

Composição Celular Absoluta do Cérebro Humano

Frederico A.C. Azevedo¹, Ludmila R. B. Carvalho¹; Lea T. Grinberg^{2,3}, José Marcelo Farfel², Renata Ferretti², Renata Leite², Roberto Lent¹, Suzana Herculano-Houzel¹

¹ Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ; ² Grupo de Estudos em Envelhecimento Cerebral da FMUSP e ³ Instituto de Ensino e Pesquisa Albert Einstein

Frederico Augusto Casarsa de Azevedo, Departamento de Anatomia e histologia – CCS – UFRJ, e-mail: fredericoacazevedo@gmail.com.

Introdução

O número de neurônios é geralmente considerado um determinante crucial do poder computacional e das capacidades intelectuais do cérebro. Células gliais, por sua vez, são tradicionalmente consideradas responsáveis pela manutenção e suporte do sistema nervoso, embora evidências recentes indiquem a participação destas células no processamento de informação. Há uma aceitação generalizada quanto à existência de 100 bilhões de neurônios no cérebro humano e um número 5-10x maior de células gliais, mas uma determinação criteriosa ainda não foi realizada. O presente trabalho determinou-se, então, a estabelecer a composição celular absoluta do cérebro humano.

Materiais e métodos

O método mais utilizado para quantificar células em um tecido é a estereologia. Esta técnica consiste na contagem das células presentes em fatias de tecido escolhidas de acordo com estratégias precisas de amostragem, estimando-se o número total dessas células a partir do volume do referido tecido. Entretanto, quando se trata de regiões muito volumosas e com uma distribuição não-homogênea das células (anisotrópica), como é o caso do cérebro humano, seria necessária a análise exaustiva de um grande número de fatias para se obter estimativas precisas, tornando a técnica impraticável. Para contornar tais problemas, foi desenvolvido em nosso laboratório um novo método, o fracionador isotrópico¹.

O princípio do método é tornar isotrópica uma região anisotrópica, podendo-se então fazer uma estimativa confiável do número de células. Para isso, dissocia-se o tecido nervoso quimio-mecanicamente numa solução salina em um *potter* de vidro. A ação mecânica do *potter* associada à ação química do detergente provoca a lise das

membranas plasmáticas das células e obtém-se, desta forma, uma suspensão de núcleos celulares. A fim de garantir uma distribuição homogênea desses núcleos, a suspensão é mantida em constante agitação.

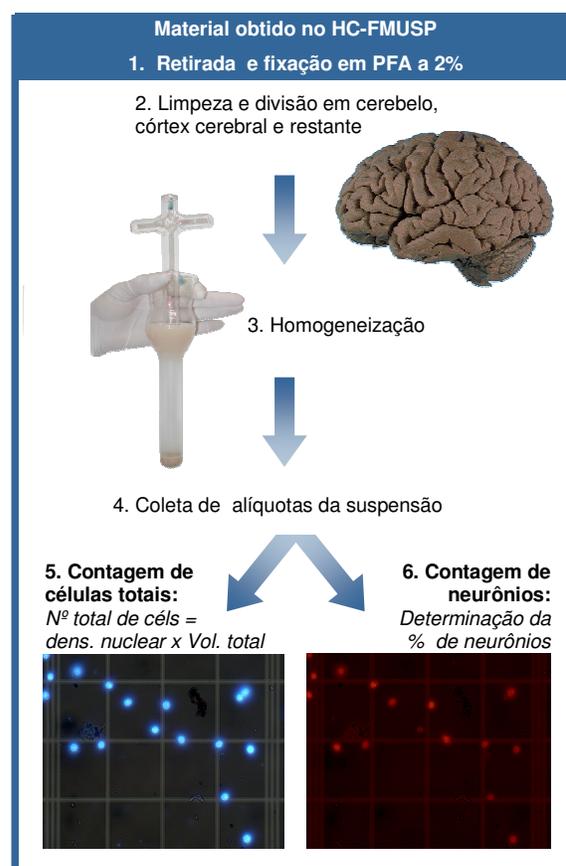


Figura 1: O método do fracionador isotrópico pode ser resumido em 6 etapas. A transformação do tecido anisotrópico em isotrópico consiste nas primeiras 4 etapas e a determinação do número de células totais e neurônios consiste nas 2 últimas.

A densidade nuclear média pode ser então determinada através da contagem, ao microscópio, do número de núcleos presentes em sucessivas alíquotas da suspensão. Uma clara distinção dos núcleos celulares é permitida através da utilização de DAPI, um corante fluorescente marcador de DNA (fig. 1, etapa 5). Como as alíquotas são depositadas numa câmara de Neubauer, o volume analisado é conhecido. Multiplicando-se a densidade de núcleos na suspensão pelo volume dessa suspensão e considerando que no tecido nervoso existe apenas um núcleo por célula, obtém-se o número total de células do tecido.

Para a determinação do número de neurônios, faz-se a imunomarcagem para NeuN, uma proteína específica de núcleos neuronais (fig. 1, etapa 6). Realiza-se, por conseguinte, uma contagem de 500 núcleos no mínimo e verifica-se que fração deste número é representada por neurônios.

Até o presente momento obtivemos dados de três cérebros masculinos, dois de aproximadamente 50 anos e um de aproximadamente 70 anos. Os encéfalos foram obtidos junto ao Grupo de Estudos em Envelhecimento Cerebral da FMUSP, localizado no Hospital das clínicas da Universidade de São Paulo (USP) e eram isentos de deficiências cognitivo-funcionais e demências (escala CDR-0).

Após a obtenção, cada encéfalo foi fixado em paraformaldeído a 2% e teve as meninges retiradas. Posteriormente, cada hemisfério encefálico foi seccionado em três regiões: cerebelo, córtex cerebral e regiões restantes, respeitando a lateralidade, e cada região foi então submetida ao fracionamento isotrópico.

Resultados e discussão.

Nossos resultados preliminares indicam a existência de, em média, aproximadamente 80 bilhões de neurônios no encéfalo humano (tab. 1). O número de células gliais também diverge do esperado. Considerando que as células gliais pertencem ao conjunto de células não-neuronais, ou seja, que não podem existir mais células gliais do que o indicado pelos números de células não-neuronais, nossos resultados indicam uma proporção de aproximadamente 4,3 neurônios para cada célula glial no cerebelo e aproximadamente 0,3 neurônios para cada célula glial no córtex. Analisando o encéfalo inteiro,

chegamos a uma proporção célula glial-neurônio de aproximadamente 1 para 1.

Tabela 1: Resultados preliminares.

	Nº de neurônios (10 ⁶)	Nº de não-neurônios (10 ⁶)	% de neurônios cerebrais
Cerebelo	67,47 ± 7,5	15,64 ± 2,51	79,85
Córtex cerebral	16,47 ± 2,65	57,87 ± 4,5	19,49
Restante	0,56 ± 0,14	6,26 ± 2,13	0,66
Cérebro inteiro	84,50 ± 9,40	79,76 ± 7,14	---

Um outro dado interessante é a localização, no cerebelo, da maioria dos neurônios (~80%) e de metade das células de todo o cérebro (~50%). Essa localização preferencial de neurônios também já foi verificada em roedores² e alguns primatas³.

De acordo com trabalhos anteriores sobre as regras celulares de alometria do encéfalo primata, os resultados aqui encontrados sugerem que o homem seja um primata de grande porte e que essas regras de alometria cerebral apliquem-se a ele de maneira semelhante. Primatas de maior porte e com cérebros menores que o dos humanos, como os gorilas e chimpanzés, seriam casos especiais de baixa encefalização. Os homens portanto, seriam apenas primatas grandes, com a mesma proporção cérebro-corpo, e não um caso excepcional de primata superencefalizado.

Referências bibliográficas

1. Herculano-Houzel, S.; Lent, R.; J Neurosci, v. 25 (10), p. 2518-2521, 2005.
2. Herculano-Houzel, S.; Mota, B; Lent, R.; PNAS, v. 103 (32), p. 12138-43, 2006.
3. Herculano-Houzel, S.; Collins, C.; Wong, P.; Kaas, J. H.; PNAS (no prelo), 2007.