

Novo microscópio permite ver células cancerosas a três dimensões

Nicolau Ferreira

Público 24/02/2016

Técnica que usa laser para iluminar amostras biológicas permite observação em tempo real de células num ambiente mais próximo do dos tecidos humanos vivos.

A microscopia continua a actualizar-se, permitindo aos cientistas observar cada vez mais pormenores das células, num ambiente cada vez mais próximo do dos tecidos vivos. Agora, uma equipa de investigadores norte-americanos aprimorou uma técnica de microscopia com laser, produzindo imagens tridimensionais de células cancerosas humanas vivas com uma minúcia inédita.

As células foram colocadas no aparelho sem as dificuldades físicas que muitas

New microscope allows us to see cancer cells in three dimensions

Nicolau Ferreira

Público 24/02/2016

A technique that uses a laser to illuminate biological samples allowing real-time observation of cells in an environment closer to that of the tissue of living humans.

The microscope continues to upgrade, allowing scientists to observe more and more details of the cells in an environment increasingly close to living tissue. Now, a team of investigators from the United States has perfected a technique of laser microscopy which produces three-dimensional images of living human cancer cells with unprecedented detail.

The cells were placed on the device without the physical difficulties that

vezes existem em microscopia, permitindo uma observação mais próxima do ambiente natural, no corpo humano, segundo o estudo publicado esta semana na revista *Developmental Cell*. Este pormenor é importante. A observação do comportamento das células mais próximo do natural poderá ajudar a descobrir como é que as células cancerosas resistem aos tratamentos contra o cancro e se espalham pelo corpo, produzindo as metástases.

A lâmina e a lamela são das primeiras palavras a entrar no vocabulário de quem frequenta as aulas iniciais de microscopia. A lâmina é um rectângulo de vidro grosso onde se coloca no centro o material biológico, que leva por cima algumas gotas de água ou de um líquido corante, quando se quer tingir uma estrutura celular para se ver melhor.

Depois, coloca-se a lamela – um quadrado finíssimo de vidro – por cima do material com o líquido, procurando evitar-se as bolhas de ar. A preparação fica pronta para se pôr na placa do

often exist in electron microscopy, allowing a closer observation of the natural environment in the human body, according to the study published this week in the magazine, *Developmental Cell*. This detail is important. The observation of the behavior of the cells closest to their natural environment can aid in the discovery of how the cells resist cancer treatments and spread through the body, producing the metastases.

Slide and *coverslip* are the first words in the vocabulary of those who frequent initial courses in microscopy. The slide is a rectangle of thick glass and the biological material is placed in its center, a few drops of water or a liquid dye are added from above to facilitate a better view of a cellular structure. Then the coverslip – a thin square of glass – is placed on top of the material with the liquid, while attempting to avoid air bubbles. The preparation is then ready to put on the plate of the microscope. The cover slip avoids direct contact between the lens of the

microscópio. A lamela evita um contacto directo entre a lente do microscópio e o material, além de evitar o movimento do material.

No caso da película da epiderme de cebola – um material biológico clássico nas aulas de microscopia por permitir observar facilmente as células vegetais –, ela fica “esborrachada” entre a lâmina e a lamela. Se imaginarmos células animais, que, ao contrário das células vegetais, se movimentam, esta dificuldade física ainda tem mais repercussões. E não é só nas observações ao microscópio que este problema pode surgir. As culturas de células nos laboratórios crescem em caixas de vidro e estão assentes nesta superfície rígida, que é muito diferente do contexto dos tecidos animais.

Na investigação liderada por Reto Fiolka, especialista em microscopia da Universidade do Sudoeste do Texas, a equipa tentou comparar as diferentes morfologias observadas pelo novo microscópio em diferentes contextos. “As células de melanoma junto ao vidro exibem morfologias esticadas e com

microscope and the material, while preventing movement of the material.

In the case of the membrane of the epidermis of an onion – a classic biological material in the courses of microscopy as it allows easy observation of plant cells – it is “sandwiched” between the slide and the coverslip. If we imagine animal cells, which, unlike plant cells, move, this physical difficulty has even more repercussions. And it is not just in the microscope observations that this problem can arise. In laboratories the cell cultures grow in glass cases and are fixed to these rigid surfaces, which is very different from the reality of animal tissues.

In research led by Reto Fiolka, specialist in microscopy at the *University of Southwest Texas*, a team attempted to compare different morphologies observed by the new microscope in different contexts.

According to the article, “Melanoma cells added to the glass, exhibit stretched

ramificações”, lê-se no artigo, explicando de seguida as diferenças observadas com a nova técnica de microscopia, onde as células não estão em contacto com nenhuma superfície rígida. “As células de melanoma que estão longe de qualquer superfície rija exibem morfologias arredondadas dominadas por pequenas bolhas. Estas observações sugerem que as limitações técnicas da microscopia [no passado] podem ter distorcido muito do nosso conhecimento actual sobre a organização espacial [da célula].”

Em busca do movimento

“O paper [artigo científico] é muito giro”, diz ao PÚBLICO Gabriel Martins, especialista em microscopia do Instituto Gulbenkian de Ciência, em Oeiras, que não esteve envolvido neste trabalho. O novo microscópio é um passo em frente em relação a uma técnica que se usa há cerca de uma década, explica o investigador português. A técnica funciona com um laser. “Mas em vez de se iluminar ponto por ponto, varrendo toda a amostra, o laser é transformado

and branched morphologies”, which explains the differences observed with the new technique of microscopy, where the cells are not in contact with any hard surface.”In melanoma cells that are far from any rigid surface they show rounded morphologies dominated by small bubbles. These observations suggest that the technical limitations of microscopy [in the past] may have distorted much of our current knowledge about spatial organization [of the cell].”

In search of the movement

“The paper is very interesting,” said Gabriel Martins to *Público*, a specialist in electron microscopy at the *Gulbenkian Institute of Science*, in Oeiras, which was not involved in this work. The new microscope is a step forward in relation to a technique that he has used for about a decade, explained the Portuguese researcher. The technique works with a laser. “But instead of illuminating point by point, sweeping the entire sample, the laser is transformed into a ‘sheet’ and

numa 'folha' e ilumina um plano inteiro de uma só vez", diz o especialista. "Um plano permite ver o interior da massa de células e até ver o interior das próprias células com grande detalhe."

A grande diferença do novo modo de estudo é a resolução desta técnica. Antes, as tais "folhas" de laser tinham entre um e dois micrómetros de grossura (um micrómetro é um milésimo de um milímetro). Agora, esta equipa conseguiu observar células com "folhas" de laser com 300 nanómetros de grossura (por isso, a resolução tem aumentado, passando-se de um a dois milésimos de milímetro para 0,3 milésimos de milímetro). Além disso, a equipa conseguiu manter uma massa de células cancerosas vivas no meio de uma matriz de colagénio, para as ver no microscópio.

"Com este alto nível de resolução já é possível ver pequenos detalhes de como as células individuais interagem com outras células vizinhas e como interagem com as fibras de colagénio que estão à volta. E, desta forma,

illuminates an entire plane at once," says the specialist. "The plane allows a very detailed view of the interior of the mass of cells and even the interior of individual cells."

The great difference in this new way of study is the resolution of this technique. Before, such "sheets" of laser were between one and two microns thick (a micrometer is one thousandth of a millimeter). Now, this team has managed to observe cells with "sheets" of laser with a 300 nanometer thickness (and, therefore, the resolution has increased from one or two thousandths of a millimeter to 0.3 thousandths of a milliliter). In addition, the team has managed to keep a mass of cancerous cells alive in the middle of a collagen matrix, for observation with the microscope.

"With this high level of resolution it is already possible to see small details of how individual cells interact with other nearby cells and how they interact with the fibers of collagen that surround them. And, in this way, to understand

perceber como é que as células exercem forças e contactos sobre o seu meio ambiente quando migram”, adianta Gabriel Martins. “Isto é importante para perceber os mecanismos que levam as células a ‘furar’ por entre outras células e entre as barreiras entre tecidos.” Este movimento das células é fundamental para o desenvolvimento das metástases, em que as células cancerosas saem do local onde se formaram, viajam pela corrente sanguínea e se alojam numa região diferente, onde se multiplicam.

“Há uma prova clara de que o ambiente afecta muito fortemente o comportamento das células – por isso, o valor das experiências de cultura de células em vidro tem de ser pelo menos questionado”, diz Erik Welf, outro investigador da equipa que pertence à Universidade do Sudoeste do Texas, citado num comunicado da Cell Press (editora da *Developmental Cell*). “O nosso microscópio é uma ferramenta que traz uma compreensão mais profunda dos mecanismos moleculares

how the cells exert forces and contacts on their environment when they migrate,” adds Gabriel Martins. “This is important to understand the mechanisms that lead the cells to ‘pass through’ other cells and the barriers between tissues.” This movement of cells is crucial for the development of metastases, in which cancer cells leave the place where they formed, travel through the bloodstream and lodge in a different region, where they multiply.

“There is clear proof that the environment strongly affects the behavior of the cells – therefore, the value of the experiences of cell cultures in glass has to be at least questioned,” says Erik Welf, another researcher on the the *University of Southwest Texas* team, cited in a statement from the Cell Press (publisher of the *Developmental Cell*). “Our microscope is a tool that brings a deeper understanding of the molecular mechanisms that govern the behavior

que governam o comportamento das células cancerosas.”

Para Gabriel Martins, este é mais um passo na evolução recente deste objecto fundamental para a biologia e para o estudo das células. “Os últimos dez anos têm sido incríveis para a microscopia, tem-se feito mais do que nos últimos cem anos em termos de avanços [tecnológicos]”, diz o investigador. “Daqui a dez anos os microscópios de investigação já serão completamente diferentes. Não terão sítio para ver com os olhos, pois serão todos com iluminação laser e captação de imagem digital e reconstrução em tempo real de imagens a três dimensões. É uma mudança de paradigma que levou quase 300 anos desde os tempos em que se viram as células pela primeira vez.”

of cancerous cells.”

For Gabriel Martins, this is one more step in the recent evolution of this object fundamental to biology and to the study of cells. “The last ten years have been incredible for microscopy, with more advances [technological] than in the last hundred years”, says the researcher. “In ten years from now the microscopes of research already will be completely different. They will not have a place to see with the eyes, it will be all with laser lighting and capture of digital images and real-time reconstruction of images in three dimensions. It’s a paradigm shift that took almost 300 years since the time that we first saw cells.”

Source:

<http://www.publico.pt/ciencia/noticia/novo-microscopio-permite-ver-movimento-3d-de-celulas-cancerosas-1724204>