



INTRODUCCIÓN A CÉLULA. METODOS DE ESTUDIO

1. Teoría celular: antecedentes e desenvolvimento
2. Como se estudian as células?
 - 2.1. O microscopio óptico
 - 2.2. O microscopio electrónico
3. Tipos de organización celular
 - 3.1. Células procariotas

Cuestionario de repaso

1. TEORÍA CELULAR: ANTECEDENTES E DESENVOLVEMENTO

ROBERT HOOKE (1665) → observou as primeiras células coa axuda dun microscopio moi rudimentario construído por el mesmo. Hooke observaba preparacións de cortiza e describía ‘... *pequenas caixas ou celdiñas cheas de aire...*’. A partir do termo celdiñas/celdas, Hooke acuñou a palabra célula. Hoxe sabemos que Hooke non estaba vendo en realidade células, senón as súas paredes celulares, xa que a cortiza está formada por células mortas cuxa parede celular se atopa moi engrosada.

ANTÓN VAN LEEUWENHOEK (1673) → observou células vivas empregando un microscopio da súa propia fabricación e moito máis eficiente que o de Hooke. Con el describiu protozoos, glóbulos vermellos do sangue, espermatozoides e incluso bacterias do sarro dental.

ROBERT BROWN (1827) → determinou que todas as células teñen núcleo e describiu esta estrutura (nesta época as bacterias -células procariotas- apenas se coñecían e non se consideraban células).

MATTHIAS SCHLEIDEN (1830) → botánico alemán; chegou á conclusión de que calquera tecido vexetal está formado por entidades individuais, independentes e diferentes, que son células vexetais.

THEODOR SCHWANN (1830) → chegou a conclusións similares estudando tecidos animais.

Entre os dous publicaron unha obra científica en 1839 na que estableceron que tódolos seres vivos están formados por células e que a célula é o ser vivo máis sinxelo que pode existir.

VIRCHOW (1859) → completa estas observacións coa súa famosa sentenza ‘*omnis cellula ex cellula*’ (toda célula procede doutra célula).

Con estas aportacións establécese a TEORÍA CELULAR:

- Todos os organismos vivos están formados por unha ou varias células; a célula é, por tanto, a UNIDADE MORFOLÓXICA ou ESTRUCTURAL dos seres vivos.
- As funcións vitais ocorren dentro das células ou no seu entorno inmediato; polo tanto, a célula constitúe a UNIDADE FISIOLÓXICA dos seres vivos. A anatomía e fisioloxía de calquera organismo son o resultado da cooperación e funcionamento das súas células.
- Toda célula provén doutra célula xa existente; é dicir, a célula é a UNIDADE REPRODUTIVA, dos seres vivos.

SANTIAGO RAMÓN Y CAJAL (fin s XIX) → enunciou a Teoría Neuronal na que se demostraba que as neuronas eran elementos independentes e constituían a unidade anatómica e funcional do sistema nervioso (ata o momento considerábase que o tecido nervioso constituía unha excepción á teoría celular, pois pensábase que non estaba formado por células independentes senón por unha rede ou retículo de fibras e células interconectadas).

Desta forma, a teoría celular quedou definitivamente xeneralizada a tódalas células e tecidos, tanto vexetais coma animais.

2. COMO SE ESTUDAN AS CÉLULAS?

O estudo das células foi posible gracias ao avance de novas técnicas como o fraccionamento celular, a electroforese, a cromatografía, etc. Entre estas técnicas tamén se inclúe o emprego do microscopio, que é un instrumento que aumenta o tamaño dunha imaxe para poder observar con detalle a súa estrutura e os seus compoñentes. Na actualidade existen dous tipos básicos de microscopios: o microscopio óptico e o microscopio electrónico.

2.1. O MICROSCOPIO ÓPTICO

O microscopio óptico composto consta dun tubo provisto de dúas lentes que amplían sucesivamente a imaxe da mostra:

- LENTE OBXECTIVO → máis próxima á mostra que se quere observar.
- LENTE OCULAR → xunto ao ollo do observador.

AUMENTO → relación entre unha dimensión liñal da imaxe que vemos e a dimensión do obxecto real. Calcúlase multiplicando os aumentos do ocular polos do obxectivo.

PODER DE RESOLUCIÓN → capacidade de distinguir como imaxes distintas dúas próximas. Depende do tamaño e a calidade dos lentes, da lonxitude de onda da luz incidente e do índice de refracción do medio que se atopa entre o obxectivo e a preparación. Canto maior é o índice de refracción, máis diminúe a velocidade da luz e

O que a simple vista é unha liña fina, cun microscopio óptico de baixo poder de resolución aparece como unha liña máis grossa de contorna difusa; con maior poder de resolución resulta ser unha liña dobre de contornos ben definidos.

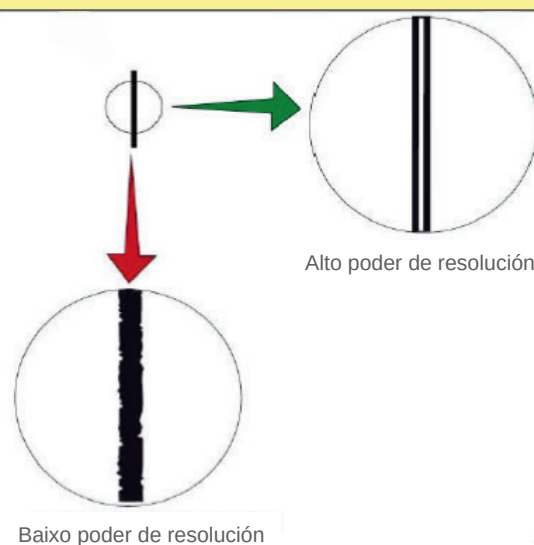


Figura 1. Poder de resolución de dous microscopios diferentes

máis aumenta a resolución; por esta razón, os obxectivos de inmersión teñen un poder de resolución maior que os de aire (índice de refracción 1); nestes obxectivos o aire é substituído por unha substancia viscosa como o aceite (índice de refracción 1,5).

Para os microscopios ópticos que traballan con luz visible, a resolución máxima que se pode obter é $0,2\ \mu\text{m}$; así, dous obxectos que están separados menos de $0,2\ \mu\text{m}$ veranse como un só. Con todo, este valor de $0,2\ \mu\text{m}$ é 1000 veces superior ao poder de resolución do ollo humano ($0,2\ \text{mm}$).

A formación das imaxes en microscopía óptica depende da desigual absorción da luz en distintas zonas do obxecto, por tanto, para que os raios luminosos poidan atravesalas deben realizarse cortes finos. Moitas veces é necesario tinguir a mostra con colorantes para aumentar así o contraste e mellorar a observación.

PARTES DUN MICROSCOPIO ÓPTICO

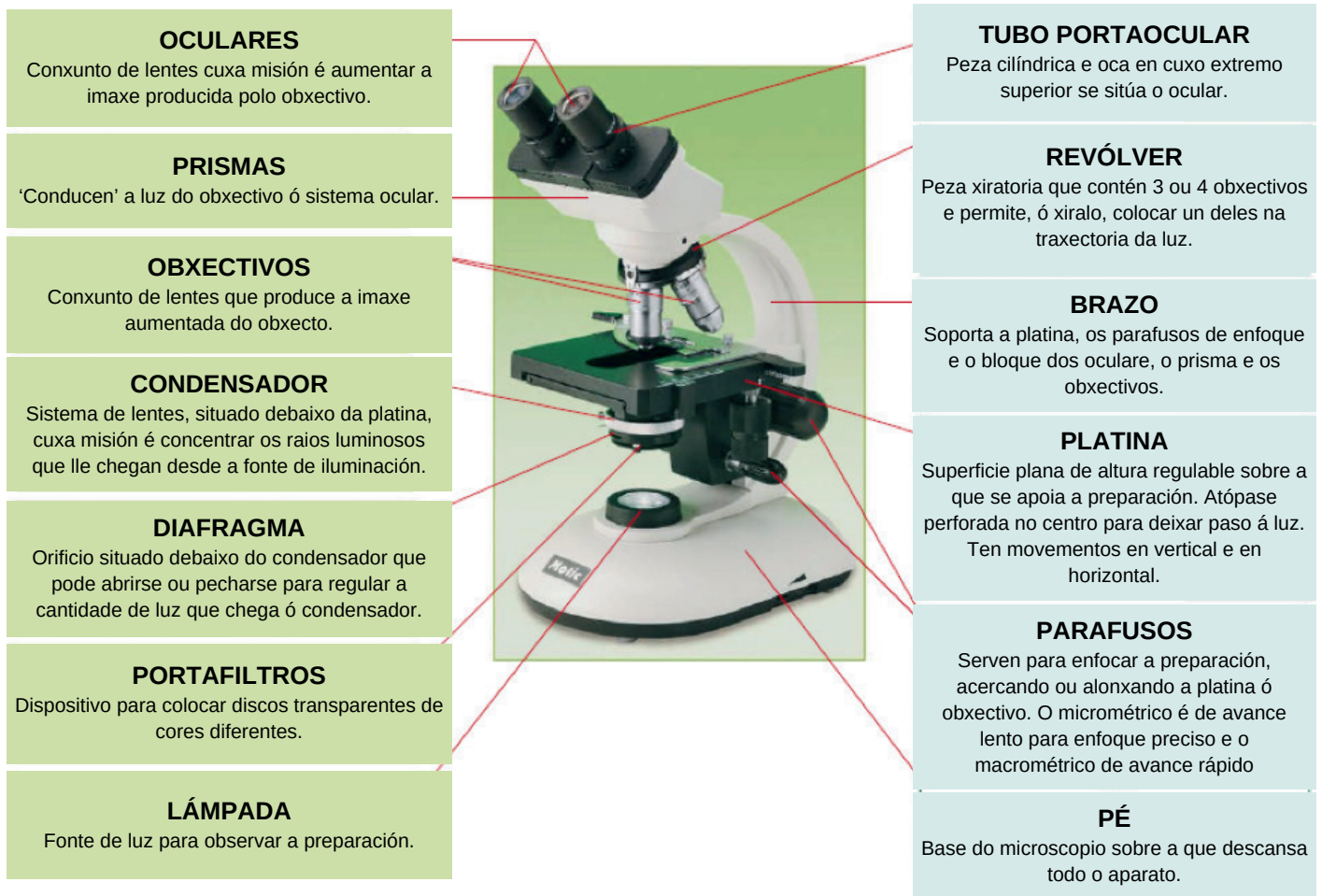


Figura 2. Partes dun microscopio óptico binocular con varias lentes obxectivo

FUNCIONAMENTO DO MICROSCOPIO ÓPTICO

A microscopía óptica baséase no seguinte procedemento:

1. Os raios luminosos, que proceden da fonte de iluminación, cruzan o aire e inciden sobre a preparación, constituída polo vidro portaobxectos, a mostra, o medio englobante (normalmente aire) e o vidro cubreobxectos.
2. A continuación, os raios atravesan o aire ata chegar ó lente frontal do obxectivo do microscopio.
3. O obxectivo recolle os raios luminosos, que sufriron múltiples refraccións, e proxéctaos cara ó ocular, aumentando a imaxe do obxecto recibida.
4. Os raios acadan o ocular, que volve incrementar a imaxe do obxecto.

TIPOS DE MICROSCOPIOS ÓPTICOS

- Microscopio de campo claro. Ten o condensador por debaixo da mostra, o que permite que a luz da fonte luminosa converxa sobre ela, formándose un cono de luz brillante que penetra no obxectivo. É o máis axeitado para visualizar mostras que presentan alto contraste, como por exemplo os tecidos tinguidos.
- Microscopio de campo escuro. Nel soamente chegan á mostra os raios de luz que foron desviados ó atravesar a mostra; as células aparecen iluminadas sobre un fondo escuro. Resulta útil para visualizar dispersións coloidais como por exemplo o citoplasma celular.

- Microscopio de contraste de fases. Con el convértense as diferencias no índice de refracción das diferentes partes da mostra en diferencias de intensidade (brillo e escuridade) que son visibles para o ollo humano. Permite observar células e tecidos sen tinguir polo que resulta útil para o estudo de células vivas.
- Microscopio de fluorescencia ou de luz UV. Permite detectar moléculas que teñen a capacidade de ser autofluorescentes; ou detectar compostos fluorescentes que se inxectan nunha célula viva, ou fluorocromos unidos a anticorpos e sondas que detectan antíxenos ou cadeas complementarios de ácidos nucleicos, respectivamente.

PREPARACIÓN E PROCESADO DAS MOSTRAS PARA MICROSCOPIA ÓPTICA

A mostra debe ser unha lámina plana, ríxida e delgada para que poida enfocarse e manipularse con facilidade e deixe pasar a luz ao seu través.

Poden facerse 2 tipos de preparacións:

- Temporais. Non son duradeiras e trátase, xeralmente de mostras vivas que adoitan ser incoloras e transparentes á luz. En ocasións, para observar detales adoita ser necesario tinguir as mostras.
- Permanentes. Son preparacións duradeiras. Para obtelas débese proceder con técnicas especiais de elaboración de preparacións microscópicas.
 - **FIXACIÓN**. Consiste en tratar a mostra biolóxica cuns líquidos denominados fixadores ou conservantes que preservan a morfoloxía das células, a organización interna e a composición química. Tamén a protexen da degradación bacteriana e fúnxica. Os fixadores máis utilizados son o alcohol etílico, o formaldehido e o glutaraldehido.
 - **INCLUSIÓN**. As mostras dos tecidos animais deben ser incluídas nunha substancia para evitar a súa deformación durante o corte. O medio de inclusión máis utilizado é a parafina, unha substancia que se verte fundida a uns 60°C, sobre a mostra. A parafina fundida penetra na mostra e logo solidifica ao arrefriarse. Previamente debe de procederse á deshidratación da mostra, porque a parafina é hidrosoluble.
 - **CORTE**. Os aparellos utilizados para cortar as mostras son os microtomos que efectúan cortes extremadamente finos, xeralmente entre 6 e 12 µm de grosor.
 - **TINCIÓN**. A maioría das mostras son invisibles ao microscopio óptico convencional; unha maneira de facelas visibles é tinguilas. Como os colorantes son xeralmente hidrosolubles, antes de realizar a tinción dos cortes é necesario desparafinalos e hidratalos. Na tinción da mostra empréganse diversos colorantes, segundo as estruturas que se desexe destacar. Existen colorantes ácidos e básicos con distinta afinidade polas estruturas celulares. Os colorantes máis utilizados son: o azul de metileno, a eosina, a safranina, o sudán e a hematoxilina.
 - **MONTAXE**. Consiste en cubrir a mostra tinguida, colocada sobre o portaobxectos cun medio de montaxe cuxa función é a protección da mostra fronte á desecación. Ademais os medios de montaxe han de ser transparentes e han de asegurar a adherencia do cubreobxectos ao portaobxectos. Os medios de montaxe máis utilizados son o bálsamo de Canadá, a glicerina e a xelatina glicerizada.

2.2. O MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

En lugar de luz visible utiliza un feixe de electróns procedentes dun filamento de tungsteno, ou cátodo. En lugar de lentes de vidro utiliza bobinas electromagnéticas (son en realidade electroimáns capaces de desviar a traxectoria dos electróns).

Os electróns viaxan desde o cátodo ate o ánodo a gran velocidade e diríxense cara á mostra a través dunha columna oca na que se fixo o baleiro.

Co microscopio electrónico conséguense aumentos e resolución moito maiores que co microscopio óptico polo que resulta útil para ver a estrutura fina (ultraestrutura) da célula.

Existen dous tipos de microscopios electrónicos: microscopio electrónico de transmisión (MET) e microscopio electrónico de varrido (MEV).

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN (MET).

Con este microscopio pódense distinguir estruturas de 1nm ou de tamaños mesmo inferiores. O aumento pode chegar a ser de 500.000. A imaxe que se crea débese á diferente dispersión dos electróns ao atravesar a mostra.

A preparación das mostras para o microscopio electrónico de transmisión é diferente da utilizada para o óptico. En primeiro lugar, realízase unha prefixación con substancias como o glutaraldehído e, despois, unha fixación con tetróxido de osmio. A peza fixada débese deshidratar con etanol e inclúese nunha resina plástica. O bloque córtase cun ultramicrotomo que utiliza unha coitela de vidro ou diamante. Os cortes son extremadamente finos e obtéñense mostras de 150 a 500 Å de grosor. Para aumentar o contraste non se realiza tinción, senón que se utilizan átomos de metais pesados como o chumbo, o osmio ou o ouro que impregnan determinadas rexións da mostra.



Figura 3. Partes dun microscopio electrónico de transmisión. As sales de metais pesados empregados para darlle contraste ás mostras depóitanse nas estruturas celulares de forma selectiva e impiden o paso dos electróns. Isto fai que as mostras amosen zonas electroclaras e zonas electroescuras. As imaxes obtidas son sempre en branco e negro, aínda que ás veces pódeseles aportar cor mediante un procesamento informático posterior.

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE VARRIDO (MEV).

Este microscopio alcanza un aumento menor que o logrado co de transmisión, e o tamaño mínimo observable está, aproximadamente, nos 100 nm. Neste caso o feixe de electróns é lanzado sobre a superficie da mostra varrendoa rapidamente e non atravesándoa, como ocorre co microscopio electrónico de transmisión. As moléculas da mostra excítanse e emiten feixes de electróns secundarios que se recollen nunha pantalla e ofrecen unha visión tridimensional da superficie do material observado.

As mostras para o microscopio electrónico de varrido sométense en primeiro lugar á técnica de secado até o punto crítico. Despois realízase un metalizado, no que a mostra se recubre cunha primeira capa de carbón e outra segunda dun metal pesado, que adoita ser o ouro ou o paladio.

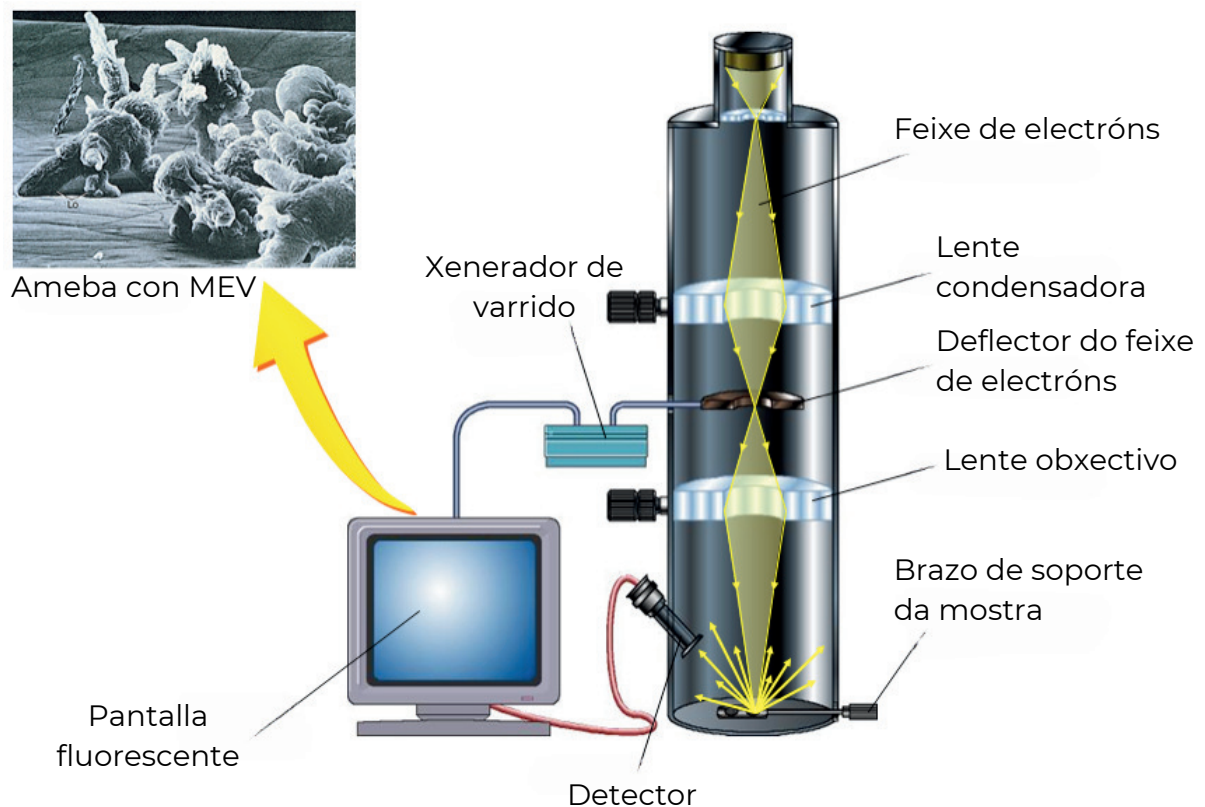


Figura 4. Partes dun microscopio electrónico de varrido.

3. TIPOS DE ORGANIZACIÓN CELULAR

Tódalas células teñen unha serie de compoñentes comúns:

- Membrana plasmática: é unha delgada envoltura superficial que separa o contido interno da célula do exterior, regulando o intercambio de substancias entre a célula e o medio.
- Citoplasma: constitúe o interior celular e está formado por unha solución líquida denominada hialoplasma ou citosol, onde teñen lugar numerosas reaccións metabólicas.
- Material xenético: formado por ADN acompañado ou non de proteínas; a súa función é a de dirixir as actividades celulares e posibilitar a transmisión dos caracteres herdables ás células fillas.

Non tódalas células presentan o mesmo nivel de complexidade. Entre os seres vivos existen dous tipos de organización celular claramente diferenciados: procariota e eucariota.

3.1. CÉLULAS PROCARIOTAS

É o tipo de organización típico dos Reinos das Bacterias e das Archeobacterias. En xeral son células de pequeno tamaño cuxa característica principal é que posúen o material xenético no citoplasma.

As células bacterianas presentan unha membrana de secreción grosa e ríxida formada por mureína e peptidoglicanos, que envolve a membrana plasmática; é a parede celular bacteriana. A membrana plasmática non contén colesterol e engloba moitas proteínas encimáticas. As bacterias non teñen orgánulos, só posúen ribosomas; só algunhas posúen algún microcompartimento citoplasmático con encimas específicas para certas reaccións.

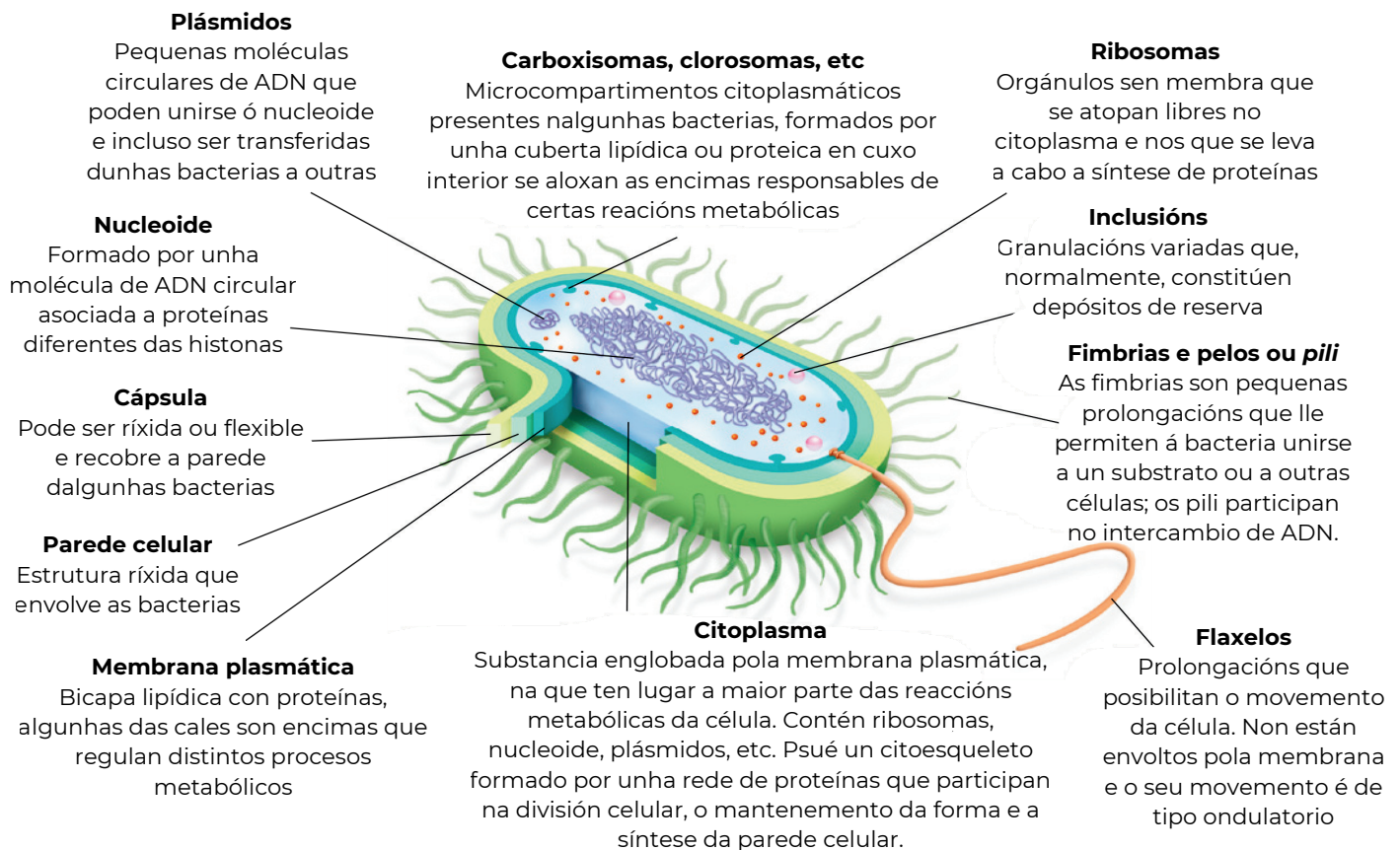


Figura 5. Partes dunha célula procariota estándar

As principais características das archeobacterias que as diferencian das bacterias son as seguintes:

- A súa parede celular está formada por pseudopeptidoglicanos ou por polisacáridos como os do tecido conxuntivo.
- Na súa membrana plasmática, en lugar de ácidos graxos, hai hidrocarburos ramificados que se unen á glicerina mediante enlace tipo éter.
- Igual co das células eucariotas, o seu ADN está asociado a histonas, formando nucleosomas; e o seu ARNm presenta intróns.

3.2. CÉLULAS EUCARIOTAS

Son células moito maiores e máis complexas que as procariotas. O seu material xenético está dentro dun núcleo, rodeado por unha envoltura. Posúen diversos orgánulos limitados por membrana que dividen ao citoplasma en compartimentos. O seu tamaño medio sitúase entre 10 e 100 μm . É propia dos organismos pluricelulares e de moitos unicelulares. As células animais, as vexetais, as dos fungos e protistas (algas e protozoos) son eucariotas.

TÁBOA COMPARATIVA DAS CARACTERÍSTICAS DAS CELULAS PROCARIOTAS E EUCARIOTAS		
Características	Procariota	Eucariotas
<i>Grupos filoxenéticos</i>	Bacteria, Archaea	Protista, Fungi, Plantae, Animalia
<i>Membrana nuclear</i>	Ausente	Presente (dobre)
<i>Nucleolo</i>	Ausente	Presente
<i>ADN</i>	Único e circular *tamén plásmidos	Varias moléculas liñais *cromatina/cromosomas
<i>Histonas no ADN</i>	Só en arqueas	Si
<i>División celular</i>	Binaria	Mitose
<i>Sexualidade</i>	Pseudo-sexual	Proceso regular; con meiose
<i>Membrana citoplasmática</i>	Sen esteroides	Ás veces con esteroides
<i>Ribosomas</i>	70S	80S (agás cloroplastos e mitocondrias)
<i>Orgánulos membranosos</i>	Ausente	Varios tipos
<i>Respiración celular</i>	Na membrana celular	Mitocondrias
<i>Pigmentos fotosintéticos</i>	Nas membranas internas	Cloroplastos
<i>Metabolismo</i>	Diversas posibilidades	Sempre aeróbico
<i>Movemento flaxelar</i>	Flaxelos de flaxelina; rotan	Flaxelos e cilios de tubulina (microtúbulos); non rotan
<i>Citoesqueleto</i>	Rudimentario	Completo
<i>Tamaño</i>	Pequenas (1-10 μm $\varnothing$)	Grandes (10-100 μm $\varnothing$)

As células eucariotas, a pesar de ter unhas estruturas comúns a todas elas, presentan dous tipos de organización xeral segundo se atopan constituíndo organismos animais ou vexetais.

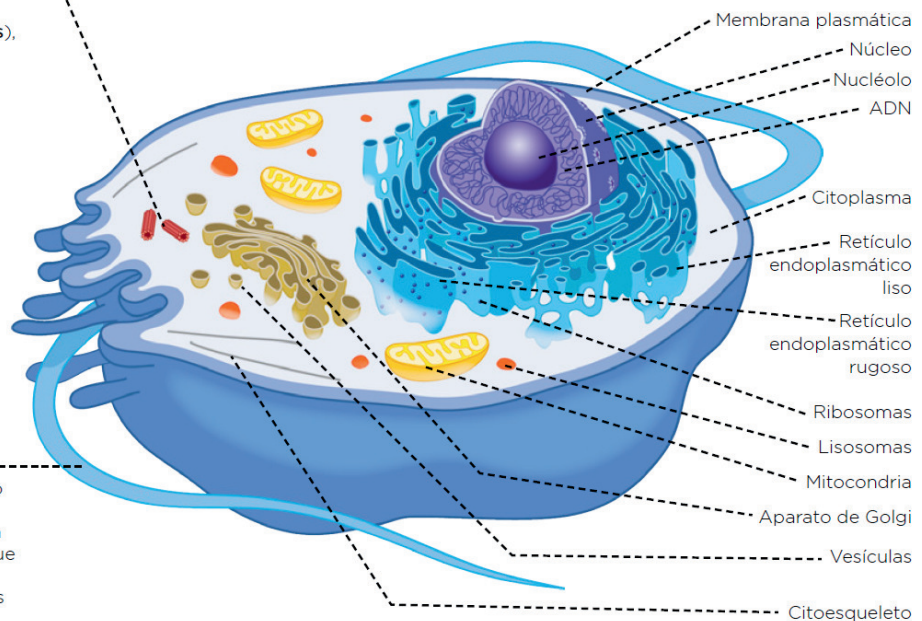
Ámbolos dous tipos posúen membrana plasmática, núcleo con envoltura nuclear, e citoplasma, formado polo citosol ou medio acuoso e gran número de orgánulos: ribosomas, retículo endoplasmático, aparello de Golgi, mitocondrias, lisosomas, peroxisomas...

Nas células vexetais destaca a presenza dunha parede de celulosa, a existencia dunha gran vacúolo que despraza ao núcleo desde o centro cara un lado, presenza de cloroplastos e a almacenaxe de amidón como polisacárido de reserva.

Nas células animais se hai unha membrana de secreción é unha matriz extracelular de mucopolisacáridos, os vacúolos son pequenos, o núcleo adoita estar no centro, hai un diplosoma formado por dous centríolos, pode presentar cilios, flaxelos ou emitir pseudópodos, e o polisacárido de reserva enerxética é o glicóxeno.

Centrosoma. É unha estrutura sen membrana formada por dous cilindros ocos de microtúbulos e filamentos (os chamados **centríolos**), que dirixen a formación do citoesqueleto, do fuso acromático durante as divisións celulares e dos cilios, dos flaxelos e dos pseudópodos.

Cilios e flaxelos. Estas estruturas son prolongacións do citoesqueleto rodeadas pola membrana que sobresaen da superficie celular. Son capaces de realizar movementos que permiten a locomoción das células ou xeran correntes no medio que as rodea.



Membrana plasmática
Núcleo
Nucleolo
ADN
Citoplasma
Retículo endoplasmático liso
Retículo endoplasmático rugoso
Ribosomas
Lisosomas
Mitocondria
Aparato de Golgi
Vesículas
Citoesqueleto

Cloroplastos. Son orgánulos cunha dobre membrana e un ADN propio. A membrana interna forma unha rede de sacos planos ou tilacoides, que contén a clorofila, o pigmento necesario para captar a enerxía solar. O espazo interno, denominado **estroma**, contén as enzimas implicados nos procesos de síntese de materia orgánica da fotosíntese.

Vacúolos. Son compartimentos membranosos que poden ocupar un 90 % do volume celular. Conteñen auga e outras substancias e contribúen a manter a rixidez da célula vexetal.

Paredes celular. É unha envoltura grosa que recobre o exterior da membrana plasmática e protexe a célula vexetal das fortes variacións de turgescencia que se producen cando os vacúolos ganan ou perden auga. Está composta fundamentalmente de celulosa e outros polisacáridos parecidos.

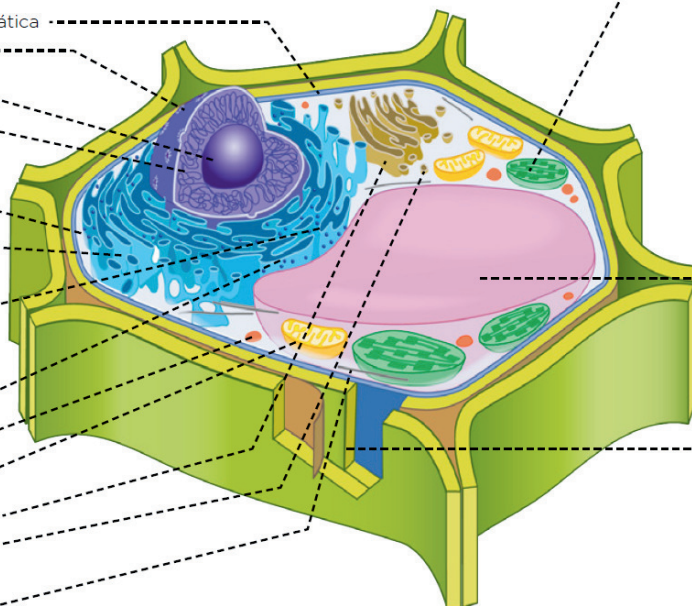


Figura 6. Estruturas comúns e específicas das célula eucariotas animais (arriba) e vexetais (abaixo)

ESTRUTURA DA CÉLULA EUCARIOTA						ANIMAL	VEXETAL	
ENVOLUTURAS	Membrana plasmática					Si	Si	
	Parede celular de celulosa					Non	Si	
	Matriz extracelular					Si/Non	Non	
CITOPLAMA	Estruturas sen membrana ou non delimitadas totalmente por unha membrana	Estruturas granulares	Ribosomas			Si	Si	
			Centriolos			Si	Non	
			Cilios			Nalgunhas	Non	
		Estruturas microtubulares	Flaxelos			Nalgunhas	En anterozoides e algas flaxeladas	
			Microtúbulos		Citoesqueleto	Si	Si	
			Filamentos intermedios (queratina)			Si	Si	
			Microfilamentos (actina)			Si	Si	
		Inclusións citoplasmáticas	Gránulos de reserva de amidón			Non	Si	
			Reservas de glicóxeno			Si	Non	
		Estruturas delimitadas por unha ou dúas membranas	Retículo endoplasmático	Liso	Si			Si
	Rugoso			Si			Si	
	Aparello de Golgi			Grande	Pequeno			
	Vacúolos			Moitos pequenos	Un moi grande			
	Lisosomas			Si	Non, pero teñen estruturas similares			
	Peroxisomas			Si	Si			
	Glioxisomas			Non	Si			
	Orgánulos delimitados por unha membrana sinxela e interrelacionados (sistema de endomembranas)		Plastos			Non	Si	
			Orgánulos con dobre membrana	Cloroplastos			Non	Si, as células das partes verdes
				Mitochondrias			Si	Si
	NÚCLEO	Envoltura nuclear					Si	Si
Posición do núcleo					Central	Lateral		
Nucleoplasma					Si	Si		
Cromatina					Si	Si		
Nucleolo					Si	Si		