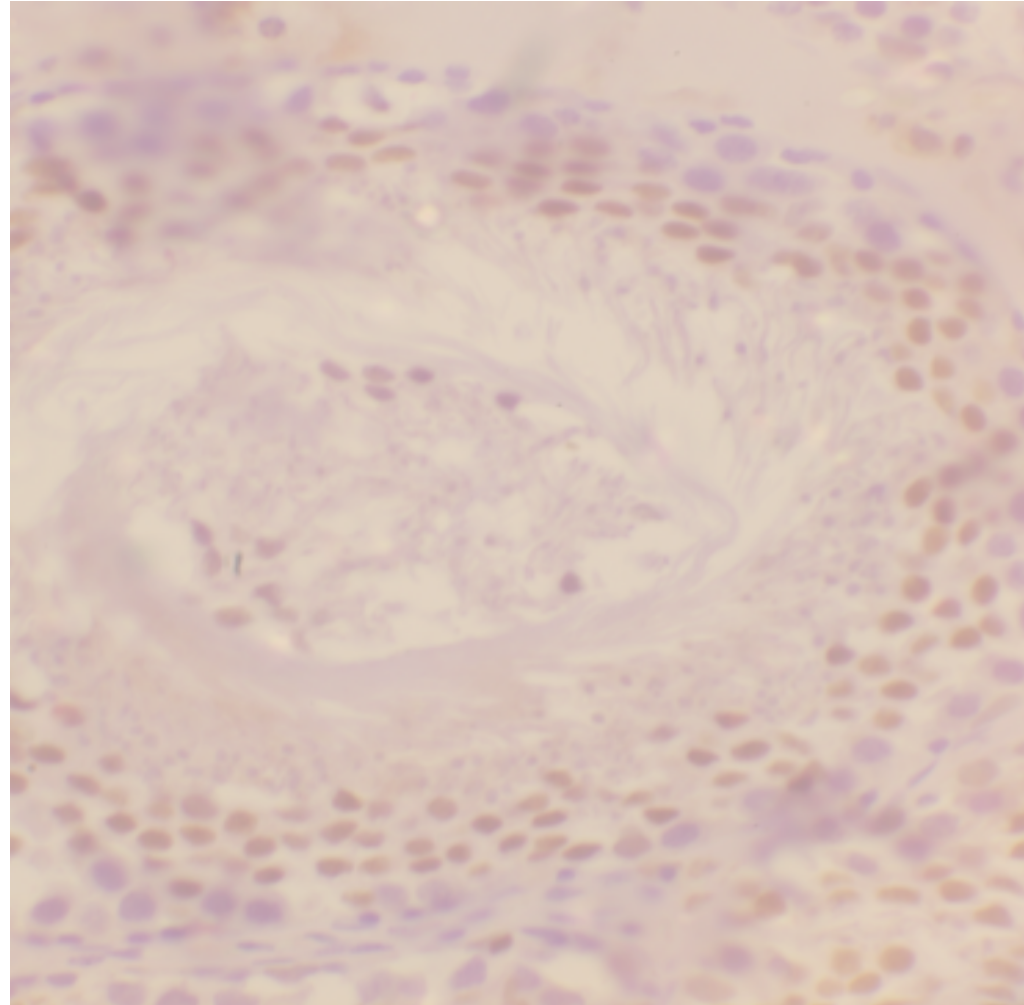
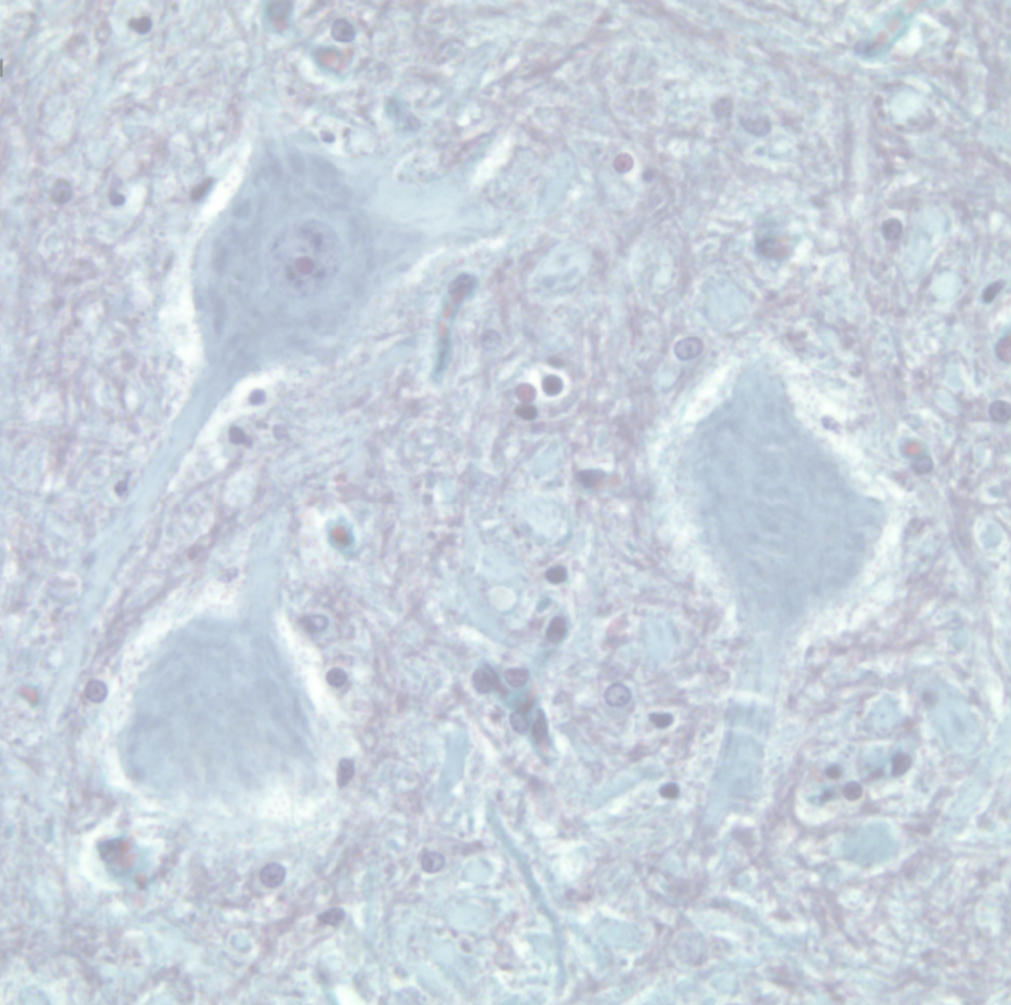
Referências

GARDNER, R. J. M.; SUTHERLAND, G. R.; SHAFFER, L. G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 4th edition. *Oxford Monographs on Medical Genetics*, n. 61, 2012.

LYON, M. F. X-chromosome inactivation. *Current Biology*, v. 9, n. 7, p. R235-237, 1999.

MIGEON, B. R. Females are mosaics: X inactivation and sex differences in disease. 2th edition. *Oxford University Press*, 2014.

_____. Why females are mosaics, X-chromosome inactivation, and sex differences in disease. *Gender Medicine*, v. 4, n. 2, p. 97-105, 2007.



CAPÍTULO 14

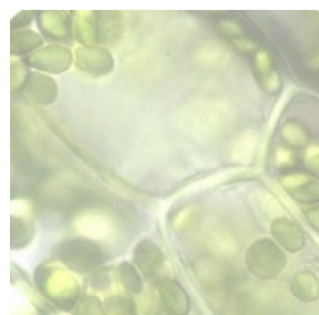
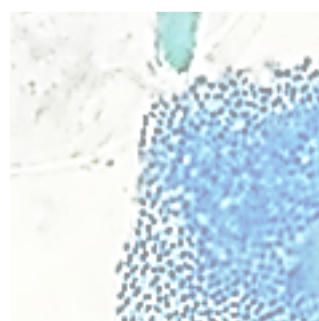
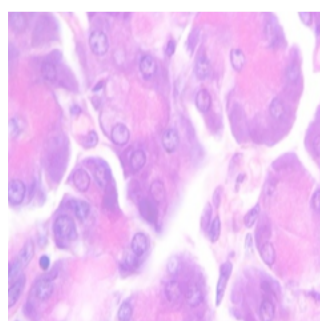
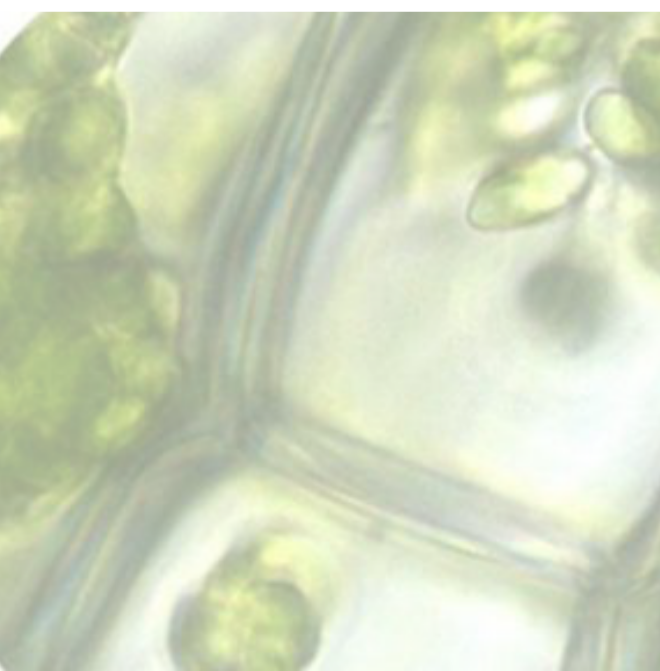
CICLO CELULAR

José Eduardo Baroneza

Victor Costa da Silva

Katheleen Kravicz

Amanda Ribeiro Bosch



Introdução

O ciclo celular compreende o conjunto de etapas pelas quais as células passam ao longo de sua vida. Assim como o ciclo de vida de um ser complexo como o homem, que nasce, trabalha, reproduz e morre, a célula também é finita e passa por diferentes momentos, entre os quais há fases onde trabalha e outras onde duplica seu DNA, o divide entre dois núcleos filhos e, por fim, por meio de um movimento de membrana orquestrado pelo citoesqueleto de actina, a célula se divide em duas células filhas. O controle do ciclo celular depende de proteínas CDKs e ciclinas que atuam em conjunto nos diferentes pontos de checagem do ciclo.

Dependendo da forma como o material genético foi dividido ao longo desse processo, as células filhas podem possuir a mesma quantidade de DNA da célula mãe – divisão mitótica, ou metade da quantidade de DNA da célula mãe – divisão meiótica.

A figura 14.1 ilustra as fases S e M do ciclo celular, onde o DNA é duplicado e posteriormente dividido em células filhas, respectivamente.

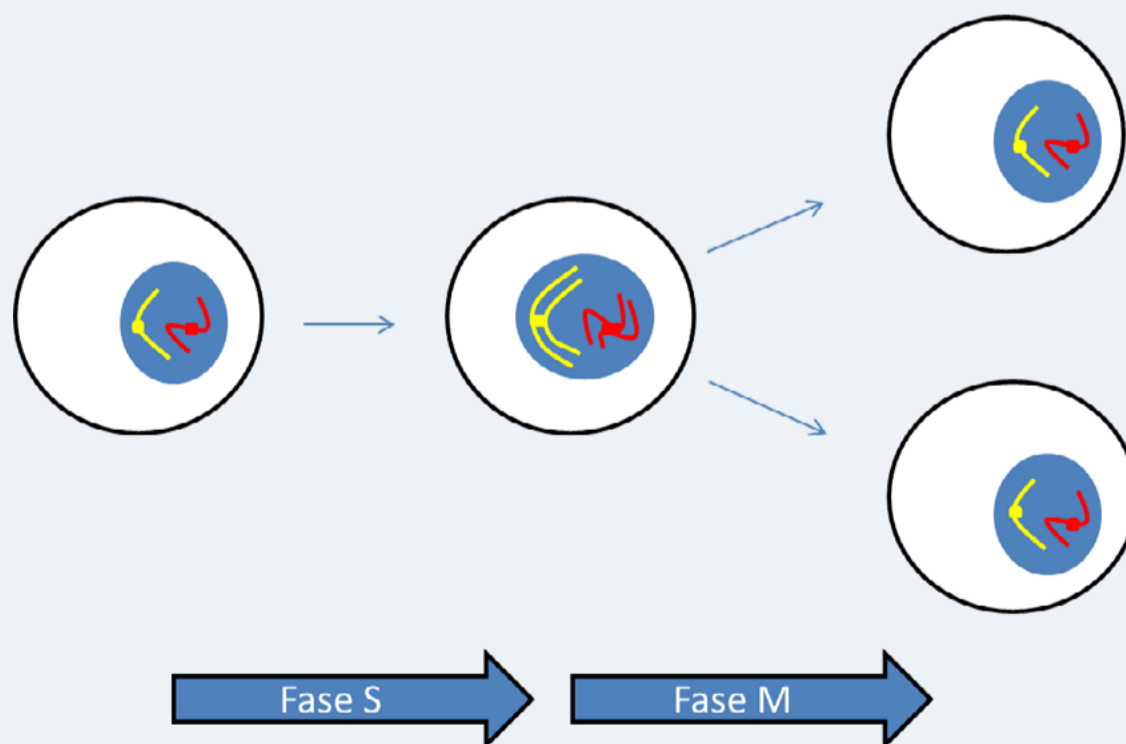


Figura 14.1 – Fases S e M do ciclo celular. Em S ocorre a síntese de DNA, cuja consequência é a duplicação dos cromossomos; e em M ocorrem a segregação dos cromossomos e a divisão celular.

O ciclo celular das células eucarióticas é dividido em duas grandes fases: intérfase e fase M. A intérfase é a fase de maior duração e onde ocorre o maior

volume de trabalho celular. É subdividida em G1, S e G2. Na subfase S, ocorre a síntese de DNA, enquanto em G1 e G2 a célula tem intensa atividade de síntese de macromoléculas. G1 e G2, do inglês *Gap1* e *Gap2*, são intervalos nos quais a célula cresce devido à síntese e incorporação de novas membranas e moléculas citosólicas. É quando ocorre com maior intensidade a síntese de moléculas para secreção e quando os mecanismos de comunicação celular estão mais ativos.

A fase M envolve a mitose, onde o núcleo celular se desfaz e posteriormente se remonta em torno de dois conjuntos de cromossomos segregados. É quando ocorre a citocinese, que resulta na divisão celular. Segue abaixo um resumo das fases da mitose:

- **Prófase:** o envelope nuclear se fragmenta e a cromatina condensa-se em cromossomos bem-definidos. Os centrossomas afastam-se para polos opostos, formando o fuso mitótico.
- **Metáfase:** os cromossomos estão em sua condensação máxima e localizam-se no plano equatorial da célula, formando a placa equatorial. As cromátides irmãs de cada cromossomo se orientam para polos opostos do fuso.
- **Anáfase:** separação das cromátides irmãs pela interação dos centrômeros com os microtúbulos dos centrossomas. Agora dois conjuntos idênticos de cromossomos encontram-se em polos opostos da célula.
- **Telófase:** o envelope nuclear volta a se formar em torno de cada núcleo filho, os cromossomos descondensam-se preparando para a intérfase, o nucléolo é reconstituído e a célula entra na fase de citocinese.

Prática: identificando as fases do ciclo celular em raiz de cebola

Objetivo

Identificar as fases do ciclo celular em lâminas permanentes de raiz de cebola coradas com reação de Feulgen + Fast Green.

Materiais

- Lâmina permanente de raiz de cebola corada com reação de Feulgen + Fast Green.

Metodologia

- Observar a lâmina no microscópio, desenhar e identificar as diferentes fases do ciclo celular (Figura 14.2).

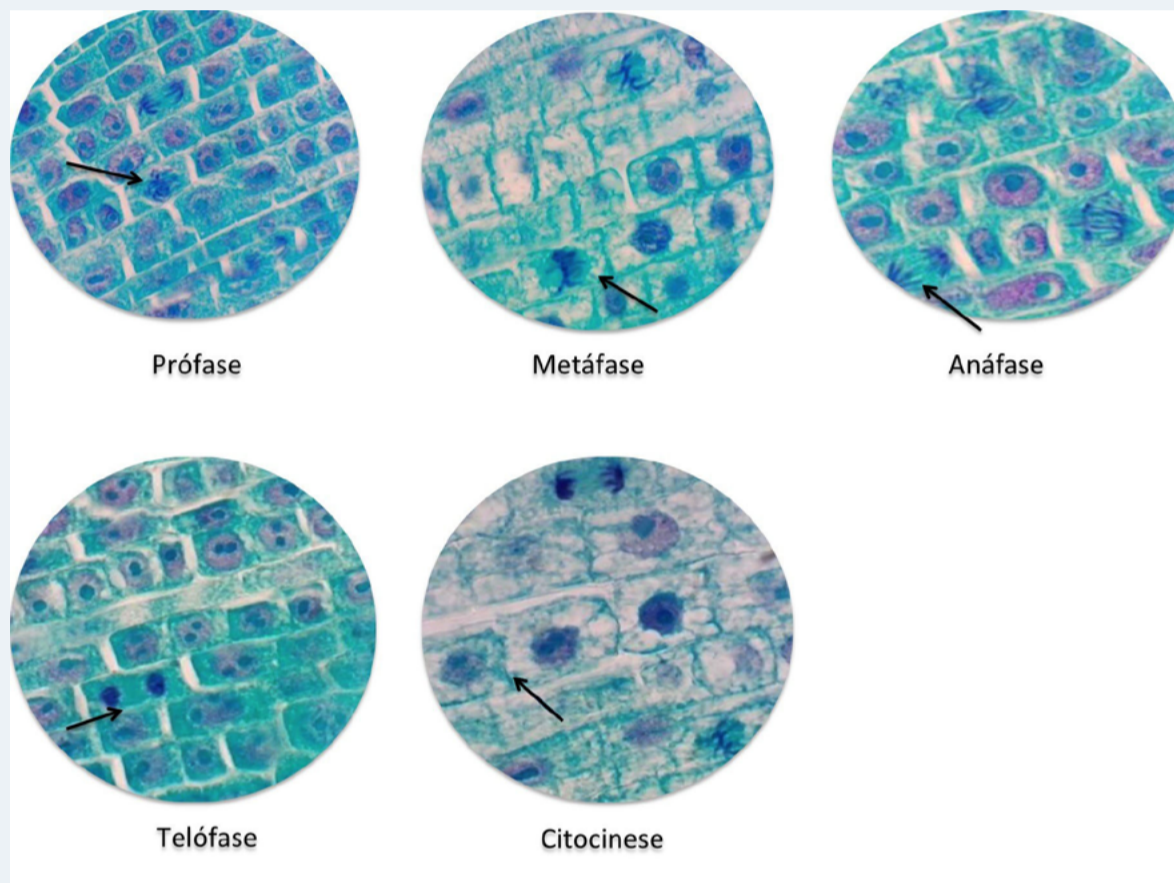


Figura 14.2 - Células em diferentes fases do ciclo celular apontadas pela seta em aumento de 400x.

Prática: observando as fases da meiose na ovogênese e na espermatogênese

Objetivo

Identificar células germinativas em processo de divisão celular meiótica.

Materiais

- Lâmina permanente de corte transversal de testículo de rato corado com hematoxilina e eosina;

- Lâmina permanente de corte de ovário de rata corado com hematoxilina e eosina (observar figura 12.1 do capítulo sobre diferenciação celular).

Metodologia

- Observar as lâminas no microscópio, desenhar e identificar as diferentes fases da meiose.

Questões para discussão

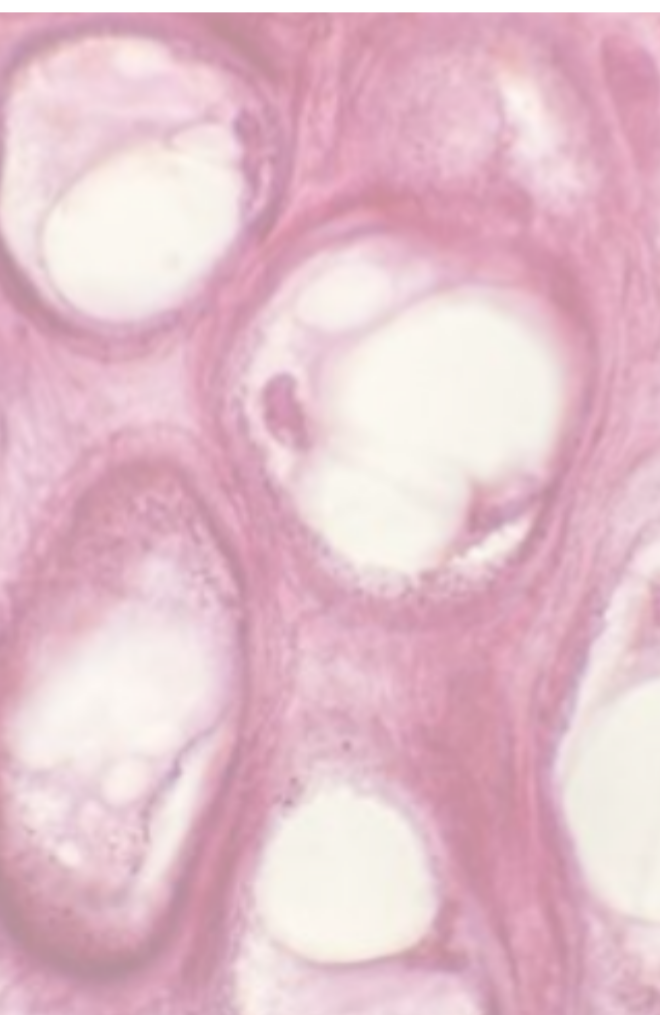
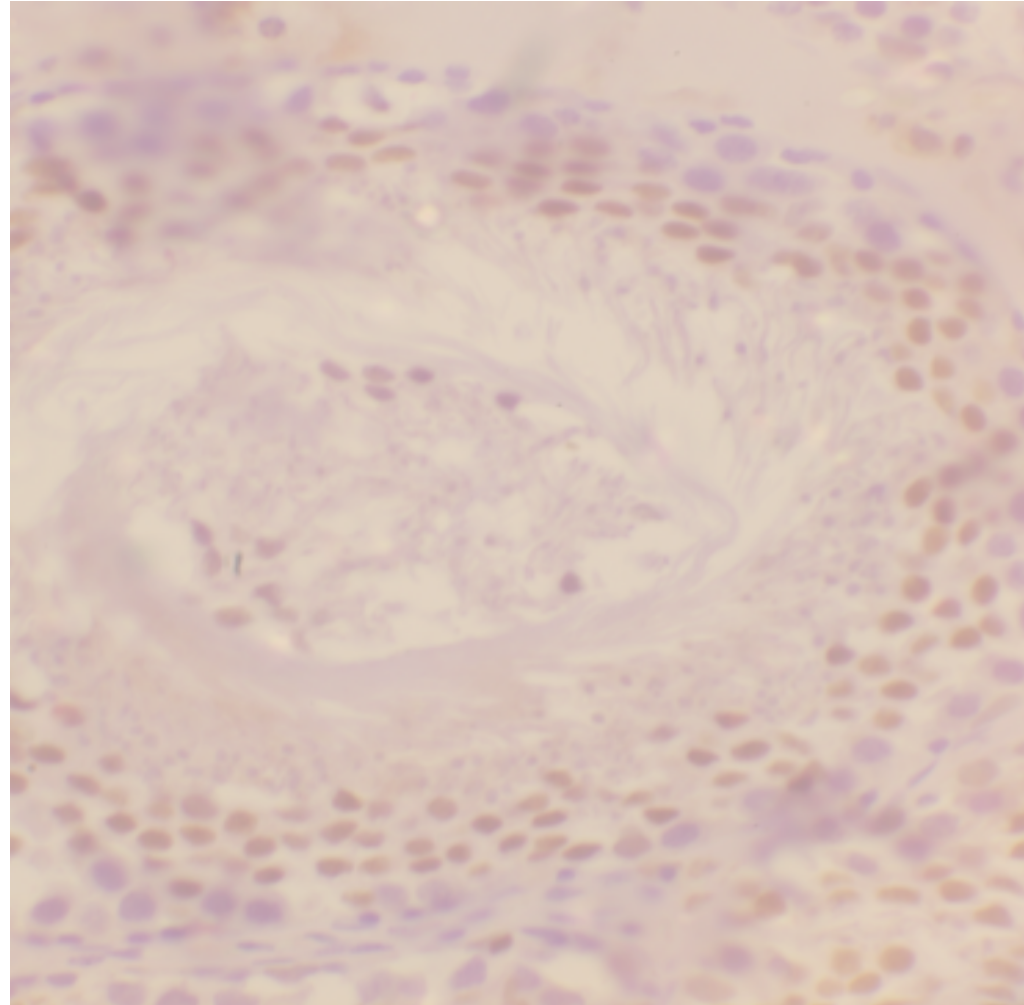
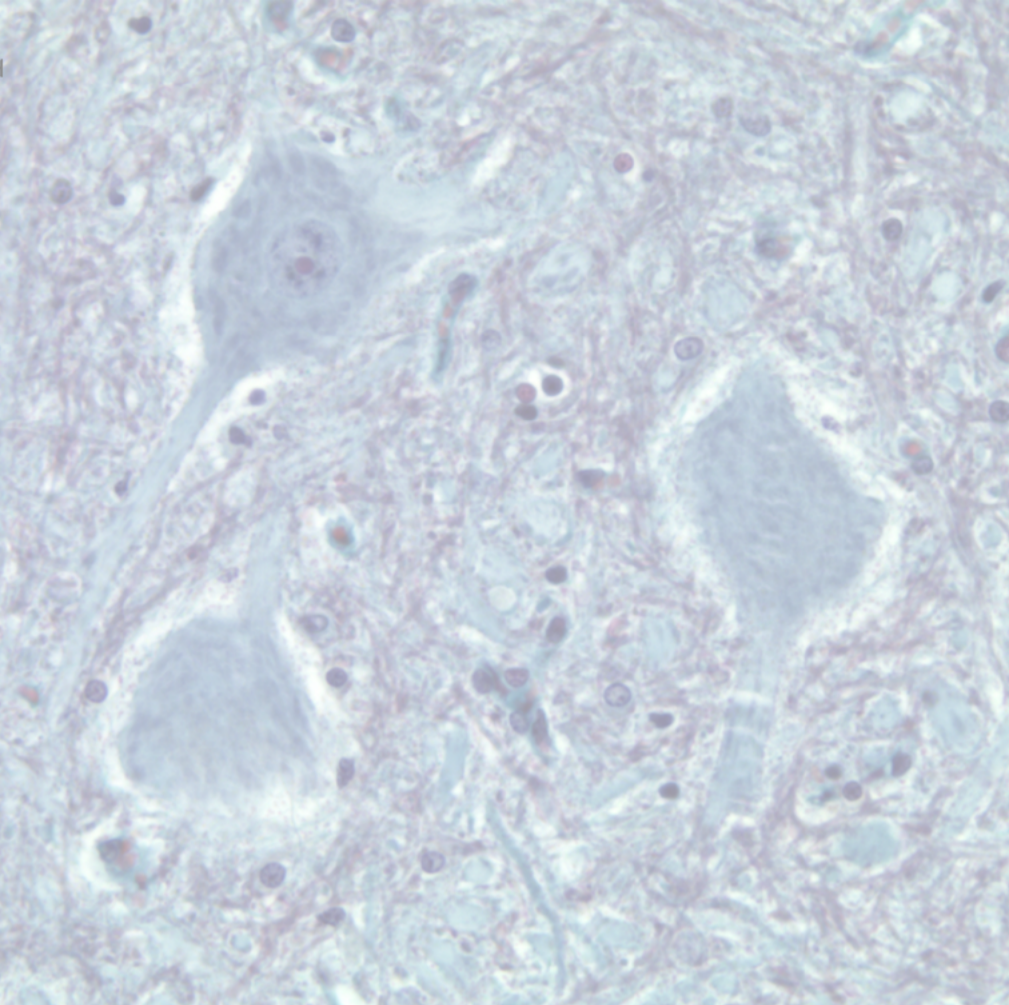
1. Compare as diferentes fases do ciclo celular (G1, S, G2 e M) em relação à quantidade de DNA no núcleo celular.
2. Um pesquisador lhe diz que mutações em células de linhagem germinativa tendem a ter efeito mais danoso que mutações em células somáticas. Você concorda? Justifique sua resposta.

Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Biologia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

JOHNSON, A. B. H.; WALTER, L. R. R. *Fundamentos da biologia celular*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Biologia Celular Atlas Digital. *Ciclo celular*. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/biologiacelularatlas/nucleo1.html>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

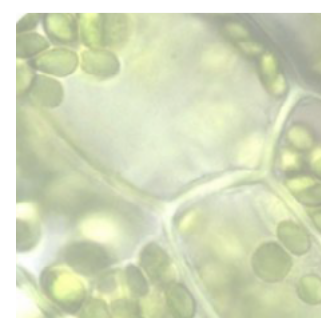
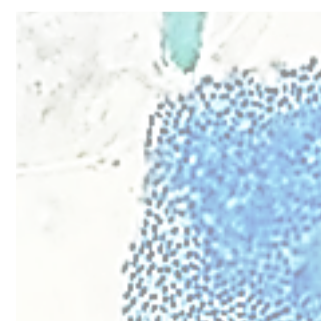
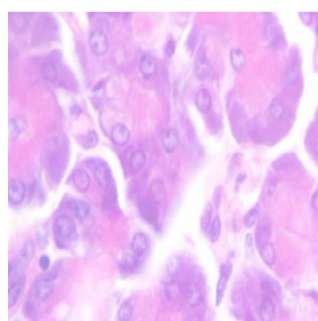
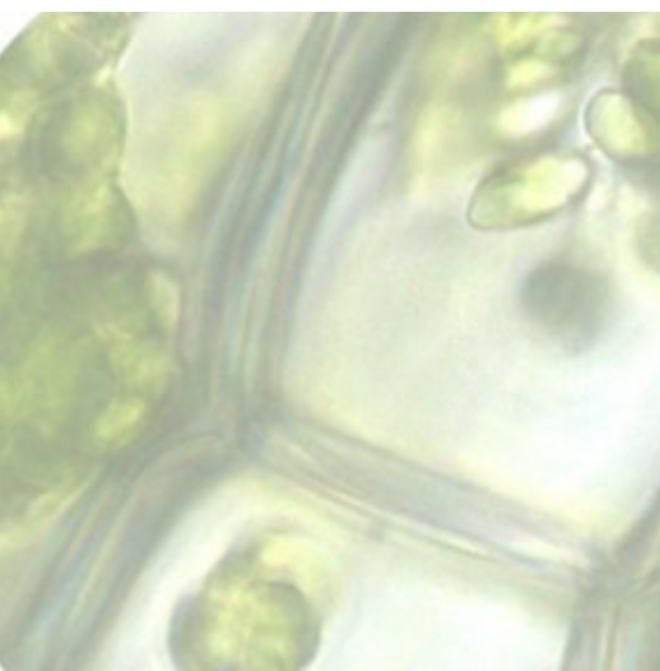


CAPÍTULO 15

PROCESSOS DE SÍNTESE NAS CÉLULAS: TRADUÇÃO

Shirlei Octacílio da Silva

Rodrigo Anselmo Cazzaniga



Introdução

O funcionamento dos seres vivos, como bactérias, plantas, animais, incluindo nosso corpo, depende da ação de moléculas muito importantes – as proteínas. Essas moléculas são muito diversas e com as mais variadas funções dentro e fora das células.

Os hormônios, os receptores de membrana, a actina globular, a miosina, as histonas, as enzimas da cadeia respiratória das mitocôndrias, da fotossíntese dos cloroplastos, entre milhares de outras, são exemplos de proteínas. Essas moléculas apresentam uma miríade de funções, das quais podemos citar algumas:

- estrutural: as histonas, as proteínas do citoesqueleto, da matriz extracelular etc.;
- reguladora: os hormônios, os neurotransmissores, as moléculas de sinalização celular etc.;
- transportadora: as proteínas que formam os canais iônicos, os poros nucleares etc.;
- de defesa: os anticorpos, as citocinas etc.;
- enzimática: a amilase salivar, a ATPase etc.

O importante é que as proteínas podem ter sua produção regulada, conforme a necessidade (excluindo-se as estruturais, que estão sempre presentes). Primeiramente, devemos lembrar que as proteínas são produzidas a partir de porções do DNA chamadas genes, sendo que cada gene pode produzir uma ou mais proteínas. Esses genes são transcritos em RNAs mensageiros (RNAm), que, após maduros, são transportados ao citoplasma, onde formam o código para a produção de proteínas, no processo chamado de tradução. Assim, cada gene é ligado e desligado conforme a necessidade da produção da sua proteína correspondente.

Assim, com relação às ações e funções das proteínas, poderíamos dizer que elas são os operários das células, os que fazem o trabalho pesado. Podemos comparar o DNA com o presidente da empresa (célula), que envia as ordens

via os gerentes (RNA), sem sair de sua sala (núcleo), e os RNAs dão as ordens diretamente aos operários na fábrica (citoplasma), os quais vão agir dentro e fora da empresa.

Esse processo elaborado de formação de uma molécula baseado no código de outra molécula completamente diferente é proporcionado por um complexo de RNAs estruturais chamados RNAs ribossômicos e proteínas ribossômicas que, juntos, formam duas subunidades – a maior e a menor. Essas duas subunidades se mantêm separadas no citoplasma e somente são montadas quando é encontrado o sítio de iniciação da tradução na sequência nucleotídica do RNAm.

Como o RNAm fornece o código para a produção daquela proteína específica? A molécula de RNA é formada por sequências de nucleotídeos, que são lidos de 3 em 3 pelo ribossomo. Cada trinca de nucleotídeos do RNAm é chamada códon. Como já sabemos, as proteínas são formadas por unidades chamadas aminoácidos; estes são carregados por moléculas chamadas RNAs transportadores (RNAt). Estes RNAs também possuem uma sequência nucleotídica e, em uma extremidade de sua estrutura, também existe uma trinca de nucleotídeos, chamada anticódon, que é complementar ao códon do RNAm.

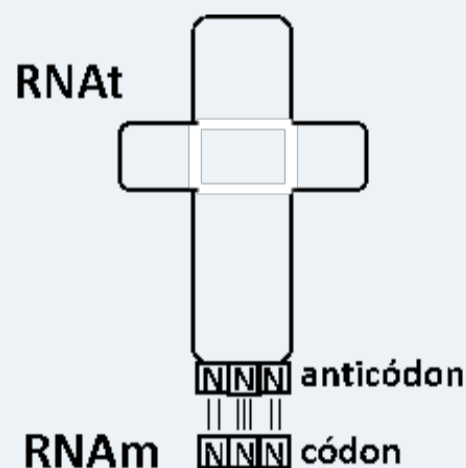


Figura 15.1 – Representação esquemática de um RNAt e seu pareamento com o códon do RNAm.

Então, quando um ribossomo “caminha” sobre a sequência do RNAm, a cada códon encontrado, um novo RNAt carregando um aminoácido específico se liga ao ribossomo, em um local próprio para os RNAts que chegam ao complexo. Dessa forma, a sequência do RNAm dita a sequência de aminoácidos da proteína a ser formada.

O RNAm é lido de 3 em 3 nucleotídeos e essa leitura pode ser realizada de três formas: começando no 1º nucleotídeo da trinca, no 2º nucleotídeo da trinca e no 3º nucleotídeo da trinca. Portanto, existem três fases de leituras. A mudança da fase de leitura modifica completamente a proteína, alterando seus aminoácidos resultantes, podendo interferir, inclusive, com sua função.

Todas as proteínas existentes são formadas pelos 20 possíveis tipos diferentes de aminoácidos. Os RNAts têm na sua sequência uma trinca (anticódon) complementar às trincas do RNAm (códon). No RNAm, existem 64 possibilidades de trincas (4 bases elevadas a 3, porém somente 61 códons especificam aminoácidos porque 3 trincas são códons de terminação). Essa diferença entre o número de possíveis códons do RNAm e do total de aminoácidos existentes ocorre tanto porque vários dos aminoácidos possuem mais de um RNAt que os carregam, quanto porque alguns dos RNAts podem se ligar a mais de um códon por complementariedade de bases. Na verdade, as duas primeiras posições do anticódon devem se ligar com exatidão ao códon e pode haver um pareamento inexato na terceira posição. A possibilidade da presença de uma base que não pareie corretamente na terceira posição é uma propriedade chamada de pareamento oscilante. Por esse motivo, o código genético é dito degenerado. Dessa forma, é possível que 20 aminoácidos se adaptem aos 61 códons existentes com apenas 31 tipos diferentes de RNAt.

A mecânica da tradução ocorre da seguinte forma: o início da tradução se dá quando a subunidade menor do ribossomo se liga ao RNAm. Quando esse complexo encontra o códon de iniciação AUG, que determina a inserção de um aminoácido metionina, a subunidade maior se liga e a tradução se inicia. Portanto, toda proteína inicia-se com uma metionina. O ribossomo possui três sítios sequenciais, onde ao RNAt se ligam: o sítio aminoacil (A), onde os novos RNAts carregando aminoácidos se ligam; o sítio peptidil (P), onde o aminoácido se desliga do RNAt que o transportou e se liga à cadeia peptídica crescente; e o sítio Exit (E) (do inglês = saída), de onde o RNAt vazio desliga-se do ribossomo.

O processo de adição de novos RNAts com seus aminoácidos se dá com o deslocamento do ribossomo sobre o RNAm. Conforme o ribossomo muda sua conformação, ele se desloca pelas trincas de nucleotídeos do RNAm e estas

trincas vão passando primeiro pelo sítio A, em seguida pelo P e, finalmente, pelo E. A cada sítio, uma parte do processo é realizada, sempre nesta ordem: entrada do RNAt correto carregado, adição do novo aminoácido à proteína e liberação do RNAt vazio, respectivamente. Dessa forma, a molécula de RNAm é “lida” e fornece o código para a formação da proteína correspondente.

O final do processo se dá quando o ribossomo alcança códons de parada da tradução, que são complementares ao RNAt carregando uma molécula de água. Essa molécula de água é adicionada ao último aminoácido da cadeia. Assim, a primeira parte da proteína a se formar é a extremidade N-terminal e a última é a C-terminal.

Prática: entendendo a tradução nas células

Objetivo

Simular o passo a passo do processo de tradução.

Metodologia

- Recortar as figuras que se encontram no final deste capítulo. Colar o quadrado pontilhado na subunidade menor do ribossomo, no lugar indicado. Passar a fita de RNAm por baixo do quadrado pontilhado. Colocar um RNAt com a metionina no sítio P (peptidil) da subunidade menor do ribossomo e ir caminhando sobre a sequência do RNAm. Quando este estiver sobre o códon de iniciação do RNAm, colar a subunidade maior do ribossomo na subunidade menor e colar a parte superior do quadrado pontilhado na subunidade maior, no lugar indicado.
- Colocar um RNAt com o anticódon correspondente no códon presente no RNAm no sítio A (aminoacil). A subunidade maior do ribossomo se desloca e este 1º RNAt passa para o sítio E (exit = saída), enquanto o RNAt com o aminoácido no sítio A se desloca para o sítio P; a metionina se desliga do seu RNAt e se liga no segundo aminoácido. O RNAt, presente no sítio E, sem aminoácido, libera-se do ribossomo. No sítio A, entra um novo RNAt de acordo com o códon do RNAm.

- Mais um deslocamento do ribossomo e o RNAt do sítio A vai para o sítio P e o RNAt do sítio P vai para o sítio E. O aminoácido do RNAt no sítio P se desliga de seu transportador e se liga à cadeia peptídica em crescimento. O RNAt sem o aminoácido vai para o sítio E e se desliga do ribossomo. Assim, novos RNAts vão chegando, RNAts “vazios” vão deixando o ribossomo e a nova proteína vai crescendo.
- Finalização da tradução – insira o RNAt com anticódon correspondente ao códon na última posição da proteína. Esse códon indica a parada da tradução e o RNAt carrega uma molécula de água, ao invés de um aminoácido. Esse RNAt deve ser colocado no sítio A e, após o deslocamento do ribossomo pelo RNAm, ele passa para o sítio P, onde a água é adicionada à cadeia peptídica, que deve ser liberada quando o último RNAt for para o sítio E após outro deslocamento do ribossomo.

As figuras abaixo mostram o código genético e os nomes e as abreviações dos aminoácidos para auxiliar na montagem da proteína que será traduzida.

		Segunda letra				
		U	C	A	G	
Primeira letra	U	Fen	Ser	Tir	Cis	U
		Fen	Ser	Tir	Cis	C
		Leu	Ser	Fim	Fim	A
		Leu	Ser	Fim	Trp	G
	C	Leu	Pro	His	Arg	U
		Leu	Pro	His	Arg	C
		Leu	Pro	Gln	Arg	A
		Leu	Pro	Gln	Arg	G
	A	Ile	Tre	Asn	Ser	U
		Ile	Tre	Asn	Ser	C
		Ile	Tre	Lis	Arg	A
		Met	Tre	Lis	Arg	G
	G	Val	Ala	Asp	Gli	U
		Val	Ala	Asp	Gli	C
		Val	Ala	Glu	Gli	A
		Val	Ala	Glu	Gli	G

ALANINA	ALA	A
VALINA	VAL	V
LEUCINA	LEU	L
ISOLEUCINA	ILE	I
PROLINA	PRO	P
FENILALANINA	PHE	F
TRIPTOFANO	TRP	W
MERIONINA	MET	M
SERINA	SER	S
TREONINA	THR	T
CISTEÍNA	CYS	C
ASPARAGINA	ASN	N
GLUTAMINA	GLN	Q
TIROSINA	TYR	Y
LISINA	LIS	K
ARGININA	ARG	R
HISTIDINA	HIS	H
ÁCIDO ASPÁRTICO	ASP	B
ÁCIDO GLUTÂMICO	GLU	E
GLICINA	GLI	G

Figura 15.2 – Código genético e nomes dos aminoácidos.

Questões para discussão

1. Qual é a sequência de aminoácidos de sua proteína?
2. Compare com as sequências de seus colegas que usaram outras opções. As proteínas formadas são iguais?
3. Quando se parte de uma mesma sequência de nucleotídeos, obtém-se sempre a mesma proteína? Por quê?
4. A alteração da sequência de uma proteína causa modificações das funções desta? Por quê?

Referências

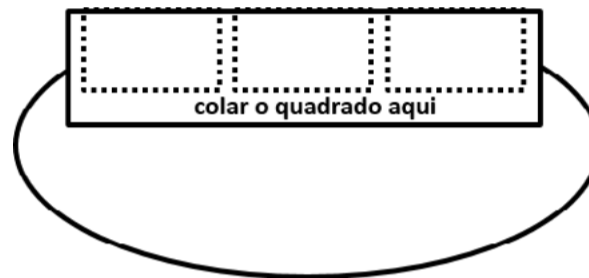
ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Biologia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

Figuras a serem impressas e recortadas



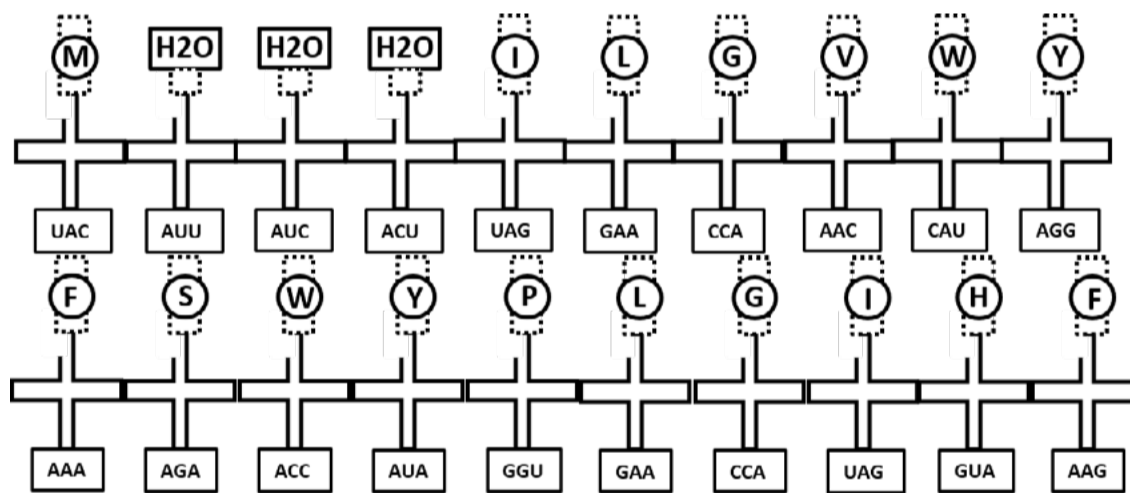
15.3 - Subunidade maior



15.4 - Subunidade menor.



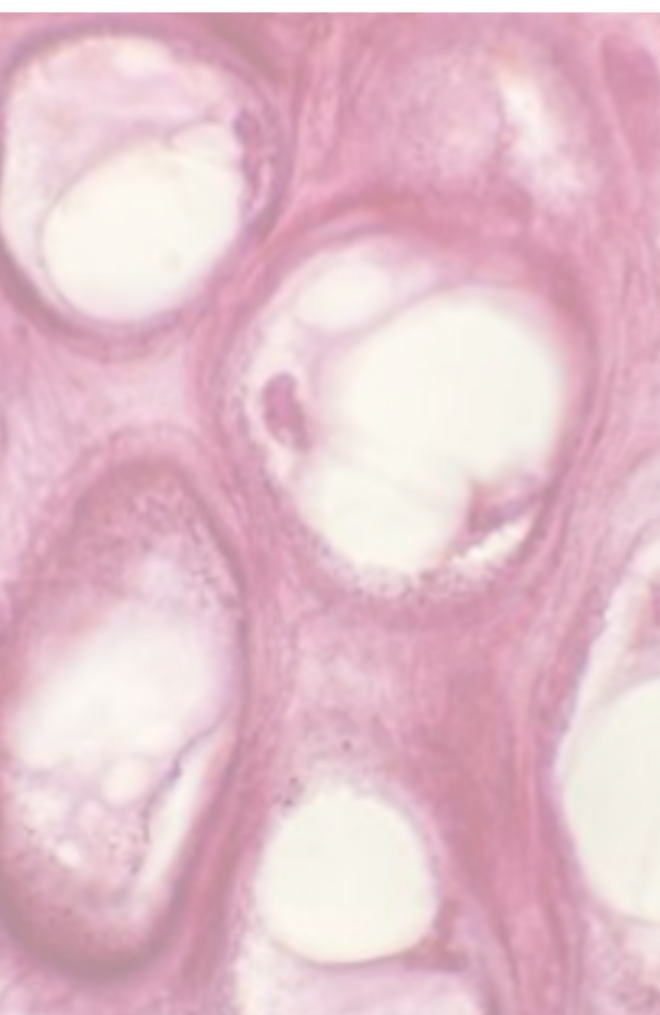
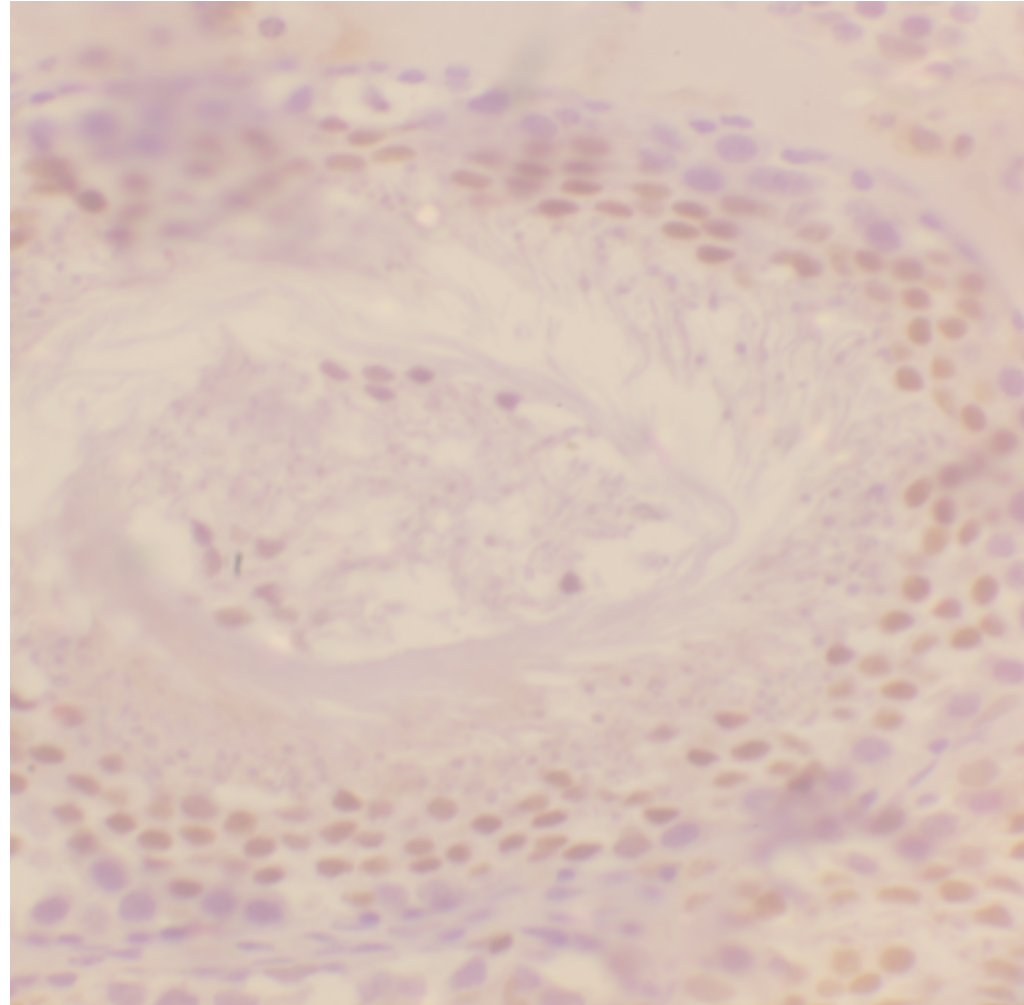
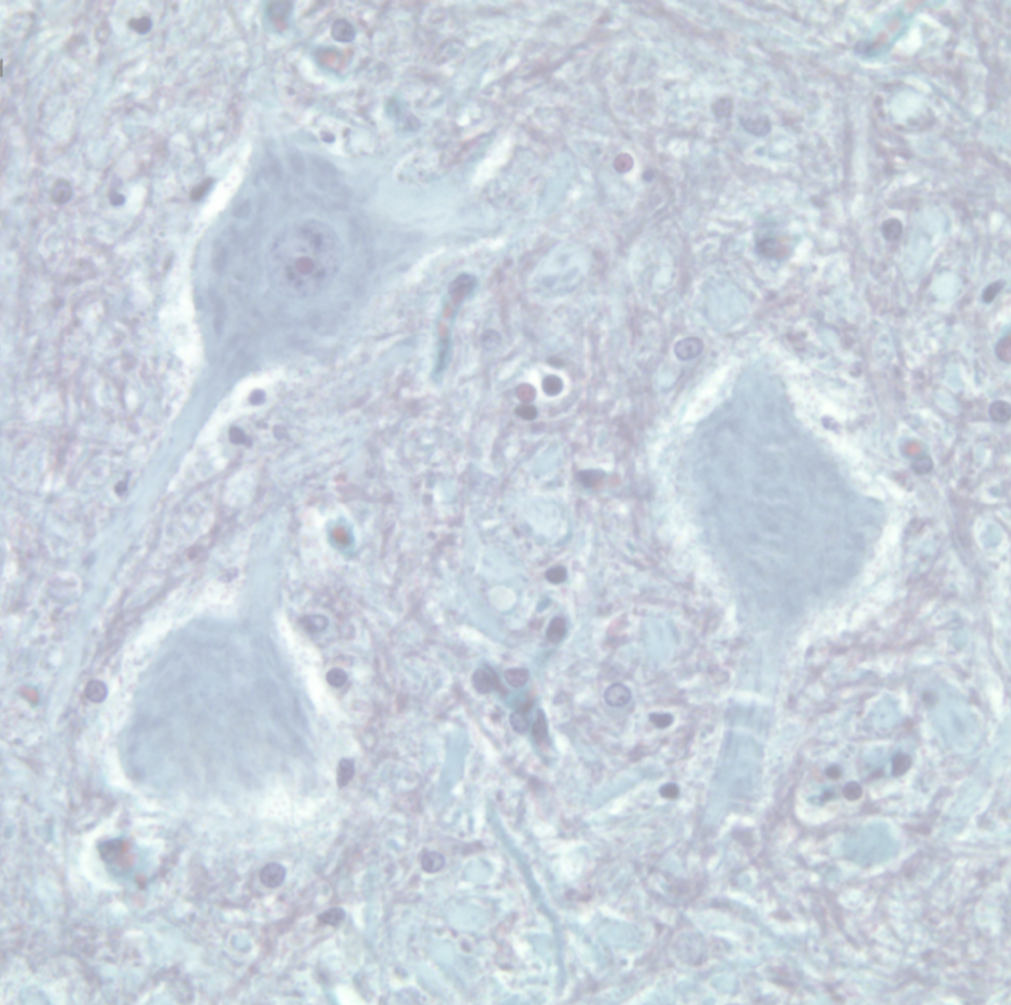
15.5 - Sítios do ribossomo.



15.6 - RNAt + aminoácidos.

1	NNNNNNNN AUG	UUU	UCU	UGG	UAU	CCA	UAA NNNNNNNN
2	NNNNNNNN AUG	UUU	CUU	GGU	AUC	CAU	UAG NNNNNNNN
3	NNNNNNNN AUG	UUC	UUG	GUA	UCC	AUC	UGA NNNNNNNN

15.7 - Sequências de 3 opções de RNAs mensageiros.

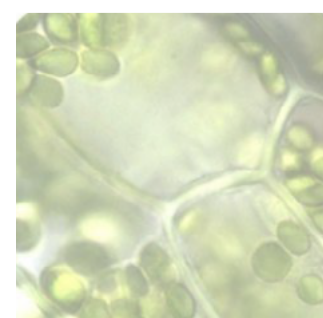
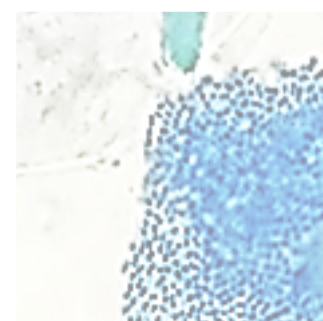
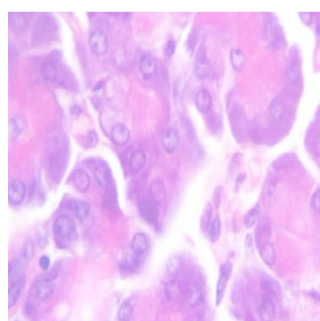
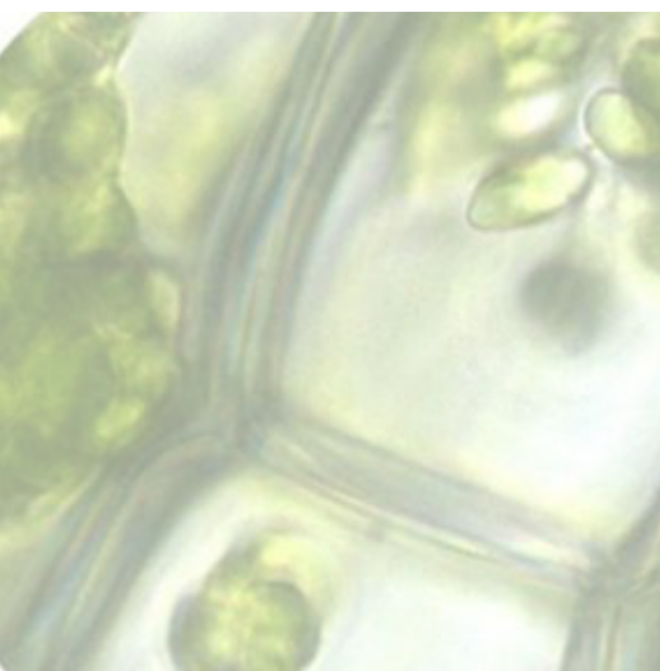


CAPÍTULO 16

MORTE CELULAR

José Eduardo Baroneza

Cleber Rafael Vieira da Costa



Introdução

As células podem morrer por diversos motivos, entre os quais podemos citar parasitismo, senescência, desequilíbrio osmótico, doenças mitocondriais ou mesmo pela necessidade de autodestruir-se, como ocorre naturalmente durante a embriogênese. Entre as formas de morte, podemos citar a autolítica, a apoptótica (programada) e a necrótica.

Na morte celular por autólise, ocorre destruição dos lisossomos e eliminação de suas enzimas hidrolíticas que passam a degradar membranas e macromoléculas celulares, como ocorre, por exemplo, na doença pulmonar causada por inalação de pó de sílica, destruindo regiões do pulmão. A morte celular programada, apoptótica, participa de processos essenciais para a saúde do organismo, como a eliminação de células defectivas ou de órgãos obsoletos durante o desenvolvimento embrionário ou mesmo na vida adulta. Já a necrose é comum em tecidos inflamados e ocorre devido a substâncias tóxicas, micro-organismos ou outras causas.

Para o biologista celular, bem como para o patologista, é essencial conhecer as características morfológicas que distinguem as células que porventura estejam em processo de morte. Células apoptóticas, por exemplo, caracterizam-se por sofrer compactação, o que inclui o núcleo. A cromatina do núcleo condensado (picnótico) é partida em pequenos fragmentos regulares e as células emitem brotamentos celulares semelhantes a pequenas bolhas que se destacam da superfície e são rapidamente fagocitados por macrófagos ou outras células. Na necrose, entretanto, as características são bem diferentes. As células aumentam de volume e se rompem lançando seu conteúdo interno no meio extracelular. Ao comparar tais processos à luz do microscópio óptico, pode-se observar que, na necrose, o citosol celular aumenta sua afinidade com o corante eosina, tornando-se mais róseo.

Outra característica evidente da apoptose é a fragmentação do DNA. Essa fragmentação é realizada com um padrão, onde uma endonuclease é ativada de maneira a fragmentar o DNA. Tal processo mostra-se como um mecanismo inato contra neoplasias.

A apoptose é regulada por uma série de proteínas, que podem coordenar a morte celular programada positiva ou negativamente. As caspases são moléculas iniciadoras efetoras da apoptose. Essas moléculas são proteases da família das cisteínas que reconhecem e clivam substratos que possuam resíduos de aspartato. Essas moléculas são ainda capazes de externalizar fosfolipídeos específicos de membrana, os quais são reconhecidos por macrófagos que realizam a fagocitose dessas células. As caspases (3, 6, 7, 8, 9) envolvidas no processo de apoptose são sintetizadas como zimogênios que não possuem atividade, mas que posteriormente são clivados para serem ativados.

As caspases ativadas removem a ligação entre as proteínas mdm-2 e p53. A proteína mdm-2 mantém a p53 no citoplasma. Com a separação dessas proteínas p53, desloca-se do citoplasma para o núcleo, ativando a transcrição de genes pró-apoptóticos. Além das caspases, as proteínas da família Bcl-2 regulam a apoptose, seja positivamente, como Bid, Bax e Bak, ou inibindo a morte celular programada, como Bcl-2. Quando uma célula recebe um estímulo externo para a morte celular, Bcl-2 impede a permeabilização da membrana mitocondrial por competir com os sítios de ligação de Bax. Já a promoção da apoptose por Bax ocorre quando esta proteína interage com a membrana mitocondrial.

A apoptose possui duas vias de ativação: a via extrínseca, quando a sinalização para apoptose deriva do meio extracelular, e a via intrínseca, quando o sinal para a morte celular parte do estresse intracelular, como a hipóxia. Na via extrínseca de ativação da apoptose, um fator externo pode ligar-se ao receptor Fas, uma proteína transmembrana que na face interna da membrana plasmática está ligada a adaptadores na forma de dímeros, os quais estão ligados em uma extremidade com Fas e na outra com pró-caspase-8. A ligação externa ao Fas cliva a ligação entre o adaptador e a pró-caspase-8, liberando, dessa forma, a caspase-8, que ativa posteriormente a caspase-3 e, em seguida, a apoptose. A indisponibilidade de fatores de crescimento, a falta de oxigênio, a liberação de oncogenes e os danos no DNA podem ocasionar a liberação de estímulos pró-apoptóticos. De tal maneira, o Bax liga-se à membrana externa mitocondrial ocasionando a liberação do citocromo C. Quando disponível no citosol, o citocromo C liga-se ao complexo formado por APAF-1 (fator de ativação de protease associada à apoptose) e pró-caspase-9, liberando a caspase-9 na sua forma

ativa. Essa caspase ativa no citosol cliva a pró-caspase-3, onde o produto dessa clivagem é a caspase-3 executora da apoptose.

Prática: diferenciando morfológicamente processos de morte celular

Objetivos

Observar células em necrose e apoptose e descrever as diferenças.

Materiais

- Lâmina permanente de pulmão tuberculoso;
- Lâmina permanente de fígado com hepatite viral.

Metodologia

- Observar os tecidos nos aumentos de 40x, 100x, 400x e 1.000x, desenhar e descrever as diferenças nas áreas de necrose e apoptose.

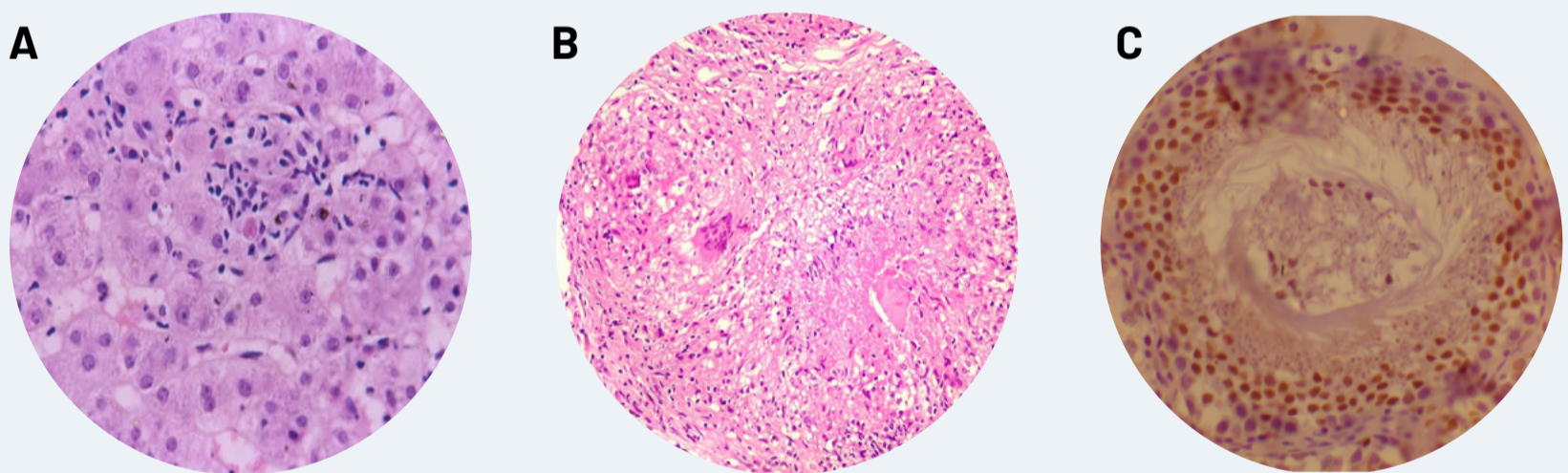


Figura 16.1 – Aspectos de morte celular. A) Apoptose no fígado com hepatite viral, 400x. B) Necrose no pulmão tuberculoso, 400x. C) Células em apoptose evidentes após imunomarcaçã de caspase-3 clivada no epidídimo, 100x (cortesia Luiz Roberto Kotze).

Questões para discussão

1. Ao observar tecidos com necrose, é comum identificarmos áreas com excesso de substância extracelular entre as células em processo de morte, fato que não ocorre na apoptose. O que explica essa diferença?
2. Diferencie os termos morte celular fisiológica e morte celular patológica.

Referências

BRASILEIRO FILHO, G. *Bogliolo patologia geral*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

BUJA, L. M.; KRUEGER, G. R. F. *Atlas de patologia humana de Netter*. Porto Alegre: Artmed, 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (Coautor). *Fundamentos de Robbins: patologia estrutural e funcional*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.