

Biologia celular quantitativa: geometria de núcleos celulares

Jesse C. Laurentino*, Natalia V. A. da Silva*, Vinicius S. Deoclécio*, Isabella Barbutti, Hernandes F. Carvalho.

Resumo

O objetivo desse trabalho foi analisar diferentes parâmetros nucleares em diferentes microscópios e técnicas, para verificar quais seriam os mais adequados. Outro objetivo foi verificar a influência da alimentação em parâmetros nucleares selecionados. Concluímos que a técnica mais confiável para medir o volume dos hepatócitos é a que preserva as células tridimensionalmente (microscopia confocal), e que a alimentação baseada em diferentes fontes de lipídios pode alterar o tamanho dos núcleos de hepatócitos de camundongos.

Palavras-chave: Geometria nuclear, microscopia, microscopia confocal

Introdução

A morfologia nuclear está relacionada ao estado de atividade/diferenciação e ao tipo celular. A técnica de *imprinting* auxilia na visualização da morfologia nuclear, pois com ela podemos observar diversos parâmetros nucleares (área, perímetro e volume). Apesar do *imprinting* ser uma técnica barata muito utilizada para analisar os parâmetros nucleares, ela deforma os núcleos^{1,2}. Outros métodos mais modernos, como a microscopia confocal, poderiam resolver o problema da deformação, mas são mais caros.

Com a comparação entre essas diferentes técnicas podemos ver o grau de deformação causado pelo *imprinting* e se a técnica de *imprinting* pode substituir a técnica de confocal. Portanto nosso primeiro objetivo foi analisar se há diferença nos parâmetros nucleares selecionados quando analisados em diferentes tipos de microscópios através de diferentes técnicas.

Além disso, resultados anteriores de nosso laboratório mostraram que dietas normolipídicas baseadas em diferentes lipídios alteram a fisiologia dos animais³. Dessa forma, outro objetivo foi analisar a influência dessas dietas na morfologia dos hepatócitos desses camundongos.

Resultados e Discussão

Fizemos a coloração/marcação dos hepatócitos de camundongos pela reação de Feulgen, Azul de toluidina ou DAPI (*Imprintings*/Fígado fixado) (Figura 1).

A área e o diâmetro dos núcleos não foram alterados pela técnica de coloração/marcação. Dentre os três métodos, o mais confiável para medir o volume dos núcleos foi o do fígado fixado (3D). O método de *imprinting* foi menos confiável, pois os dois métodos para calcular o volume a partir dele são baseados em inferências: No primeiro, os volumes dos núcleos em 2D foram calculados a partir do diâmetro, e no segundo os volumes foram calculados a partir da suposição que os núcleos são discos.

Nossa hipótese inicial era de que os *imprintings* funcionavam como um carimbo, em que a quantidade de tinta carimbada depende da força aplicada. Vimos que a altura dos *imprintings* varia independentemente da força aplicada, dependendo da área/volume dos núcleos, contrariando nossa hipótese inicial.

Os núcleos dos hepatócitos de camundongos alimentados com banha apresentaram o menor tamanho (diâmetro, área, volume e altura), enquanto os núcleos

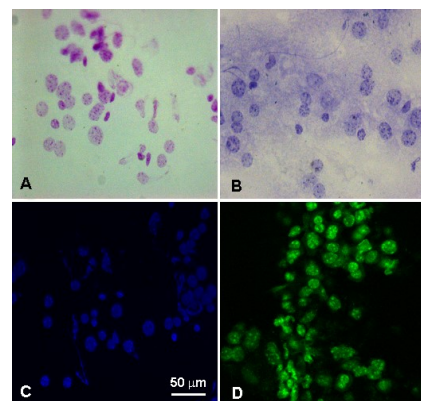


Figura 1 Imagens representativas dos núcleos dos hepatócitos observados após diferentes procedimentos. (A) *Imprinting*/reação de Feulgen. (B) *Imprinting*/Azul de toluidina. (C) *Imprinting*/DAPI. (D) Fígado fixado/DAPI.

dos hepatócitos de camundongos alimentados com soja apresentaram o maior tamanho. Os núcleos dos hepatócitos de camundongos alimentados com linhaça apresentaram uma grande distribuição de tamanho. Analisando as imagens dos *imprintings* marcados com azul de toluidina e DAPI, vimos uma maior quantidade de células inflamatórias nos camundongos alimentados com banha. As imagens dos *imprintings* dos animais alimentados com soja apresentaram poucas células inflamatórias.

Conclusões

A técnica utilizada para corar/marcar os núcleos ou o microscópio não altera os dados de área e diâmetro.

A técnica mais confiável para medir o volume dos hepatócitos é a que preserva as células tridimensionalmente (microscopia confocal).

A altura dos núcleos não depende da força utilizada para carimbar os *imprintings*, e sim do tamanho de cada núcleo.

A alimentação baseada em diferentes fontes de lipídios afetou o tamanho dos núcleos de hepatócitos

Agradecimentos

Agradecemos a instituição de fomento CNPq.

¹ Stevens MW, Fazzalari NL, Crisp DJ. *Journal of clinical pathology*. 1987;40(7):751-5.
² Fontana K, Aldrovani M, de Paoli F, Oliveira HC, de Campos Vidal B, da Cruz-Hofling MA. *Histology and histopathology*. 2008;23(11):1367-77.
³ Ferrucci, Danilo. Tese de doutorado.