Tópicos Especiais em Biomedicina II

Tópicos Especiais em Biomedicina II

Larissa Barbosa de Paula

© 2018 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Presidente
Rodrigo Galindo

Vice-Presidente Acadêmico de Graduação e de Educação Básica
Mário Ghio Júnior

Conselho Acadêmico
Ana Lucia Jankovic Barduchi
Camila Cardoso Rotella
Danielly Nunes Andrade Noé
Grasiele Aparecida Lourenço
Isabel Cristina Chagas Barbin
Lidiane Cristina Vivaldini Olo
Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

Revisão Técnica
Rafaela Benatti De Oliveira

Editorial
Camila Cardoso Rotella (Diretora)
Lidiane Cristina Vivaldini Olo (Gerente)
Elmir Carvalho da Silva (Coordenador)
Letícia Bento Pieroni (Coordenadora)
Renata Jéssica Galdino (Coordenadora)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Paula, Larissa Barbosa de
P324t Tópicos especiais em biomedicina II / Larissa Barbosa de Paula. – Londrina : Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2018.
200 p.

ISBN 978-85-522-1188-4

1. Morfofisiologia. 2. Biologia do desenvolvimento. 3. Histopatologia e biologia molecular. I. Paula, Larissa Barbosa de. II. Título.

CDD 610

Thamiris Mantovani CRB-8/9491

2018
Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza
CEP: 86041-100 — Londrina — PR
e-mail: editora.educacional@kroton.com.br
Homepage: http://www.kroton.com.br/

Sumário

Unidade 1 | Morfofisiologia 7

Seção 1.1 - Anatomia humana 9

Seção 1.2 - Neuroanatomia 25

Seção 1.3 - Fisiologia 38

Unidade 2 | Biologia do desenvolvimento 55

Seção 2.1 - Embriologia 57

Seção 2.2 - Desenvolvimento fetal 70

Seção 2.3 - Medicina Reprodutiva 85

Unidade 3 | Histopatologia 99

Seção 3.1 - Técnicas microscópicas e histológicas 100

Seção 3.2 - Aspectos gerais teciduais 115

Seção 3.3 - Anatomia patológica e citopatologia 130

Unidade 4 | Biologia molecular 149

Seção 4.1 - Ciclo celular e diferenciação 150

Seção 4.2 - Síntese proteica 166

Seção 4.3 - Técnicas de biologia molecular 179

Palavras do autor

Prezado aluno,

A partir de agora você relembrará alguns conteúdos essenciais para a sua formação acadêmica e desempenho profissional, abordados no Exame Nacional de Desempenho de Estudantes (ENADE) e em concursos voltados à área de atuação do biomédico. O entendimento dos assuntos aqui abordados permitirá que você responda a questões envolvendo o corpo humano e patologias associadas, e aplique os conhecimentos adquiridos em vivências relacionadas à sua formação.

Para que você assimile todo o conteúdo que será apresentado e adquira a competência de compreender a morfofisiologia do corpo humano e o desenvolvimento embrionário e fetal; adquirir os conhecimentos necessários para o diagnóstico microscópico de células, tecidos e órgãos, correlacionando sua morfologia com a função; e compreender os múltiplos aspectos da biologia molecular e seu potencial na prática biomédica, contribuindo para sua formação profissional como biomédico, é necessário que você se dedique ao máximo fazendo a leitura do livro didático, acesse os links de pesquisa sugeridos e busque aprender mais por meio de outras fontes de conhecimento. Lembre-se que o foco desse livro não é introduzir novos conteúdos e sim **retomar** conteúdos já estudados por você.

No decorrer da primeira unidade conheceremos a anatomia musculoesquelética e os sistemas que compõe o corpo humano; bem como a fisiologia destes sistemas. Na segunda unidade estudaremos a reprodução humana e as técnicas disponíveis na reprodução assistida. Já na terceira unidade, abordaremos as técnicas microscópicas e histológicas; bem como os aspectos gerais de tecidos e órgãos para posterior estudo da anatomia histopatológica. Por fim, na quarta unidade, compreenderemos o ciclo celular e a síntese de proteínas; além de conhecermos as principais técnicas utilizadas em Biologia Molecular. Ao final deste livro, você será capaz de compreender a anatomia macroscópica das partes e órgãos constituintes dos diversos sistemas do corpo humano, os mecanismos fisiológicos e as fisiopatologias a partir do

conhecimento do funcionamento normal dos sistemas, as bases do desenvolvimento embrionário/fetal e as técnicas utilizadas na Medicina Reprodutiva, reconhecer os tecidos e órgãos que constituem o corpo humano e identificar os processos patológicos gerais e as bases moleculares do genoma e as tecnologias envolvidas na Engenharia Genética, bem como os processos de sinalização, ciclo e morte celular.

Vamos lá?

Morfofisiologia

Convite ao estudo

Prezado aluno,

A partir de agora iniciaremos o estudo de tópicos especiais em Biomedicina, para melhor compreender a anatomia e a fisiologia dos sistemas constituintes do corpo humano, os aspectos histopatológicos das doenças associadas e as técnicas empregadas em Biologia Molecular para o diagnóstico de tais doenças. Ao final desta unidade, você deverá ter compreendido a anatomia macroscópica das partes e órgãos constituintes dos diversos sistemas do corpo humano e estabelecer a relação entre a forma (conformação), estrutura (construção) e valor funcional de cada órgão estudado; bem como compreender os mecanismos fisiológicos, ser capaz de raciocinar cientificamente sobre os processos de regulação da homeostase e compreender as fisiopatologias a partir do conhecimento do funcionamento normal dos sistemas.

Para compreender o assunto e atingir as competências e os objetivos da disciplina, vamos analisar uma situação hipotética que se aproxima dos conteúdos teóricos que serão vistos por você nesta unidade. Fernanda Medeiros é uma jovem de 25 anos, formada em Administração de Empresas, bastante extrovertida e entusiasmada. Há cinco anos com Matheus, de quem ficou noiva recentemente, a jovem se prepara para o casamento dos sonhos e planeja ter filhos em breve. Nas horas vagas, Fernanda gosta de sair para bater papo com as amigas e passear com seu pastor alemão, Bruthus. Entretanto, há dois meses tem sentido muita fraqueza e certa dificuldade para respirar; tornando menos frequentes os passeios com seu fiel companheiro. No último final de semana, a jovem apresentou

dificuldade na deglutição e na mastigação de sólidos; agravada durante a refeição e ao longo do dia, fazendo com que se engasgasse frequentemente. Além disso, Fernanda apresentou um episódio de ptose palpebral (queda da pálpebra superior); mais acentuada à esquerda.

No decorrer desta unidade de ensino, você compreenderá a anatomia e a fisiologia humana. Na Seção 1.1, abordaremos a anatomia do sistema musculoesquelético e demais sistemas que constituem o corpo humano. Já na Seção 1.2, conheceremos a anatomia do Sistema Nervoso Central (SNC) e compreenderemos o sistema nervoso autônomo. Por fim, na Seção 1.3, trataremos da fisiologia desses sistemas, desvendando os processos físicos e bioquímicos envolvidos na manutenção da vida.

Seção 1.1

Anatomia humana

Diálogo aberto

Para darmos continuidade ao seu aprendizado, vamos retomar a situação de Fernanda. Diante dos sintomas apresentados (fraqueza, dificuldades para respirar, mastigar e deglutir engasgos e ptose palpebral), ela procurou um neurologista especialista em doenças neuromusculares. Baseado no histórico da paciente e nos resultados dos exames solicitados (estimulação nervosa repetida, eletromiografia, teste de anticolinesterase e pesquisa de anticorpos anti-R-ACC), o médico concluiu que Fernanda é uma portadora da *miastenia gravis*; doença autoimune da junção neuromuscular, na qual há produção de anticorpos contra os receptores nicotínicos da acetilcolina localizados na membrana pós-sináptica. Bastante apreensiva com sua doença, Fernanda pesquisou mais sobre o assunto e, lendo sobre os músculos, descobriu que os mesmos são responsáveis pela nossa movimentação e manutenção da força. A jovem ficou curiosa para saber: quais são os tipos de músculos e suas principais características, como é constituído o tecido muscular esquelético e como ocorre a contração muscular. Você seria capaz de responder os questionamentos dela? Para compreender o que causou a fraqueza muscular de Fernanda, você deve ler o livro didático dando ênfase ao conteúdo sobre anatomia musculoesquelética. Vamos lá?

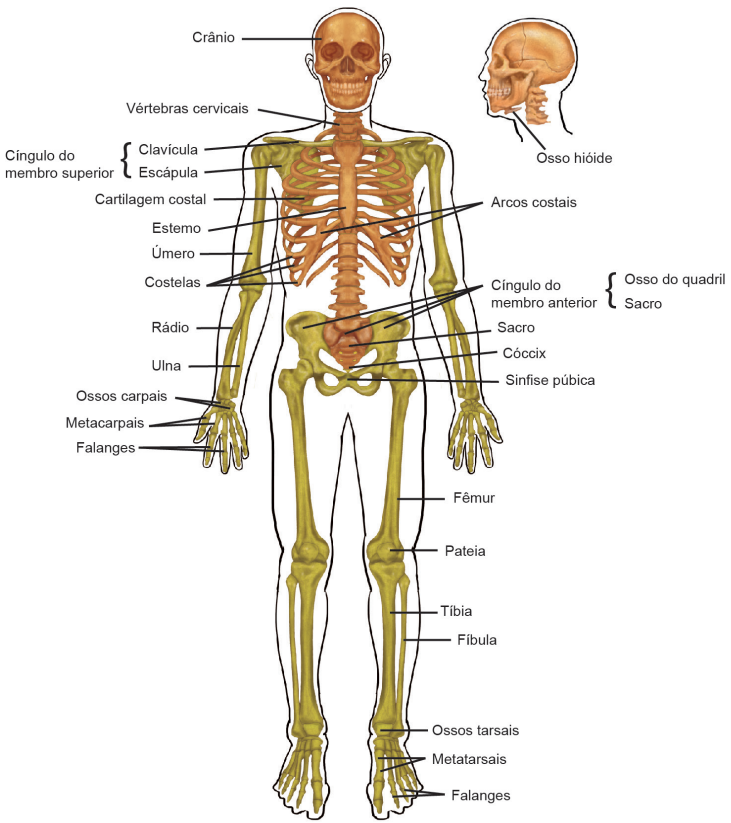
Não pode faltar

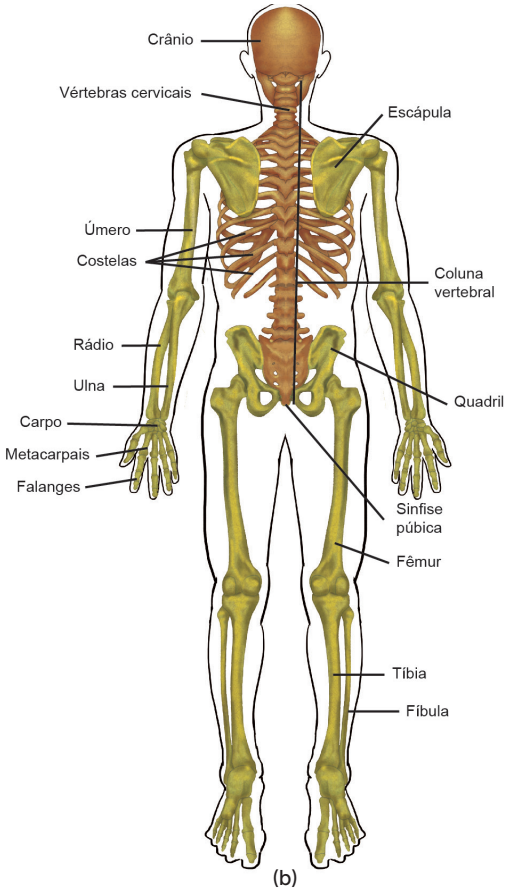
O corpo humano adulto é constituído por 206 ossos, podendo este número variar de uma pessoa para outra dependendo da idade e de fatores genéticos. Ossos extranumerários podem se desenvolver, por exemplo, no interior das articulações do crânio (ossos suturais) ou em tendões, como consequência de tensões quando os tendões se movem repetidamente ao longo de uma articulação (ossos sesamoides). Podemos dividir o esqueleto humano em **axial** e **apendicular**, de acordo com os ossos que os constituem e suas respectivas funções:

- *Esqueleto axial*→ formado pelos ossos do crânio, ossículos da audição, osso hióide, coluna vertebral e caixa torácica; formam o eixo do corpo, sustentam e protegem os órgãos da cabeça, pescoço e tronco.
- *Esqueleto apendicular*→ formado pelos ossos dos membros superior e inferior, ossos do cíngulo do membro superior e ossos do cíngulo do membro inferior; firmam os membros ao esqueleto axial.

Assimile

Figura 1.1 | Esqueleto humano em vista anterior (a) e posterior (b), com o esqueleto axial na coloração mais escura





Fonte: Van de Graaff (2003, p. 133).

Os ossos do esqueleto desempenham funções de sustentação (podendo suportar um peso até cinco vezes maior que o peso total dos ossos), proteção para órgãos vitais, movimentação (funcionando como pontos de fixação da maioria dos músculos esqueléticos), produção de células sanguíneas e armazenamento (gorduras e minerais, principalmente cálcio e fósforo). Quanto à forma, podem ser classificados em longos, curtos, planos ou chatos e irregulares. Ossos longos possuem um corpo (diáfise) cilíndrico e compacto, que envolve uma cavidade central (cavidade medular) contendo medula óssea e duas extremidades (epífises) esponjosas

envolvidas por uma camada de osso compacto. Ao longo da diáfise, há pequenas aberturas (forames nutrícios) para a passagem de vasos sanguíneos que nutrem o tecido ósseo vivo. Entre a diáfise e a epífise, encontra-se uma lâmina cartilagínea (lâmina epifisial), responsável pelo crescimento linear do osso, a qual é substituída por uma linha epifisial ao término do crescimento ósseo.

A coluna vertebral consiste em uma série de ossos irregulares (vértebras) separados uns dos outros por discos fibrocartilaginosos. É constituída por 33 vértebras; sendo 7 cervicais, 12 torácicas, 5 lombares e 5 sacrais, além de 4 ou 5 coccígeas fundidas. As vértebras envolvem e protegem a medula espinhal, sustentam o crânio e permitem seus movimentos, articulam com a caixa torácica e fornecem fixação para os músculos do tronco. Já os discos intervertebrais proporcionam flexibilidade à coluna vertebral e absorvem os impactos verticais do corpo. São funções da coluna vertebral: sustentar a cabeça e os membros superiores, permitir o bipedalismo, fornecer fixação a vários músculos, costelas e órgãos viscerais, proteger a medula espinhal e permitir a passagem de nervos espinhais.

Como vimos, uma das funções do sistema esquelético é permitir os movimentos do corpo. Entretanto, engana-se quem pensa que são os ossos que os permitem. Movimentos são possíveis de serem realizados devido às uniões entre os ossos, denominadas **articulações** ou junturas. A direção e a amplitude dos movimentos são determinadas pela estrutura da articulação; sendo que nem todas as articulações são flexíveis. Sendo assim, podemos classificar as articulações de acordo com sua estrutura:

- *Fibrosas* → os ossos que se articulam são unidos através de tecido conjuntivo fibroso; e não há cavidades articulares nesse tipo de articulação.
- *Cartilagíneas* → os ossos que se articulam são unidos através de cartilagem; e nesse tipo de articulação também não há cavidades articulares.
- *Sinoviais* → as partes dos ossos que se articulam são recobertas por cartilagem e, geralmente, auxiliadas por ligamentos que lhes dão suporte, havendo, nesse tipo de articulação, cavidades articulares preenchidas por um líquido (líquido sinovial).

Junturas fibrosas podem ser subdivididas em suturas (presentes apenas no crânio, formando-se por volta dos 18 meses de idade em substituição aos fontículos cranianos popularmente conhecidos por moleiras); sindesmoses (articulações fibrosas unidas por lâminas de tecido fibroso denominadas membranas interósseas; como é o caso da articulação no antebraço, entre as partes distais do rádio e da ulna) e gonfoses (articulações fibrosas presentes entre os dentes e os ossos de sustentação, maxilas e mandíbula; também denominadas articulação dentoalveolar). Junturas cartilagíneas podem ser subdivididas em sínfises e sincondroses. Sínfises são articulações cujas superfícies dos ossos que se articulam são recobertas por cartilagem hialina, infiltrada com fibras de colágeno dando origem a um bloco de fibrocartilagem; enquanto que sincondroses são articulações contendo cartilagem hialina entre os ossos que se articulam. As articulações sinoviais, por sua vez, são envolvidas por uma cápsula articular, constituída de tecido conjuntivo denso regular e contendo líquido sinovial lubrificante no interior da cavidade articular. Semelhante ao líquido intersticial (presente entre as células), o líquido sinovial é rico em ácido hialurônico e albumina; além de células fagocíticas que eliminam os resíduos teciduais resultantes do desgaste das cartilagens articulares (camada lisa de cartilagem hialina que recobre os ossos que se articulam). As articulações sinoviais podem ser subdivididas de acordo com suas estruturas e com os movimentos que permitem, em seis categorias: plana, gínglimo, trocóidea, condilar ou elipsóidea, selar e esferóidea.

Podemos também classificar as articulações de acordo com o grau de movimento que permitem; sendo **sinartroses** as articulações imóveis, **anfiartroses** as ligeiramente móveis e **diartroses**, as livremente móveis. No entanto, em conformidade com a sexta edição da *Nomina Anatômica*, a classificação-padrão para as articulações é a classificação estrutural.

O tecido muscular pode ser classificado em três tipos (liso, cardíaco e esquelético); diferentes entre si quanto à estrutura e função, porém com algumas características em comum: a) irritabilidade (sensibilidade aos estímulos dos impulsos nervosos); b) contratilidade (resposta aos estímulos, encurtando-se ou contraindo-se longitudinalmente); c) extensibilidade (estiramento até além de seu tamanho de repouso pela contração de um

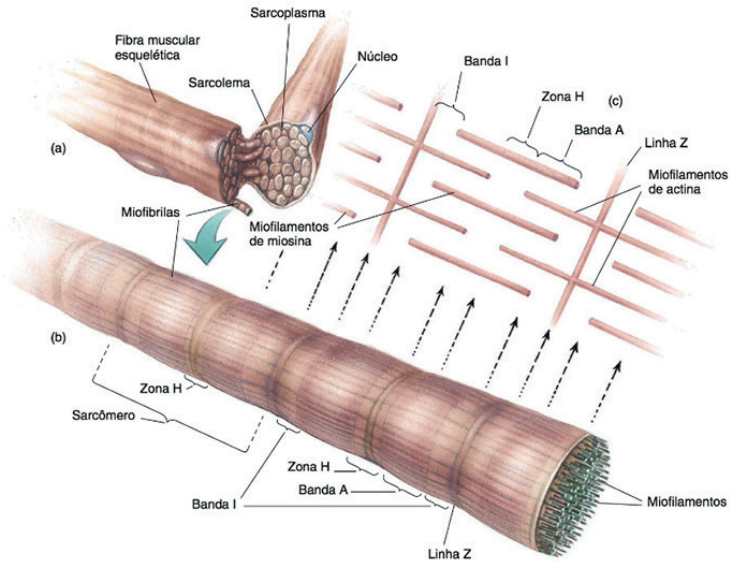
músculo antagonista, quando o estímulo diminui e as fibras estão relaxadas) e d) elasticidade (tendência a recuar ao seu tamanho original de repouso após estiramento). Faremos aqui uma breve revisão dos tipos de músculos citados; abordando suas respectivas características histológicas mais detalhadamente na Seção 3.2 da Unidade 3.

O músculo liso está presente em diversos sistemas do corpo humano, como na parede do trato gastrointestinal e paredes das artérias, vias aéreas respiratórias e ductos urogenitais; sendo controlado pelo sistema nervoso autônomo (isto é, trata-se de um músculo involuntário). Já o músculo cardíaco constitui a maior parte das paredes do coração; sendo histologicamente igual ao músculo esquelético, mas funcionalmente igual ao músculo liso. **Músculos esqueléticos**, por sua vez, são massas macroscópicas formadas por células agrupadas em feixes, especializadas para contração e relaxamento, que movem os segmentos do corpo por encurtamento (contração) da distância existente entre suas extremidades. Cada fibra muscular é recoberta por uma membrana celular (sarcolema) e, ao longo do citoplasma da fibra (sarcoplasma), estende-se uma rede de canais membranosos (retículo endoplasmático). Embutidas na fibra muscular encontramos muitas estruturas lineares (miofibrilas), compostas por filamentos menores (miofilamentos) de actina ou miosina.

Assimile

As estrias claras (*bandas I*) e escuras (bandas A) das miofibrilas são devido à disposição dos miofilamentos; e, no meio das bandas I, podem ser vistas linhas escuras finas (*linhas Z*). As bandas I no interior de uma miofibrila são as áreas mais claras que se estendem da margem de uma pilha de filamentos espessos de miosina até a margem da próxima pilha de filamentos espessos. Bandas I são claras por conterem apenas filamentos finos; e estes não terminam nas margens das bandas I: cada filamento fino se estende até parte das bandas A de cada lado. Desta forma, como os filamentos espessos e finos se sobrepõem nas margens de cada banda A, estas margens parecem mais escuras do que na região central. As regiões mais claras no centro das bandas A são denominadas zonas H (*zonas de Helle*).

Figura 1.2 | Elementos estruturais de uma fibra muscular esquelética



Fonte: Van de Graaff (2003, p. 243).

Os músculos esqueléticos são os elementos ativos do movimento, assegurando não somente a dinâmica como a estática do corpo humano; tornando possíveis os movimentos e mantendo unidas as peças ósseas, determinando a posição e a postura do esqueleto humano. Realizam três funções principais: 1) movimento do corpo ou partes deste, auxiliando também na respiração e na movimentação interna dos líquidos corporais (sangue e linfa) e outras substâncias; 2) produção de calor, mantendo constante a temperatura corporal e 3) sustentação e manutenção da postura, estabilizando as articulações flexíveis e dando suporte às vísceras.

Estes músculos são fixados aos ossos, em cada uma de suas extremidades, através de tendões; estruturas constituídas de tecido conjuntivo denso regular, que ligam um músculo ao periósteo de um osso. Quando do momento da contração, o músculo encurta e provoca uma tensão em seus tendões e nos ossos aos quais está fixado, causando o movimento dos ossos em torno das articulações sinoviais. De acordo com a disposição das fibras, os músculos esqueléticos podem ser classificados em paralelos, convergentes, esfinctéricos e peniformes.

Quando um músculo recebe um estímulo para contração, seu tamanho diminui em consequência da redução de suas fibras individualmente. O encurtamento das fibras musculares, por sua vez, é produzido pelo encurtamento de suas miofibrilas, como consequência da redução da distância entre duas linhas Z. Por fim, o encurtamento dos sarcômeros não é devido ao encurtamento dos miofilamentos; mas sim devido ao deslizamento dos filamentos finos (actina) sobre/entre os filamentos espessos (miosina). Durante a contração, os filamentos de actina em ambos os lados de cada banda A se estendem cada vez mais em direção ao centro, aumentando a quantidade de sobreposições com os filamentos de miosina; desta forma, tornando cada vez menores as bandas H centrais.

Pesquise mais

Compreenda os processos que ocorrem na contração muscular de maneira mais dinâmica assistindo à série de vídeos produzida pelo Departamento de Bioquímica Médica da UFRJ:

A Contração Muscular (Parte 1 a 4):

Parte 1 de 4: <https://www.youtube.com/watch?v=clY22fO9A6o>.

Parte 2 de 4: <https://www.youtube.com/watch?v=Klq_6JaTBBs>.

Parte 3 de 4: <https://www.youtube.com/watch?v=mcw6WDuU6Ww>.

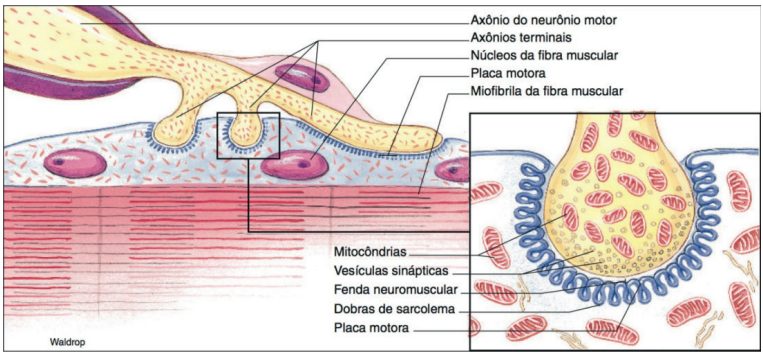
Parte 4 de 4: <https://www.youtube.com/watch?v=UNQwzkjrjN0>.

Acessos em: 9 abr. 2018.

Os nervos que inervam músculos esqueléticos são compostos por neurônios motores e neurônios sensitivos; com cada neurônio motor apresentando um axônio que se estende do Sistema Nervoso Central (SNC) até um grupo de fibras musculares esqueléticas. Próximo a essas fibras, o axônio divide-se em diversos ramos (axônios terminais); os quais fazem contato com o sarcolema das fibras musculares através de placas motoras. Esta área, formada pela placa motora e pela membrana celular de uma fibra muscular é denominada **junção neuromuscular**. Nas vesículas sinápticas dos axônios terminais, a substância química neurotransmissora acetilcolina é armazenada até que sua liberação para a fenda neuromuscular seja provocada por um impulso nervoso que atinja o axônio terminal; alcançando os receptores do sarcolema e iniciando uma atividade fisiológica no interior da fibra muscular, resultando em contração.

Exemplificando

Figura 1.3 | Junção neuromuscular, mostrando uma placa motora (detalhe ampliado)



Fonte: Van de Graaff (2003, p. 247).

Quando um impulso nervoso segue através de uma unidade motora (um único neurônio motor e o conjunto das fibras musculares inervadas por esse neurônio), todas as fibras musculares servidas por ela se contraem em seu máximo, e simultaneamente. A maioria dos músculos apresenta uma relação de inervação de um neurônio motor para cada 100 a 150 fibras musculares. A magnitude da tarefa determina o número de unidades motoras ativadas – uma tarefa suave, como erguer um livro, requer poucas unidades motoras, ao passo que erguer uma mesa requer muitas. Embora uma pessoa raramente utilize todas as unidades motoras de um músculo, a secreção de epinefrina pela glândula suprarrenal promove um aumento na força que pode ser produzida quando um determinado número de unidades motoras é ativado.

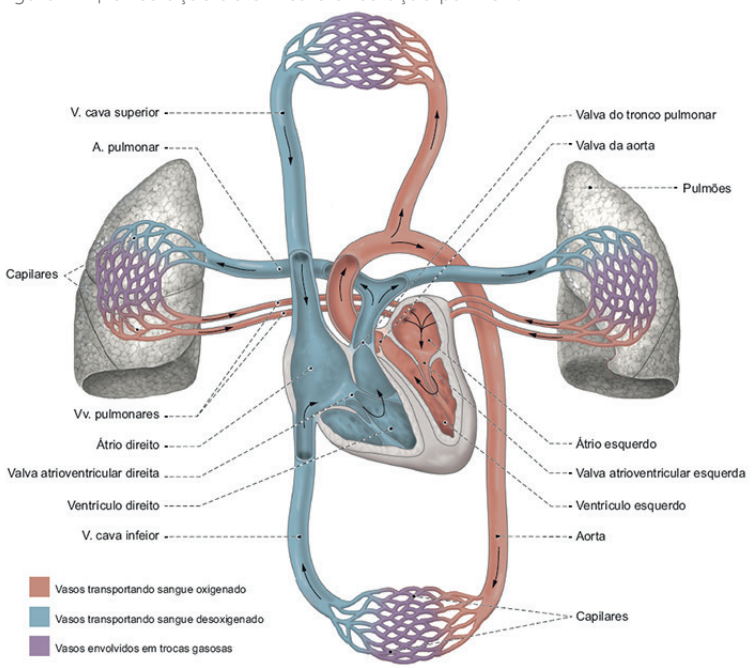
A maioria das células do corpo humano encontra-se firmemente implantada em tecidos; sendo incapazes de obter sustento e oxigênio no local onde se encontram e até mesmo de se livrarem de seus próprios resíduos. O sangue circulante no interior dos vasos executa esse transporte de maneira especializada e eficiente; embora também acabe transportando doenças causadas por vírus, bactérias e suas toxinas – cujos efeitos são protegidos e amenizados pelos mecanismos de defesa presentes no sangue. Sendo assim, as funções do sistema circulatório são transporte de todas as substâncias envolvidas no metabolismo celular (oxigênio, alimentos processados pelo sistema digestório, resíduos metabólicos, água, íons em excesso,

hormônios e outras moléculas reguladoras) e proteção contra lesões (através dos mecanismos de coagulação) e organismos estranhos ou toxinas (através da ação dos glóbulos brancos e do sistema linfático).

O **sistema circulatório** é dividido em sistema cardiovascular (coração, vasos sanguíneos e sangue) e sistema linfático (vasos linfáticos, timo, tonsilas e linfonodos). O coração funciona como uma bomba propulsora que cria a pressão necessária para empurrar o sangue dos vasos para os pulmões e para as células do corpo. É um músculo oco, recoberto por um saco seroso de tecido conjuntivo denso fibroso (pericárdio); está localizado na caixa torácica, entre os dois pulmões (região do mediastino). Dois tipos de circulação sanguínea estão presentes no organismo humano: circulação pulmonar, transportando o sangue para os pulmões e deles de volta para o coração (coração-pulmão-coração), e circulação sistêmica, transportando o sangue do coração para o corpo e deste de volta para o coração (coração-corpo-coração).

Assimile

Figura 1.4 | Circulação sistêmica e circulação pulmonar



Fonte: Larosa (2017, p. 176).

A circulação pulmonar, também denominada pequena circulação, tem início no ventrículo direito com a saída do sangue venoso (rico em gás carbônico e pobre em oxigênio) pelo tronco pulmonar; que se ramifica em artérias pulmonares direita e esquerda, até os pulmões direito e esquerdo, respectivamente, nos quais ocorrem as trocas gasosas (hematose). Após a hematose, o sangue arterial (rico em oxigênio e pobre em gás carbônico) retorna ao coração pelas veias pulmonares direita e esquerda, chegando ao átrio esquerdo. A circulação sistêmica ou grande circulação, por sua vez, se inicia no ventrículo esquerdo com a saída do sangue arterial pela aorta, seguindo por seus ramos para o corpo todo; visando à nutrição tecidual através dos capilares sanguíneos. Após a nutrição tecidual, o sangue venoso retorna ao coração pelas veias cavas superior e inferior, chegando ao átrio direito.

Reflita

Por qual motivo, no interior do coração, o sangue oxigenado que retorna dos pulmões após sua filtração, não se mistura com o sangue desoxigenado que retorna do restante do corpo?

O interior do coração é dividido em quatro câmaras: dois átrios (superiores) e dois ventrículos (inferiores). Os átrios encontram-se separados uns dos outros pelo septo interatrial; enquanto que os ventrículos, pelo septo interventricular. Sendo assim, o sangue oxigenado que retorna dos pulmões ao coração pelas veias pulmonares não se mistura com o sangue desoxigenado que chega do corpo todo e parte do coração para os pulmões pelas artérias pulmonares. Ainda, entre os átrios e os ventrículos encontram-se valvas atrioventriculares e válvulas semilunares; as quais impedem o sangue de retornar para a câmara anterior, mantendo seu fluxo em uma só direção.

Respiração é o termo que designa três funções separadas, porém relacionadas entre si: ventilação (respiração propriamente dita), troca de gases (oxigênio e gás carbônico) e utilização de oxigênio. A ventilação e as trocas de gases entre o ar e o sangue são denominadas coletivamente de **respiração externa**; enquanto que as trocas de gases entre o sangue e os demais tecidos do organismo são chamadas de **respiração interna**. O **sistema respiratório** é constituído por órgãos e estruturas capazes de colocar os gases em contato com o sangue do sistema circulatório; assegurando que

todas as trilhões de células do corpo estejam aptas a desenvolver os processos metabólicos necessários à sua sobrevivência.

As quatro funções básicas do sistema respiratório são: 1) fornecer oxigênio para a circulação sanguínea e remover o gás carbônico nela presente; 2) permitir a produção de sons, quando o ar expirado passa através das pregas vocais; 3) auxiliar na compressão abdominal durante micção, defecação e parto; tornando os músculos abdominais mais eficientes e 4) possibilitar movimentos aéreos protetores e reflexos, como tosse e espirro; mantendo limpa a passagem de ar. As principais estruturas e vias aéreas do sistema respiratório são cavidade nasal, faringe, laringe, traqueia, brônquios e bronquíolos (porção condutora), e alvéolos pulmonares (porção respiratória).

Os alimentos são indispensáveis para a manutenção da vida; fornecendo nutrientes essenciais não produzidos pelo organismo e utilizados em nível celular, no qual são necessários para que aconteçam as reações químicas envolvidas na síntese de enzimas, divisão e crescimento celular, reparos teciduais e produção de energia. No entanto, a maioria dos alimentos ingeridos deve ser, primeiramente, mecânica e quimicamente reduzida para que possa ser absorvida através da parede intestinal e transportada para as células sanguíneas. Sendo assim, a principal função do **sistema digestório** é preparar o alimento para sua posterior utilização celular, envolvendo, então, as etapas de ingestão, mastigação, deglutição, digestão, absorção, peristaltismo e defecação.

O sistema digestório pode ser dividido em trato gastrintestinal (que se estende da boca até o ânus e inclui cavidade oral, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso) e órgãos digestórios anexos (dentes, língua, glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e pâncreas). O intestino delgado é o principal órgão desse sistema, por ser o principal local de absorção dos nutrientes; sendo inervado pelo plexo mesentérico superior, cujos ramos contêm fibras sensitivas, fibras simpáticas pós-ganglionares e fibras parassimpáticas pré-ganglionares. O suprimento sanguíneo é realizado através da artéria mesentérica superior, dos ramos do tronco celíaco e da artéria mesentérica inferior; enquanto que a drenagem é realizada por meio da veia mesentérica superior, a qual se une à veia esplênica, formando a veia porta e transportando sangue rico em nutrientes para o fígado através da circulação porta-hepática.

Os processos metabólicos que ocorrem no organismo produzem resíduos celulares que devem ser eliminados para que se mantenha a

homeostase. Essa eliminação se inicia com a remoção de tais resíduos pelo sistema circulatório; os quais são posteriormente transportados aos sistemas de excreção correspondentes: o gás carbônico é eliminado pelo sistema respiratório; água em excesso, sais, resíduos nitrogenados e calor metabólico excessivo são eliminados pelo sistema tegumentar; e os diversos resíduos da digestão, pelo sistema digestório. Já ao **sistema urinário** cabe a responsabilidade pelo equilíbrio hidroeletrolítico e excreção de derivados nitrogenados tóxicos; especificamente, ureia e creatinina. Ainda, esse sistema é responsável por eliminar diversas drogas e resíduos tóxicos resultantes da ação bacteriana, através da formação de urina pelos rins. O sangue a ser processado entra nos rins pelas artérias renais, é filtrado nos néfrons e retorna ao organismo pelas veias renais. A urina, formada durante o processo de filtração, é coletada dos néfrons por ductos coletores que desembocam nas papilas renais, localizadas no ápice das pirâmides. Em seguida, escoa pelos cálices renais (menores e maiores) e desemboca na pelve renal; de onde flui pelos ureteres até atingir a bexiga, na qual fica armazenada até a micção.

Sem medo de errar

Caro (a) aluno (a),

Baseado no histórico da paciente e nos resultados dos exames solicitados (estimulação nervosa repetida, eletromiografia, teste de anticolinesterase e pesquisa de anticorpos anti-R-ACC), o médico concluiu que Fernanda é uma portadora de *miastenia gravis*; doença autoimune da junção neuromuscular do músculo esquelético, na qual há produção de anticorpos contra os receptores nicotínicos da acetilcolina localizados na membrana pós-sináptica. O tecido muscular pode ser classificado em três tipos: 1) liso, presente em diversos sistemas do corpo humano, como na parede do trato gastrointestinal e paredes das artérias, vias aéreas respiratórias e ductos urogenitais – sendo controlado pelo sistema nervoso autônomo (isto é, trata-se de um músculo involuntário); 2) cardíaco, que constitui a maior parte das paredes do coração – sendo histologicamente igual ao músculo esquelético e 3) esquelético, que se caracteriza por um conjunto de massas macroscópicas formadas por células agrupadas em feixes, especializadas para contração e relaxamento; que movem os segmentos do corpo por encurtamento (contração) da distância existente entre suas extremidades. Cada fibra muscular esquelética é recoberta por uma membrana celular

(sarcolema) e, ao longo do citoplasma da fibra (sarcoplasma), estende-se uma rede de canais membranosos (retículo endoplasmático). Embutidas na fibra muscular encontramos muitas estruturas lineares (miofibrilas); compostas por filamentos menores (miofilamentos) de actina ou miosina. Quando um músculo recebe um estímulo para contração, seu tamanho diminui em consequência da redução de suas fibras individualmente. O encurtamento das fibras musculares, por sua vez, é produzido pelo encurtamento de suas miofibrilas; como consequência da redução da distância entre duas linhas Z. Por fim, o encurtamento dos sarcômeros não é devido ao encurtamento dos miofilamentos; mas sim ao deslizamento dos filamentos finos (actina) sobre/entre os filamentos espessos (miosina). Durante a contração, os filamentos de actina em ambos os lados de cada banda A se estendem cada vez mais em direção ao centro, aumentando a quantidade de sobreposições com os filamentos de miosina; desta forma, tornando cada vez menores as bandas H centrais.

Avançando na prática

Caminhos do coração

Descrição da situação-problema

Sr. Carlos, um homem de 70 anos, havia recebido alta hospitalar após um infarto agudo do miocárdio; porém, algumas semanas mais tarde, retornou à emergência do hospital queixando-se de dor de início repentino em sua perna direita. Ao exame físico, o médico de plantão constatou que a perna do paciente estava pálida e fria, do joelho para baixo. Além disso, o plantonista não conseguiu sentir as pulsações das artérias poplítea e dorsal do pé; ao contrário da artéria femoral na região inguinal, que apresentava boa pulsação à palpação. Ao ser questionado sobre as recomendações que recebeu ao ter alta, Sr. Carlos relatou que fora receitada uma medicação para "afinar" o sangue; uma vez que os exames constataram a formação de um coágulo sanguíneo no coração, provocado pelo infarto. Preocupado com um possível desprendimento de parte desse coágulo para outras regiões do corpo, o médico optou por manter o paciente sob observação por 48 horas. Como o ataque cardíaco sofrido por Sr. Carlos explica sua queixa de dor na perna? Em que lado do coração o coágulo provavelmente estava? Explique

anatomicamente em que lugar se localiza a causa dos novos sintomas do paciente e descreva como pode ter chegado até lá.

Resolução da situação-problema

Uma das complicações mais comuns do infarto agudo do miocárdio é a formação de um trombo mural – coágulo de sangue aderido à superfície interna de uma das câmaras do coração. Uma vez formado o trombo, parte dele pode se romper e atingir outras regiões corporais; transportado pela circulação sanguínea. Desta forma, o ataque cardíaco sofrido por Sr. Carlos e a consequente formação e o desprendimento de parte do trombo mural explica a queixa do paciente de dor em sua perna direita. Por ter se alojado no membro inferior, o êmbolo provavelmente estava situado no lado esquerdo do coração e foi transportado através da circulação sistêmica até um ponto da artéria femoral; onde se alojou e obstruiu o fluxo sanguíneo para a artéria poplítea e ramificações (artéria dorsal do pé). O caminho percorrido pelo coágulo foi o seguinte: *átrio ou ventrículo esquerdo* → *parte ascendente da aorta* → *parte torácica da aorta* → *parte abdominal da aorta* → *artéria ilíaca comum direita* → *artéria ilíaca externa* → *artéria femoral*.

Faça valer a pena

1. Ao sistema urinário cabe a responsabilidade pelo equilíbrio hidroeletrolítico e excreção de derivados nitrogenados tóxicos; especificamente, ureia e creatinina. Ainda, esse sistema é responsável por eliminar diversas drogas e resíduos tóxicos resultantes da ação bacteriana, através da formação de urina pelos rins.

Assinale a alternativa que contém o trajeto correto percorrido pela urina.
a) Pirâmides – cálice renal menor – papila renal – cálice renal maior – pelve renal.
b) Papila renal – cálice renal menor – cálice renal maior – pelve renal.
c) Pelve renal – cálice renal maior – papila renal – cálice renal menor – pirâmides.
d) Pelve renal – papila renal – cálice renal maior – cálice renal menor – pirâmides.
e) Papila renal – pelve renal – bexiga – ureter – uretra.

2. Dois tipos de circulação sanguínea estão presentes no organismo humano: a circulação pulmonar, que transporta o sangue para os pulmões

e deles de volta para o coração, e a circulação sistêmica, que transporta o sangue do coração para o corpo todo e deste de volta para o coração.

Assinale a alternativa correta em relação à circulação sistêmica.
a) Tem início no ventrículo direito (sangue arterial) e término no átrio esquerdo (sangue venoso); enquanto que a circulação pulmonar tem início no ventrículo esquerdo (sangue venoso) e término no átrio direito (sangue arterial).
b) Tem início no átrio esquerdo (sangue arterial) e término no ventrículo direito (sangue venoso); enquanto que a circulação pulmonar tem início no átrio direito (sangue venoso) e término no ventrículo esquerdo (sangue arterial).
c) Tem início no ventrículo esquerdo (sangue arterial) e término no átrio direito (sangue venoso); enquanto que a circulação pulmonar tem início no ventrículo direito (sangue venoso) e término no átrio esquerdo (sangue arterial).
d) Tem início no ventrículo esquerdo (sangue venoso) e término no átrio direito (sangue arterial); enquanto que a circulação pulmonar tem início no ventrículo direito (sangue arterial) e término no átrio esquerdo (sangue venoso).
e) Tem início nos ventrículos; enquanto que a circulação pulmonar tem início nos átrios.

3. Músculos esqueléticos são massas macroscópicas formadas por células agrupadas em feixes, especializadas para contração e relaxamento, que movem os segmentos do corpo por encurtamento (contração) da distância existente entre suas extremidades. Cada fibra muscular é recoberta por uma membrana celular (sarcolema) e, ao longo do citoplasma da fibra (sarcoplasma), estende-se uma rede de canais membranosos (retículo endoplasmático). Embutidas na fibra muscular encontramos muitas estruturas lineares (miofibrilas); compostas por filamentos menores (miofilamentos) de actina ou miosina. Analise as afirmativas a seguir, a respeito da estrutura de uma fibra muscular:

I. O comprimento dos filamentos finos (actina) e espessos (miosina) não se altera.
II. O comprimento do sarcômero diminui devido ao deslizamento dos filamentos.
III. A diminuição do comprimento do sarcômero é evidenciada pela diminuição das linhas M e Z.
IV. As bandas A representam a distribuição dos filamentos de miosina.
V. Os filamentos de actina encontram-se ligados à linha Z.

Assinale a alternativa que contém as afirmativas corretas.
a) II e IV.
b) I, II e V.
c) I, III e V.
d) II, III, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

Seção 1.2

Neuroanatomia

Diálogo aberto

Após ser diagnosticada com miastenia grave, Fernanda passou a tomar mais cuidado com seus hábitos diários e alimentares, uma vez que a doença causa fadiga e dificuldades de deglutição. A jovem tem permanecido boa parte do tempo em repouso, para uma restauração parcial da força, e teme que a doença evolua para a forma progressiva, na qual a fraqueza muscular fica continuamente mais acentuada, podendo levar o (a) paciente a óbito. Lembrando-se da descrição dada pelo médico a respeito da miastenia grave: doença autoimune da junção neuromuscular, na qual há produção de anticorpos contra os receptores nicotínicos da acetilcolina localizados na membrana pós-sináptica.

Fernanda procurou saber qual é o efeito neurológico desta produção de anticorpos, observada em sua patologia? Você seria capaz de explicar como ocorre o fenômeno em questão e qual é o mecanismo de ação dos fármacos utilizados no tratamento da miastenia, visando à remissão prolongada dos sintomas? Para ajudar em suas respostas, você deve ler o livro didático dando ênfase ao conteúdo sobre transmissões sinápticas.

Vamos lá?

Não pode faltar

O Sistema Nervoso é o sistema que controla e coordena as funções de todos os outros sistemas do organismo; além de receber estímulos externos e interpretá-los, desencadeando uma resposta adequada. Podemos dividi-lo em Sistema Nervoso Central (SNC), Sistema Nervoso Periférico (SNP) e Sistema Nervoso autônomo (SNA); sendo que os dois primeiros são os componentes estruturais do sistema nervoso, enquanto que o último é o componente funcional do sistema. O SNC é constituído por estruturas localizadas no esqueleto axial (medula espinhal e encéfalo) e responsável pela

recepção, comando e desencadeamento de respostas aos estímulos; enquanto que o SNP compreende os nervos (cranianos e espinhais), os gânglios e as terminações nervosas – sendo responsável pela condução dos estímulos ao SNC e condução das respostas até os órgãos efetuadores.

A **medula espinhal** se estende ao longo do canal vertebral a partir do encéfalo, através do forame magno do crânio. É responsável, principalmente, por conduzir impulsos motores do encéfalo para músculos e glândulas (através dos tratos descendentes), e impulsos sensitivos periféricos do corpo para o encéfalo (através dos tratos ascendentes); além de atuar como centro para reflexos espinhais, que conduzem os movimentos reflexos dos músculos cardíaco e liso – controlando as frequências cardíaca e respiratória, pressão arterial, atividades digestórias, deglutição, tosse, espirro e vômito. Apresenta duas regiões proeminentes: a intumescência cervical (entre a segunda e a terceira vértebras cervicais; de onde partem nervos que suprem os membros superiores) e a intumescência lombossacral (entre a nona e a décima segunda vértebras torácicas; de onde partem nervos que suprem os membros inferiores).

A partir da medula, são desenvolvidos 31 segmentos que dão origem aos respectivos pares de nervos espinhais. Protegendo externamente a medula espinhal, há três meninges distintas (dura-máter, aracnoide e pia-máter); além do líquido cérebro-espinhal contido no interior do canal vertebral, que lhe confere amortecimento. A substância cinzenta (corpos de células nervosas, neuroglias e neurônios amielínicos associados) localiza-se centralmente, envolvida pela substância branca (feixes ou tratos, fibras mielínicas, neurônios motores e neurônios sensitivos).

Fixado à medula espinhal, o **tronco encefálico** contém núcleos com funções autônomas e tratos de conexões, sendo subdividido em três estruturas: mesencéfalo, ponte e bulbo. O mesencéfalo, estrutura mais superior no sentido craniocaudal, abriga o aqueduto de Sylvius (que une o terceiro e o quarto ventrículos) e contém os corpos quadrigêmeos (eminências arredondadas superiores e inferiores, que se relacionam com reflexos visuais e auditivos; respectivamente). Profundamente no interior do mesencéfalo, encontra-se o núcleo rubro – região que conecta os hemisférios cerebrais ao cerebelo e atua nos reflexos relacionados à coordenação motora e manutenção da postura. Inferiormente ao núcleo rubro,

a substância negra (contendo elevada quantidade de melanina) parece estar relacionada a movimentos involuntários forçados.

A ponte, localizada entre o mesencéfalo e o bulbo, é constituída por fibras brancas superficiais (as quais se estendem transversalmente para conexão com o cerebelo) e longitudinais profundas (partes dos tratos motores e sensitivos, que fazem a conexão entre o bulbo e os tratos do mesencéfalo). Outra importância da ponte é a presença de vários núcleos de nervos cranianos; incluindo trigêmeo (V), abducente (VI), facial (VII) e ramos vestibulares do vestibulococlear (VIII). Além disso, é na ponte – juntamente com o bulbo – que se encontram os centros respiratórios reguladores da frequência e da profundidade da respiração.

Por fim, o bulbo é a estrutura mais inferior do tronco encefálico, externamente semelhante à medula espinhal, constituído de núcleos vitais (substância cinzenta) e substância branca, que formam todos os tratos ascendentes e descendentes; permitindo a comunicação entre a medula espinhal e as várias partes do encéfalo. Na parte caudal da face anterior do bulbo, a maioria das fibras no interior dos tratos cruza o plano mediano para o lado oposto; permitindo que um lado do encéfalo envie informações para o outro lado, também recebendo informações deste. Três importantes núcleos no interior do bulbo atuam como centros autônomos de controle das funções vitais viscerais: 1) centro cardíaco, cujos impulsos inibidores e aceleradores respectivamente diminuem e aumentam os batimentos; 2) centro vasomotor, que envia impulsos através da medula e de nervos espinhais para a musculatura lisa das paredes das arteríolas visando à sua constrição e consequente elevação da pressão arterial e 3) centro respiratório, que controla a frequência e a profundidade da respiração juntamente com os centros respiratórios da ponte.

O **cerebelo** é a segunda maior estrutura do encéfalo, ocupando a face inferior e posterior do crânio e constituída por dois hemisférios quase totalmente separados por uma área central comprimida denominada *vermis* cerebelar. Três pares de feixes de fibras nervosas, denominados pedúnculos cerebelares, sustentam o cerebelo e lhe permitem comunicação com o restante do encéfalo: pedúnculos cerebelares superiores (conexão com mesencéfalo); pedúnculos cerebelares médios (conexão com ponte) e pedúnculos cerebelares

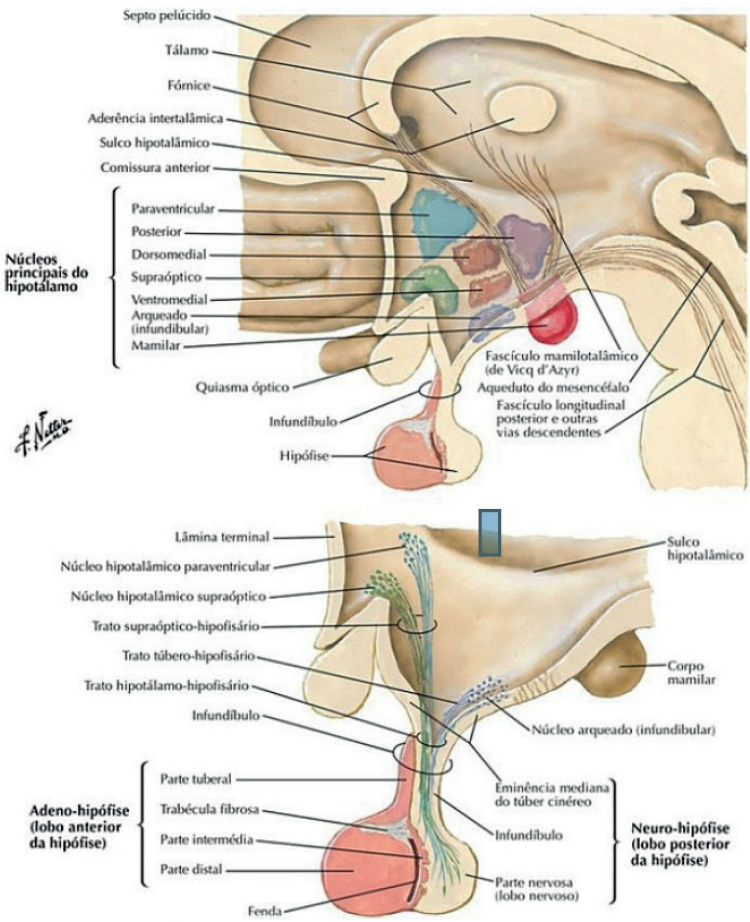
inferiores (conexão com bulbo e medula espinhal). A principal função deste órgão é coordenar as contrações dos músculos esqueléticos por meio da seleção de determinadas unidades motoras no interior destes; após o recebimento de impulsos para movimentos voluntários originados no córtex cerebral. Além do constante envio de impulsos para a manutenção da postura e do tônus muscular, o cerebelo também processa impulsos provenientes de proprioceptores musculares, tendíneos e articulares com o papel de aprimorar padrões de movimentos aprendidos.

Diencéfalo compreende a região envolvida pelos dois hemisférios cerebrais e formada por estruturas bastante importantes: tálamo, hipotálamo, epitálamo e hipófise. O tálamo é uma grande massa oval de substância cinzenta, que atua como centro de retransmissão de todos os impulsos sensitivos e sensoriais – exceto olfatórios – para o córtex cerebral; no qual são devidamente interpretados. Essa estrutura também é capaz de discriminar dor e outros estímulos táteis, ainda que de maneira grosseira. O hipotálamo, como o próprio nome sugere, localiza-se abaixo do tálamo, executando diversas funções vitais; a maioria relacionada direta ou indiretamente com a regulação das atividades viscerais e liberação de diversos hormônios. As principais funções do hipotálamo envolvem regulação cardiovascular e da temperatura corporal, regulação da água, do equilíbrio hidroeletrolítico e da fome, controle da atividade gastrointestinal, regulação do sono e da vigília, resposta à excitação sexual, respostas emocionais específicas (raiva, medo, dor e prazer) e controle de funções endócrinas.

O epitálamo, por sua vez, deve grande parte de sua importância à presença da glândula pineal; possuindo, provavelmente, função neuroendócrina. Já a hipófise, também com função endócrina, é uma pequena glândula em forma de ervilha dividida em adeno-hipófise (porção anterior) e neuro-hipófise (porção posterior). A adeno-hipófise secreta seus próprios hormônios, em resposta à regulação pelos hormônios hipotalâmicos (hormônio do crescimento, hormônio tireotrófico, hormônio adrenocorticotrófico, hormônio folículo estimulante, hormônio luteinizante, prolactina e hormônio estimulante do melanócito); enquanto que a neuro-hipófise libera hormônios produzidos pelo hipotálamo e por ela liberados (ocitocina e hormônio antidiurético).

Exemplificando

Figura 1.5 | Estruturas que formam o diencéfalo (tálamo, hipotálamo, epitálamo e hipófise)



Fonte: Netter (2014, p. 210).

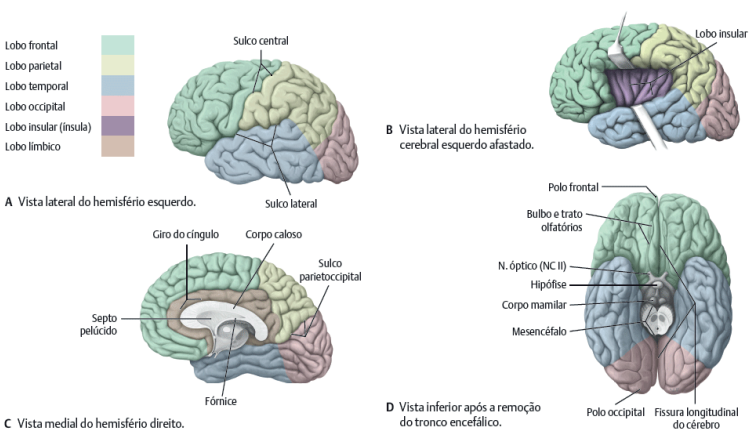
Em conjunto, os dois hemisférios cerebrais formam o **telencéfalo**; ocupando cerca de 80% do encéfalo e sendo responsável pelas funções mentais mais complexas, como raciocínio e memória. Os hemisférios cerebrais realizam funções distintas; sendo que, na maioria das pessoas, o hemisfério direito é responsável pela noção espacial e habilidades artístico-intelectuais, e o hemisfério esquerdo

é responsável pelo controle de habilidades analíticas e verbais como ler, escrever e realizar cálculos matemáticos. A camada mais superficial do cérebro, o córtex cerebral, é formada por uma substância cinzenta (neurônios, células neurogliais e fibras nervosas) e caracterizada por inúmeras pregas e sulcos; os quais se formam no início do desenvolvimento fetal e triplicam a superfície de contato do córtex. Já a segunda camada é mais espessa e composta por substância branca (dendritos, axônios mielínicos e neuroglias).

Assimile

Cada hemisfério cerebral é subdividido em cinco lobos; dos quais quatro aparecem na superfície cerebral e são denominados conforme os ossos do crânio que os recobrem: lobo frontal, lobo parietal, lobo temporal e lobo occipital. O quinto lobo, denominado lobo insular ou ínsula, encontra-se profundamente ao sulco lateral e é coberto parcialmente pelos lobos frontal, parietal e temporal; tendo sua função ainda pouco conhecida, porém provavelmente relacionada à memória. Alguns autores consideram, ainda, um sexto lobo (lobo límbico) formado pelo úncus, giro para-hipocampal, istmo do giro do cíngulo e giro do cíngulo; sendo parte importante do sistema límbico, relacionado com o comportamento emocional e o controle do SNA.

Figura 1.6 | Lobos cerebrais



Fonte: Gilroy (2015, p; 627)

O lobo frontal relaciona-se com o início dos impulsos motores voluntários para músculos esqueléticos, análise de experiências sensoriais e respostas envolvidas com a personalidade, memória, emoções, raciocínios, julgamentos, planejamentos e comunicação verbal; enquanto que o lobo parietal relaciona-se com a resposta aos estímulos de receptores cutâneos e musculares, além de atuar na compreensão da fala, na articulação de pensamentos, de emoções e na interpretação de texturas e formas dos objetos quando manipulados. O lobo temporal, por sua vez, é responsável pela audição e interpretação de parte das experiências sensoriais; além de armazenar memória de experiências auditivas e visuais. Por fim, o lobo occipital refere-se à visão, integrando os movimentos dos olhos, direcionando-os e enfocando-os; além de ser responsável por correlacionar imagens visuais com experiências visuais prévias e outros estímulos sensoriais.

Pesquise mais

Prezado (a) aluno (a),

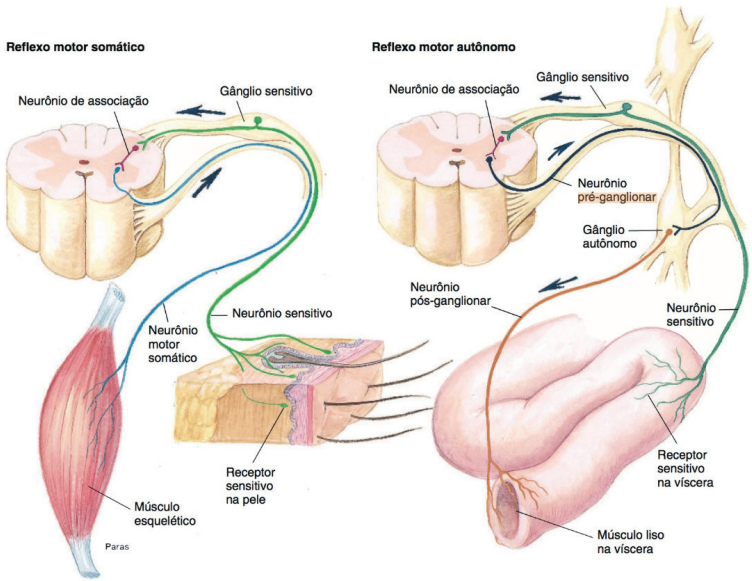
Aprofunde seus conhecimentos a respeito da neurobiologia das emoções por meio da Revisão de Literatura, escrita por ESPERIDIÃO-ANTONIO, V.; MAJESKI-COLOMBO, M.; TOLEDO-MONTEVERDE, D. et al. Neurobiologia das emoções. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, São Paulo, v. 35, n. 02, p. 55-65, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rpc/v35n2/a03v35n2>. Acesso em: 6 abr. 2018.

Embora participe, em parte, do SNC e do SNP, o **sistema nervoso autônomo** atua de maneira independente e sem o controle consciente do indivíduo – os nervos autônomos motores inervam órgãos cujas funções geralmente não se encontram sob controle voluntário (tecido muscular cardíaco, tecido muscular liso e epitélio glandular). Diferentemente do sistema motor somático – no qual os impulsos são conduzidos da medula espinhal até a junção neuromuscular por um único neurônio –, o sistema motor autônomo utiliza dois neurônios de transmissão: o primeiro, denominado neurônio pré-ganglionar, possui corpo medular inserido na substância cinzenta cerebral ou medular e seu axônio, ao invés de inervar um órgão efetor diretamente, faz sinapse

com o segundo neurônio, denominado neurônio pós-ganglionar, no interior de um gânglio (agrupamento de corpos celulares de neurônios fora do SNC).

Exemplificando

Figura 1.7 | Reflexo motor somático *vs.* reflexo motor autônomo



Fonte: Van de Graaff (2003, p. 436).

A origem dos neurônios pré-ganglionares e a localização dos gânglios autônomos fornecem as diretrizes para a subdivisão do SNA em simpático e parassimpático. A divisão simpática, também conhecida por divisão toracolombar, contém neurônios pré-ganglionares emanados da coluna vertebral ao nível da primeira vértebra torácica (T1), até a segunda vértebra lombar (L2); inervando músculos lisos e glândulas da cabeça e do pescoço. Já a divisão parassimpática, também denominada divisão craniossacral, contém neurônios pré-ganglionares emanados do encéfalo e do segundo, terceiro e quarto segmentos sacrais da medula espinhal; os quais inervam a metade inferior do intestino grosso, reto e sistemas urinário e genital.

Reflita

O que acontece com um órgão efetor autônomo na ausência de estimulação nervosa? Este efeito é igual ao observado quando da ausência de estimulação nervosa em um órgão efetor somático?

Quando seus nervos motores são cortados, os músculos esqueléticos entram em um estado de paralisia flácida; diferentemente dos efetores involuntários, os quais são um pouco independentes de suas inervações. Na ausência de estimulação nervosa, os músculos lisos mantêm um tônus de repouso (tensão); e a lesão de um nervo autônomo torna o músculo alvo mais sensível que o normal para agentes estimulantes. Músculo cardíaco e muitos músculos lisos, além de tônus muscular intrínseco, apresentam contração rítmica mesmo na ausência de estimulação nervosa; em resposta a potenciais de ação iniciados pelos próprios músculos.

A maioria dos neurônios pós-ganglionares simpáticos libera o neurotransmissor noradrenalina (norepinefrina); e, portanto, as transmissões nessas sinapses são denominadas adrenérgicas – com exceção de alguns neurônios simpáticos que inervam vasos sanguíneos nos músculos esqueléticos e neurônios simpáticos das glândulas salivares; os quais liberam acetilcolina. Em contrapartida, todos os neurônios pré-ganglionares (simpáticos e parassimpáticos) liberam o neurotransmissor acetilcolina; também liberado por todos os neurônios parassimpáticos pós-ganglionares em sinapses com células efetoras – sendo, portanto, as transmissões nessas sinapses denominadas colinérgicas. Um impulso nervoso que chega ao axônio terminal de um neurônio pré-sináptico induz a liberação de acetilcolina (ACh) na fenda sináptica da junção neuromuscular. Quando esse neurotransmissor alcança os receptores para acetilcolina (AChR) na membrana pós-sináptica, inicia-se a atividade fisiológica no interior da fibra muscular que resulta em contração.

Sem medo de errar

Após ser diagnosticada com miastenia grave, Fernanda tem permanecido boa parte do tempo em repouso, para a restauração parcial da força; temendo que a doença evolua para a forma

progressiva, na qual a fraqueza muscular fica continuamente mais acentuada, podendo levá-la a óbito. Fernanda procurou saber, então, qual é o efeito neurológico desta produção de anticorpos contra os receptores nicotínicos da acetilcolina localizados na membrana pós-sináptica e descobriu que a mesma causa um **defeito na transmissão dos impulsos nervosos na junção neuromuscular**. Um impulso nervoso que chega ao axônio terminal de um neurônio pré-sináptico induz a liberação de acetilcolina (ACh) na fenda sináptica da junção neuromuscular. Quando esse neurotransmissor alcança os receptores para acetilcolina (AChR) na membrana pós-sináptica, inicia-se a atividade fisiológica no interior da fibra muscular que resulta em contração. Pacientes com miastenia grave são incapazes de manter a contração prolongada porque os anticorpos ligam-se aos AChR e induzem sua degradação; diminuindo o número de AChR e, consequentemente, a chance de ACh encontrar um receptor antes de ser hidrolisada pela enzima acetilcolinesterase (AChE). Além disso, mudanças morfológicas, como alteração na geometria da placa motora, redução das dobras juncionais e alargamento da fenda sináptica também ocasionam a difusão da ACh para longe da fenda, diminuindo sua probabilidade de interagir com receptores funcionais ainda presentes. Essas mudanças interferem na transmissão dos impulsos nervosos, porque tornam a ACh menos eficaz na estimulação da placa motora; resultando em uma contração não adequada do músculo esquelético. O tratamento da doença visa à remissão prolongada dos sintomas, principalmente por meio da utilização de **anticolinesterases** – drogas que inibem a degradação enzimática de ACh pela AChE e tornam o potencial excitatório pós-sináptico maior e dramaticamente prolongado. Outras formas de tratamento incluem a utilização de imunossupressores (inibem a proliferação celular, suprimindo a imunidade celular e humoral) e de gama globulina intravenosa (supondo-se que haja um bloqueio dos anticorpos por inibição competitiva, deixando os AChR livres); diminuição da produção de anticorpos contra AChR por um mecanismo de feedback negativo; utilização da técnica de plasmaferese (reversão das manifestações da doença nos episódios mais graves, produzindo uma redução rápida dos níveis de anticorpos contra AChR); remoção cirúrgica de timoma e timectomia.

Avançando na prática

Trabalhador borrifado

Descrição da situação-problema

Rogério, um trabalhador rural de 35 anos, estava em campo quando um avião pulverizador de colheitas o sobrevoou. Uma hora depois, o trabalhador começou a apresentar visão turva, salivação excessiva e nariz escorrendo; evoluindo, em poucos minutos, para náuseas, vômitos, câimbras abdominais e tosse com bastante muco. Ao ser levado para o hospital mais próximo, foi diagnosticado com envenenamento por organofosfato. Avalie os sintomas apresentados por Rogério, descrevendo a resposta normal dos órgãos individualmente a estímulos parassimpáticos, e sugira um possível tratamento para o problema.

Resolução da situação-problema

A síndrome da intoxicação por organofosfato, desenvolvida por Rogério, é caracterizada por sintomas perigosamente intensos de atividade parassimpática. Se a vítima não for capaz de limpar as secreções de suas vias aéreas, poderá ser levada a óbito por consequência de sufocação. Compostos pertencentes à categoria dos organofosforados atuam inibindo a acetilcolinesterase (AChE); consequentemente provocando um acúmulo de acetilcolina (ACh) e desencadeando uma série de respostas à estimulação colinérgica. Diante de uma estimulação parassimpática o músculo ciliar se contrai, relaxando o ligamento do cristalino, o qual se torna mais esférico, aumentando seu poder de acomodação para perto e, consequentemente, ocasionando visão turva para longe. As glândulas salivares, por sua vez, são estimuladas a aumentar sua secreção; ocasionando salivação excessiva. No sistema respiratório, a ACh provoca broncoconstrição, aumentando as secreções brônquicas e desencadeando crises asmáticas. Por fim, no sistema urinário, a ACh provoca contração da parede da bexiga, consequentemente reduzindo sua capacidade; enquanto que no trato gastrointestinal, provoca aumento da motilidade e do tônus da musculatura lisa, ocasionando náuseas, vômitos e câimbras abdominais. Uma possível terapia inclui a administração

de **antagonistas de receptores parassimpáticos**, como atropina e pralidoxima, que reativam a AChE e, consequentemente, diminuem o acúmulo de ACh e seus respectivos efeitos.

Faça valer a pena

1. O Sistema Nervoso (SN) é o sistema que controla e coordena as funções de todos os outros sistemas do organismo – podendo ser dividido em Sistema Nervoso Central (SNC), Sistema Nervoso Periférico (SNP) e Sistema Nervoso Autônomo (SNA). Analise as afirmativas a seguir, a respeito do Sistema Nervoso:

I. O SNC é constituído pelo encéfalo, pela medula espinhal e pelos nervos.
II. O SNP é responsável pelo processamento de informações.
III. O SNP é constituído por nervos, gânglios e terminações nervosas.
IV. Reações de modo rápido a estímulos do meio externo não são efetuadas pelo SN.
V. O SNA é responsável pela condução dos estímulos ao SNC e condução das respostas até os órgãos efetuadores.

Assinale a alternativa que contém as afirmativas corretas.

a) I, somente.
b) III, somente.
c) I, III e V.
d) II, III, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

2. O sistema nervoso é o sistema mais complexo do corpo humano, atuando como uma rede de comunicações e constituído por um conjunto de órgãos capazes de captar estímulos e interpretá-los; desencadeando respostas na forma de movimentos, sensações ou constatações. Analise as afirmativas a seguir, a respeito desse sistema:

I. Ambas as fibras nervosas do sistema motor somático e do sistema nervoso autônomo parassimpático são axônios de neurônios cujo corpo celular encontra-se em núcleos do córtex frontal.
II. A partir da medula, são desenvolvidos 31 segmentos que dão origem aos respectivos pares de nervos espinhais.
III. Receptores sensitivos são estruturas especializadas em traduzir informações de estímulos que chegam ao corpo humano, iniciando

potenciais de ação que geram respostas a esses estímulos. Encontramos receptores somestésicos em todas as partes do corpo, exceto no cérebro.
IV. Durante a locomoção, realizamos movimentos musculares voluntários e involuntários. Na execução do movimento voluntário, a via mais importante é o trato corticoespinhal; originado exclusivamente no córtex sensorial.
V. O hipotálamo possui funções relacionadas ao equilíbrio postural.

Assinale a alternativa que contém as afirmativas corretas.

a) I, somente.
b) II, somente.
c) II e III.
d) I, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

3. Embora participe, em parte, do sistema nervoso central e do sistema nervoso periférico, o Sistema Nervoso Autônomo (SNA) atua de maneira independente e sem o controle consciente do indivíduo; sendo que os nervos autônomos motores inervam órgãos cujas funções geralmente não se encontram sob controle voluntário. A origem dos neurônios pré-ganglionares e a localização dos gânglios autônomos fornecem as diretrizes para a subdivisão do SNA em simpático e parassimpático. Analise as asserções a seguir:

I. No SNA, as vias simpáticas induzem reações orgânicas maciças, mediadas principalmente por noradrenalina; enquanto que as vias parassimpáticas possuem ações mais pontuais, mediadas principalmente por acetilcolina.
PORQUE
II. Há um elevado grau de convergência nas sinapses entre os neurônios nos circuitos simpáticos.

A respeito dessas asserções, assinale a alternativa correta.

a) As asserções I e II são proposições verdadeiras, e a II é uma justificativa da I.
b) As asserções I e II são proposições verdadeiras, mas a II não é uma justificativa da I.
c) A asserção I é uma proposição verdadeira, e a II é uma proposição falsa.
d) A asserção I é uma proposição falsa, e a II é uma proposição verdadeira.
e) As asserções I e II são proposições falsas.

Seção 1.3

Fisiologia

Diálogo aberto

A miastenia grave pode injuriar qualquer músculo esquelético; entretanto, músculos inervados por nervos cranianos – principalmente nervos situados nos núcleos do bulbo – parecem ser os mais prejudicados; culminando em visão dupla, ptose palpebral, dificuldade de deglutição, comprometimento da fala e acometimento da respiração. Apresentando complicações respiratórias, Fernanda decidiu procurar a ajuda de um Fisioterapeuta quando soube que a fisioterapia traz diversos benefícios aos pacientes miastênicos; resultando em melhoria da qualidade de vida. O Treinamento Muscular Respiratório (TRM), por exemplo, auxilia na redução da falta de ar, retarda as crises respiratórias e fortalece a musculatura do sistema respiratório, diminuindo assim a fadiga. Relembrando os conhecimentos já adquiridos, você seria capaz de responder quais são os músculos envolvidos na respiração e explicar como acontece esse processo fisiológico? Para ajudar em suas respostas, você deve ler o livro didático dando ênfase ao conteúdo sobre fisiologia da respiração.

Vamos lá?

Não pode faltar

As **membranas** são os componentes celulares mais importantes, envolvendo as células e as separando do meio extracelular. A membrana plasmática atua como uma barreira; permitindo que a célula mantenha uma composição química própria, diferente da presente no meio externo. Essa capacidade de controlar a entrada e a saída de substâncias é denominada permeabilidade seletiva. A entrada e saída das substâncias pode se dar por sua passagem através da membrana ou por seu envolvimento e captura pela membrana. No primeiro caso, pode ou não haver consumo de energia por parte da célula para que o transporte aconteça (transporte ativo ou

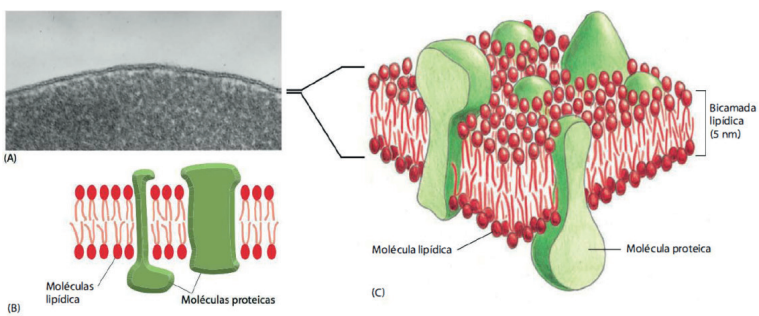
passivo, respectivamente). No segundo caso, há consumo de energia independentemente do tamanho e da natureza das substâncias.

O transporte ativo demanda consumo energético por ser um processo no qual as substâncias atravessam a membrana plasmática do meio menos concentrado para o mais concentrado, contrariamente à tendência natural do transporte passivo. O transporte passivo compreende a difusão simples, a osmose e a difusão facilitada. Na difusão simples, partículas movem-se naturalmente do meio de maior concentração para o de menor concentração, até que ambos se igualem. Osmose é a difusão de moléculas de água, do meio de maior concentração de água para o meio de menor concentração. Por fim, difusão facilitada é o meio pelo qual açúcares simples e aminoácidos atravessam a membrana plasmática, com a ajuda de moléculas transportadoras específicas para a substância transportada.

Assimile

A membrana plasmática é constituída por uma bicamada lipídica, com as cadeias apolares (hidrofóbicas) voltadas para o interior da membrana e as extremidades polares (hidrofílicas) voltadas para a superfície. Proteínas integrais encontram-se inseridas na camada lipídica, atravessando-a totalmente (proteínas transmembrana); enquanto que proteínas periféricas se encontram ancoradas à superfície da membrana e não a penetram. Muitas das proteínas integrais formam canais pelos quais moléculas de água e substâncias hidrossolúveis conseguem se difundir entre os líquidos intra e extracelular.

Figura 1.8 | Estrutura da membrana plasmática



Fonte: Alberts et al. (2010, p. 618).

A diferença entre as concentrações iônicas nos lados interno e externo da membrana podem criar, sob condições adequadas, o que denominamos potencial de membrana. Todas as membranas celulares contêm uma bomba de sódio (Na^+) e potássio (K^-); que carrega íons Na^+ para o exterior da célula e íons K^- para o interior. Entretanto, mais íons Na^+ são transportados para fora que íons K^- para dentro; gerando um potencial negativo no interior da célula pelo déficit de íons positivos. Quando não estão transmitindo sinais nervosos, o potencial no interior das membranas dos **nervos** mais calibrosos (potencial de repouso) é de cerca de 90 mV mais negativo que o potencial no lado de fora da fibra; isto é, no líquido extracelular.

Os sinais nervosos são transmitidos através de rápidas mudanças do potencial de membrana (potenciais de ação), que se propagam totalmente e com grande velocidade pela membrana da fibra nervosa. Para a condução do sinal nervoso, o potencial de ação percorre a fibra até atingir sua extremidade final. O potencial de ação somente ocorrerá se houver uma elevação inicial no potencial de membrana, suficientemente forte para gerar um *feedback* positivo: maior quantidade de íons Na^+ para dentro da célula em relação à de íons K^- para fora da célula – sendo necessário um aumento repentino entre 15 e 30 mV; ou seja, o potencial de membrana de uma fibra nervosa calibrosa, por exemplo, deve passar de -90 mV para cerca de -65 mV (limiar de estimulação) para que ocorra o potencial de ação. No geral, um potencial de ação provocado em um ponto qualquer da membrana excita suas porções adjacentes e resulta na propagação deste potencial por toda a membrana.

Aprofundando um pouco mais o que vimos na Seção 1.1, a respeito dos **músculos** e da contração muscular, os potenciais de ação então se propagam através do nervo motor, até atingirem suas terminações nas fibras musculares. Em cada uma das terminações, o nervo libera uma quantidade pequena de acetilcolina (ACh); a qual age localmente na membrana da fibra muscular, abrindo múltiplos canais de cátions regulados pela ACh. Essa abertura possibilita a passagem de uma grande quantidade de íons Na^+ para o interior da membrana das fibras; causando uma despolarização a qual, por sua vez, induz à abertura de canais de Na^+ dependentes de voltagem, desencadeando o potencial de ação na membrana. O potencial de ação percorre toda a membrana da fibra muscular, assim como ocorre na fibra nervosa, e despolariza a membrana do músculo;

assim, boa parte da eletricidade do potencial de ação migra para o centro da fibra e induz a liberação, pelo retículo sarcoplasmático, de grande quantidade de cálcio (Ca^{2+}) ali armazenado. Em seguida, os íons Ca^{2+} ativam as forças de atração entre os miofilamentos de actina e miosina, fazendo-os deslizarem de um lado para o outro. Após uma fração de segundo, os íons Ca^{2+} são enviados de volta ao retículo sarcoplasmático pela bomba de Ca^{2+} da membrana; permanecendo armazenados até que se inicie um novo potencial de ação. A remoção dos íons Ca^{2+} dos miofilamentos constitui o fator determinante para o encerramento do mecanismo de contração muscular.

Pesquise mais

Se a contração muscular somente é encerrada quando da recaptação dos íons Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático, o que aconteceria se esses íons ficassem "presos" nos miofilamentos? Confira sua resposta lendo o artigo de SCHIMITT, J. W. [et al.]. Câimbra: uma análise com base nos conceitos de fisiologia e biofísica. **Coleção Pesquisa em Educação Física,** Várzea Paulista, v. 15, n. 03, p. 35-42, 2016. Disponível em: <https://goo.gl/c7YPYw>. Acesso em: 15 abr. 2018.

O controle nervoso da **circulação** é realizado quase que totalmente através do sistema nervoso autônomo. Fibras nervosas vasomotoras simpáticas partem da medula espinhal através dos nervos espinhais torácicos e primeiro ou dois primeiros nervos lombares, atingindo: 1) nervos simpáticos específicos que inervam principalmente a vasculatura das vísceras intestinais e do coração, e 2) segmentos periféricos dos nervos espinhais, distribuídos para a vasculatura das áreas periféricas. A inervação de pequenas artérias e arteríolas possibilita estimulação simpática para aumento da resistência ao fluxo sanguíneo e, consequentemente, diminuição da velocidade do fluxo pelos tecidos. Já a inervação de vasos maiores (veias, particularmente), possibilita estimulação simpática para sua diminuição de volume; impulsionando o sangue para o coração e atuando na regulação do bombeamento cardíaco. Fibras simpáticas também se dirigem diretamente para o coração; aumentando acentuadamente a atividade cardíaca (aumento da frequência

cardíaca e aumento da força e do volume de bombeamento). Ao contrário, fibras parassimpáticas ocasionam acentuada diminuição da frequência cardíaca e ligeira redução da contratilidade do músculo cardíaco.

Reflita

Vimos que a circulação global é controlada pelo sistema nervoso autônomo, principalmente por meio da atuação da divisão simpática sob os vasos sanguíneos; redistribuindo o fluxo para diferentes áreas do corpo, aumentando ou diminuindo o bombeamento e controlando rapidamente a pressão arterial sistêmica. Quais são os mecanismos locais de controle para ajuste do fluxo sanguíneo a nível tecidual?

A intensidade ou velocidade do fluxo sanguíneo é quase sempre controlada conforme as necessidades teciduais: quando acionados, os tecidos necessitam de maior fornecimento de nutrientes e, portanto, de um fluxo sanguíneo muito maior (até 20 a 30 vezes maior que o de repouso). Microvasos em cada tecido são responsáveis pelo monitoramento contínuo das necessidades teciduais; como disponibilidade de oxigênio e acúmulo de dióxido de carbono, além de disponibilidade de outros nutrientes. Já o débito cardíaco é regulado pela soma dos fluxos teciduais locais: após fluir por um tecido, o sangue retorna ao coração pelas veias; que responde à maior quantidade de sangue bombeando-o de volta para as artérias. Desta forma, o coração responde às demandas teciduais; frequentemente com o auxílio de sinais nervosos que o fazem bombear a quantidade necessária para determinado local.

O controle local do fluxo sanguíneo é realizado através de rápidas variações da vasodilatação ou vasoconstrição de arteríolas e esfíncteres pré-capilares (controle agudo) ou através de variações lentas e controladas do fluxo ao longo de dias, semanas ou meses; resultando em melhor controle do fluxo proporcionalmente às necessidades teciduais (controle a longo prazo). As variações a longo prazo são resultado do aumento ou diminuição nas dimensões físicas dos vasos e do número de vasos sanguíneos que suprem os tecidos. Ainda, a circulação pode ser controlada por substâncias secretadas ou absorvidas pelos líquidos corporais (controle

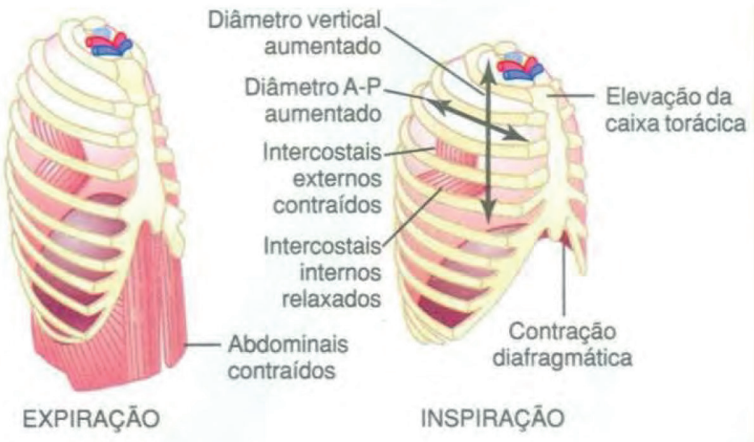
humoral); como hormônios e fatores produzidos localmente. Os principais fatores humorais que afetam a função circulatória são os agentes vasoconstritores (norepinefrina, epinefrina, angiotensina II e vasopressina) e os agentes vasodilatadores (bradicinina e histamina).

Na Seção 1.1, abordamos as funções do sistema respiratório e as estruturas anatômicas que dele fazem parte. Nesta seção, trataremos dos mecanismos fisiológicos envolvidos na **respiração**. Os pulmões são capazes de realizar movimentos de expansão e contração de duas formas: através de movimentos de elevação e depressão do músculo diafragma (elevando ou diminuindo a cavidade torácica) e da elevação e depressão das costelas (elevando ou diminuindo o diâmetro anteroposterior da cavidade). Uma respiração normal, tranquila, é realizada quase que totalmente através do primeiro método: durante a inspiração, o diafragma contrai e puxa as superfícies inferiores dos pulmões para baixo; ao contrário da expiração, quando o diafragma relaxa e a retração elástica dos pulmões, da parede torácica e das estruturas abdominais comprime os pulmões, expelindo o ar. Entretanto, as forças elásticas durante uma respiração vigorosa não são fortes o suficiente para produzir a expiração rápida necessária; sendo assim, essa força extra é obtida principalmente através da contração da musculatura abdominal – a qual empurra o conteúdo abdominal para cima, contra a parte inferior do diafragma, comprimindo os pulmões e expelindo o ar (HALL, 2011).

No segundo método, a elevação da caixa torácica expande os pulmões porque, na posição neutra de repouso, as costelas se inclinam para baixo e possibilitam que o esterno recue em direção à coluna vertebral. Quando a caixa torácica é elevada, as costelas se projetam para frente; movendo também o esterno anteriormente para longe da coluna e aumentando em cerca de 20% o diâmetro anteroposterior do tórax. Os principais músculos elevadores da caixa torácica são os intercostais externos; auxiliados pelos músculos esternocleidomastoideos (elevam o esterno), serráteis anteriores (elevam muitas das costelas) e escalenos (elevam as duas primeiras costelas). Já os principais músculos que deslocam a caixa torácica para baixo são o reto abdominal (puxa as costelas inferiores para baixo, ao mesmo tempo em que comprime o conteúdo abdominal contra o diafragma) e intercostais internos (HALL, 2011).

Exemplificando

Figura 1.9 | Contração e expansão da caixa torácica durante os movimentos respiratórios



Fonte: Guyton e Hall (2006, p. 472).

A pressão do líquido contido na estreita cavidade entre a pleura visceral e a pleura parietal é denominada pressão pleural. No início da inspiração, a pressão pleural é negativa (-5 cm de água; quantidade de sucção necessária para manter os pulmões abertos no estado de repouso). Durante a inspiração normal, a caixa torácica expandida traciona os pulmões para diante com mais força e cria mais pressão negativa (cerca de -7,5 cm de água). Já a pressão alveolar consiste na pressão existente no interior dos alvéolos: para causar o influxo de ar para os alvéolos, durante a inspiração a pressão alveolar deve cair para ligeiramente abaixo da pressão atmosférica (abaixo de zero) (HALL, 2011).

Após os alvéolos serem ventilados com ar atmosférico, a etapa seguinte da respiração envolve a difusão do oxigênio dos alvéolos para o sangue pulmonar e a difusão do dióxido de carbono para fora do sangue. A troca gasosa entre o ar alveolar e o sangue pulmonar não ocorre apenas nos próprios alvéolos; mas sim através das membranas de todas as porções terminais pulmonares, coletivamente denominadas membrana respiratória ou membrana pulmonar. A membrana das hemácias geralmente toca a parede

capilar; não sendo necessário que o oxigênio e o dióxido de carbono atravessem grandes quantidades de plasma enquanto se difundem entre a hemácia e o alvéolo, aumentando a rapidez da difusão (HALL, 2011).

O controle global da intensidade da ventilação alveolar é realizado pelo sistema nervoso, que a ajusta de maneira praticamente precisa conforme as exigências corpóreas. Como vimos na Seção 1.2, o centro respiratório encontra-se na ponte e no bulbo; dividindo-se em três agrupamentos neuronais principais: 1) grupo respiratório dorsal, responsável pela inspiração; 2) grupo respiratório ventral, responsável pela expiração e 3) centro pneumotáxico responsável pelo controle da frequência e da amplitude respiratórias. Além do controle neural, a ventilação é controlada quimicamente de acordo com as necessidades respiratórias do organismo; visando à manutenção de concentrações apropriadas de oxigênio, dióxido de carbono e íons hidrogênio nos tecidos. O oxigênio atua sobre os quimiorreceptores periféricos dos corpos carotídeos e aórticos, os quais transmitem sinais nervosos ao centro respiratório para controle da respiração; enquanto que o excesso sanguíneo de dióxido de carbono ou íons hidrogênio atua de forma direta sobre o centro respiratório, aumentando a intensidade dos sinais motores inspiratórios e expiratórios para músculos respiratórios (HALL, 2011).

Um dos fatores mais essenciais para a manutenção da homeostasia é o controle do volume relativamente constante dos líquidos corporais, através da **fisiologia renal**. A entrada de líquidos no corpo humano é bastante variável, devendo ser combinada cautelosamente com a saída de água; evitando que o volume de líquido corporal aumente ou diminua. A capacidade de alteração da excreção de sódio pelos rins em resposta às alterações na ingestão deste íon é enorme. Além da formação de urina para excreção de derivados nitrogenados tóxicos, como vimos na Seção 1.1, os rins atuam na regulação da pressão arterial e do balanço acidobásico, na regulação da produção de eritrócitos e da forma ativa de vitamina D, e na síntese de glicose durante o jejum prolongado.

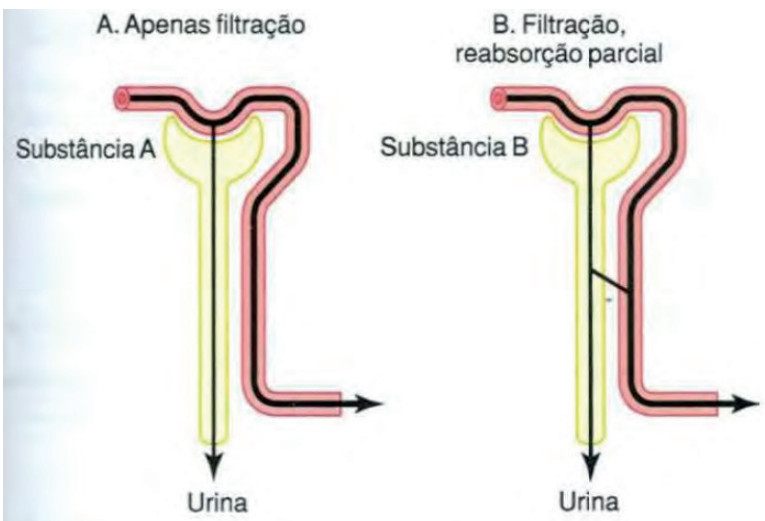
A intensidade com que as substâncias são excretadas na urina depende da intensidade relativa de três processos renais básicos: filtração glomerular, reabsorção e secreção. A maior parte das substâncias presentes no plasma (com exceção das proteínas) é

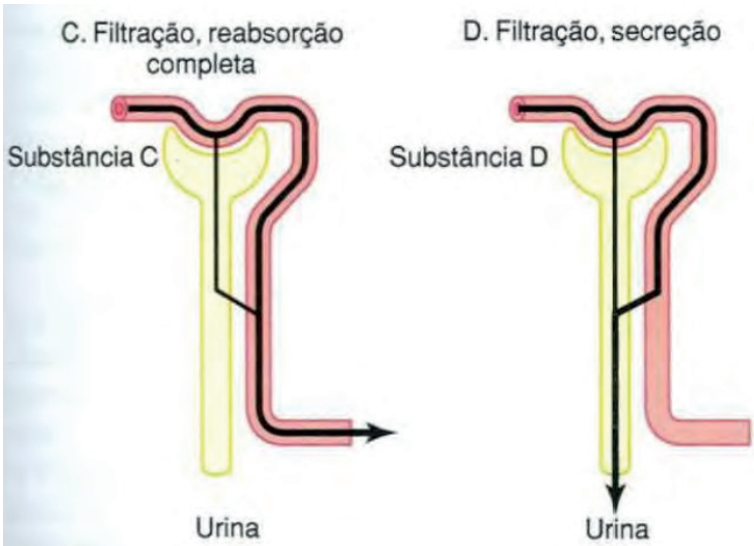
filtrada livremente dos capilares glomerulares para a cápsula de Bowman; de maneira que as concentrações dessas substâncias sejam iguais em ambos os meios. Ao sair da cápsula e fluir pelos túbulos renais, o filtrado sofre modificações pela reabsorção de água e solutos específicos ou pela secreção de outras substâncias.

Assimile

As substâncias podem ser eliminadas de quatro maneiras: a) a substância é livremente filtrada pelos capilares glomerulares e não é reabsorvida ou secretada (intensidade de excreção igual à intensidade filtrada), como é o caso da creatinina; b) a substância é livremente filtrada e parcialmente reabsorvida de volta para a corrente sanguínea (intensidade de excreção menor que a de filtração), como é o caso dos íons sódio e cloreto; c) a substância é livremente filtrada e não excretada por ser totalmente reabsorvida; permitindo sua conservação nos líquidos corporais, como é o caso da glicose e d) a substância é livremente filtrada, não é reabsorvida e quantidades adicionais são secretadas do sangue para os túbulos renais (intensidade de excreção é igual à intensidade da filtração mais a intensidade de secreção), como é o caso dos ácidos e bases orgânicos.

Figura 1.10 | Maneiras pelas quais uma substância pode ser eliminada na urina (depuração renal)





Fonte: adaptada de Guyton e Hall (2006, p. 315).

Sendo assim, as intensidades com que as substâncias são eliminadas na urina representam uma maneira útil de quantificar a eficiência dos rins na excreção dessas substâncias. A depuração renal é, portanto, o volume de plasma totalmente depurado de uma substância pelos rins por unidade de tempo; podendo também ser utilizada para quantificar a intensidade com que o sangue flui pelos rins, além de checar as funções básicas destes órgãos (filtração glomerular, reabsorção tubular e secreção tubular).

O controle do trato **gastrointestinal** é realizado por um sistema nervoso próprio, denominado Sistema Nervoso Entérico (SNE); localizado na parede intestinal, do esôfago até o ânus. O SNE é constituído basicamente por dois plexos: plexo submucoso ou plexo de Meissner (interno, localizado na submucosa) e plexo mioentérico ou plexo de Auerbach (externo, disposto entre as camadas musculares longitudinal e circular). O plexo submucoso controla principalmente a secreção gastrointestinal e o fluxo sanguíneo local; enquanto que o mioentérico controla quase todos os movimentos gastrointestinais. Embora o SNE possa atuar independentemente do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), fibras

extrínsecas simpáticas e parassimpáticas do SNA se conectam aos plexos interno e externo; inibindo ou intensificando as funções gastrointestinais, respectivamente.

Os vasos sanguíneos do trato gastrointestinal fazem parte de uma circulação especial denominada circulação esplâncnica, que inclui o fluxo sanguíneo pelo próprio intestino e os fluxos sanguíneos pelo baço, pâncreas e fígado. Todo o sangue que passa pelo intestino, baço e pâncreas flui através da veia porta diretamente para o fígado; no qual passa por milhões de sinusoides hepáticos (revestidos por células reticuloendoteliais, que removem bactérias e outras partículas possivelmente prejudiciais ao organismo) e, em seguida, segue em direção à veia cava através das veias hepáticas.

Por todo o trato gastrointestinal, há glândulas secretoras com função de digestão enzimática (desde a boca até a porção distal do íleo) e provimento de muco para lubrificar e proteger todas as porções do trato digestório; da boca ao ânus. A maioria dessas secreções é produzida apenas quando da presença de alimento no trato alimentar; e a quantidade liberada normalmente é quase que exatamente a necessária para uma boa digestão. A estimulação simpática dos nervos que inervam o trato gastrointestinal tem efeito duplo na secreção glandular, causando aumento leve a moderado na secreção de algumas glândulas locais; além de comprimir vasos sanguíneos que suprem estas glândulas. Uma vez que a estimulação parassimpática também quase sempre aumenta a secreção glandular, se esta estimulação já estiver resultando em considerável secreção, a estimulação simpática sobreposta à parassimpática, geralmente, apresenta efeito contrário; reduzindo a secreção, às vezes de maneira significativa, especialmente devido à redução do suprimento sanguíneo ocasionado pela vasoconstrição.

Sem medo de errar

Apresentando complicações respiratórias, Fernanda decidiu procurar a ajuda de um fisioterapeuta quando soube que a fisioterapia traz diversos benefícios aos pacientes miastênicos; resultando em melhoria da qualidade de vida. O Treinamento Muscular Respiratório (TRM), por exemplo, auxilia na redução da falta de ar, retarda as crises respiratórias e fortalece a musculatura do sistema respiratório;

diminuindo a fadiga. Os pulmões são capazes de realizar movimentos de expansão e contração de duas formas: através de movimentos de subida e descida do **músculo diafragma** e através da elevação e depressão das costelas. Durante a inspiração, o diafragma contrai e puxa as superfícies inferiores dos pulmões para baixo; ao contrário da expiração, quando o diafragma relaxa e a retração elástica dos pulmões, da parede torácica e das estruturas abdominais comprime os pulmões, expelindo o ar. Entretanto, as forças elásticas durante uma respiração vigorosa não são fortes o suficiente para produzir a expiração rápida necessária; sendo assim, essa força extra é obtida principalmente através da contração da **musculatura abdominal** – a qual empurra o conteúdo abdominal para cima, contra a parte inferior do diafragma, comprimindo os pulmões e expelindo o ar. Concomitantemente aos movimentos diafragmáticos, as costelas se projetam para frente quase diretamente; movendo também o esterno anteriormente para longe da coluna e aumentando em cerca de 20% o diâmetro anteroposterior do tórax. Os principais músculos que elevam a caixa torácica são os **intercostais externos**; auxiliados pelos **músculos esternocleidomastoideos**, **serráteis anteriores** e **escalenos**. Já os principais músculos que puxam a caixa torácica para baixo são o **reto abdominal** e os **intercostais internos**. Após os alvéolos serem ventilados com ar atmosférico, a etapa seguinte da respiração envolve a **difusão do oxigênio dos alvéolos para o sangue pulmonar e a difusão do dióxido de carbono para fora do sangue**. A troca gasosa entre o ar alveolar e o sangue pulmonar não ocorre apenas nos próprios alvéolos; mas sim através das membranas de todas as porções terminais pulmonares, coletivamente denominadas membrana respiratória ou membrana pulmonar. A membrana das hemácias geralmente toca a parede capilar; não sendo necessário que o oxigênio e o dióxido de carbono atravessem grandes quantidades de plasma enquanto se difundem entre a hemácia e o alvéolo, aumentando a rapidez da difusão.

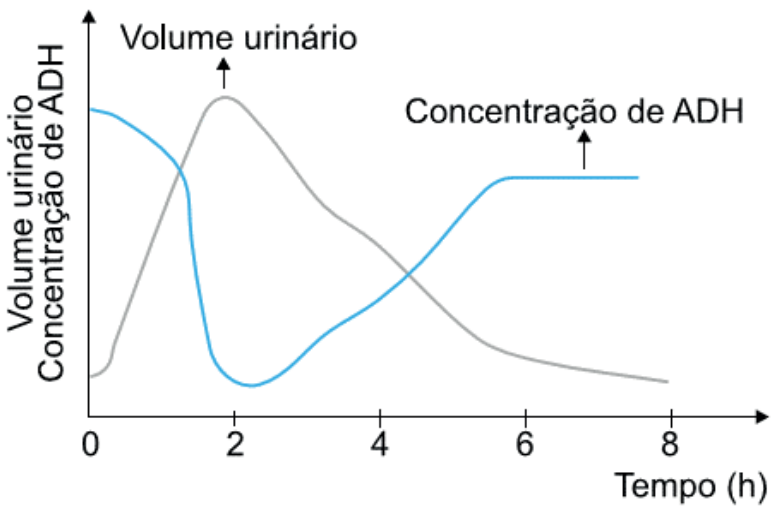
Avançando na prática

Maratona renal

Descrição da situação-problema

Guilherme é um jovem de 27 anos bastante ativo, que adora praticar esportes nas horas vagas. Um de seus esportes prediletos é a corrida; à qual Guilherme se dedicou muito nos últimos meses, para participar de sua primeira maratona. Na noite anterior à prova, o jovem foi dormir mais cedo para acordar bem descansado e concentrado; mas no dia seguinte, acordou tão empolgado que mal tomou café e partiu para o local do evento, esquecendo-se de levar uma garrafinha com água para ingerir aos poucos durante a corrida. Após três horas, tempo muito bom para uma primeira maratona, Guilherme completou seu desafio; e cansado, com muita sede, o jovem ingeriu dois litros de água em um intervalo de duas horas. Se fizéssemos uma relação das variações do volume urinário e da concentração do hormônio antidiurético (ADH) no sangue do jovem, em função do tempo, obteríamos o seguinte gráfico:

Figura 1.11 | Volume urinário e concentração de ADH por tempo



Fonte: <https://www.exerciciosweb.com.br/fisiologia/sistema-urinario-questoes-respondidas-02/>. Acesso em: 15 abr. 2018.

A partir da análise do gráfico, o que podemos concluir sobre a relação volume urinário *vs*. concentração de ADH? Qual a função deste hormônio na regulação da osmolaridade do líquido extracelular, e consequente excreção de urina?

Resolução da situação-problema

Analisando o gráfico, podemos concluir que o volume urinário é **inversamente proporcional** à concentração de ADH. O ADH, também conhecido por vasopressina, faz parte de um sistema de feedback bastante eficaz na regulação da osmolaridade e da concentração de sódio no plasma; atuando na **excreção renal de água independentemente da excreção de solutos**. Quando há um excesso de água no corpo e, portanto, diminuição da osmolaridade, a hipófise posterior diminui a secreção de ADH, consequentemente reduzindo a permeabilidade à água dos túbulos distais e ductos coletores; levando à excreção de grande quantidade de urina diluída. Frente a um grande excesso de água, o rim é capaz de excretar 20 litros de urina diluída por dia, com concentração tão baixa quanto 50 mOsm/L; mantendo a reabsorção de solutos ao mesmo tempo em que deixa de reabsorver a maior parte da água.

Faça valer a pena

1. Respiração é o termo que designa três funções separadas, porém relacionadas entre si: ventilação (respiração propriamente dita), troca de gases (oxigênio e gás carbônico) e utilização de oxigênio. A ventilação e as trocas de gases entre o ar e o sangue são denominadas coletivamente de *respiração externa*; enquanto que as trocas de gases entre o sangue e os demais tecidos do organismo são chamadas de *respiração interna*.

A respiração é caracterizada por processos inspiratórios e expiratórios. Durante o processo inspiratório, o diafragma:

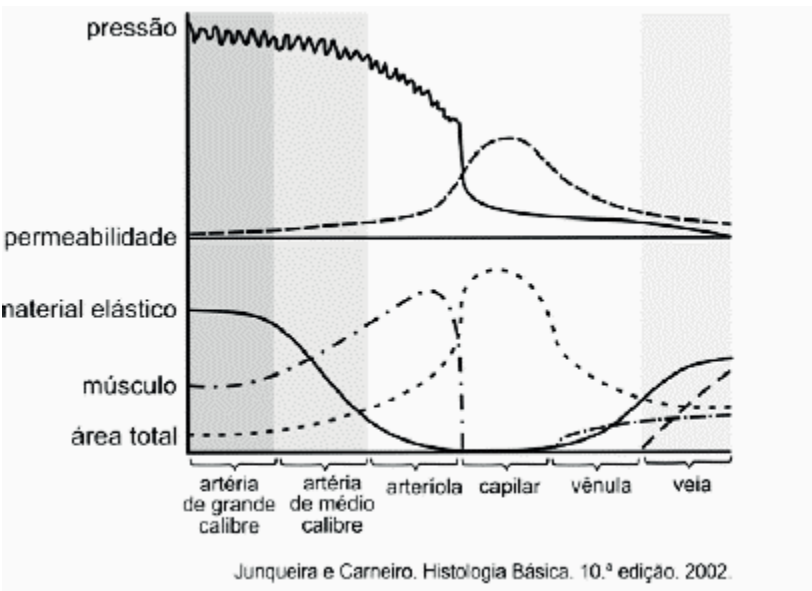
a) Contrai e a pressão pleural torna-se mais negativa.
b) Contrai e a pressão pleural torna-se positiva.
c) Contrai e a pressão pleural torna-se nula.
d) Relaxa e a pressão pleural torna-se positiva.
e) Relaxa e a pressão pleural torna-se subatmosférica.

2. A intensidade com que as substâncias são excretadas na urina depende da intensidade relativa de três processos renais básicos: filtração glomerular, reabsorção tubular e secreção. Essa intensidade representa uma maneira útil de quantificar a eficiência dos rins na excreção de substâncias.

A mensuração da depuração plasmática de creatinina quantifica:

a) O ritmo de secreção de creatinina.
b) O poder de concentração de urina pela medula renal.
c) O ritmo de filtração glomerular.
d) O ritmo de reabsorção tubular de creatinina.
e) O poder de diluição da urina pelos segmentos distais dos rins.

3. A inervação de pequenas artérias e arteríolas possibilita estimulação simpática para aumento da resistência ao fluxo sanguíneo e, consequentemente, diminuição da velocidade do fluxo pelos tecidos. Já a inervação de vasos maiores (veias, particularmente), possibilita estimulação simpática para sua diminuição de volume; impulsionando o sangue para o coração e atuando na regulação do bombeamento cardíaco. Analise o gráfico a seguir, que demonstra a relação entre as características da circulação sanguínea e a estrutura dos vasos:



Fonte: SEDUC/CE, (2013).

Considerando-se o gráfico apresentado, assinale a alternativa correta.

a) À medida que se aproxima do coração, a pressão do sangue venoso torna-se maior.
b) A quantidade de células musculares é proporcional ao diâmetro do vaso sanguíneo.
c) Quanto maior o diâmetro do vaso, maior será a regulação do fluxo sanguíneo.
d) O fluxo sanguíneo percorre toda a rede capilar devido à presença de células musculares nos capilares.
e) Os vasos sanguíneos que apresentam a maior permeabilidade são os que efetuam as trocas gasosas entre o sangue e os tecidos.

Referências

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 618.

DÂNGELO, J. G.; FATTINI, C. A. Sistema Nervoso. In: _____. **Anatomia Humana Sistêmica e Segmentar**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. cap. 5, p. 52-71.

ENADE 2006 – **Biomedicina**. Disponível em: <http://download.inep.gov.br/download/enade/2006/Provas/PROVA_DE_BIOMEDICINA.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.

ENADE 2007 – **Biomedicina**. Disponível em: <http://download.inep.gov.br/download/enade/2007/provas_gabaritos/prova.biomedicina.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.

ESPERIDIÃO-ANTONIO, V. et al. Neurobiologia das emoções. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 55-65, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rpc/v35n2/a03v35n2>. Acesso em: 6 abr. 2018.

GILROY, A. M. **Atlas de Anatomia**. 2. ed. – [Reimpr.] – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 627.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 472.

HALL, J. E. O Transporte de Substâncias através das Membranas Celulares. In: _____. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. cap. 4, p. 45-57.

IBFC – Polícia Científica do Estado do Paraná, Edital 01/2017 – **Auxiliar de Necropsia e Auxiliar de Perícia**. Disponível em: <https://s3.amazonaws.com/files-s3.iesde.com.br/resolucaoq/prova/prova/41423.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.

LAROSA, P. R. R. **Anatomia Humana**: Texto e Atlas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 176.

MACHADO, A. B. M. Anatomia Macroscópica da Medula Espinhal e seus Envoltórios. In: _____. **Neuroanatomia Funcional**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2006.

NETTER, F. H. **Atlas de Anatomia Humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 210.

VAN DE GRAAFF, K. M. Tecido Nervoso e Sistema Nervoso Central. In: _____. **Anatomia Humana**. Barueri, SP: Manole, 2003.

UFPR Edital Nº 04/2014, 116 – **Biomedicina**. Disponível em: <http://www.nc.ufpr.br/concursos_institucionais/provar/2015/116.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2018.

UFRJ Edital Nº 21/2012 – **Biomédico**. Disponível em: <https://concursos.pr4.ufrj.br/images/stories/_concursos_PR4/edital-21-2012/Provas_e_Gabaritos/08-Biomdico.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.

Biologia do desenvolvimento

Convite ao estudo

Prezado aluno,

Nesta unidade, vamos relembrar os principais conceitos da reprodução humana e compreender o desenvolvimento embrionário e fetal, além de conhecer os principais processos relacionados ao desenvolvimento e os mecanismos genéticos moleculares e celulares correspondentes. Seus objetivos ao final da leitura desta Unidade 2 são: compreender as bases do desenvolvimento embrionário, tais como fertilização, clivagem, implantação, gastrulação e neurulação; bem como as técnicas utilizadas na Medicina Reprodutiva.

Para compreender o assunto e atingir as competências e objetivos da disciplina, vamos analisar uma situação hipotética que se aproxima dos conteúdos teóricos que serão vistos por você nesta unidade. Com a remissão da doença e a melhora da qualidade de vida, proporcionadas pelo tratamento com anticolinesterásicos e pelas sessões de Fisioterapia, Fernanda se animou em realizar seu sonho de ser mãe. A jovem marcou uma consulta com sua ginecologista e saiu do consultório bastante confiante ao saber de diversos casos de sucesso de gravidez em pacientes miastênicas, apesar de se tratar de uma situação delicada e de risco. A especialista explicou que a gravidez e o parto deveriam ser acompanhados com muito cuidado, mas que, no geral, progridem sem complicações. Diante da vontade de Fernanda de tentar parto normal, a médica sugeriu a aplicação profilática de fórceps, para compensar a menor força durante os esforços expulsivos (consequência do enfraquecimento muscular abdominal) e diminuir a fadiga materna.

No decorrer desta unidade de ensino, você compreenderá a biologia do desenvolvimento. Na Seção 2.1, abordaremos os mecanismos reprodutivos e o período compreendido entre a primeira e a oitava semanas do desenvolvimento embrionário. Já na Seção 2.2, conheceremos os eventos que ocorrem durante a nona semana do desenvolvimento até o nascimento. Por fim, na Seção 2.3, trataremos das técnicas utilizadas na Medicina Reprodutiva. Vamos lá?

Seção 2.1

Embriologia

Diálogo aberto

Após alguns meses de tratamento, Fernanda engravidou por meio da técnica de fertilização *in vitro*. Seus familiares ficaram radiantes com a notícia e redobraram a atenção e os cuidados com a jovem, para que tudo ocorresse da melhor maneira possível. Laurinha, sobrinha de Fernanda, adorou a ideia de ter uma prima, pois é filha única e não tem com quem brincar. A garotinha fez à sua tia a famosa pergunta "de onde vêm os bebês?" e ouviu a clássica resposta sobre as cegonhas! Como você responderia para um adulto a pergunta de Laurinha? Ao ouvir de sua médica que abortos espontâneos são bastante frequentes durante a primeira semana do desenvolvimento embrionário, Fernanda procurou saber qual é a causa mais comum desse processo. E você, sabe qual é? Outra preocupação da jovem foi em relação ao tratamento com anticolinesterásicos, uma vez que drogas e outros agentes podem causar anomalias no embrião se presentes no sangue materno durante a terceira semana do desenvolvimento, atingindo a corrente sanguínea do embrião através da placenta. Neste caso, quais órgãos você acredita serem mais susceptíveis?

Não pode faltar

Embriologia é a área da Biologia que estuda a origem e o desenvolvimento do ser humano, desde o seu estágio de zigoto até o seu nascimento. Os avanços das técnicas de Biologia Molecular levaram à expansão de técnicas sofisticadas para a investigação de diversos problemas relativos ao desenvolvimento, tais como a regulação genética da morfogênese, a expressão de genes específicos e os mecanismos celulares na formação das várias partes do embrião, sendo possível entender como, quando e onde esses genes específicos são ativados e expressos no embrião durante o desenvolvimento normal e anormal.

A **reprodução humana**, sendo sexuada, depende da produção de células especiais denominadas gametas para, após a união dessas células por meio da fecundação, dar origem ao zigoto, a partir do qual se inicia o desenvolvimento embrionário – primeiramente caracterizado apenas por uma sequência de divisões mitóticas seguida de um estágio de diferenciação, no qual formam-se os primeiros tecidos e órgãos. Os gametas são produzidos pelas gônadas (testículos e ovários) e as gametogêneses masculina e feminina constituem processos muito semelhantes, diferindo basicamente quanto ao tamanho das células e o número de gametas férteis resultantes.

Antes da puberdade, as espermatogônias (células primordiais) permanecem dormentes nos túbulos seminíferos dos testículos; até que, na puberdade, aumentam em quantidade, crescem e sofrem mudanças gradativas até se tornarem espermatócitos primários. Estes, por sua vez, passam por uma divisão meiótica e formam dois espermatócitos secundários haploides, os quais também passam por uma divisão meiótica, formando quatro espermátides haploides – gradualmente transformadas em quatro espermatozoides maduros durante a espermiogênese. Quando a espermiogênese se completa, os espermatozoides entram na cavidade dos túbulos seminíferos e se movem para o epidídimo, onde se tornam funcionalmente maduros e permanecem armazenados até o momento da ejaculação.

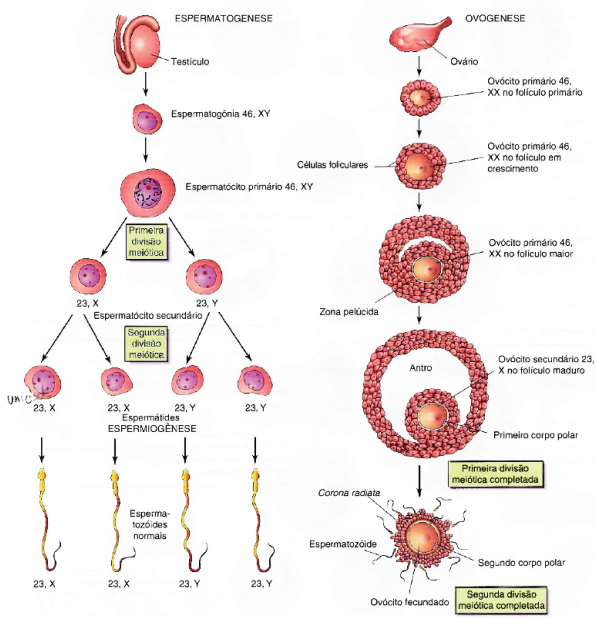
Assim como a espermatogênese, a maturação das oogônias (oócitos primordiais) em oócitos, sequência de eventos denominada oogênese, tem início durante o período fetal, mas não se completa após a puberdade. Durante a vida fetal precoce, a oogônia se prolifera por mitose e aumenta de tamanho para formar oócitos primários, os quais permanecem em prófase até a puberdade – completando a primeira divisão meiótica (na qual são formados um oócito secundário e o primeiro corpo polar) logo após a ovulação, etapa em que o núcleo do oócito secundário inicia a segunda divisão meiótica, progredindo apenas até a metáfase. Esta segunda divisão se completa se o oócito secundário for fecundado por um espermatozoide, formando um segundo corpo polar. Os hormônios foliculoestimulante (FSH) e luteinizante (LH) produzem alterações cíclicas nos ovários (desenvolvimento dos folículos, ovulação e formação do corpo lúteo) em conjunto, denominadas ciclo ovariano. Durante cada ciclo, o FSH promove o crescimento

de vários folículos primários, entretanto, geralmente apenas um deles se torna um folículo maduro e se rompe, expelindo o oócito.

Assimile

Na espermatogênese, quatro espermatozoides se formam a partir de um único espermatócito primário, enquanto que, no caso da oogênese, apenas um oócito secundário se forma a partir do processo de maturação do oócito primário. Nota: as oogônias não estão representadas na Figura 2.1, pois se diferenciam em oócitos primários antes do nascimento.

Figura 2.1 | Gametogênese normal



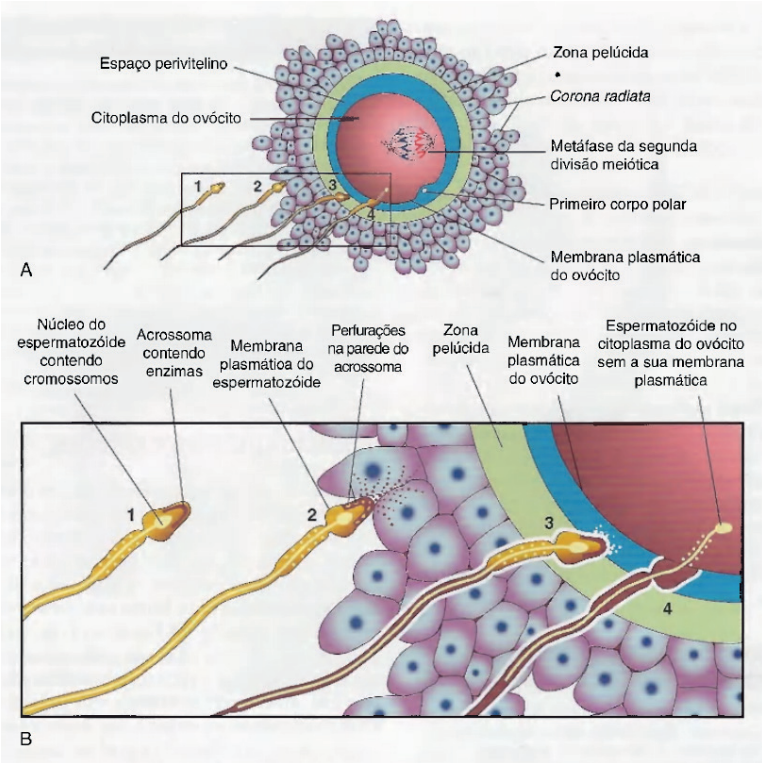
Fonte: Moore e Persuad (2008, p. 17).

O ambiente habitual da fecundação é a ampola tubária. Caso não fecundado nesse local, o oócito percorre lentamente a tuba uterina até a cavidade do útero, na qual se degenera e é reabsorvido. As fases da fecundação consistem em: 1) passagem do espermatozoide através da corona radiata (camada de células foliculares) do oócito; 2) penetração espermática na zona pelúcida, através de um caminho formado pela ação de enzimas liberadas a partir do acrossoma; 3) fusão da membrana plasmática do espermatozoide e do oócito, liberando

o conteúdo dos grânulos corticais e ocasionando mudanças na zona pelúcida (evitando, assim, que outros espermatozoides penetrem); 4) término da segunda divisão meiótica do oócito, formando um oócito maduro e um segundo corpo polar; 5) formação do pronúcleo masculino (aumento de tamanho do núcleo) e degeneração da cauda espermática; e 6) ruptura das membranas pronucleares, condensação e rearranjo dos cromossomos para a divisão celular mitótica e primeira clivagem do zigoto.

Exemplificando

Figura 2.2 | Fecundação: reação acrossômica e penetração do espermatozoide no oócito



Fonte: Moore e Persuad. (2008, p. 32).

A clivagem constitui uma série de repetidas divisões mitóticas do zigoto que se inicia cerca de 30 horas após a fecundação, aumentando rapidamente o número de células (blastômeros). Após o estágio de oito células, os blastômeros se compactam uns aos outros; visando à melhor interação célula-célula e constituindo um pré-requisito para a segregação das células internas que formam a massa interna celular. Quando contém entre 12 e 32 blastômeros, o concepto passa a se chamar mórula, a qual a massa celular interna é envolvida por uma camada de blastômeros achatados que formam o trofoblasto. Após a entrada da mórula no útero, cerca de quatro dias após a fecundação, o líquido uterino atravessa a zona pelúcida e forma a cavidade blastocística (espaço repleto de líquido) no interior da mórula. Com o aumento do líquido na cavidade, os blastômeros são então separados em trofoblasto (células externas delgadas que originam a parte embrionária da placenta) e embrioblasto (grupo de blastômeros que constituem o primórdio do embrião, a partir de agora denominado blastocisto).

Ao final da **primeira semana do desenvolvimento**, o blastocisto encontra-se superficialmente aderido à camada do endométrio, de onde retira seus nutrientes. Os estágios iniciais da implantação blastocística constituem períodos críticos do desenvolvimento que podem não ocorrer de maneira correta devido à produção inadequada de progesterona e estrogênio pelos ovários. Os abortos espontâneos precoces perfazem uma taxa média de 45% e ocorrem por uma série de razões, como a presença de anormalidades cromossômicas.

Reflita

Os blastocistos podem se implantar fora da cavidade uterina, resultando no que chamamos de gestação ectópica. A maioria desse tipo de gestação ocorre na tuba uterina. Dados da América do Norte mostram taxa de aproximadamente uma a cada 200 gestações. Um blastocisto que se implanta no abdome pode desenvolver um feto a termo?

A implantação do blastocisto se completa durante a **segunda semana do desenvolvimento**; quando ocorrem mudanças que geram o disco embrionário que origina as camadas germinativas responsáveis pela formação de todos os tecidos e órgãos do embrião. Nesta fase também são formadas as estruturas

extraembrionárias; tais como a cavidade amniótica, a vesícula umbilical e um saco coriônico. No décimo dia, o embrião encontra-se completamente implantado no endométrio; gerando uma transformação nas células do tecido conjuntivo endometrial denominada reação decidual, a qual resulta em sinalização de AMP cíclico (AMPc) e progesterona. A função primária dessa reação é a promoção de uma área imunologicamente privilegiada para o embrião. O final da segunda semana caracteriza-se pelo aparecimento de vilosidades coriônicas primárias, a primeira etapa do desenvolvimento das vilosidades coriônicas da placenta.

Durante a semana da ausência de período menstrual (cinco semanas após o primeiro dia do último ciclo menstrual normal), ocorre a **terceira semana do desenvolvimento**; sendo essa interrupção na menstruação uma indicação frequente de que a concepção ocorreu. O disco embrionário primordial, bilaminar, é convertido em um disco trilaminar em um processo denominado gastrulação, e cada camada germinativa desse disco (ectoderma, endoderma e mesoderma) origina os tecidos e órgãos específicos. A gastrulação constitui o início da morfogênese – desenvolvimento da forma e estrutura de vários órgãos e partes do corpo, iniciando-se com a formação da linha primitiva, que origina ativamente o mesoderma até o início da quarta semana (quando a produção dessa camada se torna lenta). O ectoderma origina o tecido nervoso e os tecidos de revestimento da pele e da região mais anterior e mais posterior do trato digestório, enquanto que o endoderma origina os demais tecidos de revestimento do trato digestório, das glândulas anexas ao sistema digestório, das glândulas endócrinas e das superfícies respiratórias dos vertebrados. Por fim, o mesoderma origina os tecidos de revestimento das paredes dos vasos sanguíneos e os tecidos muscular, ósseo e conjuntivos.

Ainda durante a terceira semana, forma-se a notocorda: bastão celular que define o eixo do embrião, conferindo-lhe certa rigidez; funciona como base para o desenvolvimento do esqueleto axial e indica a área onde futuramente encontrar-se-ão os corpos vertebrais. A coluna vertebral se forma ao redor da notocorda, e esta degenera e desaparece quando os corpos vertebrais se formam, mantendo-se apenas uma parte, como o núcleo pulposo de cada disco intervertebral. Uma pequena evaginação (alantoide) surge por volta

do 16º dia, com envolvimento no início da formação do sangue e no desenvolvimento da bexiga urinária – além de seus vasos sanguíneos posteriormente se tornarem as artérias e veias umbilicais.

A notocorda também induz o espessamento do ectoderma para a formação da placa neural, que dará origem ao sistema nervoso central. Ao final da terceira semana, pregas neurais começam a se aproximar e se fundirem umas às outras, transformando a placa neural em tubo neural, em um complexo processo (neurulação) que envolve fatores genéticos, mecânicos e extrínsecos. O tubo neural, por sua vez, logo se separa do ectoderma da superfície, o qual se diferenciará na epiderme da pele. Nesta semana do desenvolvimento também se formam os vasos sanguíneos (vasculogênese), os quais se desenvolvem em aproximadamente dois dias. Ao final desta etapa, desenvolvem-se os primórdios de uma circulação uteroplacentária, mas a formação do sangue (hematogênese) somente tem início na quinta semana. O sistema cardiovascular é o primeiro sistema que alcança uma funcionalidade primitiva, cujos batimentos cardíacos podem ser detectados durante a semana seguinte.

Todas as principais estruturas internas e externas se estabelecem entre a quarta e a oitava semanas. No início da **quarta semana do desenvolvimento**, as pregas neurais na região craniana originam o encéfalo primitivo. O embrião apresenta um formato curvo, devido aos dobramentos cefálico e caudal; o coração primitivo forma uma grande proeminência ventral e bombeia sangue. Primórdios das orelhas internas (fossetas óticas) podem ser observadas, assim como as futuras lentes dos olhos (placoides da lente). Durante a **quinta semana do desenvolvimento**, as mudanças no formato corporal são menores; o crescimento da cabeça ultrapassa o crescimento de outras partes e as cristas mesonéfricas indicam o local dos rins mesonéfricos, antecessores dos rins permanentes.

Na **sexta semana do desenvolvimento**, movimentos espontâneos do embrião, como a contorção do tronco e dos membros, podem ser observados, além de respostas reflexas ao toque. Os primórdios dos dedos aparecem e o desenvolvimento dos membros inferiores acontece quatro a cinco dias após o dos membros superiores. Inicia-se a formação da aurícula (parte

em formato de concha da orelha externa), os olhos tornam-se claramente maiores, o tronco passa a ficar ereto e a cabeça permanece enorme em relação ao tronco, apresentando-se curvada em direção à proeminência cardíaca.

Durante a **sétima semana do desenvolvimento**, os membros passam por uma considerável mudança e surgem chanfraduras entre os raios digitais nas placas das mãos, separando, em parte, os futuros dedos. A comunicação entre o intestino primordial e a vesícula umbilical é reduzida a um ducto delgado (ducto onfaloentérico). Por fim, no início da **oitava semana do desenvolvimento** os dedos das mãos tornam-se individualizados, mas ainda apresentam membranas entre si; chanfraduras entre os raios digitais dos pés podem ser observados e o plexo vascular do couro cabeludo aparece. Ainda nesta semana, ocorre pela primeira vez o movimento coordenado dos membros e se inicia a ossificação primária no fêmur, além de desaparecem todas as evidências da eminência caudal. Apesar de o embrião já apresentar características humanas distintas, a cabeça ainda é desproporcionalmente maior e perfaz quase metade do embrião. Os intestinos ainda se encontram na região proximal do cordão umbilical e as aurículas da orelha externa passam a assumir sua forma final, mas ainda localizadas mais abaixo de seu local normal. Por fim, diferenças na genitália externa já estão presentes, embora não significativas o suficiente para uma identificação sexual precisa.

Pesquise mais

A morte celular programada (apoptose) é um mecanismo fisiológico de fundamental importância para a homeostasia dos tecidos orgânicos, bem como, quando desregulada, para a fisiopatologia de grande parte das doenças. Uma vez presente nos ovários e útero, órgãos cruciais para o fenômeno da reprodução humana, o entendimento do papel exercido pela apoptose na regulação celular desses órgãos, e consequentemente na fisiologia da reprodução, permite o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento da infertilidade. Saiba mais sobre o assunto pela leitura do artigo de Pedro Xavier.

XAVIER, P. A. F. Apoptose e Reprodução Humana. **Acta Médica Portuguesa**, n. 15, p. 287-291, 2002. Disponível em: <https://goo.gl/qM2yLc>. Acesso em: 20 abr. 2018.

Sem medo de errar

Após alguns meses de tratamento, Fernanda engravidou por meio da técnica de fertilização *in vitro*. Laurinha, sobrinha de Fernanda, adorou a ideia de ter uma prima, pois é filha única e não tem com quem brincar. A garotinha fez à sua tia a famosa pergunta "de onde vêm os bebês?" e ouviu a clássica resposta sobre as cegonhas! Fisiologicamente, a gravidez pode ocorrer após um ato sexual, quando os espermatozoides são depositados na vagina com o coito e se movem através do útero até chegarem na ampola da tuba uterina, o ambiente habitual da fecundação. **Ao encontrar um oócito maduro, um espermatozoide o penetra por meio de reações enzimáticas que ocorrem na zona pelúcida do oócito**, resultando na fertilização e gerando o zigoto, que posteriormente passa pela etapa de clivagem e atinge o estágio de mórula. Após a entrada da mórula no útero, cerca de quatro dias após a fecundação, o líquido uterino atravessa a zona pelúcida e forma a cavidade blastocística (espaço repleto de líquido) no interior da mórula, separando os blastômeros e dando origem ao primórdio do embrião, denominado blastocisto. Ao final da primeira semana do desenvolvimento, o blastocisto encontra-se superficialmente aderido à camada do endométrio, de onde retira seus nutrientes. Os estágios iniciais da implantação blastocística constituem períodos críticos do desenvolvimento que podem não ocorrer de maneira correta devido à produção inadequada de progesterona e estrogênio pelo corpo lúteo. Os abortos espontâneos precoces perfazem uma taxa média de 45% e ocorrem por uma série de razões, principalmente **presença de anormalidades cromossômicas**. A preocupação de Fernanda em relação ao tratamento com anticolinesterásicos baseia-se no fato de que certos medicamentos podem provocar malformações congênitas se administrados durante a terceira semana do desenvolvimento, como os agentes antineoplásicos, que podem causar graves **defeitos esqueléticos e no tubo neural** (acrania e anencefalia, por exemplo).

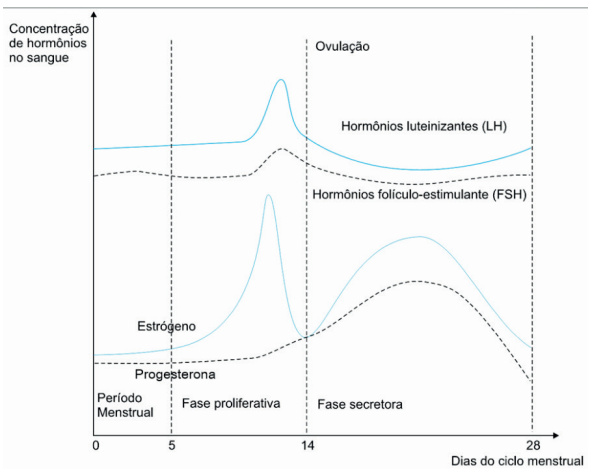
Avançando na prática

Iniciação Sexual

Descrição da situação-problema

Camila, uma adolescente de 14 anos, está passando pela menarca. Sabendo que se trata de uma experiência muitas vezes acompanhada por medo, vergonha e muitos questionamentos, a mãe de Camila acredita ser essencial um bom diálogo com a filha e uma consulta a um(a) ginecologista para a jovem esclarecer todas as dúvidas. Na sala de espera do consultório da Dra. Maria Cristina Biazotti, Camila estava bastante tensa porque uma amiga de escola já havia se consultado e descrito "o quão incômodo era o exame ginecológico". Ao entrar na sala, a especialista alertou Camila sobre a importância de consultas periódicas, as quais auxiliam na prevenção de problemas graves, como anomalias do desenvolvimento, irregularidades do ciclo menstrual e síndrome dos ovários policísticos. Durante a conversa, a médica abordou temas como regularidade menstrual, cólicas, acne, métodos contraceptivos e importância de uma alimentação saudável e prática de atividade física. Ao explicar sobre os hormônios sexuais no sangue durante o ciclo menstrual, a Dra. Biazotti mostrou à paciente o seguinte gráfico:

Figura 2.3 | Níveis dos hormônios sexuais no sangue durante o ciclo menstrual



Fonte: <https://bit.ly/2LIZYt5>. Acesso em: 25 abr. 2018.

Por que a ginecologista disse à jovem que, neste caso, não ocorreu fecundação? Caso esta ocorresse, o que seria observado no gráfico? Onde são produzidos os hormônios esteroides e gonadotróficos envolvidos no fenômeno da menstruação?

Resolução da situação-problema

A médica relatou que não houve fecundação devido à diminuição nos níveis dos hormônios esteroides estrógeno e progesterona. Caso ocorresse a fecundação, a secreção desses hormônios (essenciais à manutenção do endométrio uterino durante a gravidez) seria mantida. Os esteroides são secretados pelos ovários, respectivamente pelo folículo de Graaf e pelo corpo lúteo, enquanto que os gonadotróficos LH e FSH são produzidos na adeno-hipófise e liberados pela estimulação do hormônio liberador de gonadotrofinas, sintetizado pelas células neurossecretoras do hipotálamo.

Faça valer a pena

1. [Adaptado de ENADE 2008 – Biologia] O disco embrionário primordial bilaminar é convertido em um disco trilaminar em um processo denominado gastrulação. Cada camada germinativa desse disco (ectoderma, endoderma e mesoderma) origina os tecidos e órgãos específicos. A gastrulação constitui o início da morfogênese, iniciando-se com a formação da linha primitiva, que origina ativamente o mesoderma até o início da quarta semana do desenvolvimento. Analise as seguintes relações entre os folhetos embrionários e seus respectivos tecidos originados:

I. Ectoderma; tecido epitelial de revestimento.
II. Endoderma; tecido muscular cardíaco.
III. Endoderma; tecido epitelial glandular.
IV. Mesoderma; tecido muscular esquelético.
V. Mesoderma; tecido conjuntivo

Fonte: adaptado de ENADE 2008 – Biologia <https://bit.ly/2mKD6Pb>. Acesso em: 24 jul. 2018.

Assinale a alternativa que contenha as relações corretas.
a) I, apenas.
b) IV, apenas.
c) I, II e V.
d) I, III, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

2. [Adaptado de POLITEC-MT 2017 – Papiloscopista] A reprodução humana, sendo sexuada, depende da produção de células especiais denominadas gametas para, após a união dessas células por meio da fecundação, dar origem ao zigoto, a partir do qual se inicia o desenvolvimento embrionário – primeiramente caracterizado apenas por uma sequência de divisões mitóticas, seguida de um estágio de diferenciação, no qual formam-se os primeiros tecidos e órgãos.

Fonte: adaptado de Perícia Oficial e Identificação Técnica do Mato Grosso – POLITEC; Edital N° 001/2017/SEGES/SESP/POLITEC – Papiloscopista <https://bit.ly/2LJUSN6>. Acesso em: 25 abr. 2018.

Assinale a alternativa correta a respeito do desenvolvimento embrionário.
a) As divisões mitóticas que ocorrem durante a segmentação são denominadas clivagens e as células formadas, pronúcleos.
b) O estágio de diferenciação no qual formam-se os primeiros tecidos e órgãos é caracterizado pela "ativação" de alguns genes.
c) Na gastrulação, formam-se o disco embrionário bilaminar e o blastóporo (abertura para comunicação da cavidade digestiva com o meio externo).
d) A placenta é considerada um anexo embrionário.
e) A notocorda induz o espessamento do mesoderma para a formação da placa neural, que dará origem ao sistema nervoso central.

3. [Adaptado de UEL] A reprodução humana depende da produção dos gametas para originar o zigoto, a partir do fenômeno da fecundação. Os gametas são produzidos pelas gônadas (testículos e ovários) e as gametogêneses masculina e feminina constituem processos muito semelhantes, diferindo em poucos aspectos. Analise as seguintes correspondências entre as duas gametogêneses:

I. Ocorrência de diversos ciclos de mitose nas espermatogônias e ovogônias.
II. Presença de células diploides (espermatócito primário e ovócito primário).
III. Proporcionalidade do número de gametas viáveis resultantes.
IV. Diferença no tamanho das células.
V. Formação de gametas com genótipos distintos (recombinados).

Fonte: adaptado de UEL <https://bit.ly/2O9dN5A>. Acesso em: 25 abr. 2018.

Assinale a alternativa que contenha as correspondências corretas.
a) II, apenas.
b) V, apenas.
c) I, II e V.
d) I, II, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

Seção 2.2

Desenvolvimento fetal

Diálogo aberto

Como era esperado, a gravidez de Fernanda progrediu sem complicações: Alice nasceu de parto normal, às 13h50 do dia 15 de abril, pesando 3.360 g e medindo 42 cm. Entretanto, a garotinha nasceu com um defeito congênito caracterizado por uma alteração ocorrida entre a quarta e a sétima semana do desenvolvimento embrionário, que leva a uma falha na fusão dos processos de um osso do esqueleto da face. Logo após o nascimento, Alice apresentou dificuldades na amamentação, porque, embora possuísse movimentos reflexos de sucção e deglutição íntegros, sua malformação acarretou dificuldade de isolamento da cavidade oral e de estabelecimento de uma pressão negativa para sucção adequada. Você saberia dizer de qual defeito congênito humano Alice é portadora? Existe algum tipo de tratamento para essa anormalidade? O marido de Fernanda a culpa pela malformação presente em Alice. Você acredita que essa anomalia tenha sido herdada provavelmente do lado da família de Fernanda?

Não pode faltar

Na seção anterior, estudamos as principais mudanças que ocorrem entre a primeira e a oitava semana do desenvolvimento. Agora, vamos estudar as principais mudanças da nona semana até o nascimento. No começo da **nona semana do desenvolvimento**, a cabeça ainda constitui quase metade do tamanho fetal; mas a partir de então, inicia-se uma considerável aceleração no crescimento do comprimento do corpo, que faz com que, ao final da décima segunda semana, esse comprimento seja mais que duplicado. Os olhos encontram-se muito separados, a face é larga, as pálpebras estão fundidas e as orelhas mais abaixo do normal.

Na metade da **décima semana do desenvolvimento**, inicia-se o desenvolvimento das unhas das mãos e as alças intestinais podem claramente ser observadas na extremidade proximal do

cordão umbilical; por sua vez, durante a **décima primeira semana**, os intestinos já retornam ao abdome. A formação da urina se dá entre a nona e a **décima segunda semana do desenvolvimento** e é excretada pela uretra no líquido amniótico. O feto reabsorve uma parte desse líquido, ingerindo-o. No final das 12 semanas, a genitália externa se encontra em sua forma fetal madura, sendo possível a distinção do sexo; os membros superiores quase alcançam seu comprimento final relativo enquanto os membros inferiores continuam um pouco curtos.

Entre a décima terceira e a décima sexta semana, o crescimento fetal é muito rápido. Na **décima terceira semana do desenvolvimento**, as células nervosas se multiplicam; as sinapses começam a se formar e o feto já possui reflexos, como o de fechar os dedos se as palmas das mãos forem tocadas. O risco de perder o bebê, após a décima terceira semana, diminui 65% - o que explica muitas mães aguardarem três meses para contar a novidade. Os movimentos dos membros, embora ainda muito discretos para serem percebidos, tornam-se coordenados a partir da **décima quarta semana do desenvolvimento**. Ainda durante esse período, ocorrem lentos movimentos dos olhos e o padrão do couro cabeludo é determinado.

O tato começa a se **desenvolver na décima quinta semana do desenvolvimento**, na qual também surgem receptores de sensibilidade cutânea dos dedos. O feto começa a aprender a sugar, treinando com o líquido amniótico, e já pode sentir gosto. Na **décima sexta semana do desenvolvimento**, a cabeça torna-se relativamente pequena em comparação ao tamanho observado durante a décima segunda semana, e os membros inferiores tornam-se mais compridos. Os ossos podem ser claramente observados por meio de ultrassonografia; os olhos deixam de ocupar uma posição anterolateral na face e passam a ocupar uma posição anterior; no sexo feminino, os ovários se diferenciam e contêm folículos primordiais com ovogônias.

O crescimento fetal fica mais lento a partir da **décima sétima semana do desenvolvimento** até a vigésima semana. Com 17 semanas, o feto já possui sobrancelhas, cabelos e cílios e consegue colocar as mãos na boca, uma de suas "brincadeiras" preferidas. Os movimentos são percebidos pela mãe com mais frequência;

a pele, por sua vez, é coberta por um material gorduroso (verniz caseoso), constituído por epiderme morta e gordura secretada pelas glândulas sebáceas, protegendo a pele contra possíveis rachaduras, abrasões e ressecamentos ocasionados pela exposição ao líquido amniótico. Na **décima oitava semana do desenvolvimento** fetal feminino, o útero encontra-se formado. Em ambos os sexos, as orelhas ocupam seus lugares definitivos e inicia-se a formação das impressões digitais. O líquido amniótico ingerido pelo feto originará a primeira evacuação pós-parto (mecônio).

Os intestinos começam a produzir os sucos gástricos durante a **décima nona semana do desenvolvimento**, na qual também surgem os mamilos. No sexo feminino, vagina, útero e tubas uterinas encontram-se em seus devidos lugares, e no sexo masculino já se torna possível uma boa identificação dos genitais. Os testículos, por outro lado, começam a descer na **vigésima semana do desenvolvimento**, localizando-se ainda na parede abdominal posterior. O feto já apresenta um ciclo de sono e vigília, cujo padrão provavelmente será mantido nos primeiros dias. Entre a **vigésima primeira semana do desenvolvimento** e a vigésima quinta, há um ganho consideravelmente grande de peso. Com 21 semanas, iniciam-se os movimentos rápidos dos olhos, os membros superiores e inferiores tornam-se mais proporcionais e é possível escutar os batimentos cardíacos com o estetoscópio.

Na **vigésima segunda semana do desenvolvimento**, cabelos e sobrancelhas tornam-se mais visíveis, embora ainda curtos e brancos. No feto masculino, os testículos começam a migrar em direção à bolsa escrotal. Acredita-se que durante a **vigésima terceira semana do desenvolvimento**, com a formação dos ossículos do ouvido médio, o bebê já possa ouvir. Os ossos e órgãos ainda podem ser notados sob a pele bastante enrugada, que, a partir de então, começa a se tornar menos transparente. As células epiteliais secretórias dos septos interalveolares dos pulmões começam a secretar o surfactante (lipídio tensoativo com função de manter os alvéolos pulmonares abertos) a partir da **vigésima quarta semana do desenvolvimento**. Entretanto, embora seja possível sobreviver recebendo cuidados intensivos, um feto nascido prematuramente entre a vigésima segunda e a vigésima quinta semanas pode ir a óbito devido à imaturidade do sistema respiratório. Com 24 semanas, as unhas dos dedos

das mãos se desenvolvem completamente. Na **vigésima quinta semana do desenvolvimento**, surgem no interior das gengivas os primórdios dos dentes permanentes, que só aparecerão externamente por volta dos 6 anos de idade. Os órgãos vitais estão todos bem desenvolvidos, com exceção dos pulmões; os últimos a amadurecer.

Entre a **vigésima sexta semana do desenvolvimento** e a vigésima nona semana, os pulmões já alcançaram desenvolvimento suficiente para realizar trocas gasosas adequadamente; sendo frequentemente possível a sobrevivência quando do nascimento neste período. Com 26 semanas, as pálpebras começam a se abrir, os cabelos estão bem desenvolvidos, as unhas dos dedos dos pés se tornam visíveis e o aspecto enrugado da pele diminui, por conta da presença de uma quantidade considerável de gordura subcutânea. Durante a **vigésima sétima semana do desenvolvimento**, o feto ganha um aspecto mais rechonchudo, os pulmões continuam a se desenvolver e as papilas gustativas começam a funcionar. Na **vigésima oitava semana do desenvolvimento**, a grávida pode (e deve!) conversar bastante com seu bebê, que, nesse período, gosta muito de ouvir vozes: a rede neural dos ouvidos está completa, então, ele escuta bem melhor. O feto pesa um terço do peso que provavelmente terá ao nascer e, de vez em quando, ele soluça, podendo a gestante sentir as sacudidelas. A **vigésima nona semana do desenvolvimento** é marcada pelo amadurecimento do sistema nervoso central, que já controla os movimentos respiratórios rítmicos e a temperatura corporal.

Na trigésima semana do desenvolvimento, é possível induzir o reflexo pupilar dos olhos à luz, e geralmente ao final desse período, a pele torna-se lisa e rosada. O cérebro se encontra amadurecido o suficiente durante a trigésima primeira semana do desenvolvimento, possibilitando ao feto lembrar e reconhecer músicas ouvidas com frequência enquanto dentro do útero. Ele agarra as mãos, os pés, os dedos e o cordão umbilical, e gêmeos agarram-se um ao outro. A partir da **trigésima segunda semana do desenvolvimento**, os fetos nascidos prematuramente geralmente sobrevivem; as unhas das mãos finalmente chegam às pontas dos dedos e o ganho de peso vai se tornando mais lento.

A **trigésima terceira semana do desenvolvimento** é marcada pela alteração na cor da pele: antes avermelhado devido à

transparência da pele que deixava os vasos sanguíneos à mostra, agora, o feto é mais rosado, ganha peso e cresce. O sabor do líquido amniótico varia conforme a alimentação materna e o feto já consegue prová-lo. A principal característica da **trigésima quarta semana do desenvolvimento** é a consolidação da imunidade fetal e sua consequente capacidade de resistência a ataques microbiológicos, que aumenta até o nascimento. Na **trigésima quinta semana do desenvolvimento**, o bebê passa a se mexer menos pela falta de espaço, a gordura começa a se acumular sob a pele (formando dobrinhas) e os pulmões permanecem amadurecendo para possibilitar a respiração após o nascimento.

Durante a **trigésima sexta semana do desenvolvimento**, as medidas da circunferência craniana e abdominal são praticamente iguais. O crescimento se torna mais lento, o tórax é saliente e as mamas são levemente protusas em ambos os sexos. Na **trigésima sétima semana do desenvolvimento**, o sistema nervoso encontra-se suficientemente maduro para efetuar algumas funções integrativas e a percepção de luz torna-se aguçada: o feto percebe e se vira para a direção de uma fonte de luz apontada para a barriga da gestante. A data provável do parto (DPP) é quando o feto atinge a **trigésima oitava semana do desenvolvimento**, correspondendo a 266 dias após a fecundação. No entanto, cerca de 12% das crianças nascem de 7 a 14 dias após a data esperada do nascimento. A Regra de Naegele é uma forma padronizada para cálculo da DPP, subtraindo-se três meses e adicionando-se 7 dias à data da última menstruação (DUM) relatada. Por exemplo: para uma DUM em 8 de maio de 2018, a DPP será menos três meses (8 de fevereiro de 2019) mais 7 dias; ou seja, 15 de fevereiro de 2019.

Na ocasião do **nascimento**, o feto, a placenta e as membranas fetais são expelidos após uma sequência de contrações uterinas (trabalho de parto), que resulta na dilatação do colo do útero e na saída do feto e da placenta. Essa série de contrações peristálticas do músculo uterino é induzida pela liberação de ocitocina pela neuro-hipófise materna, sendo que esse hormônio também induz a liberação de prostaglandinas, estimuladoras da contratilidade do miométrio – a qual também é estimulada pelo estrogênio.

Assimile

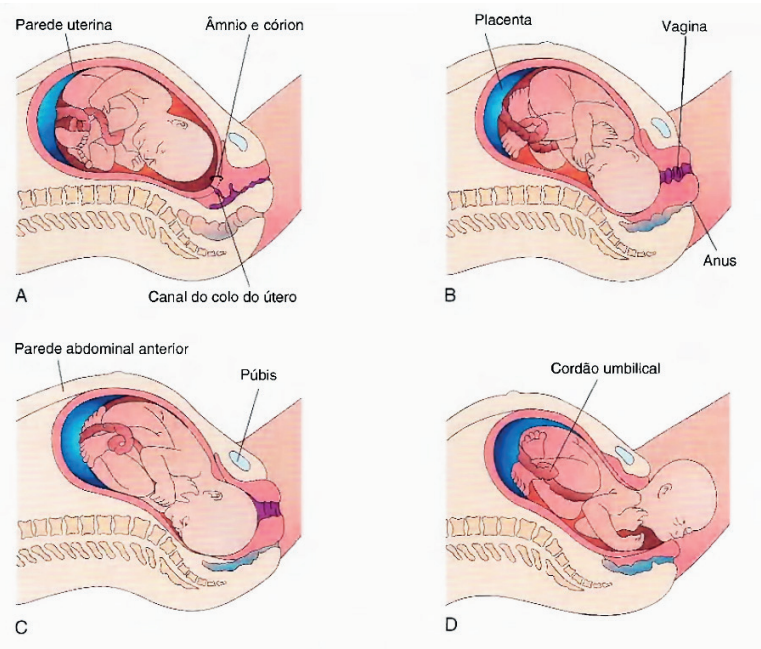
O trabalho de parto é um processo contínuo, mas clinicamente subdividido em três etapas:

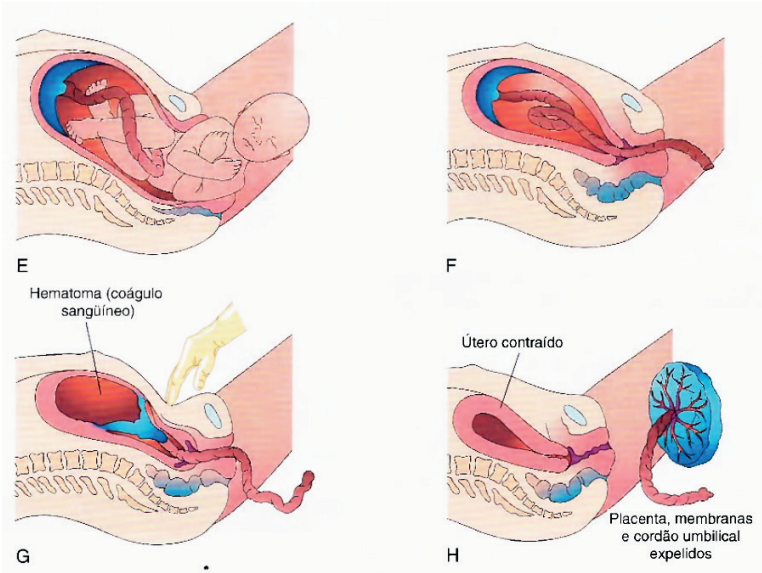
- *Dilatação*: contrações regulares e a menos de 10 minutos de intervalo; duração média de 12 horas para primíparas e de 7 horas para multíparas

- *Expulsão*: colo uterino totalmente dilatado, com o feto descendo através do colo e da vagina; duração média de 50 minutos para primíparas e de 20 minutos para multíparas

- *Separação da placenta*: início com o nascimento do feto e término com a expulsão da placenta e das membranas fetais; duração média de 15 minutos. Placenta aderida ou retida não expelida dentro de 60 minutos causa hemorragia pós-parto.

Figura 2.4 | Etapas de um parto





Fonte: Moore e Persaud (2008, p. 127).

Mais de 20% das mortes infantis ocorridas na América do Norte são devido a **defeitos congênitos** – distúrbios que acontecem durante a vida intrauterina, podendo ser estruturais, funcionais, metabólicos, hereditários ou comportamentais. Existem quatro tipos clinicamente significativos de defeitos congênitos (distúrbio, malformação, deformação e displasia), sendo causa desses defeitos: fatores genéticos, fatores ambientais e herança multifatorial.

Levando-se em conta os números absolutos de casos, os fatores genéticos configuram entre as causas mais importantes de defeitos congênitos, estimando-se que sejam responsáveis por cerca de um terço de todos as anomalias. Erros durante a mitose ou a meiose provocam alterações cromossômicas que podem afetar os cromossomos sexuais, os autossômicos ou ambos, e, normalmente, os portadores de anomalias cromossômicas apresentam fenótipos característicos (como no caso da síndrome de Down, por exemplo).

Dentre os defeitos congênitos causados por fatores genéticos, destacam-se: 1) anomalias cromossômicas numéricas, como

é o caso da síndrome de Turner ou monossomia do X e das trissomias do 21, 18, 13 e cromossomos sexuais; 2) anomalias cromossômicas estruturais, gerando translocação ou deleção da parte do cromossomo quebrada, e 3) defeitos causados por genes mutantes, herdados conforme as leis mendelianas, como é o caso da acondroplasia e da síndrome do X frágil. Já os defeitos congênitos causados por fatores ambientais (teratógenos) – tais como fármacos, agentes infecciosos, compostos químicos, radiação, diabetes materna e útero malformado – podem causar perturbações no desenvolvimento após exposição materna.

Exemplificando

Tabela 2.1 | Principais teratógenos causadores de defeitos congênitos humanos

Tabela. Teratógenos Conhecidos Como Causadores de Defeitos Congênitos Humanos	
AGENTES	ANOMALIAS CONGÊNITAS MAIS COMUNS
DROGAS	
Álcool	Síndrome do alcoolismo fetal (SAF): Retardo do crescimento intrauterino (IUGRMD); retardo mental, microcefalia; anomalias oculares; anormalidades articulares; fissuras palpebrais curtas.
Andrógenos e altas doses de progestágenos	Graus variáveis de masculinização de fetos femininos: genitália externa ambígua, resultando em fusão dos lábios e hipertrofia do clitóris.
Aminopterina	IUGR; defeitos esqueléticos, más-formações do sistema nervoso central (SNC), especialmente meroanencefalia (a maior parte do cérebro está ausente).
Cocaína	IUGR; prematuridade; microcefalia; infarto cerebral; anomalias urogenitais; distúrbios neurocomportamentais.
Dietilestilbestrol	Anormalidades do útero e da vagina; erosão e cristas cervicais.
Isotretinoína (ácido 13-cis-retinóico)	Anormalidades craniofaciais; defeitos do tubo neural (DTNs), como espinha bífida cística; defeitos cardiovasculares; fenda palatina; aplasia do timo.

Carbonato de lítio	Várias anomalias envolvendo, geralmente, o coração e os grandes vasos.
Metotrexato	Múltiplas anomalias, especialmente esqueléticas, envolvendo face, crânio, membros e coluna vertebral.
Fenitoína	Síndrome da hidantoína fetal: IUGR; microcefalia; retardamento mental; sutura frontal com cristas; pregas epicantais internas; ptose das pálpebras; ponte nasal larga e deprimida; hipoplasia das falanges.
Tetraciclina	Dentes manchados, hipoplasia do esmalte.
Talidomida	Desenvolvimento anormal dos membros, p. ex.: meromelia (ausência parcial) e amelia (ausência completa); anomalias faciais; anomalias sistêmicas, p. ex.: defeitos do coração e dos rins.
Trimetadiona	Atraso do desenvolvimento, sobrancelhas em V; orelhas em posição baixa, fenda labial e/ou palatina.
Ácido valpróico	Anomalias craniofaciais; DTNs; frequentemente hidrocéfalo; defeitos cardíacos e esqueléticos.
Varfarina	Hipoplasia nasal; epífises mosqueadas; falanges hipoplásticas; anormalidades oculares; retardamento mental.
COMPOSTOS QUÍMICOS	
Metilmercúrio	Atrofia cerebral; espasticidade; convulsões; retardamento mental.
Bifenilas policloradas	IUGR; descoloração da pele.
INFECÇÕES	
Citomegalovírus	Microcefalia; corriorretinite; perda neurossensorial; desenvolvimento psicomotor/mental retardado; hepatoesplenomegalia; hidrocefalia; paralisia cerebral; calcificação cerebral (periventricular).

Vírus do herpes simples	Vesículas e cicatrizes na pele; coriorretinite; hepatomegalia; trombocitopenia; petéquias, anemia hemolítica; hidranencefalia.
Parvovírus humano B19	Defeitos oculares; transformações degenerativas dos tecidos fetais.
Vírus da rubéola	IUGR; retardo do crescimento pós-natal; anormalidades do coração e dos grandes vasos; microcefalia; surdez neurossensorial; catarata; microftalmia; glaucoma; retinopatia pigmentada; retardamento mental; sangramento do recém-nascido; hepatoesplenomegalia; osteopatia; defeitos dentários.
Toxoplasma gondii	Microcefalia; retardamento mental; microftalmia; hidrocefalia; coriorretinite; calcificações cerebrais; perda da audição; perturbações neurológicas.
Treponema pallidum	Hidrocefalia; surdez congênita; retardamento mental; anormalidades dos dentes e ossos.
Vírus da encefalite equina Venezuelana	Microcefalia; microftalmia; agenesia cerebral; necrose do SNC; hidrocefalia.
Vírus da varicela	Cicatrizes cutâneas (distribuição pelo dermátomo); anomalias neurológicas (paresia dos membros, paralisia parcial), hidrocefalia, convulsões, etc.); cataratas; microftalmia; síndrome de Hortner; atrofia óptica; nistagmo; coriorretinite; microcefalia; retardamento mental; anomalias esqueléticas (hipoplasia dos membros, dos dedos das mãos e dos pés); anomalias urogenitais.
RADIAÇÃO	
Altos níveis de radiação ionizante	Microcefalia; retardamento mental; anomalias esqueléticas; retardo do crescimento; cataratas.

Fonte: adaptada de Moore (2008).

Reflita

Existem fármacos seguros para serem tomados durante a gravidez? Se sim, tente listar as classes às quais pertencem.

Vários defeitos congênitos apresentam distribuições familiares que condizem com herança multifatorial. Nesses casos, essa herança pode ser representada por um modelo no qual a "suscetibilidade" a um distúrbio é uma variável contínua determinada por uma combinação de fatores genéticos e ambientais com um limiar de desenvolvimento separando os indivíduos portadores dos não portadores. Os riscos calculados no aconselhamento genético de famílias portadoras são riscos empíricos; ou seja, baseados na frequência da anomalia na população em geral e em diferentes categorias de parentesco. Dessa forma, tais estimativas podem ser imprecisas em famílias individuais por se tratarem de médias da população.

Fendas do lábio superior e palato são defeitos congênitos comuns classificados conforme os critérios de desenvolvimento, com a fossa e a papila incisiva tomadas como referência. As fendas nasolabial e palatina resultam em aparência facial anormal e alterações da fala. A maioria das fendas nasolabiais e de palato resultam de herança multifatorial, mas algumas aparecem como parte de síndromes determinadas por mutações de genes únicos enquanto outras são características de síndromes cromossômicas ou ocasionadas por agentes teratogênicos.

Fendas faciais graves normalmente estão associadas a anomalias graves da cabeça; sendo que as fendas faciais oblíquas (fendas orbitofaciais) são frequentemente bilaterais, estendendo-se do lábio superior até a margem medial da órbita. Fendas faciais oblíquas acompanhadas de fenda nasolabial resultam da união fracassada das proeminências maxilares com as proeminências nasais lateral e medial. Fendas faciais laterais ou transversais estendem-se da boca à orelha, assim como fendas nas bochechas (quase até as orelhas), enquanto que fendas bilaterais resultam em boca muito grande (macrostomia).

Pesquise mais

O tranquilizante talidomida é um potente teratógeno, responsável pelo nascimento de cerca de 12.000 crianças com defeitos congênitos; sendo a meromelia (ausência de parte de um membro) a característica clássica da síndrome desse fármaco. A talidomida é totalmente contraindicada para mulheres em idade fértil, uma vez comprovada como causa de anomalias congênitas no período do 20º ao 36º dia após a fecundação. Saiba mais sobre seus efeitos por meio da leitura do seguinte artigo:

GARCIA, B. P.; MIYAMOTO, C. A. TALIDOMIDA – I Propriedades Farmacológicas e Toxicológicas. **Rev. Conexão Eletrônica**, v. 13, n. 1, 2016. Disponível em: <https://goo.gl/QBLx6s>. Acesso em: 5 maio 2018.

Sem medo de errar

Logo após o nascimento, Alice apresentou dificuldades na amamentação, porque, embora possuísse movimentos reflexos de sucção e deglutição íntegros, sua malformação acarretou em dificuldade de isolamento da cavidade oral e de estabelecimento de uma pressão negativa para sucção adequada. Alice é portadora de **fenda palatina** associada à fenda labial, um defeito congênito caracterizado por alterações ocorridas entre a quarta e a sétima semana do desenvolvimento embrionário, causando uma falha na fusão dos processos palatinos. O tratamento para a fissura consiste em uma **cirurgia reparadora** em que a extensão e o momento a ser realizado devem ser discutidos por uma equipe multidisciplinar (cirurgiões, odontopediatras, fonoaudiólogos e psicólogos), uma vez que consiste em uma controvérsia, já que notável equilíbrio tem sido relatado entre os benefícios do desenvolvimento de uma boa fala *versus* os efeitos deletérios do crescimento da face medial em função do traumatismo cirúrgico associado à cicatrização. Apesar de fatores ambientais poderem estar envolvidos no desenvolvimento da malformação, assume-se razoavelmente que a fenda palatina possui caráter hereditário recessivo, o que significa que o marido de Fernanda também carrega um gene oculto para a anomalia e **sua família é igualmente responsável pelas anomalias de Alice.**

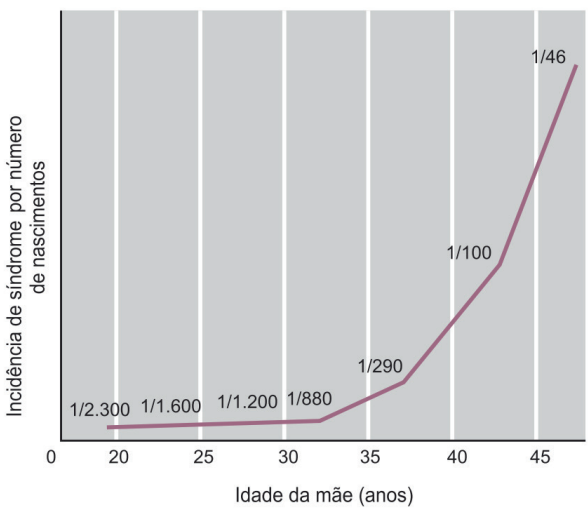
Avançando na prática

Maternidade Madura

Descrição da situação-problema

Rogério e Maiara compartilhavam a vontade de ter um filho juntos. Ambos divorciados, Maiara tinha um filho de 21 anos de seu primeiro casamento e Rogério, uma filha de 15 anos e um filho de 10 anos. Por Maiara possuir mais de 45 anos de idade, uma gravidez natural seria mais difícil, então, o casal optou pela fertilização *in vitro* e, após duas tentativas sem sucesso, Maiara engravidou de uma menina, à qual deu o nome de Vitória. Entretanto, a garotinha nasceu com uma das aneuploidias humanas mais frequentes, que determina uma síndrome bastante conhecida. Os portadores dessa síndrome apresentam células contendo uma quantidade anormal de cromossomos – resultado de um erro causado durante a meiose. O aconselhador genético do casal, o ginecologista Dr. Walter Pinto Junior, explicou ao casal que a incidência da síndrome apresentada por Vitória aumenta consideravelmente com o aumento da idade materna, conforme representado no gráfico a seguir:

Figura 2.5 | Incidência de síndrome por número de nascimentos



Fonte: adaptado de ENADE (2010).

Com base nas informações fornecidas anteriormente, você saberia dizer de qual síndrome Vitória é portadora? Quais são os mecanismos genéticos envolvidos no desenvolvimento dessa aneuploidia? Cite suas características morfológicas usuais.

Resolução da situação-problema

Vitória é portadora da **síndrome de Down** ou Trissomia do 21, uma das anomalias de números cromossômicos mais comuns (incidência = 1:800); resultante da não **disjunção meiótica dos cromossomos**, gerando um gameta com 24 cromossomos e, consequentemente, um zigoto com 47 cromossomos. Os portadores dessa síndrome apresentam deficiência mental, braquicefalia, ponte nasal achatada, inclinação superior das fissuras palpebrais, língua projetada, prega simiesca (prega única que se estende ao longo da palma da mão), clinodactilia (encurvamento) do quinto dedo da mão e defeitos congênitos do coração.

Faça valer a pena

1. Na ocasião do nascimento, uma sequência de contrações uterinas (trabalho de parto) resulta na dilatação do colo do útero, na saída do feto e da placenta. Essa série de contrações peristálticas do músculo uterino é induzida pela liberação de ocitocina pela neuro-hipófise materna, sendo que este hormônio também induz a liberação de prostaglandinas, estimuladoras da contratilidade do miométrio – a qual também é estimulada pelo estrogênio (FUNDAÇÃO MUNICIPAL DE SAÚDE DE TERESINA, 2017).

O trabalho de parto é um processo contínuo, mas clinicamente subdividido em três etapas. A dequitação corresponde à terceira etapa, caracterizada por ser:

a) O período em que as contrações do útero ainda possuem intensidade e frequência mínimas.

b) O período de dilatação quase total do colo até a saída do feto.

c) O período de dilatação total, cabeça visível, contrações ou esforço materno ativo.

d) A primeira hora após o nascimento.

e) O momento desde o nascimento até a expulsão da placenta e membranas fetais.

2. A data provável do parto (DPP) é quando o feto atinge a trigésima oitava semana do desenvolvimento, correspondendo a 266 dias após a fecundação. No entanto, cerca de 12% das crianças nascem de 7 a 14 dias após a data esperada do nascimento. A Regra de Naegele consiste em uma boa maneira de se estimar a DPP (UFSC, 2017).

O primeiro dia do último período menstrual de uma grávida foi em 20 de março de 2018. Qual será a data provável de seu parto se considerarmos a Regra de Naegele?
a) 20 de dezembro de 2018.
b) 27 de dezembro de 2018.
c) 17 de janeiro de 2019.
d) 13 de fevereiro de 2019.
e) 6 de março de 2019.

3. Mais de 20% das mortes infantis ocorridas na América do Norte são devido a defeitos congênitos: distúrbios que acontecem durante a vida intrauterina, podendo ser estruturais, funcionais, metabólicos, hereditários ou comportamentais. Os defeitos congênitos causados por fatores ambientais (teratógenos), tais como fármacos, agentes infecciosos, compostos químicos, radiação, diabetes materna e útero malformado, podem causar perturbações no desenvolvimento após exposição materna. (AMPLASC, 2015).

Qual dos fármacos a seguir apresenta potencial teratogênico durante a gravidez?
a) Ácido valproico.
b) Aspirina.
c) Tetracaína.
d) Metoclopramida.
e) Penicilina.

Seção 2.3

Medicina Reprodutiva

Diálogo aberto

A decisão pela fertilização in vitro para a concepção de Alice foi aconselhada pela ginecologista de Fernanda porque, embora apresente herdabilidade limitada e ainda não totalmente esclarecida, a miastenia grave é marcadamente influenciada por fatores genéticos. Pensando nisso e, principalmente, devido ao fato de Alice ser portadora de um defeito congênito que apresenta elevado risco de se repetir em irmãos, Fernanda novamente se decidiu por esse procedimento para uma segunda concepção. Por que você acredita ser a fertilização in vitro, e não a inseminação artificial, a melhor decisão para o caso de Fernanda?

Não pode faltar

O nascimento de Louise Joy Brown, primeira pessoa fruto de um procedimento de fertilização in vitro, foi o grande marco da era moderna da Medicina Reprodutiva que, desde então, passou por grandes avanços e mudou por completo o significado da infertilidade – problema de saúde pública que afeta aspectos emocionais, psíquicos e sociais dos envolvidos. A queda no índice global de fertilidade, principalmente em relação às mulheres acima dos 35 anos pode estar associada a fatores como a postergação do desejo de ser mãe em virtude da vida profissional, a diminuição da reserva ovariana e a piora da qualidade seminal devido a consumo exacerbado de álcool, tabagismo e exposição a fatores ambientais.

Os principais fatores que comprometem a fertilidade podem ser divididos em fatores masculinos e fatores femininos. Dentre os masculinos, destacam-se: varicocele (dilatação das veias do plexo pampiniforme), infecções geniturinárias, principalmente causadas por *Chlamydia trachomatis* e *Ureaplasma urealyticum*, progressão da idade, causando alterações nos testículos e na regulação neuroendócrina da secreção de testosterona e produção/maturação dos espermatozoides, fatores ambientais

e comportamentais, como pesticidas, calor, radiação, metais pesados, dieta e tabagismo, medicamentos, especialmente finasterida, antidepressivos, quimioterápicos e hormônios, doenças sistêmicas e genéticas, como diabetes, insuficiência renal, hipertensão arterial, sarcoidose, fibrose cística, dentre outras; e disfunções ejaculatórias, tais como a anejaculação, ejaculação retrógrada e ejaculação prematura.

Os fatores ligados ao sexo feminino podem ser subdivididos em tuboperitoneal, ovariano, uterino e ambiental. O fator tuboperitoneal engloba a endometriose (processo inflamatório crônico estrogênio-dependente que pode levar a distorções da anatomia pélvica com comprometimento da função tubária), as infecções do trato genital, principalmente causadas por *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydia trachomatis*, e demais processos infecciosos, tais como apendicite, diverticulite e tuberculose genital. Já o fator ovariano compreende a síndrome dos ovários policísticos (SOP), a endometriose ovariana, obesidade, levando à anovulação crônica, progressão da idade, causando diminuição da reserva ovariana e perda da qualidade oocitária; outras patologias, como hipo ou hipertireoidismo e hiperprolactinemia; doenças autoimunes e doenças genéticas. O fator uterino envolve o comprometimento da implantação embrionária uterina; causado por malformações müllerianas (útero didelfo, útero bicorno e septos uterinos), miomas (especialmente submucosos ou intramurais, que distorcem a cavidade uterina), pólipos, sinequias (aderências no interior do útero) e endometrites. Por fim, dentro da classificação de fator ambiental estão inclusos fatores ambientais e comportamentais, tais como alcoolismo e tabagismo, radiação ionizante, dieta, pesticidas e solventes.

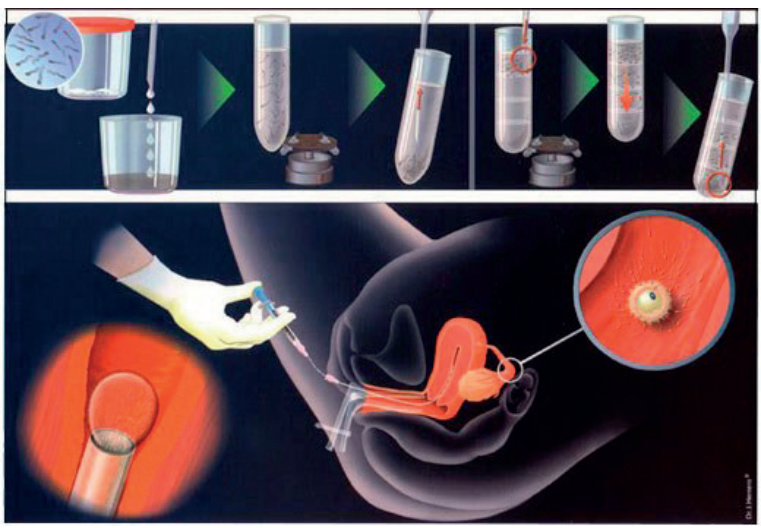
O tratamento para a infertilidade consiste na utilização de técnicas de baixa e de alta complexidade. A **inseminação artificial convencional (IAC)** ou inseminação intrauterina (IIU) é uma técnica de baixa complexidade, realizada pela primeira vez em 1790 por John Hunter, introduzindo-se na vagina de uma mulher o sêmen total de seu marido portador de hipospádia (defeito congênito no qual a abertura da uretra encontra-se na face inferior do pênis). Diante de resultados desanimadores, a ampliação do conhecimento acerca da infertilidade conjugal levou à melhora da condução do ciclo menstrual, através da indução da ovulação,

possibilitando melhor timing da inseminação, e do preparo do sêmen, aumentando a qualidade espermática e reduzindo os efeitos colaterais causados pela introdução do plasma seminal.

A técnica consiste no depósito de uma amostra de sêmen previamente preparada diretamente na cavidade uterina, em um período sincronizado com a ovulação de um ciclo menstrual natural ou induzido. É indicada em casos cujos fatores que comprometem a fertilidade são anormalidades ejaculatórias, fator cervical e/ou ovulatório, endometriose, incompatibilidade imunológica e infertilidade sem causa aparente; e para casais sorodiscordantes (homem infectado por HIV) e soroconcordantes.

Assimile

Figura 2.6 | Inseminação Artificial Convencional (IAC)



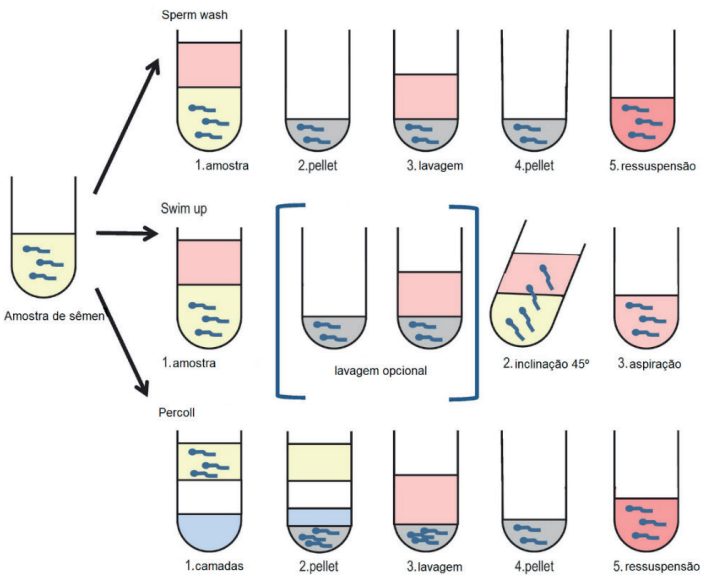
Fonte: <http://www.monteleone.med.br/img/intra.jpg>. Acesso em: 15 maio 2018.

Os procedimentos de preparo do sêmen visam à obtenção de uma amostra concentrada, contendo espermatozoides viáveis e móveis, e livre de elementos potencialmente prejudiciais (espermatozoides mortos, leucócitos e bactérias) produtores de radicais oxidantes e outros derivados metabólicos que criam um ambiente subótimo para a fecundação. As técnicas comumente

utilizadas são: 1) *Sperm wash* – lavagem e centrifugação após diluição em meio de cultura, seguida de ressuspensão do *pellet* com o volume desejado; 2) *Swin up* – lavagem e centrifugação após diluição em meio de cultura, seguida de adição delicada de 1 mL de meio ao *pellet* e incubação em estufa a 37 °C e 5% de CO_2 por 40 minutos; e 3) *Percoll* – preparação de duas ou três camadas de diferentes densidades, colocando-se o gradiente de menor densidade sobre o de maior densidade; seguida de adição cuidadosa na camada superior da amostra do sêmen, centrifugação por 20 minutos e ressuspensão do *pellet* em meio, repetindo-se as duas técnicas anteriores.

Exemplificando

Figura 2.7 | Técnicas de preparo do sêmen



Fonte: adaptada de <https://goo.gl/pxb7ni>. Acesso em: 15 maio 2018.

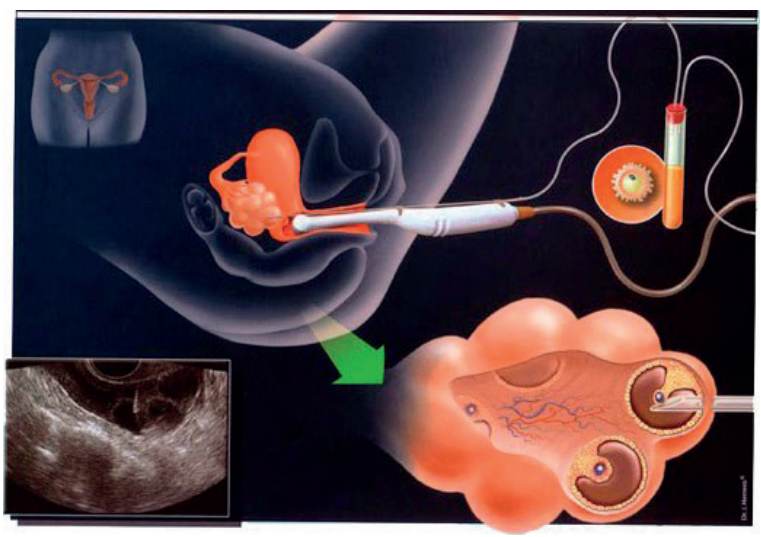
A **fertilização in vitro (FIV)** com posterior transferência embrionária (TE) é uma técnica de alta complexidade, realizada pela primeira vez em 1973 por Schumacher; o qual seguiu os passos de Rock e Menkin, idealizadores da primeira fertilização extracorpórea em 1944. A estimulação ovariana foi um avanço

significativo para a técnica, possibilitando a coleta de mais óvulos e, consequentemente, aumentando a chance de obtenção de embriões. É indicada em casos cujos fatores que comprometem a fertilidade são patologia tubária (perda da permeabilidade tubária), endometriose, alterações seminais, fracasso pós-IAC (após quatro inseminações malsucedidas), adversidade imunológica, infertilidade sem causa aparente, doenças genéticas, distúrbio ovariano (SOP), anomalias uterinas e neoplasia maligna.

A técnica consiste em estimulação ovariana utilizando agentes farmacológicos (preferencialmente gonadotrofinas recombinantes ou menotrofinas altamente purificadas, associadas ao GnRH agonista ou antagonista para bloqueio da descarga extemporânea de LH), acompanhada da monitoração do desenvolvimento folicular e endometrial por ultrassonografia transvaginal (USTV) e dosagens seriadas de estradiol. A etapa seguinte consiste na aspiração folicular, guiada por USTV e sob efeito de rápida sedação.

Assimile

Figura 2.8 | Aspiração Folicular

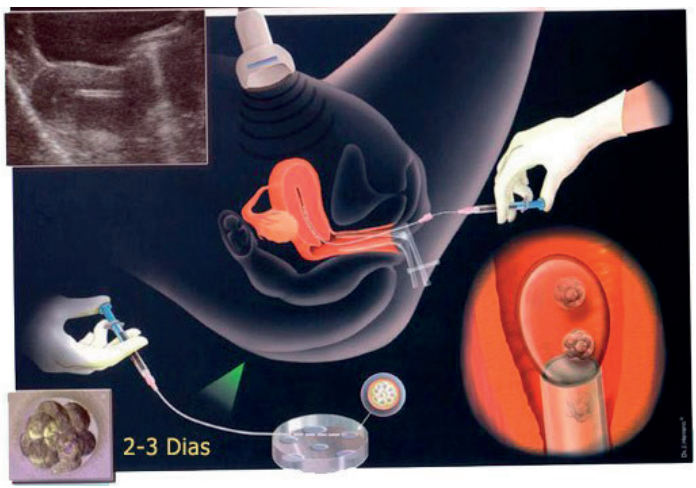


Fonte: <http://www.monteleone.med.br/img/ocite.jpg>. Acesso em: 15 maio 2018.

Os oócitos maduros aspirados são, então, colocados em tubo de ensaio ou placa de Petri contendo uma amostra de sêmen para que sejam naturalmente fertilizados por um espermatozoide. Caso a fecundação ocorra, é realizada a transferência do embrião para a cavidade uterina de dois a cinco dias após a fertilização. A TE deve ser cuidadosamente planejada, procurando-se conhecer previamente as condições da cavidade endometrial e do canal cervical, evitando-se empecilhos para a passagem do cateter. Pesquisas demonstraram maiores índices gestacionais quando da deposição dos embriões a 1,5 cm do fundo da cavidade endometrial.

Assimile

Figura 2.9 | Transferência Embrionária (TE)



Fonte: <http://www.monteleone.med.br/img/embrio.jpg>. Acesso em: 15 maio 2018.

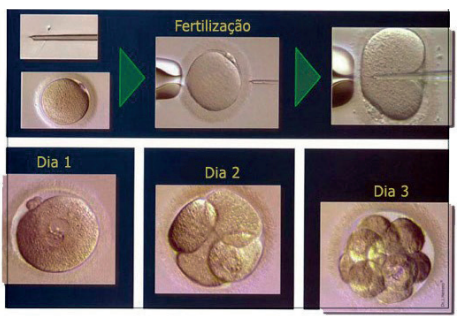
A **injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI** – *intracitoplasmic sperm injection*) constitui outra técnica de alta complexidade, realizada pela primeira vez em 1992 por Palermo e colaboradores. A técnica consiste basicamente nas mesmas etapas da FIV: estimulação ovariana utilizando agentes farmacológicos e aspiração folicular. Entretanto, na técnica estudada anteriormente, os oócitos permanecem rodeados por células do *cumulus*, enquanto que, para a ICSI, os oócitos devem ser denudados das

células granulosas que os rodeiam – permitindo uma injeção precisa e a verificação do grau de maturidade no núcleo oocitário. Para a denudação, os oócitos são expostos por alguns segundos a um meio de cultivo tamponado contendo hialuronidase, seguida da retirada total das células do *cumulus* através de repetidas pipetagens. Para essa técnica, podem ser utilizados espermatozoides ejaculados ou recuperados cirurgicamente dos testículos e/ou epidídimos.

O procedimento de ICSI é realizado em placa de Petri, utilizando-se um microscópio invertido equipado com micromanipuladores e microinjetoras. A placa é preparada com seis gotas de meio de cultura tamponado, nas quais os oócitos são depositados, e uma gota central de polivinilpirrolidona (PVP), na qual é depositada uma amostra de sêmen previamente tratada. As gotas devem ser cobertas com óleo mineral e a placa deve ser mantida sob temperatura apropriada (37 °C) até o momento da injeção. A técnica segue-se, então: a) Sob um aumento de 400X, um espermatozoide viável deve ser selecionado e imobilizado através de uma secção caudal; b) O oócito deve ser posicionado de forma que o primeiro corpúsculo polar fique paralelo aos micromanipuladores, a fim de se evitar danos nos fusos meióticos; e, c) Por fim, a microinjetora contendo o espermatozoide selecionado deve ser introduzida no oócito, garantindo que o oolema (membrana plasmática) seja rompido antes da liberação espermática. Após a injeção, os oócitos são transportados para microgotas contendo meio de cultura e mantidos em cultivo até que a fertilização seja constatada e a TE seja realizada.

Assimile

Figura 2.10 | Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI)



Fonte: <http://www.monteleone.med.br/img/icsi.jpg>. Acesso em: 15 maio 2018.

Reflita

Qual é a principal vantagem das técnicas de alta complexidade (FIV e ICSI) em relação à técnica de baixa complexidade (IAC), sob o ponto de vista genético?

Casais que apresentam algum risco genético reprodutivo podem se valer do diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) para terem filhos saudáveis, através da utilização de técnicas moleculares ou citogenéticas durante a fertilização in vitro, com o objetivo de selecionar embriões isentos de uma condição genética específica e transferir apenas embriões saudáveis para o útero materno. A transferência de embriões cromossomicamente normais evita gestações aneuploides, diminuindo a ocorrência de abortos espontâneos.

A primeira etapa do exame consiste na obtenção do material para análise por meio da biópsia de um blastômero, normalmente realizada no terceiro dia após a fecundação – caracterizado pelo estágio do desenvolvimento no qual o embrião apresenta de seis a oito células e do qual é possível se retirar 25% das células, sem que esse procedimento cause danos ao desenvolvimento. O meio mais rápido e preciso é através de laser, que aumenta a eficiência da biópsia por diminuir o tempo necessário, evitando a utilização de solução ácida e potencializando o controle sobre a perfuração da zona pelúcida.

Para a análise cromossômica do embrião, comumente emprega-se a técnica de FISH em células interfásicas, utilizando-se sondas fluorescentes de DNA específicas, que se ligam a regiões cromossômicas específicas. A técnica pode detectar doenças ligadas ao sexo, translocações e/ou trissomias, auxiliando no diagnóstico das aneuploidias mais comuns presentes em abortamentos.

Pesquise mais

Caro aluno, aprofunde seus conhecimentos acerca do diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) como uma ferramenta na reprodução assistida através da leitura do artigo Diagnóstico Genético *Pré-Implantacional* e sua Aplicação na Reprodução *Humana Assistida* de Pompeu e Verzeletti (2015).

Disponível em: <https://goo.gl/7jsUHp>. Acesso em: 15 maio 2018.

Sem medo de errar

A decisão pela fertilização *in vitro* para a concepção de Alice foi aconselhada pela ginecologista de Fernanda porque, embora apresente herdabilidade limitada e ainda não totalmente esclarecida, a miastenia grave é marcadamente influenciada por fatores genéticos. Pensando nisso e, principalmente, devido ao fato de Alice ser portadora de um defeito congênito que apresenta elevado risco de se repetir em irmãos, Fernanda novamente se decidiu por esse procedimento para uma segunda concepção. Essa foi a melhor decisão para o caso de Fernanda porque a fertilização in vitro (FIV) associada ao diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) **permite a seleção de embriões isentos de uma condição genética específica e a transferência de apenas embriões saudáveis para o útero materno**. Sendo assim, seria possível que Fernanda selecionasse embriões não portadores de fenda palatina associada à fenda labial (defeito congênito presente em Alice), o que não seria possível através da inseminação artificial convencional, na qual a fecundação ocorre naturalmente nas tubas uterinas e a geração de embriões cromossomicamente anormais não é controlada.

Avançando na prática

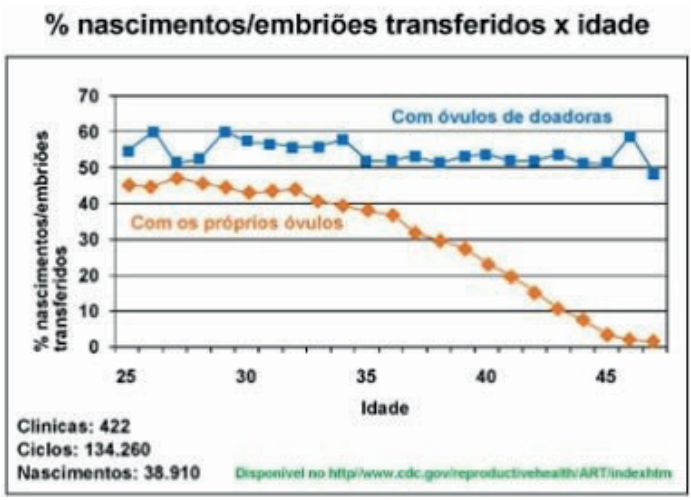
Doação de amor

Descrição da situação-problema

Mesmo sempre possuindo uma vontade de ter filhos, a maternidade não era uma prioridade na vida de Joana, uma bem-sucedida jornalista de Porto Alegre. Entretanto, prestes a completar 40 anos de idade, ela reencontrou um amor da adolescência que reacendeu seu instinto materno e a fez tentar engravidar naturalmente. Após seis meses de tentativas fracassadas, as frustrações começaram a pesar; Joana e o marido decidiram, então, procurar uma clínica de medicina reprodutiva para tentarem uma concepção utilizando técnicas de reprodução assistida. Cinco longos anos e 12 tentativas de fertilização in vitro depois, a jornalista se viu diante da decisão de desistir. Então com 45 anos, Joana já havia se acostumado às dores físicas causadas pelas injeções para estimulação ovariana, mas encontrava-se com o emocional extremamente esgotado, fazendo com que pensasse na

possibilidade de outras opções, como a adoção. Foi então que seu ginecologista e obstetra, dr. Eduardo Valladares, sugeriu uma alternativa para a paciente, baseada nos dados demonstrados no gráfico a seguir:

Figura 2.11 | Porcentagem de nascimentos por embriões transferidos com a idade materna



Fonte: <https://goo.gl/PpR5qY>. Acesso em: 15 maio 2018.

Qual foi a alternativa sugerida pelo especialista? Explique, com base nos dados apresentados no gráfico, porque essa tende a ser uma boa alternativa para mulheres acima dos 35 anos.

Resolução da situação-problema

Baseado nos dados demonstrados no gráfico – que correlacionam a porcentagem de nascimentos por embriões transferidos com a idade materna –, a alternativa sugerida pelo médico ginecologista de Joana foi a **fertilização in vitro utilizando-se óvulos de doadoras**. Conforme observado, a porcentagem de nascimentos por embriões transferidos utilizando-se os próprios óvulos decresce consideravelmente com o aumento da idade materna, enquanto que a porcentagem utilizando-se óvulos de doadoras se mantém relativamente constante quando comparado a mulheres com menos de 35 anos. No caso de Joana, então

com 45 anos, essa porcentagem seria menos de 5% utilizando-se seus próprios óvulos contra os quase 60% utilizando-se óvulos doados, aumentando expressivamente suas chances. Neste tipo de tratamento, o importante não é a idade do útero receptor, mas sim a idade dos óvulos. Uma vez que doadoras devem ter menos de 35 anos na ocasião da doação, **as chances de gravidez (maiores nessa faixa etária) são "repassadas" para as receptoras**, sendo uma boa alternativa para mulheres acima dos 35 anos. Os procedimentos de ovodoação são regulamentados pelo Conselho Federal de Medicina, através da Resolução 2.168/2017, publicada no D.O.U. de 10 de novembro de 2017, p. 73 – seção I. O capítulo IV informa, dentre outras regulamentações, que a) A doação não poderá ter caráter lucrativo ou comercial; b) Os doadores não devem conhecer a identidade dos receptores e vice-versa; c) A idade limite para a doação de gametas é de 35 anos para mulheres e de 50 anos para homens; d) Informações sobre os doadores, por motivos médicos, poderão ser fornecidas exclusivamente para médicos, resguardando-se a identidade civil do(a) doador(a); e) Na região de localização da unidade, o registro dos nascimentos evitará que um(a) doador(a) produza mais de duas gestações de crianças de sexos diferentes em uma área de um milhão de habitantes; f) A escolha dos doadores é de responsabilidade do médico assistente e, dentro do possível, deve garantir maior semelhança fenotípica e máxima possibilidade de compatibilidade com a receptora; g) Médicos, funcionários e demais integrantes da equipe multidisciplinar das clínicas não podem participar como doadores nos programas de reprodução assistida; e h) É permitida a doação voluntária de gametas, bem como a doação compartilhada de óvulos (doadora e receptora compartilham tanto o material biológico; quanto os custos financeiros envolvidos no processo).

Faça valer a pena

1. Reprodução assistida é um conjunto de técnicas aplicadas na medicina reprodutiva com o objetivo de auxiliar casais com problemas de infertilidade. As técnicas oferecidas vão desde as mais simples, denominadas técnicas de baixa complexidade, até as mais complexas, denominadas técnicas de alta complexidade.

Adaptado de: <https://goo.gl/iBDRP4>. Acesso em: 15 maio 2018.

Assinale a alternativa correta a respeito da reprodução humana assistida.
a) A reprodução assistida é realizada através de procedimentos de inseminação artificial e fertilização in vitro; classificados como extracorpóreo e intracorpóreo, respectivamente.
b) A inseminação artificial é realizada por meio da injeção intracitoplasmática de um único espermatozoide no óvulo.
c) A manipulação genética de embriões é um procedimento realizado na reprodução assistida com o intuito de se atingir maior sucesso na fertilização in vitro.
d) A manipulação de embriões é uma prática permitida no Brasil, bem como a seleção de um embrião considerando-se as características fenotípicas desejadas pelos futuros pais.
e) As técnicas moleculares e citogenéticas utilizadas na reprodução assistida visam a determinação de possíveis anormalidades no DNA que inviabilizariam a fertilização; possibilitando uma seleção de embriões com maiores chances de sucesso na fertilização.

2. Os procedimentos de reprodução assistida são regulamentados pelo Conselho Federal de Medicina, através da Resolução 2.168/2017, publicada no D.O.U. de 10 de novembro de 2017, p. 73 – seção I. Em relação à escolha do sexo e das características fenotípicas da criança que venha a nascer através dos procedimentos de reprodução assistida (RA), são aplicadas algumas normas éticas.
Adaptado de: <https://goo.gl/iWHAnc>. Acesso em: 15 maio 2018.

Assinale a alternativa correta a respeito da escolha do sexo e das características fenotípicas de embriões em procedimentos de reprodução assistida.
a) As técnicas de RA não podem ser utilizadas para a escolha de características do futuro filho, com exceção do sexo (que pode ser escolhido pelos pais, em comum acordo e por escrito).
b) As técnicas de RA não podem ser utilizadas para a escolha do sexo do futuro filho, podendo as demais características serem escolhidas conforme o desejo dos pais, no momento da escolha do(a) doador(a).
c) As técnicas de RA somente poderão ser utilizadas para a escolha do sexo ou qualquer outra característica biológica do futuro filho quando se tratar de doenças ligadas ao sexo.
d) Deve-se respeitar o desejo dos pais quanto ao sexo e às características do futuro filho, desde que em comum acordo e por escrito, entre pais e médicos.
e) As técnicas de RA, em nenhuma hipótese, podem ser utilizadas para a escolha do sexo ou qualquer outra característica biológica do futuro filho.

3. Os procedimentos de preparo do sêmen visam à obtenção de uma amostra concentrada, contendo espermatozoides viáveis e móveis, e livre de elementos potencialmente prejudiciais (espermatozoides mortos, leucócitos e bactérias) produtores de radicais oxidantes e outros derivados metabólicos que criam um ambiente subótimo para a fecundação. O procedimento utilizado depende das características do sêmen e da técnica de reprodução assistida (RA) proposta para o tratamento. Adaptado de: <https://goo.gl/2ruaHb>. Acesso em: 15 maio 2018.

Considere um procedimento de RA, no qual será utilizada a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) com uma amostra de sêmen contendo 50 milhões de espermatozoides por mL e 80% de motilidade progressiva. Assinale a alternativa correta a respeito do respectivo preparo do sêmen.

a) Não é necessário o preparo do sêmen para a realização da técnica de ICSI.

b) É indicado o procedimento de *sperm wash* (lavagem simples da amostra, apenas separando os espermatozoides do líquido seminal e promovendo maior recuperação de espermatozoides).

c) É indicado exclusivamente o procedimento de *swim up*, no qual os espermatozoides são selecionados por sua habilidade de movimentação ascendente, a partir do plasma seminal até o meio de cultura – recuperando menor número de espermatozoides, mas selecionando os de melhor motilidade para serem utilizados nas técnicas de fertilização in vitro (FIV).

d) Podem ser utilizados os procedimentos de *swim up* ou *percoll*, que promovem a recuperação de espermatozoides de boa qualidade e são indicados para emprego nas técnicas de FIV e ICSI.

e) É indicado exclusivamente o procedimento de *percoll*, que se baseia na separação das células por sua densidade, os espermatozoides móveis nadam ativamente pelas camadas de gradiente, formando um *pellet* no fundo do tubo.

Referências

BORGES, W. C.; BORGES, W. P.; COSTA, Z. B. Propedêutica: fator feminino. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

BRAGA, D. P. A. F.; BORGES JR., E. Técnica de Alta Complexidade: ICSI. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

DONADIO, N. F.; DONADIO, N., CAVAGNA, M. Ovodoação. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

GALLO, J. H. S.; D'AVILA, R. L. Aspectos Éticos da Fiscalização do Exercício da Reprodução Assistida. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

MARTINHAGO, C. D.; DE OLIVEIRA, M. A.; DE OLIVEIRA, R. M. Diagnóstico Genético Pré-Implantacional. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

OLIANI, A. H.; FREITAS, C. M. D.; VAZ-OLIANI, D. C. M. Técnica de Baixa Complexidade: IIU. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

PEREIRA, D. H. M.; CATAFESTA, E. Técnicas de Alta Complexidade: FIVeTE. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

SCHOENWOLF, G. C. et al. **Larsen, Embriologia Humana**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

TSO, L. O.; DUARTE FILHO, O. B. Epidemiologia da Infertilidade. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

VIEIRA, M.; BARROS, L. R.; GLINA, S. Propedêutica: Fator Masculino. In: DZIK, A. et al. [Eds.]. **Tratado de Reprodução Assistida**. São Paulo: Segmento Farma, 2011.

Histopatologia

Convite ao estudo

Prezado aluno, nesta unidade, vamos abordar as técnicas microscópicas e histológicas, bem como os aspectos gerais de tecidos e órgãos para posterior estudo da anatomia histopatológica. Ao final da leitura desta Unidade 3, você deverá atingir os seguintes objetivos: (i) reconhecer, através de análise microscópica, os vários tecidos e órgãos que constituem o corpo humano; (ii) compreender os processos patológicos gerais, quanto à etiologia, patogenia e aspectos histológicos.

Para entender o assunto e atingir as competências e objetivos da disciplina, vamos analisar uma situação hipotética que se aproxima dos conteúdos teóricos presentes nesta unidade. Cerca de 75% dos portadores de miastenia grave apresentam anormalidades no timo, o que sustenta a hipótese de que esse órgão possui alguma relação com a doença. Baseado em estudos que apontam que a timectomia (remoção cirúrgica do timo) pode diminuir a produção de anticorpos contra os receptores para acetilcolina (AChR) e em resultados bastante encorajadores de timectomias realizadas em pacientes miastênicos – os quais obtiveram remissão completa dos sintomas sem terapêutica com medicação anticolinesterásica – o neurologista de Fernanda optou por realizar a timectomia em sua paciente, visando à melhoria da qualidade de vida da jovem, que agora se dedica em tempo integral à filha recém-nascida.

No decorrer desta unidade de ensino, você relembrará as técnicas microscópicas e histológicas, bem como os aspectos gerais dos tecidos e órgãos. Na seção 3.1, abordaremos o processamento histológico e os métodos de visualização dos tecidos. Já na seção 3.2, conheceremos a histologia dos órgãos e sistemas. Por fim, na seção 3.3, trataremos de algumas patologias e abordaremos a citopatologia oncótica.

Vamos lá?

Seção 3.1

Técnicas microscópicas e histológicas

Diálogo aberto

Caro aluno, nesta seção você poderá relembrar os conceitos de Histologia; Biologia Celular; Processamento Histológico; Microscopia óptica; Microscopia eletrônica, e ainda falaremos dos meios de coloração usamos para cada tipo de visualização microscópica. Para que você consiga se lembrar de todos esses fatos, vamos analisar a história de Fernanda.

Como vimos, o neurologista de Fernanda optou por fazer uma timectomia. Após a cirurgia, o órgão removido foi encaminhado a um laboratório de análises anatomopatológicas e foi detectada uma hiperplasia tímica folicular. Tatiane, uma estagiária recém-contratada pelo laboratório, ainda não havia acompanhado o processamento histológico das amostras recebidas e ficou curiosa para saber como é realizado. Você saberia explicar para Tatiane de que maneira as amostras são preparadas para análise histológica? Qual (is) método (s) de visualização de tecidos podem ser utilizados na detecção da hiperplasia tímica de Fernanda?

Mãos à obra!

Não pode faltar

Prezado aluno, certo dia alguém com uma curiosidade aguçada quis ver as coisas bem mais de perto. Você acredita que essa atitude tenha sido importante para a evolução das ciências da saúde? De que maneira? Para te ajudar nesse questionamento, vamos recordar como tudo começou no mundo da microscopia. Em 1663, aperfeiçoando conjuntos ópticos para a observação dos planetas, o cientista Robert Hooke percebeu que, ao inverter as lentes, era possível observar estruturas impossíveis de serem visualizadas a olho nu. O cientista então pegou um pedaço da cortiça utilizada para vedar as vidrarias do laboratório e a observou sob essa nova perspectiva.

A curiosidade de Hooke abalou o mundo da ciência ao demonstrar diversos compartimentos vazios, os quais denominou de *cellulas* (em latim, pequenos compartimentos fechados), uma referência aos pequenos quartos, nos quais os monges viviam. A partir de então, diversos estudos com os mais variados tipos de animais e plantas lançaram a ideia de que todos os seres vivos são constituídos por pequenas unidades, agora denominadas células.

Após a aceitação geral de que somos constituídos por unidades microscópicas, por volta de 1840 foi a vez de o alemão Rudolf Virchow observar que a estrutura morfológica normal se alterava nas doenças, o que era fundamental para a evolução das ciências da saúde. Essa descoberta marcou definitivamente a importância da histologia ao permitir o conhecimento de parâmetros microscópicos normais e, consequentemente, a compreensão de como as doenças se manifestam a nível celular e de como evoluem a partir deste ponto.

A histologia é a área biomédica que estuda microscopicamente os tecidos e órgãos, através da obtenção de amostras por diversas técnicas, sendo a biópsia e a necropsia as mais comuns. A biópsia consiste em um procedimento cirúrgico realizado em organismos vivos, no qual a amostra é obtida através de incisão com instrumentos cortantes. As biópsias podem ser: a) incisionais, por meio da qual parte do tecido ou órgão é removida; b) excisionais, a partir da qual todo um segmento ou lesão é removido; c) "a céu aberto", na qual grandes amostras, membros ou órgãos inteiros/quase inteiros são obtidos. Já a necropsia constitui um procedimento realizado *post mortem*, que envolve os seguintes exames: (i) físico superficial; (ii) exame das cavidades; (iii) exame com possível remoção de órgãos ou partes deles (através de dissecação cadavérica), neste caso, há o posterior fechamento do corpo para a avaliação anatomopatológica e histopatológica.

Outra técnica bastante utilizada é a punção por agulhas (punção aspirativa), que alcança a amostra por meio de agulhas contendo a borda cortante e uma guilhotina que secciona a base do tecido preso em seu interior. Ela é ideal para lesões sólidas superficiais ou profundas, essas últimas guiadas por exames de imagem. O **processamento histológico** de uma amostra envolve uma série de

etapas, realizadas na seguinte sequência: 1) fixação; 2) clivagem; 3) desidratação; 4) clarificação; 5) impregnação e inclusão; 6) microtomia; 7) remoção do material de inclusão e reidratação; 8) coloração e 9) montagem.

Reflita

Qual a importância da fixação no processamento histológico e quais as consequências da ausência ou da má realização desta etapa na análise microscópica da amostra?

A fixação é a etapa que preserva a morfologia do tecido após sua retirada do organismo, evitando que sofra autólise. Esse procedimento também impede que bactérias colonizem o tecido e inicia o endurecimento da amostra. A preservação dos tecidos é possível devido a compostos químicos presentes nas substâncias fixadoras, que, ao realizarem ligações químicas estáveis com proteínas teciduais, impossibilitam sua desnaturação. Os fixadores mais utilizados são o formol a 5% ou a 10% tamponado, a solução de Bouin e o Bouin alcoólico (solução de Duboscq-Brasil); também sendo utilizados o líquido de Carnoy, o líquido de Zenker e a solução de Helly. Caso a análise histológica seja realizada em microscópios eletrônicos, a fixação química deverá ser feita com glutaraldeído, formalina ou trioximetileno (paraformaldeído); uma vez que fixadores com ação coagulante sobre as proteínas (como o etanol, por exemplo) alteram a configuração dessas macromoléculas e, portanto, não são utilizados em microscopia eletrônica.

A imersão no fixador deve ser realizada tão logo a amostra seja obtida, com o cuidado de mantê-la totalmente imersa e certificando-se de que haja líquido o suficiente para que a fixação ocorra em toda a profundidade da amostra (sendo ideal um volume pelo menos 10 vezes maior que o volume dela). O tempo de fixação varia conforme o tamanho da amostra, mas preconiza-se um prazo de segurança de, no mínimo, 24 horas. Amostras grandes, normalmente peças cirúrgicas ou provenientes de necropsia, devem ser clivadas (cortadas) antes do processamento

histológico, permitindo maior penetração das soluções, além de expor todas as suas superfícies e de aumentar as regiões que serão observadas ao microscópio.

A desidratação é realizada com o intuito de remover a água normalmente presente nos tecidos. Para isso, submerge-se a amostra em soluções alcoólicas de concentração gradualmente crescente, evita-se a contração brusca do fragmento e a consequente corrugação do tecido. O composto químico mais utilizado é o etanol, em concentrações sequenciais de 70%, 80%, 90% e 100% (em quantidades 10 a 20 vezes maior que o volume da amostra). Além do etanol, costuma-se utilizar o metanol, o álcool isopropílico, a acetona, o éter e o clorofórmio. A etapa de clarificação consiste na remoção da gordura emulsionada, normalmente presente na amostra, através da aplicação de um produto miscível em soluções alcoólicas. O mais utilizado é o xilol (em quantidades 10 a 20 vezes maior que o volume da amostra); além do toluol e do benzol. A partir dessa etapa, os espaços até então preenchidos por gordura passam a ser observados vazios ao microscópio de luz.

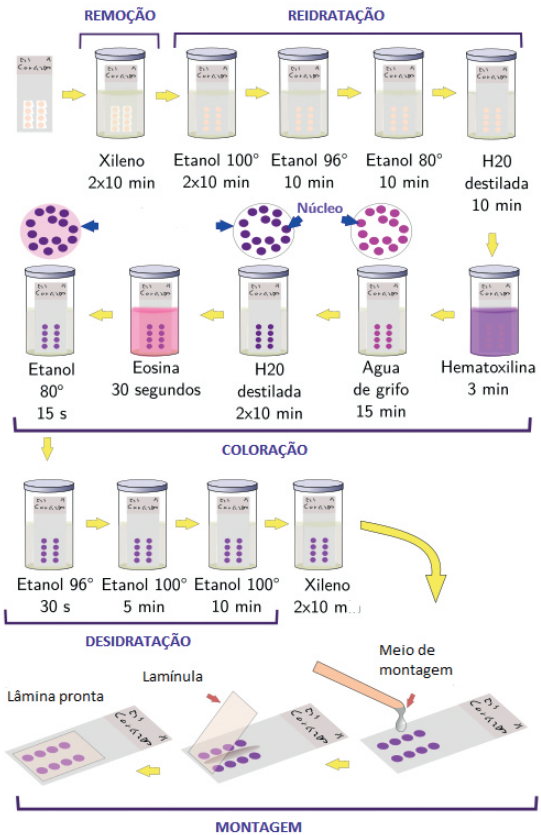
Para tornar a amostra dura o suficiente para ser cortada por micrômetros de precisão, tão fina a ponto de permitir a passagem da luz emitida pelo microscópio, a etapa seguinte consiste em: (i) impregnação da amostra com parafina aquecida, que a penetra e ocupa os espaços anteriormente preenchidos por água e gordura; (ii) inclusão, que consiste no envolvimento externo da amostra com parafina aquecida, formando um bloco, após o seu resfriamento endurecimento. Além da parafina, podem ser utilizados resina plástica, goma arábica e polietileno.

Uma vez preparado o bloco de parafina, segue-se para a microtomia, ou seja, cortes do bloco em micrótomo para obtenção de materiais finos o suficiente (espessura média ideal de 4 a 6 µm) para visualização ao microscópio. Como a amostra ainda se encontra envolvida pela parafina e a maioria dos corantes não são miscíveis com o material impermeável que forma o bloco, a amostra é submetida por nova clarificação seguida de mais uma etapa de desidratação, porém, desta vez, utilizando soluções alcoólicas de concentrações gradualmente decrescentes (100%, 90%, 80% e 70%).

Continuando o processamento histológico, a amostra precisa ser corada. Os corantes ideais são aqueles que possuem estabilidade de tons (não descoram facilmente com o tempo) e que permitam um bom contraste entre núcleo, citoplasma e material extracelular, o que possibilita distinguir a forma da célula, a estrutura da matriz extracelular e a organização tecidual. A coloração mais utilizada, considerada universal na microscopia óptica, é a combinação entre hematoxilina e eosina (HE), tingindo a amostra com variações de coloração entre dois tons. Estruturas com pH ácido, como o núcleo e o nucléolo, são coradas em tons de roxo pela hematoxilina (pH básico), enquanto as estruturas com pH básico ou neutro, como o citoplasma e a maioria dos constituintes extracelulares, são coradas em tons de rosa pela eosina (pH ácido).

Após a coloração, o corte histológico é novamente desidratado (soluções alcóolicas em concentrações crescentes) e clarificado. Por fim, a última etapa consiste na montagem do corte sobre uma lâmina para microscópio, protegendo-o fisicamente e garantindo a manutenção da tonalidade dos corantes utilizados. Uma pequena quantidade de meio de montagem, mais comumente o bálsamo do Canadá, é depositada sobre o corte e uma lamínula de vidro é fixada sobre ele. Algumas das etapas que acabamos de ver são tarefas que podem ser realizadas por equipamentos automáticos e programáveis denominados histotécnicos, responsáveis por processar a amostra após a etapa de fixação. As vantagens do processamento histológico automatizado são a padronização do resultado final e a realização, em maior quantidade, de material ao mesmo tempo, o que é um diferencial na rotina de grandes laboratórios de análises anatomopatológicas.

Figura 3.1 | Etapas do processamento histológico, a partir da remoção do material de inclusão



Fonte: adaptada de <https://bit.ly/2BqL1LF>. Acesso em: 25 maio 2018.

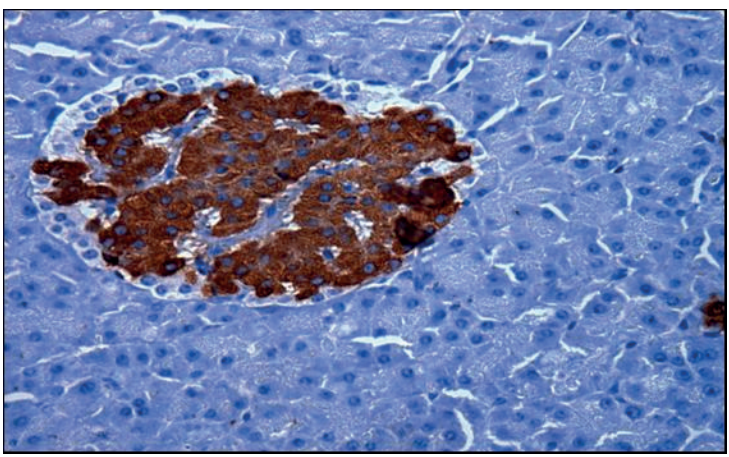
Além do processamento histológico de rotina, para quando se objetiva ir além da histomorfologia, existem outras técnicas de preparo de tecidos e órgãos para análise microscópica. A histoquímica, por exemplo, é uma técnica utilizada quando é necessária a detecção ou evidenciação de determinado composto químico na amostra presente em microrganismos; em depósitos intra ou extracelular, ou em constituinte específico de um certo tipo de tecido. Nessa técnica, os corantes utilizados apresentam afinidade

pelo composto que se deseja observar ou procurar _ durante a etapa de coloração da amostra, reações químicas ocorrem entre os compostos químicos celulares e/ou teciduais e os compostos presentes nos corantes.

Na imuno-histoquímica, outra técnica complementar, o princípio da reação antígeno-anticorpo permite identificar a expressão celular de proteínas; sendo uma técnica bastante utilizada na oncologia para determinação da linhagem celular tumoral e expressão de receptores hormonais pelas células neoplásicas malignas. A técnica utiliza anticorpos que se ligam especifica e estavelmente a proteínas (antígenos), formando um complexo antígeno-anticorpo. Após a etapa de remoção da parafina, o anticorpo é gotejado sobre o corte histológico, incubado por tempo variável e associado a um corante. Caso a proteína em questão esteja presente, serão observadas células coradas; caso contrário, a reação será considerada negativa.

Exemplificando

Figura 3.2 | Fotomicrografia de imuno-histoquímica do pâncreas, com marcação das células beta (400x)



Fonte: <https://goo.gl/WteQae>. Acesso em: 25 maio 2018.

A hibridização *in situ*, por sua vez, objetiva a detecção de sequências parciais de DNA e RNA, presentes em uma amostra

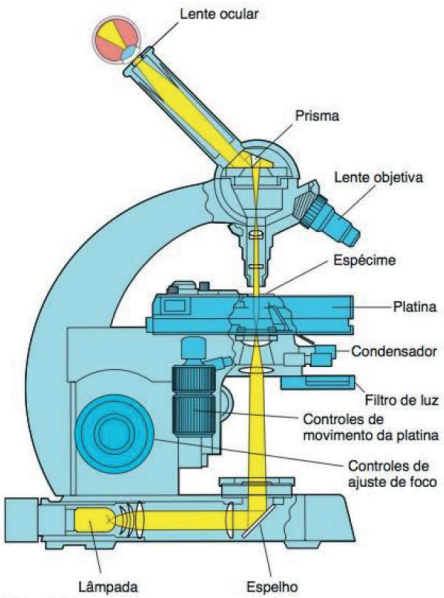
incluída em parafina ou congelada. Para tanto, a sequência do material genético deve ser previamente decodificada e, a partir de então, é produzida uma sequência complementar ao fragmento que se deseja evidenciar (sonda de DNA); marcada com um composto radioativo, fluorescente ou cromógeno, possibilitando sua visualização ao microscópio. Durante a reação, caso sejam complementares, DNA ou RNA se ligam à sonda colocada em contato com a amostra; e, havendo a ligação, a positividade é indiretamente observada através do marcador ligado à sonda. Esta técnica é clinicamente indicada para diagnóstico da presença de vírus, como HPV, hepatite, dentre outros, bactérias intracelulares e certos tipos de tumores malignos, como leucemias e linfomas.

Pesquise mais

Saiba mais sobre o emprego da imuno-histoquímica no diagnóstico de neoplasias e lesões pseudoneoplásicas através da leitura do artigo intitulado **Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica.** (WERNER, B. et al.,2005 p.353-364) Fonte: <https://bit.ly/2wlDJmG> Acesso em: 25 maio 2018.

Estando a lâmina histológica pronta, a análise pode ser realizada por diversos **métodos de visualização**; sendo o microscópio de luz, básico e universal, mais utilizado nas principais análises microscópicas. Eles permitem a visualização do tecido ou órgão pela transparência do corte histológico; funcionando a partir de um sistema com três tipos de lentes e feixes de luz provenientes de lâmpada elétrica, direcionados para o corte pela lente condensadora. Após iluminada, a imagem projetada é aumentada através de lentes objetivas (aumentos de 4, 10, 40 ou 100 vezes) e oculares (aumentos de 10 ou 12 vezes). Para o cálculo do aumento total da imagem, deve-se multiplicar o aumento proporcionado pelas objetivas pelo aumento extra obtido pelas oculares. Por exemplo: objetiva de 10x com ocular de 10x - aumento total de 100x; objetiva de 10x com ocular de 12x - aumento total de 120x; e assim por diante.

Figura 3.3 | Principais componentes de um microscópio de luz e o trajeto desde a fonte luminosa até os olhos do observador



Fonte: Junqueira e Carneiro (2013, p. 4).

Entretanto, quando a amostra é submetida a processamentos histológicos especiais, nos quais houve adição de marcadores ao corte (compostos enzimáticos, fluorescentes ou radioativos), a visualização deve ser realizada em microscópios que permitam a identificação desses marcadores; como é o caso dos microscópios eletrônicos (ME), de fluorescência e confocal. Os modelos atuais de microscópios eletrônicos apresentam uma resolução 100 vezes maior que a dos microscópios de luz, sendo constituídos por um filamento de tungstênio com caráter anódio, o que emite, no vácuo, um feixe de elétrons. Ao contrário dos microscópios de luz, as objetivas dos ME não mudam o aumento da imagem e não apresentam oculares; a visualização é indireta, pela projeção da imagem em uma superfície ou tela. Há dois tipos de microscópios eletrônicos: microscópio eletrônico de transmissão (MET) e microscópio eletrônico de varredura (MEV); sendo que, no primeiro,

os feixes de elétrons atravessam a amostra – ao contrário do segundo, no qual os feixes não atravessam a amostra, mas "varrem" sua superfície, que é previamente recoberta por uma liga metálica, responsável pelo surgimento de feixes secundários.

O microscópio de fluorescência é um equipamento que possibilita a visualização da fluorescência emitida por cromógenos fluorescentes ligados a anticorpos; possibilitando, indiretamente, a identificação de antígenos presentes na amostra. A lâmpada utilizada nesse tipo de microscópio emite radiação ultravioleta, que gera excitação no composto fluorescente ligado à amostra. Por fim, o microscópio confocal permite a reconstrução tridimensional de tecidos e segmentos de órgãos a partir de secções ópticas "escaneadas" por feixes de *laser*. As imagens de cada segmento são enviadas a um computador contendo um *software* específico, que permite a visualização da imagem e sua impressão em modelos acrílicos.

Sem medo de errar

Após a cirurgia, o timo de Fernanda foi removido e encaminhado a um laboratório de análises anatomopatológicas, no qual foi detectada uma hiperplasia tímica folicular. Tatiane, uma estagiária recém-contratada pelo laboratório, ainda não havia acompanhado o processamento histológico das amostras recebidas; ficando curiosa para saber como é realizado. **O processamento histológico de uma amostra envolve uma série de etapas, realizadas em sequência: 1) fixação; 2) clivagem; 3) desidratação; 4) clarificação; 5) impregnação e inclusão; 6) microtomia; 7) remoção do material de inclusão (desparafinização) e reidratação; 8) coloração; 9) montagem**. A fixação é a etapa que preserva a morfologia do tecido após sua retirada do organismo, evitando que sofra autólise. Esse procedimento também impede que bactérias colonizem o tecido e inicia o endurecimento da amostra. Amostras grandes, normalmente peças cirúrgicas ou provenientes de necropsia, devem ser clivadas (cortadas) antes do processamento histológico, permitindo maior penetração das soluções, expondo todas as superfícies da amostra e aumentando as regiões que serão observadas ao microscópio. A desidratação é realizada com o intuito de remover a água normalmente presente

nos tecidos. Para isso, submerge-se a amostra em soluções alcoólicas de concentração gradualmente crescente, evita-se a contração brusca do fragmento e a consequente corrugação do tecido. A etapa de clarificação consiste na remoção de gordura emulsionada, normalmente presente na amostra, através da aplicação de um produto miscível em soluções alcoólicas. Para tornar a amostra dura o suficiente para ser cortada por micrômetros de precisão, tão fina a ponto de permitir a passagem da luz emitida pelo microscópio, a etapa seguinte consiste na impregnação da amostra com parafina aquecida, que a penetra e ocupa os espaços anteriormente preenchidos por água e gordura. Na inclusão, que é o envolvimento externo da amostra com parafina aquecida, forma-se um bloco após o resfriamento e o endurecimento da parafina. Uma vez preparado o bloco de parafina, segue-se para a microtomia, ou seja, a realização dos cortes do bloco em micrótomo, para obtenção de materiais finos o suficiente (espessura média ideal de 4 a 6 µm) para visualização ao microscópio. Como a amostra ainda se encontra envolvida pela parafina e a maioria dos corantes não são miscíveis com o material impermeável que forma o bloco, a amostra é submetida por nova clarificação seguida de mais uma etapa de desidratação. Continuando o processamento histológico, a amostra precisa ser corada. A coloração ideal é aquela que possui estabilidade de tons (não descora facilmente com o tempo) e que permite um bom contraste entre núcleo, citoplasma e material extracelular, possibilitando distinguir a forma da célula, a estrutura da matriz e a organização tecidual ou do órgão analisado. Os corantes mais utilizados, considerados universais em histologia e demais rotinas laboratoriais microscópicas, são a combinação entre hematoxilina (básico) e eosina (ácido). Após a coloração, o corte histológico é novamente desidratado e clarificado. Por fim, a última etapa consiste na montagem do corte sobre uma lâmina, protegendo-o fisicamente e garantindo a manutenção da tonalidade dos corantes utilizados. Uma pequena quantidade de meio de montagem, mais comumente o bálsamo do Canadá, é depositada sobre o corte e uma lamínula de vidro é fixada sobre ele. Para a detecção da hiperplasia de Fernanda, pode-se utilizar **microscópio de luz** e/ou **microscópios eletrônicos (MEV e MET)**.

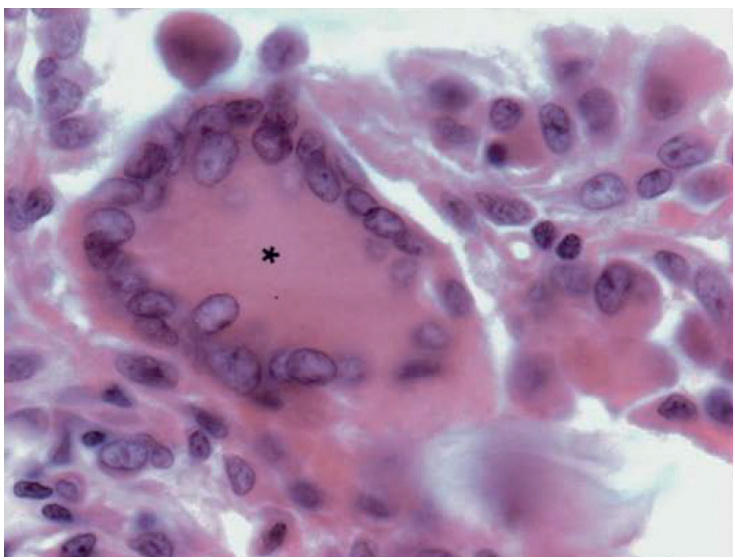
Avançando na prática

Colorindo a Vida

Descrição da situação-problema

Tatiane, a estagiária recém-contratada pelo laboratório de análises anatomopatológicas, sempre foi muito curiosa. Desde pequena, gostava de pegar as coisas e vê-las bem de perto, analisando seus detalhes. Quando criança, a jovem ganhou de sua mãe uma lupa e decidiu que queria se tornar uma cientista quando crescesse. Cursando o último ano do Ensino Médio, Tatiane ficou muito empolgada com o estágio que conseguiu e encantou-se com os diversos microscópios disponíveis no laboratório. Um dos principais conceitos aprendidos por Tatiane durante o estágio foi a importância da etapa de coloração no processamento histológico das amostras. O coordenador do laboratório, o biomédico Dr. Alexandre Veronez, como forma de testar os conhecimentos de sua estagiária, pediu que Tatiane observasse a seguinte imagem ao microscópio de luz:

Figura 3.4 | Corte histológico de pele



Legenda: Esse corte mostra uma célula gigante (*) formada pela fusão vários macrófagos. Coloração HE
Fonte: Junqueira e Carneiro (2013, p. 97).

O biomédico questionou a jovem sobre qual coloração havia sido utilizada na amostra. Você seria capaz de responder à pergunta do Dr. Alexandre? Quais constituintes estão corados em tom de roxo e quais estão corados em tom de rosa? Explique o porquê dessa diferença.

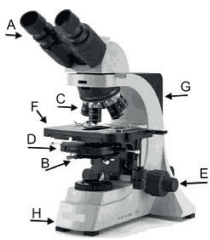
Resolução da situação-problema

Continuando o processamento histológico, a amostra precisa ser corada, sendo os corantes ideais aqueles que possuem estabilidade de tons (não descoram facilmente com o tempo) e que permitam um bom contraste entre núcleo, citoplasma e material extracelular, possibilitando distinguir a forma da célula, a estrutura da matriz extracelular e a organização tecidual. A coloração mais utilizada, considerada universal na microscopia óptica, é a **combinação entre hematoxilina e eosina (HE)**, tingindo a amostra com variações de coloração entre dois tons. Estruturas com pH ácido, como o **núcleo** e o nucléolo, são coradas em tons de roxo pela hematoxilina (pH básico); enquanto que estruturas com pH básico ou neutro, como o **citoplasma** e a maioria dos constituintes extracelulares, são coradas em tons de rosa pela eosina (pH ácido).

Faça valer a pena

1. [Adaptado de UEMA 2014] Microscópios de luz são equipamentos que permitem a visualização de um tecido ou órgão, funcionando a partir de um sistema com três tipos de lentes e feixes de luz provenientes de lâmpada elétrica, direcionados para a amostra pelo condensador. Após iluminada, a imagem projetada é aumentada de 10 a 100 vezes e de 10 ou 12 vezes; graças à combinação de dois componentes, indicados pelas letras A e C na figura a seguir:

Figura 3.5 | Microscópio de Luz



Fonte: <https://bit.ly/2nTCqaF>. Acesso em: 25 maio 2018.

Os componentes A e C, responsáveis pelo aumento de uma amostra, são respectivamente denominados:

a) Condensador e ocular.
b) Diafragma e condensador.
c) Objetiva e condensador.
d) Ocular e diafragma.
e) Ocular e objetiva.

2. [Adaptado de UFRN 2016 – Técnico de Laboratório/Patologia] O processamento histológico de uma amostra envolve uma série de etapas, realizadas em sequência. Analise as afirmativas a seguir, a respeito de algumas das etapas do processamento histológico:

I. A desidratação é realizada com o intuito de remover a água normalmente presente nos tecidos, possibilitando a penetração da parafina.
II. Clarificação é o endurecimento e a despigmentação da amostra, facilitando a microtomia e a coloração.
III. Na impregnação, há um resfriamento da parafina contendo a amostra, em molde para formar o bloco.
IV. A inclusão consiste na inclusão entre lâmina e lamínula do corte obtido na pescagem para posterior coloração.
V. Os corantes mais utilizados, considerados universais em histologia e demais rotinas laboratoriais microscópicas, é a combinação entre hematoxilina (básico) e eosina (ácido).
Fonte: adaptado de <https://bit.ly/2BptSle >. Acesso em: 25 maio 2018.

Assinale a alternativa que contém as afirmativas corretas.

a) I, somente
b) II e IV
c) I, III e V
d) I, II, III e V
e) I, II, III, IV e V.

3. [Adaptado de UFRN 2016 – Técnico de Laboratório/Patologia] Além do processamento histológico de rotina, para quando se objetiva ir além da histomorfologia, existem outras técnicas de preparo de tecidos e órgãos para análise microscópica. A histoquímica, por exemplo, é uma técnica utilizada quando é necessária a detecção ou evidenciação de determinado composto químico na amostra; presente em microrganismos, depósitos

intra ou extracelular, ou em constituinte específico de um certo tipo de tecido. O quadro a seguir apresenta duas etapas essenciais (P1 e P2) do processamento histológico convencional:

Quadro 3.1 | Processamento histológico convencional

Xilol	Álcool			Água	
	Absoluto	95%	70%	Torneira	Destilada
2 min	1 min	1 min	1 min	1 min	1 min
2 cubas	2 cubas	2 cubas	2 cubas	2 cubas	2 cubas

Fonte: adaptado de <https://bit.ly/2BptSle>. Acesso em: 25 maio 2018.

Assinale a alternativa que contém as denominações das respectivas etapas P1 e P2.

a) Clarificação e desidratação.
b) Clarificação e reidratação.
c) Desidratação e clarificação.
d) Desidratação e destilação.
e) Desparafinização e reidratação.

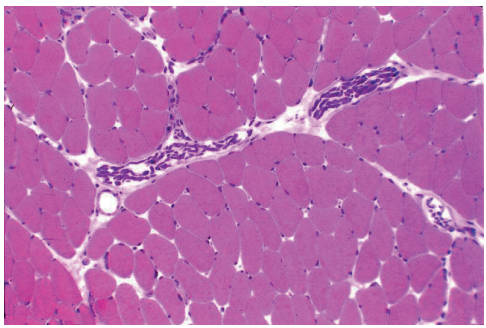
Seção 3.2

Aspectos gerais teciduais

Diálogo aberto

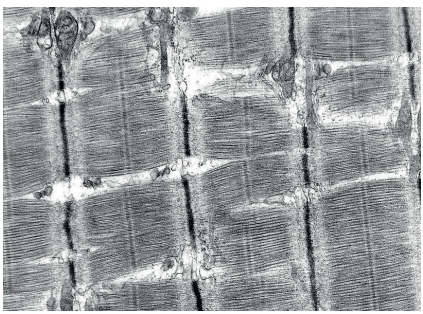
Tatiane, a estagiária do laboratório de análises anatomopatológicas, completou seis meses de estágio e já consegue, ao observar uma lâmina, identificar qual é o tecido ou órgão correspondente e suas principais características histológicas. Como forma de acompanhar a evolução da miastenia grave, o neurologista de Fernanda envia ao laboratório, a cada seis meses, uma biópsia de sua paciente. Confiante e considerando-se capaz, Tatiane realizou sozinha o processamento histológico da amostra e obteve as seguintes imagens:

Figura 3.6 | Lâmina histológica de biópsia da paciente Fernanda Medeiros



Fonte:<https://bit.ly/2N2t5In>. Acesso em: 02 jun. 2018.

Figura 3.7 | Microscopia eletrônica de biópsia da paciente Fernanda Medeiros



Fonte:<https://bit.ly/2By7NRO>. Acesso em: 02 jun. 2018.

Qual é o tecido ou órgão enviado para análise pelo neurologista? Você é capaz de descrever as principais características histológicas observadas em cada uma das imagens obtidas pela estagiária?

Não pode faltar

Tecido é um conjunto de células semelhantes e relacionadas que desempenham as mesmas funções básicas. Além das células, estão presentes nos tecidos **substâncias intercelulares**, compostas por fibras colágenas, reticulares ou elásticas; **substâncias amorfas**, constituídas por material gelatinoso essencialmente glicídico, e **líquido tecidual**, derivado do plasma sanguíneo, em concentrações que variam conforme o tipo de tecido. Nos vertebrados, encontramos basicamente quatro tipos de tecido: epitelial, conjuntivo, muscular e nervoso.

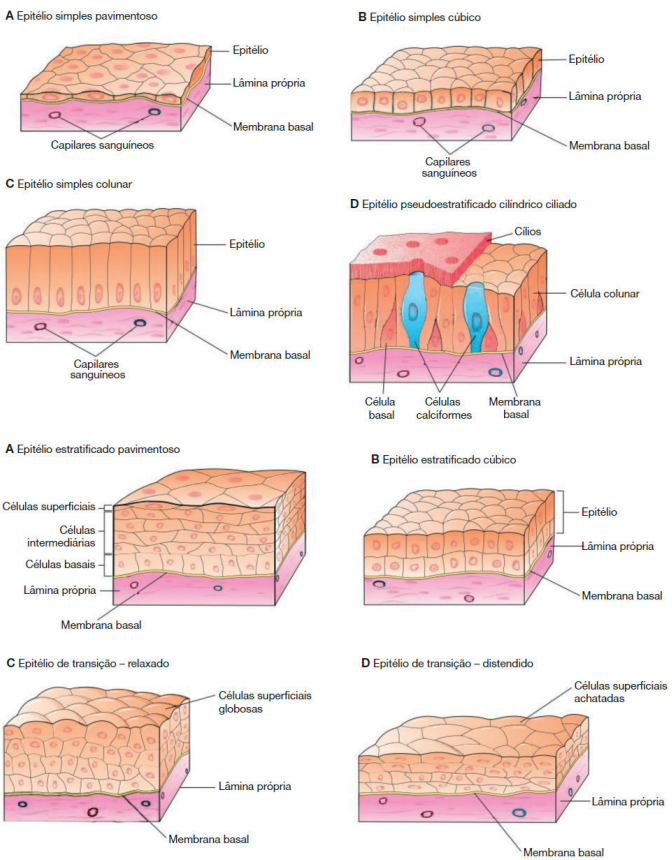
Classicamente, o **tecido epitelial** divide-se em epitélios de revestimento, epitélios glandulares e neuroepitélios; porém com diversas correlações morfológicas e funcionais entre eles. Epitélios de revestimento, como o próprio nome diz, revestem superfícies internas e externas de órgãos; além de estruturas como vasos, ductos e túbulos. Epitélios glandulares, por sua vez, produzem e liberam secreções enquanto os neuroepitélios associam-se a órgãos e estímulos sensoriais. Algumas características morfofuncionais são comuns a todos os epitélios: as células são justapostas (unidas entre si e, consequentemente, separadas por escasso material intercelular) e apresentam morfologia variada conforme o local em que se encontram. Os epitélios apresentam intensa inervação sensorial, conferindo a esse tipo de tecido a capacidade de perceber estímulos do meio que o cerca. Além disso, o fornecimento de oxigênio e nutrientes, bem como a remoção de gás carbônico e de resíduos metabólicos, são realizados por difusão por meio dos capilares sanguíneos de tecidos sub- ou adjacentes, já que não apresentam vascularização. As principais funções do tecido epitelial são: a) proteção física e imunológica; b) transporte transcelular e transporte paracelular; c) produção e secreção de proteínas, lipídeos e carboidratos; d) permeabilidade seletiva; e) percepção de estímulos sensoriais e f) sustentação.

Dentre os epitélios de revestimento, encontramos nove subclassificações de acordo com a quantidade de camadas e a morfologia das células: 1) epitélio simples pavimentoso (ex.: revestimento externo do pulmão); 2) epitélio simples cúbico (ex.: revestimento externo

dos ovários); 3) epitélio simples colunar (ex.: revestimento do lúmen intestinal); 4) epitélio pseudoestratificado colunar (ex.: revestimento da cavidade nasal, traqueia e brônquios); 5) epitélio estratificado pavimentoso queratinizado (ex.: epiderme); 6) epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (ex.: boca, esôfago e canal anal); 7) epitélio estratificado cúbico (ex.: glândulas sudoríparas); 8) epitélio estratificado de transição (ex.: cálices renais, ureteres e bexiga) e 9) epitélio estratificado colunar (ex.: membrana conjuntiva dos olhos).

Exemplificando

Figura 3.8 | Tipos de epitélio de revestimento simples, pseudoestratificados e estratificados



Fonte: Junqueira e Carneiro (2013, p. 74).

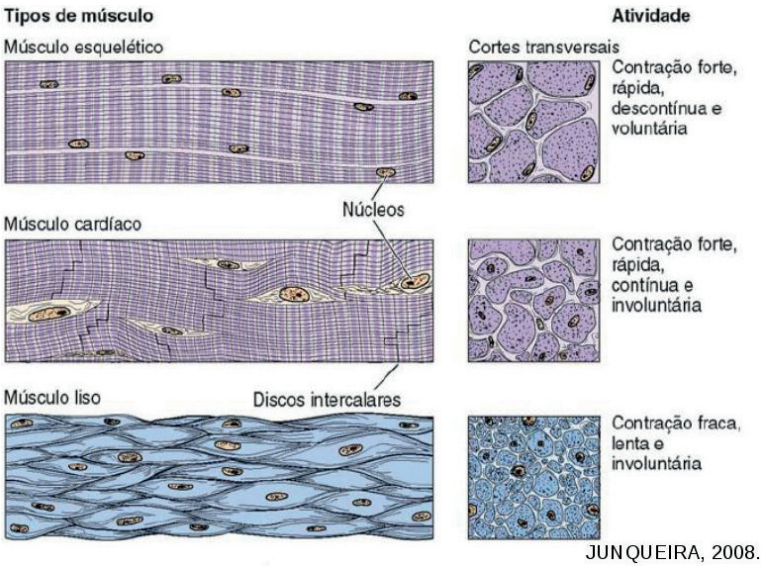
Enquanto os epitélios de revestimento são classificados conforme a quantidade de camadas e a morfologia celular, os glandulares são classificados de acordo com o mecanismo de liberação da secreção, que divide o epitélio glandular em dois grupos: glândulas endócrinas e glândulas exócrinas. Glândulas endócrinas não possuem ductos e liberam sua secreção _de maneira genérica, chamada hormônio_ diretamente na circulação sanguínea, enquanto as glândulas exócrinas liberam sua secreção (saliva, suor, lágrima, sebo, muco, dentre outras) em superfícies do organismo, internas ou externas.

O **tecido conjuntivo** origina-se do mesênquima, um tecido conjuntivo embrionário, cuja principal função é o preenchimento de espaços e a sustentação dos demais tecidos e órgãos também em formação. De acordo com a morfologia das células e as características da matriz extracelular, os tecidos conjuntivos são subdivididos em: a) mucoso, presente durante o desenvolvimento embrionário; b) conjuntivo propriamente dito; c) ósseo; d) cartilaginoso; e) adiposo e f) hematopoiético e sangue. O tecido conjuntivo propriamente dito localiza-se subjacente aos epitélios de revestimento, formando a lâmina própria nas mucosas e a derme na pele; possuindo como principais funções a sustentação e o preenchimento dos espaços internos entre os órgãos; a nutrição, a inervação e drenagem linfática; aorganização estrutural (originando as membranas envoltórias intracelulares); a defesa imunológica e a cicatrização.

Em torno da quarta semana de gestação, células mesenquimais do mesoderma (precursoras miogênicas denominadas mioblastos) retraem seus prolongamentos citoplasmáticos, alongam-se e passam a sintetizar proteínas que, aos poucos, preenchem o citoplasma e tornam-se capazes de se contrair. Com o amadurecimento morfofuncional dos mioblastos, três tipos de **tecido muscular** são originados: liso, estriado esquelético e estriado cardíaco. Entretanto, apesar de uma função básica em comum (contração e relaxamento), as características histológicas e a histofisiologia entre eles são diferentes.

Assimile

Figura 3.9 | Tipos de tecido muscular



Fonte: Junqueira e Carneiro (2013, p. 178).

Ao contrário dos músculos estriados, o músculo liso possui capacidade de regeneração, entrando em atividade mitótica quando influenciado por fatores de crescimento. As fibras desse tipo de músculo realizam contração lenta, pouco intensa e involuntária, e o estímulo contrátil pode ser proveniente de inervação do sistema nervoso autônomo (SNA) através de estímulo hormonal ou desencadeado por estiramento mecânico. O tecido muscular liso é encontrado isolado ou em camadas nas paredes de vasos, órgãos ocos e vísceras; não apresenta estriações e suas células são fusiformes, com núcleo único, central e volumoso. Além disso, as fibras são envoltas por quantidades distintas de tecido frouxo, conforme a localização do músculo; fazendo com que o tecido assuma aspectos diferentes, apesar de mantidas as características gerais. A vascularização e a inervação desse músculo são provenientes de septos de tecido conjuntivo ou do próprio tecido circundante; já a sustentação é proporcionada por um discreto envoltório de fibras reticulares.

O músculo estriado esquelético, por sua vez, apresenta contração rápida, intensa e voluntária, além de descontínua. É encontrado associado ao esqueleto ósseo, formando o sistema musculoesquelético juntamente com os tendões, ligamentos e articulações. As fibras desse tipo muscular são organizadas por três membranas de tecido conjuntivo propriamente dito (epimísio, perimísio e endomísio) e suas células são cilíndricas e dispostas paralelamente entre si, multinucleadas, com núcleos excêntricos e achatados. Em cortes histológicos orientados longitudinalmente, é possível observar estriações transversais que se intercalam repetidamente em linhas mais claras e mais escuras do mesmo tamanho ao longo de toda a extensão celular. A inervação desse músculo é proveniente de fibras nervosas motoras originadas no cérebro e na medula espinhal; oriundas do sistema nervoso somático. Um neurônio pode inervar quantidades variadas de fibras musculares, entretanto, quanto mais delicado e refinado for o movimento, mais específica será a inervação. Ainda, terminações nervosas livres fornecem informações sobre o grau de tensão e de força aplicadas, assim como sensações dolorosas e de fadiga, formando um conjunto denominado órgão tendinoso de Golgi.

Por fim, a contração do tecido muscular cardíaco é rápida, intensa, involuntária e contínua. Isso é possível devido à organização dos miofilamentos em sarcômeros; à inervação autônoma motora e à presença de fibras musculares especiais (fibras de Purkinje), situadas em pontos estratégicos da musculatura denominados nódulos. Esse tipo muscular é encontrado majoritariamente no coração – contração e relaxamento resultam nos batimentos cardíacos – e, em pequena parcela, nos segmentos das paredes de grandes veias associadas ao órgão (veias cavas e veias pulmonares). As fibras desse tipo de músculo também apresentam estriações transversais, são ramificadas e anastomosadas entre si, o que torna os limites de cada uma delas difíceis de serem distinguidos e o formato geral, irregular. Os núcleos das células musculares são únicos, ovais e de posição centralizada. A contração e o relaxamento dessas células são desencadeados pelas células de Purkinje.

Por último, mas não menos importante, o **tecido nervoso** é constituído por um conjunto celular bastante diversificado morfológica e funcionalmente. Os neurônios e as células da neuroglia apresentam numerosos prolongamentos citoplasmáticos

que se conectam e se entrelaçam formando um emaranhado que impede, nas colorações de rotina, a visualização das células do tecido nervoso em sua plenitude.

Reflita

A função básica e primordial do sistema nervoso é a condução de impulsos elétricos. O que são esses impulsos? Quem os conduz? Onde ou através de que ocorre essa condução e o que a desencadeia?

As células nervosas são excitáveis, capazes de serem estimuladas metabolicamente por fatores físicos, mecânicos, químicos e elétricos; provenientes do meio interno ou externo. Quando estimulados, os neurônios analisam o tipo de estímulo e, através dessa percepção, o sistema nervoso desencadeia respostas adequadas sob a forma de sensações ou ações motoras voluntárias ou involuntárias. Após a interpretação do estímulo, o neurônio fornece a resposta através da condução do impulso, já que possui como característica funcional a condutividade. Essa resposta ocorre, com modificações na permeabilidade da membrana neuronal, por meio de trocas iônicas que resultam em diferenças de carga elétrica e que se perpetuam ao longo da membrana. A eletricidade resultante é liberada no meio extracelular: tem-se, assim, a condução do impulso nervoso.

A estrutura básica dos neurônios é constituída pelo pericário, um axônio e dendritos. O pericário é a região mais volumosa, contendo o núcleo central e arredondado, cujo nucléolo é grande e intensamente corado. Do pericárdio, surgem prolongamentos dendríticos e um cone de implantação, do qual surge um único axônio que se ramifica na extremidade distal. Apesar de únicos, axônios podem exibir ramos colaterais em ângulo reto ao prolongamento que emerge do cone de implantação; além de projeções curtas (espículas) ao longo de todo o seu comprimento. Os dendritos são arboriformes, delicados e presentes em quantidades variáveis. Existem diversos tipos de neurônios, classificados, conforme a morfologia dendrítica, em neurônios multipolares, bipolares e pseudounipolares.

A neuroglia envolve e sustenta os neurônios desde sua diferenciação no desenvolvimento embrionário; mas, além dessas funções, cada tipo glial apresenta morfologia e funções próprias, contribuindo para e, muitas vezes, possibilitando o funcionamento

do sistema nervoso. As células que compõem a neuroglia são, no sistema nervoso central, os astrócitos, os oligodendrócitos (síntese e manutenção da bainha de mielina), as células ependimárias e a micróglia. Já no sistema nervoso periférico, temos as células de Schwann e a célula-satélite.

Os vasos sanguíneos e linfáticos, componentes do **sistema circulatório**, são organizados em camadas dispostas sequencialmente da luz em direção externa; cuja estrutura histológica segue um padrão geral, que se particulariza de acordo com o tipo e o calibre do vaso. Essas particularidades envolvem, principalmente, variações na espessura das túnicas e no predomínio de determinados elementos sobre outros; fazendo com que artérias, veias e vasos linfáticos apresentem propriedades fisiológicas individuais e características morfológicas próprias passíveis de identificar cada tipo vascular no microscópio óptico. Os vasos sanguíneos arteriais são constituídos por artérias elásticas, artérias musculares, arteríolas, anastomoses arteriovenosas e capilares sanguíneas. Já os vasos sanguíneos venosos são constituídos pelas vênulas e veias de pequeno calibre, veias de médio calibre e veias de grande calibre. Por fim, constituem os vasos linfáticos: capilares linfáticos e vasos linfáticos coletores, contínuos aos capilares. Exceto quando ocasionalmente presentes pericitos envolvendo os capilares sanguíneos, destacando seu contorno, a distinção entre capilares sanguíneos e linfáticos é realizada através de preparos especiais.

O funcionamento normal dos órgãos do **sistema respiratório** depende diretamente da estrutura microscópica. Diferenças no epitélio ocorrem gradualmente desde a cavidade nasal, formada por epitélio pavimentoso estratificado. O epitélio torna-se cada vez mais fino dentro dos brônquios e há uma tendência à diminuição do suporte de tecido duro cartilaginoso, assim como da musculatura. Essas mudanças microscópicas remetem à principal função do sistema respiratório: troca gasosa por difusão, que jamais seria possível através de camadas de secreção, epitélios espessos e suportes volumosos. O epitélio dos bronquíolos terminais varia do cilíndrico estratificado ao cilíndrico simples, tornando-se cúbico à medida que se aproxima da porção respiratória. Nesse tipo de epitélio, os cílios são ocasionais, são encontradas células de Clara e células de poeira em meio às células de revestimento. Além disso, não são encontradas glândulas e não há suporte cartilaginoso. Os

bronquíolos respiratórios, presentes no início da porção respiratória, apresentam epitélio de revestimento ciliado, que varia de colunar baixo a cuboide, tornando-se ciliado ou não ciliado quando estão nos alvéolos. A estrutura histológica dos alvéolos e septos alveolares, unidades funcionais do pulmão, envolve pneumócitos tipo I (células pavimentosas que formam uma barreira minimamente espessa, a fim de possibilitar as trocas gasosas e, ao mesmo tempo, impedir a passagem de líquidos) e pneumócitos tipo II (células cúbicas localizadas entre os pneumócitos tipo I; formando, juntamente com eles, os desmossomos e as junções unitivas).

No **sistema urinário**, a barreira de filtração glomerular é constituída por endotélio do capilar arteriolar e o túbulo contorcido proximal, revestido por epitélio cúbico simples com microvilos. A alça de Henle apresenta células cúbicas (porção espessa) e células pavimentosas (porção delgada). O túbulo contorcido distal, por sua vez, é formado por células cúbicas menos coradas, menores e mais numerosas que o túbulo proximal. Já o tubo coletor apresenta células que passam gradualmente de cúbicas a cilíndricas altas, nas regiões cortical e medular, conforme se aproximam da papila renal (região na qual as células se tornam parecidas com as células superficiais do epitélio de transição presente na bexiga).

O **sistema digestório** se inicia por volta da terceira semana do desenvolvimento embrionário, a partir de proliferações celulares endodérmicas, mesodérmicas e ectodérmicas. O lábio e a cavidade bucal propriamente dita apresentam epitélio estratificado pavimentoso; assim como algumas áreas de revestimento da orofaringe. A estrutura geral do tubo digestivo é constituída por epitélio de revestimento e lâmina própria (camada mucosa) e tecido conjuntivo denso não modelado (camada submucosa). O esôfago possui algumas particularidades microscópicas: superfície mucosa lisa, tipo de epitélio e presença de glândula esofágica; além de o suporte muscular passar gradualmente de músculo estriado esquelético a músculo liso. O epitélio estomacal é o cilíndrico simples, lâmina própria preenchida por glândulas tubulares e três camadas de suporte muscular. Já o intestino delgado é formado por superfície mucosa com vilosidades e epitélio cilíndrico simples com microvilos, enquanto o intestino grosso apresenta epitélio de revestimento abundante em células caliciformes – exceto no apêndice cecal, em que há menor quantidade dessas células.

No **sistema nervoso central** (SNC), o tecido é organizado em substância branca e substância cinzenta. A substância branca é constituída por axônios mielínicos e axônios amielínicos em menor quantidade; além de células da neuroglia, em meio aos axônios. A substância cinzenta, por sua vez, contém pericários e seus prolongamentos (dendritos e cone de implantação); axônios mielínicos e axônios amielínicos, em menor quantidade. Envolvendo externamente os órgãos do SNC, encontram-se as meninges: membranas de tecido conjuntivo propriamente dito, que, da mais externa para o tecido nervoso, denominam-se dura-máter, aracnoidea e pia-máter.

Os gânglios nervosos são formados por neurônios ganglionares que podem ser funcionalmente sensoriais ou motores. Histologicamente, apresentam neurônios pseudounipolares e, ao redor dos pericários, são identificadas as células-satélite. O gânglio é envolto por uma cápsula de tecido conjuntivo propriamente dito, que emite septos para o interior da estrutura. Já os nervos periféricos são conjuntos organizados de axônios cujos pericários encontram-se no SNC ou nos gânglios nervosos.

A organização dos nervos é feita por membranas conjuntivas; dispondo-se, da camada mais externa (em contato com o meio) para a mais interna (em contato com a mielina): epineuro, perineuro e endoneuro. O epineuro é composto por tecido conjuntivo denso não modelado, rico em colágeno; o perineuro se origina de projeções internas do epineuro e torna-se mais frouxo quanto mais interno, e o endoneuro consiste em uma camada delicada de sustentação composta por fibras reticulares, em continuidade com o perineuro.

Por fim, os neuroepitélios são epitélios de revestimento especializados na captação de sensações específicas, os sentidos; situados em áreas específicas da mucosa nasal (olfação), mucosa lingual (gustação), retina (visão) e ducto coclear (audição). A particularidade desses epitélios consiste no fato de que, em meio às células de revestimento, encontram-se neurônios sensoriais cujos axônios percorrem o tecido conjuntivo subjacente, formando nervos aferentes ao SNC. Embora considerado um sentido, o tato não possui um epitélio especializado; a captação de estímulos táteis ocorre por meio de terminações nervosas livres e encapsuladas.

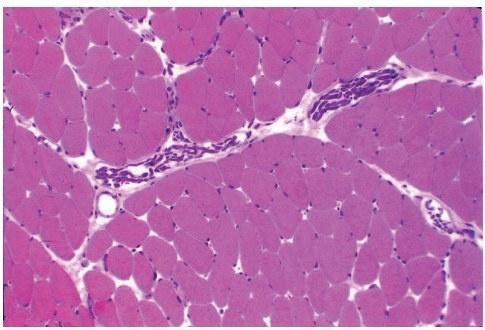
Pesquise mais

As terapias celulares e a bioengenharia atuam na Medicina Regenerativa buscando controlar e ampliar a capacidade natural de regeneração de tecidos. Para saber mais sobre elas, leia o artigo intitulado Terapias Celulares e Bioengenharia, de Radovan Borojevic. Disponívem em: <https://bit.ly/2Bx7GWw>. Acesso em: 21 ago. 2018

Sem medo de errar

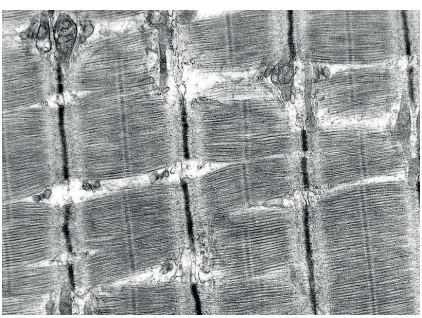
Como forma de acompanhar a evolução da miastenia grave, o neurologista de Fernanda envia ao laboratório, a cada seis meses, uma biópsia de sua paciente. Confiante e considerando-se capaz, Tatiane realizou sozinha o processamento histológico da amostra e obteve as seguintes imagens:

Figura 3.6 | Lâmina histológica de biópsia da paciente Fernanda Medeiros



Fonte: <https://bit.ly/2N2t5In>. Acesso em: 21 ago. 2018

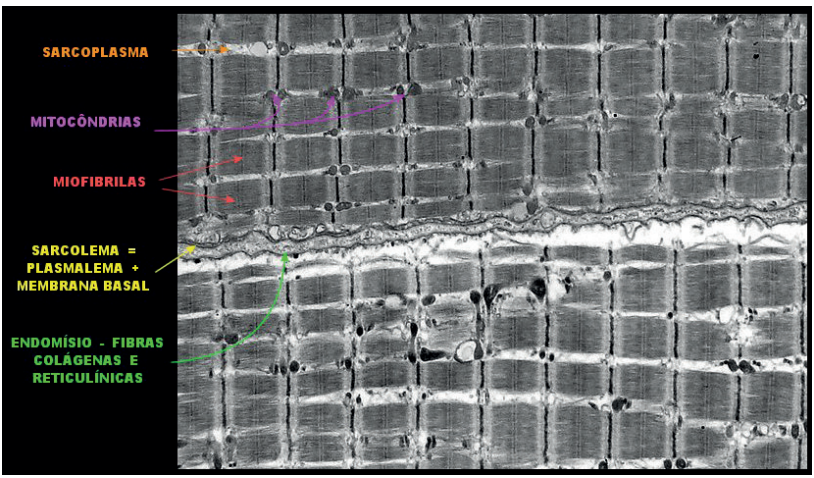
Figura 3.7 | Microscopia eletrônica de biópsia da paciente Fernanda Medeiros



Fonte:<https://bit.ly/2By7NRO>. Acesso em: 2 jun. 2018.

Conforme as imagens obtidas do corte histológico preparado por Tatiane, o tecido ou órgão enviado para análise pelo neurologista de Fernanda é o tecido muscular estriado esquelético. Na primeira imagem, um corte transversal das fibras musculares, podemos observar que as fibras musculares se arranjam em fascículos e que o tecido conjuntivo entre as fibras de cada fascículo é ainda mais frouxo e escasso que o perimísio; sendo constituído apenas por fibras reticulares e capilares. Podemos observar, também, que as células são cilíndricas e dispostas paralelamente entre si; multinucleadas, com núcleos excêntricos e achatados. Na segunda imagem, vemos a microscopia eletrônica de uma fibra muscular em corte longitudinal, na qual observamos estriações transversais que se intercalam repetidamente em linhas mais claras e mais escuras, do mesmo tamanho, ao longo de toda a extensão celular, assim como as fibras musculares que são separadas por uma fina camada de tecido conjuntivo (endomísio), contendo fibras colágenas e reticulares:

Figura 3.10 | Microscopia eletrônica de uma fibra muscular em corte longitudinal



Fonte: <https://bit.ly/2Bw7A1j>. Acesso em: 21 ago. 2018.

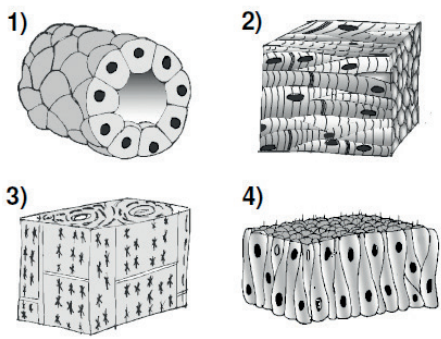
Avançando na prática

Testando Conhecimentos

Descrição da situação-problema

A fim de testar os conhecimentos de Tatiane para, no futuro, considerar a possibilidade de contratá-la como funcionária efetiva do laboratório de análises anatomopatológicas, o coordenador do laboratório resolveu aplicar uma prova para a estagiária. Uma das questões dizia que a diferenciação celular, ocorrida durante o desenvolvimento embrionário, leva à formação de grupos de células especializadas para determinadas funções, constituindo os tecidos. Na questão, uma imagem ilustrava quatro diferentes tecidos:

Figura 3.11 | Tecidos



Fonte: UFAL 2010 (PSS) – 1º Ano. <https://bit.ly/2LiJ2bl>. Acesso em: 21 ago. 2018

A questão pedia que Tatiane identificasse corretamente os tecidos ilustrados na imagem. Você também é capaz de identificá-los?

Resolução da situação-problema

A ilustração 1 remete ao tecido epitelial cúbico simples, presente no túbulo contorcido proximal dos néfrons renais; enquanto que a ilustração 2 remete ao tecido muscular cardíaco, caracterizado por fibras contendo estriações transversais, ramificadas e anastomosadas entre si, com núcleos celulares únicos, ovais e de posição centralizada. A ilustração 3 remete ao tecido ósseo e a ilustração 4, ao tecido epitelial pseudoestratificado prismático, presente na mucosa das fossas nasais.

Faça valer a pena

1. [Adaptado de PUC-RS 2001] Tecido é um conjunto de células semelhantes e relacionadas que desempenham as mesmas funções básicas. Além das células, estão presentes nos tecidos substâncias intercelulares e líquido tecidual; em concentrações que variam conforme o tipo de tecido. Nos vertebrados, encontramos basicamente quatro tipos de tecido: epitelial, conjuntivo, muscular e nervoso. Associe corretamente os tipos celulares às descrições numeradas abaixo:

( ) Epitelial
( ) Muscular
( ) Nervoso
( ) Cartilaginoso

(1) Constituído por células intensamente especializadas, encarregadas pela regulação interna do organismo e organização das funções.
(2) Revestimento de superfícies articulares, viabilizando os movimentos e amortecendo os choques mecânicos.
(3) Tecido de revestimento composto por uma ou mais camadas celulares, não vascularizado.
(4) Contém quantidades abundantes de proteínas responsáveis pela contração.

Fonte: Adaptado de PUC-RS 2001. <https://bit.ly/2w4aN33>. Acesso em: 21 ago. 2018

Assinale a alternativa que contém a sequência correta da associação entre as colunas.

a) 1 – 4 – 3 – 2.
b) 2 – 1 – 4 – 3.
c) 2 – 3 – 1 – 4.
d) 3 – 1 – 4 – 2.
e) 3 – 4 – 1 – 2.

2. [Adaptado de Polícia Científica-PR – Auxiliar de Necropsia e Auxiliar de Perícia]. Classicamente, o tecido epitelial divide-se em epitélios de revestimento, epitélios glandulares e neuroepitélios, porém com diversas correlações morfológicas e funcionais entre eles. Epitélios de revestimento, como o próprio nome diz, revestem superfícies internas e externas de órgãos; além de estruturas como vasos, ductos e túbulos. Epitélios glandulares, por sua vez, produzem e liberam secreções; enquanto que os neuroepitélios associam-se a órgãos e estímulos sensoriais.

Fonte: Adaptado de Polícia Científica do Estado do Paraná, Edital Nº 01/2017 – Nível Médio/Técnico, Auxiliar de Necropsia e Auxiliar de Perícia. <https://bit.ly/2BxtHEF>. Acesso em: 21 ago. 2018.

Em relação ao processo de oxigenação e nutrição do tecido epitelial, assinale a alternativa correta.
a) Ocorrem através de capilares sanguíneos presentes no tecido muscular adjacente.
b) Ocorrem através de capilares sanguíneos presentes no próprio tecido epitelial.
c) Ocorrem através do tecido nervoso.
d) Ocorrem por difusão através da membrana basal, a partir dos capilares sanguíneos de tecidos sub- ou adjacentes.
e) Ocorrem através da presença de vasos sanguíneos e linfáticos.

3. [Adaptado de Polícia Científica-PR – Auxiliar de Necropsia e Auxiliar de Perícia]. Enquanto os epitélios de revestimento são classificados conforme a quantidade de camadas e a morfologia celular, os glandulares são classificados de acordo com o mecanismo de liberação da secreção que divide o epitélio glandular em dois grupos: glândulas endócrinas e glândulas exócrinas.

Fonte: Adaptado de Polícia Científica do Estado do Paraná, Edital Nº 01/2017 – Nível Médio/Técnico, Auxiliar de Necropsia e Auxiliar de Perícia. <https://bit.ly/2N6YBFj>. Acesso em: 21 ago. 2018

Assinale a alternativa correta a respeito das glândulas endócrinas.
a) Eliminam suas secreções para fora do corpo ou em cavidades internas de órgãos através de ductos.
b) Liberam suas secreções tanto na circulação sanguínea, quanto em cavidades internas.
c) Não possuem ductos e liberam suas secreções diretamente na circulação sanguínea.
d) Possuem ductos e liberam suas secreções diretamente na circulação sanguínea.
e) São representadas pelas glândulas sudoríferas (sudoríparas), sebáceas, lacrimais, salivares e mamárias.

Seção 3.3

Anatomia patológica e citopatologia

Diálogo aberto

Assim como Fernanda, cerca de 30% dos pacientes miastênicos, particularmente os mais jovens, são portadores de hiperplasia tímica, uma anormalidade diferente do timoma, marcada pelo surgimento de folículos de célula B no timo. O timo geralmente contém um número pequeno de células mioides, que expressam os antígenos do músculo esquelético. Teoricamente, tanto a hiperplasia tímica quanto o timoma interrompem a função tímica normal, promovendo autoimunidade contra os receptores de acetilcolina (AChR) expressos nas células mioides. Aproximadamente 10% dos pacientes com miastenia grave são portadores de timoma, neoplasia de células epiteliais tímicas. Quais são as características morfológicas que definem a neoplasia e permitem que tumores malignos e benignos sejam distinguidos?

Não pode faltar

Patologia é o ramo da ciência que estuda os mecanismos que produzem as doenças, os locais nos quais elas ocorrem e as alterações moleculares, morfológicas e funcionais que apresentam. Assume considerável importância na compreensão global das doenças, por fornecer as bases para o entendimento de prevenção, manifestações clínicas, diagnóstico, tratamento, evolução e prognóstico. Todas as doenças produzem alterações moleculares e/ou morfológicas nas células e tecidos, resultando em alterações funcionais e produzindo sinais ou sintomas. As alterações moleculares, muitas vezes rapidamente traduzidas em modificações morfológicas, podem ser detectadas por métodos bioquímicos e técnicas de Biologia Molecular; enquanto as alterações morfológicas podem ser detectadas macroscopicamente ou microscopicamente.

As alterações funcionais, por sua vez, manifestam-se através de alterações da função de células, tecidos, órgãos ou sistemas. O aspecto morfológico de uma lesão varia de acordo com o momento em que é examinada, ou seja, se durante o período de incubação (ausência de manifestações), o período prodrômico (sinais e sintomas inespecíficos) ou o período de estado (sinais e sintomas típicos).

As lesões podem ser classificadas em cinco grupos, conforme o alvo atingido: a) lesões celulares, subdivididas em letais e não letais; b) alterações do interstício (matriz extracelular – MEC), englobando modificações da substância amorfa e de fibras elásticas; c) distúrbios da circulação; d) alterações da inervação; e) inflamação, a lesão mais complexa e que envolve todos os componentes teciduais. A denominação das doenças também é muito importante, sendo adotada a Classificação Internacional das Doenças (CID), criada pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

A formação de novas células se dá pela **morte** de outras pré-existentes, assim a quantidade de células adultas se mantém em equilíbrio. Quando uma célula é destruída por uma injúria qualquer, ocorre o extravasamento de seu citoplasma e a geração de uma resposta tecidual (processo inflamatório), causada por um mecanismo comum denominado necrose. Por outro lado, quando a própria célula induz os processos que levam à sua morte, o mecanismo é denominado apoptose –neste tipo de morte celular, não há o processo inflamatório derivado de necrose. Em processos nocivos ao organismo, a apoptose possui um papel muito importante: células cancerosas, linfócitos com disfunções que geram doenças autoimunes e células com defeitos fisiológicos, por exemplo, são conduzidos à apoptose.

Figura 3.12 | Alterações morfológicas ocorridas na morte celular por necrose e por apoptose

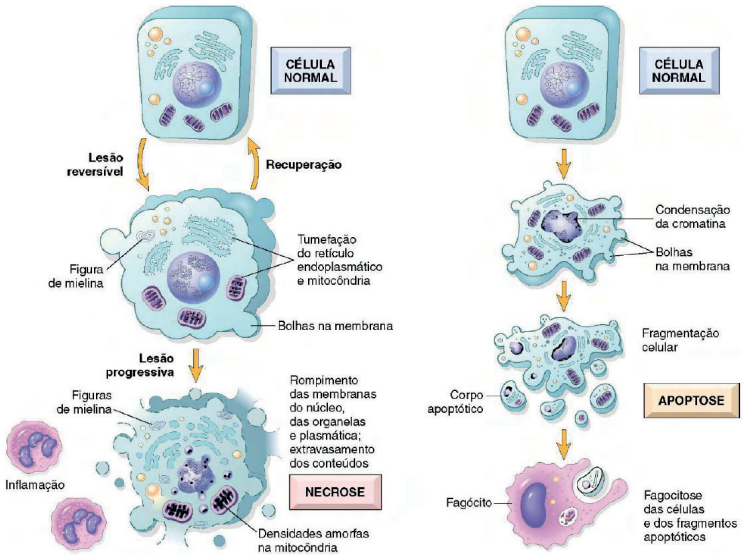


Figura 1-6 Características celulares da necrose (*esquerda*) e da apoptose (*direita*).

Fonte: Kumar e Abbas (2013, p. 6).

Para não extravasar seu conteúdo citoplasmático e, consequentemente, gerar um processo inflamatório, células que sofrem apoptose passam por alguns eventos morfológicos:

Desorganização do citoesqueleto.

Condensação e fragmentação do DNA na forma de cromatina.

Clivagem do núcleo em vários pequenos núcleos, devido à compactação do DNA.

Formação de várias vesículas, envoltas por unidade de membrana contendo os pequenos núcleos e citoplasma, corpos apoptóticos, facilitando sua fagocitose pelos macrófagos.

Existem dois principais mecanismos desencadeadores do apoptose. O primeiro envolve substâncias que parecem ser essenciais para que as células se mantenham vivas. Na falta de tais substâncias, os eventos apoptóticos são desencadeados. Uma proteína G é ativada e estimula a fosfolipase C que, ao agir sobre

outras substâncias, induz as membranas do retículo liso a liberarem íons cálcio para o meio interno da célula. O cálcio liberado ativa, então, promotores da apoptose, como endonucleases e proteases, além de impedir que produtos desta célula afetem as demais durante a apoptose.

O segundo mecanismo se dá pela ativação de uma família de proteínas catalíticas denominadas caspases. Substâncias estimuladoras de apoptose atuam aumentando a expressão do gene da caspase-9, indutora de apoptose, enquanto q substâncias inibidoras de apoptose atuam aumentando a expressão do gene bcl-2. O gene supressor de tumor *p53* atua na estabilização do DNA na fase G_1 do ciclo celular. Se erros no DNA não puderem ser consertados, a proteína p53, como vimos anteriormente, induzirá a célula à apoptose; provavelmente para impedir o acúmulo de múltiplas mutações capazes de converter a célula normal em cancerosa. Praticamente todas as células cancerosas possuem mutações nos dois alelos do gene *p53* ou na via que estabiliza a proteína p53 em resposta ao dano no DNA. Mutações em *p53*, *ATM* e *Chk2* constituem exemplos dramáticos da importância dos pontos de checagem do ciclo celular na saúde de organismos multicelulares.

Pesquise mais

Aprofunde seus conhecimentos a respeito da morte celular por apoptose através da leitura do artigo ANAZETTI, M. C.; MELO, P. S. Morte celular por apoptose: uma visão bioquímica e molecular. **Metrocamp Pesquisa**, v. 1, n. 1, p. 37-50 2007. Disponível em: <https://goo.gl/txMMjo>. Acesso em: 12 jun. 2018.

A **inflamação** consiste em uma reação tecidual caracterizada pela saída de líquidos e células do sangue para o interstício, podendo ser causada por diversos estímulos infecciosos ou não, tais como agressões físicas, químicas ou biológicas (agentes externos) e estresse metabólico (agente interno). Na Antiguidade, definida por seus sinais e sintomas típicos (sinais cardinais) – calor, rubor, tumor e dor – essa reação ganhou mais um sinal cardinal na era Romana: alterações funcionais. A reação inflamatória envolve uma série de eventos iniciados pelo reconhecimento da agressão,

seguido da liberação de mediadores inflamatórios, os quais induzem modificações na microcirculação para a saída de plasma e leucócitos dos vasos sanguíneos, além de estímulos para reparo dos danos produzidos, ou seja, a inflamação constitui um fenômeno defensivo e reparador ao mesmo tempo.

Em um processo inflamatório, todos os tipos de leucócitos podem ser encontrados, sendo identificados precisamente pela imuno-histoquímica, uma vez que, em preparações de rotina, nem sempre é possível diferenciar, especialmente, linfócitos e macrófagos, reconhecidos em conjunto como células mononucleadas. Estão presentes no exsudato inflamatório: a) fagócitos, células capazes de matar micro-organismos, processar e apresentar antígenos; b) sistema fagocitário mononuclear (SFM), composto por macrófagos livres e fixos em tecidos; c) células dendríticas, com capacidade fagocitária semelhante à dos macrófagos; d) neutrófilos polimorfonucleares (PMN), importantes na fagocitose e na destruição de micro-organismos, sobretudo bactérias; e) eosinófilos, contendo pequena atividade fagocitária, porém capazes de realizar exocitose e de fazer a explosão respiratória quando ativados, sendo muito eficientes na realização da citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC).

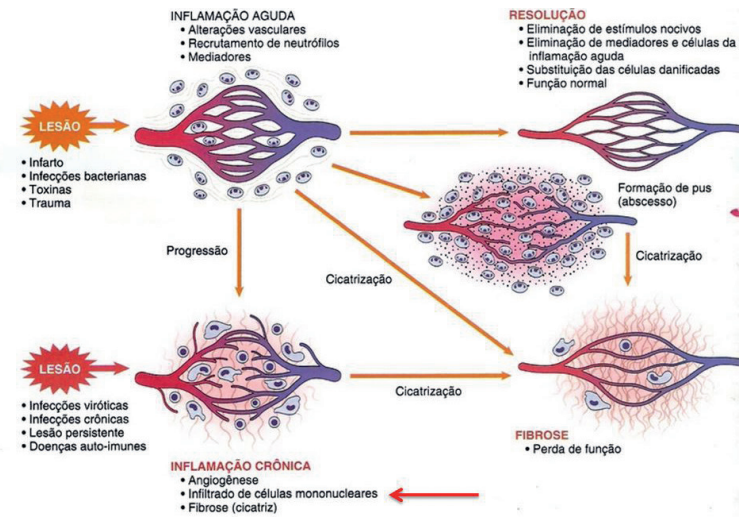
Em alguns casos, uma inflamação adquire caráter generalizado e afeta diversos órgãos, principalmente fígado, rins, pulmões e coração; ocasionando sua insuficiência funcional. A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) é definida pela existência de pelo menos duas das seguintes manifestações: a) hipotermia ou hipertermia; b) frequência cardíaca > 90 bpm; c) frequência respiratória > 20 movimentos/min ou $paCO_2$ < 32 torr ou mmHg; d) leucócitos > 12000 ou < 4000/mm^3. **Sepse** é a associação de SIRS com uma infecção; **sepse grave** é a associação de SIRS a sinais de hipoperfusão; já **choque séptico** é a associação de sepse grave à hipotensão e à falência múltipla de órgãos. Admite-se, ainda, uma resposta inflamatória crônica sistêmica, que acompanha ou antecede algumas doenças degenerativas crônicas, como aterosclerose, diabetes tipo 2, osteoartrose e doenças neurodegenerativas.

As inflamações recebem o nome do tecido ou órgão acometido acrescido do sufixo **ite**, muitas vezes também adjetivada conforme alguma particularidade morfológica; por exemplo, apendicite

purulenta, pleurite fibrinosa, etc. De acordo com o tempo de duração, são classificadas em inflamações agudas (até 6 meses) ou inflamações crônicas (acima de 6 meses). Nas inflamações agudas, os sinais são geralmente bem evidentes: eritema, edema e dor; predominando, no exsudato, neutrófilos e macrófagos. Já as inflamações crônicas apresentam fenômenos tardios e os sinais típicos (eritema e edema) podem não ser aparentes; predominando, no exsudato, mononucleases e sinais de regeneração e/ou cicatrização – além de aumento da MEC, grande produção de fatores de crescimento induzindo à hiperplasia do parênquima ou excessiva formação de tecido conjuntivo.

Exemplificando

Figura 3.13 | Principais fenômenos envolvidos na inflamação aguda e na inflamação crônica



Fonte:<https://bit.ly/2N8GOgK>. Acesso em: 22 ago. 2018

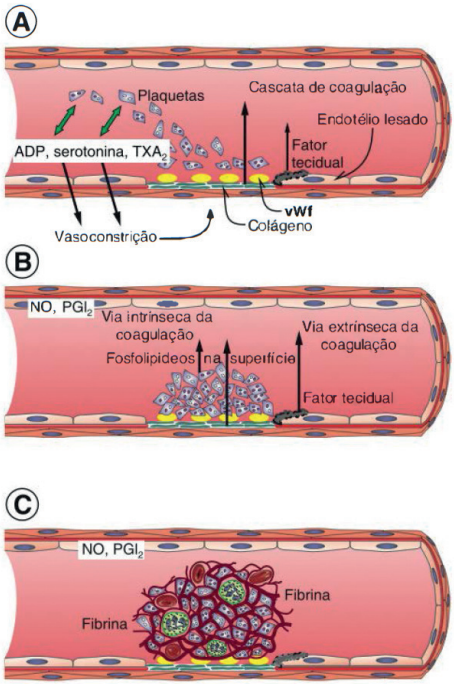
Inflamações granulomatosas são processos inflamatórios em que s há uma forma particular de organização celular do exsudato: os granulomas; os quais podem ser epitelioides (imunogênicos) ou do tipo corpo estranho. Esse exemplo de inflamação é característico de **doenças granulomatosas**, como tuberculose, síflis, hanseníase

tuberculoide, lepra e leishmaniose. A tuberculose, causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, caracteriza-se pela presença de células gigantes multinucleadas, resultado da fusão de macrófagos, e que podem conter núcleos periféricos (células de Langhans) ou distribuídos irregularmente no citoplasma (células gigantes do tipo corpo estranho). Na sífilis, o agente causador é a bactéria *Treponema pallidum*. Os granulomas contêm macrófagos, poucas células epitelioides, grande número de plasmócitos e células gigantes. Já na hanseníase tuberculoide, o granuloma é do tipo epitelioide e apresenta-se circundado por um halo denso de linfócitos; enquanto na forma virchowiana da doença, a inflamação caracteriza-se por agrupamentos de macrófagos volumosos, com vacúolos e repletos de bacilos (células de Virchow).

Distúrbios hemodinâmicos são disfunções que, de alguma maneira, afetam a circulação sanguínea; ocasionando um quadro patogênico. Na hiperemia, há um aumento da quantidade sanguínea no interior dos vasos de um órgão ou tecido. Ela pode ser subdividida em hiperemia ativa, ocasionada por vasodilatação das arteríolas, aumentando o fluxo sanguíneo local, e hiperemia passiva ou congestão, ocasionada por drenagem venosa dificultada por diminuição do retorno venoso, consequente de obstrução ou por redução do retorno venoso sistêmico ou pulmonar. Como consequência da velocidade da circulação reduzida, os órgãos e/ou locais acometidos tornam-se avermelhados e tumefeitos. Microscopicamente, apresentam dilatação de vênulas e capilares, edema intersticial e extravasamento de hemácias.

Hemorragias são distúrbios nos quais há saída de sangue do coração ou dos vasos para o meio externo, interstício ou cavidades pré-formadas, podendo ser ocasionadas por: a) perda da integridade da parede vascular; b) alterações dos fenômenos da coagulação sanguínea; c) alterações qualitativas ou quantitativas das plaquetas; d) mecanismos complexos ainda não totalmente esclarecidos. A cessação de um sangramento, natural ou artificialmente, é denominada hemostasia; processo que envolve os fenômenos a seguir: 1) vasoconstrição arteriolar com liberação de endotelinas pelo endotélio lesionado; 2) formação do tampão plaquetário, pela adesão das plaquetas ao colágeno e ao fator von Willebrand expostos e 3) ativação plaquetária com consequente formação de fibrina.

Figura 3.14 | Fenômeno da hemostasia



Fonte: Brasileiro (2011, p. 154).

Completando a hemostasia, segue-se a coagulação sanguínea, que é resultado da ativação da via intrínseca, pela exposição de colágeno subendotelial, e da via extrínseca, pela liberação de fator tecidual pelas células lesadas. O coágulo, uma vez formado, é estabilizado através da formação de ligações cruzadas entre moléculas de fibrina e, cessada a hemorragia, há lise e absorção do coágulo através da ação do sistema fibrinolítico e de células inflamatórias – eventos seguidos pelo surgimento dos mecanismos de reparo de lesões teciduais.

A trombose é a solidificação sanguínea no leito vascular ou no interior das câmaras do coração, em indivíduo vivo (após a morte, devido à parada da circulação, o sangue forma coágulos). Macroscopicamente, os trombos se apresentam como massas

sanguíneas solidificadas de aparência fosca e friável aderidas à superfície na qual se formaram. Microscopicamente, os trombos são caracterizados por áreas acidófilas com aspecto reticular ou laminar; predominando, de forma geral, a presença de plaquetas, fibrina, eritrócitos e leucócitos, o que depende do fluxo sanguíneo, do tempo e do local do trombo. Embolia, por sua vez, consiste na obstrução de um vaso (sanguíneo ou linfático) por corpo sólido, líquido ou gasoso (êmbolo) na circulação não misturada com o sangue ou a linfa.

A formação de trombos envolve o fenômeno da coagulação e a atividade plaquetária; estando relacionada a três componentes (tríade de Virchow): 1) lesão do endotélio; 2) alteração do fluxo sanguíneo e 3) modificação na capacidade de coagulação do sangue – na grande maioria dos casos, há a presença de dois ou três fatores atuando na formação de trombos. Em relação ao papel da inflamação na fisiopatologia da trombose venosa, acredita-se que possa ser encaixado entre os polos "lesão endotelial" e "alteração do fluxo sanguíneo" em uma versão mais atual da tríade de Virchow. Diversos estudos nos últimos anos descreveram os detalhes da ativação da inflamação na trombose, demonstrando como essa ativação conjunta entre hemostasia e inflamação contribui para um estado protrombótico. Do ponto de vista evolutivo, tal visão faz sentido quando consideramos que hemostasia e inflamação participam do mesmo processo ativado pelo sistema imune inato para eliminação de patógenos invasores ou para reparo de dano tecidual.

Na isquemia, ocasionada pela obstrução parcial ou total de artérias, veias ou capilares, as causas da obstrução podem estar na luz do vaso ou fora dela (por compressão da parede vascular); reduzindo ou interrompendo o fluxo de sangue para um órgão ou parte do organismo e ocasionando, por consequência, hipóxia ou anóxia. Já o infarto constitui uma área de necrose isquêmica localizada pela interrupção do fluxo de sangue arterial ou venoso, que se apresenta, no geral, como uma lesão piramidal cujo vértice encontra-se em correspondência com a área da obstrução e a base, na região periférica. Por fim, o edema constitui em acúmulo de líquido no interstício ou em cavidades pré-formadas, caracterizado microscopicamente por ampliação da matriz extracelular, evidenciada pela separação das células e dos constituintes fibrosos da matriz. Nos pulmões, primeiramente ocorre acúmulo nos septos

alveolares (edema intersticial); posteriormente ocorrendo inundação para os alvéolos (edema alveolar clássico), caso a causa persista. O edema pode ser localizado ou generalizado; e nomes especiais são utilizados para identificar edemas em cavidades naturais, normalmente utilizando-se o prefixo *hidro-* seguido da indicação da cavidade: hidroperitônio (ascite), hidropericárdio, hidrocele, etc.

Neoplasia constitui uma massa tecidual anormal cujo crescimento, excessivo e não coordenado com o crescimento celular normal, persiste da mesma maneira excessiva, mesmo após a interrupção do estímulo fornecido para o crescimento. Ambos os tipos tumorais (malignos e benignos) são morfologicamente caracterizados por células neoplásicas clonais que constituem o parênquima tumoral e o estroma reativo, composto por tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e números variáveis de células do sistema imunológico. Tumores malignos, coletivamente referidos como cânceres, são capazes de invadir e destruir estruturas adjacentes; disseminando-se para áreas distintas (metástases) e levando o indivíduo a óbito. A nomenclatura desse tipo de tumor geralmente é feita adicionando-se o sufixo *–oma* ao tipo de célula do qual o tumor foi originado, quando em tecidos mesenquimais sólidos: sarcoma, condrossarcoma, fibrossarcoma, etc. Quando em células formadoras de sangue, os tumores são denominados leucemias ou linfomas; enquanto que em células epiteliais, derivadas de qualquer uma das três camadas germinativas, são denominados carcinomas.

Tumores benignos, por sua vez, constituem tumores cujas características micro e macroscópicas são relativamente inocentes; significando que os tumores permanecerão localizados, não se disseminarão para outras áreas e, geralmente, são passíveis de serem removidos cirurgicamente. A nomenclatura desse tipo de tumor segue as regras para os tumores malignos (adicionando-se o sufixo *–oma* ao tipo de célula do qual o tumor foi originado); com exceção dos tumores benignos epiteliais, cuja nomenclatura é mais complexa: alguns denominados com base nas células de origem, outros baseados no padrão microscópico e outros baseados em sua estrutura macroscópica.

A **citopatologia oncótica** é a área de atuação da Patologia baseada na análise microscópica celular geral, porém

frequentemente associada à detecção e ao diagnóstico de lesões neoplásicas. Um exemplo clássico é o exame preventivo do câncer de colo do útero, popularmente conhecido como exame de Papanicolaou. O câncer cervical é o terceiro tumor mais frequente no sexo feminino, atrás do câncer de mama e do câncer colorretal, constituindo a quarta causa de morte por câncer em mulheres brasileiras. O principal fator associado à doença é a persistência da infecção pelo vírus papiloma humano (HPV), presente em mais de 90% dos casos. Os demais fatores de risco associados são início precoce da atividade sexual, multiplicidade de parceiros, tabagismo e uso prolongado de pílulas anticoncepcionais.

A infecção persistente pelo HPV pode causar alterações capazes de progredir para a neoplasia intraepitelial cervical (NIC). A NIC é caracterizada pelo crescimento desordenado das células epiteliais de revestimento cervical e classificada conforme o grau de acometimento tecidual: a) NIC I, com alteração da maturação celular no terço inferior do epitélio proximal da membrana basal do tecido cervical (lesão intraepitelial escamosa de baixo grau – LSIL; b) NIC II, com acometimento dos dois terços inferiores do epitélio (lesão intraepitelial escamosa de alto grau – HSIL) e c) NIC III, com acometimento em toda a extensão epitelial sem rotura da membrana basal (lesão intraepitelial escamosa de alto grau – HSIL).

Reflita

A classificação de lesões precursoras evoluiu ao longo do tempo e os diferentes termos dentre os sistemas de classificação são utilizados de modo intercambiável. O sistema mais antigo classificava as lesões apresentando displasia leve em uma extremidade e displasia grave/carcinoma em outra; sendo atualizado para a classificação NIC contendo três níveis (NIC I, NIC II e NIC III). Entretanto, como a decisão relativa à conduta médica é baseada em apenas dois níveis (observação *versus* tratamento cirúrgico), esse sistema foi atualizado e simplificado para o *Bethesda* contendo dois níveis: NIC I renomeada para LSIL e NICs II e III combinadas na categoria HSIL.

Figura 3.15 | Sistemas de classificação das lesões cervicais

Quadro 2.1: Correlação entre displasia/carcinoma *in situ*, neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) e terminologia de Bethesda

Terminologia da displasia	Terminologia original da NIC	Terminologia modificada da NIC	Terminologia do sistema Bethesda (SIL) (1991)
Normal	Normal	Normal	Dentro de limites de normalidade Alterações celulares benignas (infecção ou reparação) ASCUS/AGUS
Atipia	Atipia coilocítica, condiloma plano, sem alterações epiteliais	NIC de baixo grau	LSIL
Displasia leve ou discariose leve	NIC 1	NIC de baixo grau	LSIL
Displasia moderada ou discariose moderada	NIC 2	NIC de alto grau	HSIL
Displasia grave ou discariose grave	NIC 3	NIC de alto grau	HSIL
Carcinoma *in situ*	NIC 3	NIC de alto grau	HSIL
Carcinoma invasivo	Carcinoma invasivo	Carcinoma invasivo	Carcinoma invasivo

NIC: neoplasia intra-epitelial cervical; LSIL: lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau; HSIL: lesão intra-epitelial escamosa de alto grau; ASCUS: células escamosas atípicas de significado indeterminado; AGUS: células glandulares atípicas de significado indeterminado

Fonte: <https://bit.ly/2N71Z2J>. Acesso em: 22 ago. 2018.

Uma LSIL (NIC I) não progride diretamente para carcinoma invasivo, em muitos casos, regride espontaneamente e apenas uma pequena porcentagem progride para HSIL (NIC II e NIC III) – não sendo, portanto, tratada como lesão pré-maligna. Por outro lado, HSILs oferecem alto risco de progressão para carcinoma; visto que a desregulação do ciclo celular pode se tornar irreversível, resultando em fenótipo maligno. O carcinoma invasor manifesta-se como uma massa exofítica ou infiltrativa; sendo o carcinoma de células escamosas composto por ninhos e projeções de epitélio escamoso maligno, queratinizado ou não, invadindo o estroma cervical subjacente. Já os adenocarcinomas caracterizam-se pela proliferação de epitélio glandular constituído por células endocervicais malignas, com núcleos grandes, hipercromáticos e citoplasma, relativamente, com diminuição de mucina, resultando em aspecto escuro das glândulas, quando comparado ao epitélio endocervical normal.

O exame de Papanicolaou ou colpocitologia oncótica avalia células esfoliadas do colo uterino; uma vez que as lesões descamam células anormais. A colposcopia é um método

diagnóstico auxiliar à colpocitologia, possibilitando a visualização do trato genital inferior feminino (colo uterino, vagina e vulva); permitindo a realização de biópsias e a confirmação histológica de lesões cervicais – além de permitir a determinação da localização, do tamanho e da extensão das lesões, auxiliando na escolha do tratamento mais adequado.

As recomendações para o rastreamento variam, mas, em geral, o primeiro esfregaço deve ocorrer aos 21 anos ou 3 anos após o início da atividade sexual; a partir de então sendo anualmente. Mulheres com Papanicolaou normal, mas positivas para o DNA de HPV de alto risco, devem ser rastreadas em intervalos de 6 a 12 meses. Duas vacinas contra o HPV são aprovadas pelo FDA, fornecendo proteção quase completa para alguns tipos do vírus (11, 16 e 18) e recomendadas para todos os adolescentes entre 9 e 13 anos de idade, além de jovens até os 26 anos. As vacinas oferecem proteção por até 10 anos; mas, uma vez que não previnem contra todos os tipos de HPVs de alto risco, recomenda-se a continuação do rastreamento como sempre realizado.

O câncer de ovário constitui a oitava causa de morte feminina por câncer no Brasil, ainda hoje permanecendo um desafio para a Medicina e apresentando pouca melhora na taxa de sobrevida – uma vez que, em 70% dos casos, o diagnóstico é realizado quando a doença já se encontra disseminada em estágios avançados, pois não apresenta sintomas específicos em seus estágios iniciais, devido ao posicionamento anatômico dos ovários. Marcadores tumorais, como o CA 125 (proteína geralmente elevada em tumores de ovário da linhagem epitelial) constituem os testes mais utilizados na tentativa de diagnóstico precoce do câncer de ovário. Embora pouco específicos para a neoplasia ovariana, já que podem se apresentar elevados em situações benignas como endometriose, miomatose uterina, menstruação, pancreatite, colite, diverticulite, pericardite e lúpus eritematoso sistêmico. Além da marcação tumoral, apesar de pouco agregarem de informação à USTV, o diagnóstico precoce da doença pode ser realizado através de exames de imagem, tais como ultrassonografia transvaginal (USTV), ressonância nuclear magnética (RNM), PET *scan* e tomografia computadorizada (TC)

Sem medo de errar

Assim como Fernanda, cerca de 30% dos pacientes miastênicos, particularmente os mais jovens, são portadores de hiperplasia tímica; uma anormalidade diferente do timoma, marcada pelo surgimento de folículos de célula B no timo. Aproximadamente 10% dos pacientes com miastenia grave são portadores de timoma; neoplasia de células epiteliais tímicas. As características morfológicas que definem a neoplasia são **células neoplásicas clonais que constituem o parênquima tumoral e o estroma reativo, composto por tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e números variáveis de células do sistema imunológico**. Tumores malignos, coletivamente referidos como cânceres, são capazes de invadir e destruir estruturas adjacentes; disseminando-se para áreas distintas (metástases) e levando o indivíduo a óbito. A nomenclatura desse tipo de tumor geralmente é feita adicionando o sufixo *–oma* ao tipo de célula da qual o tumor foi originado, quando em tecidos mesenquimais sólidos: sarcoma, condrossarcoma, fibrossarcoma, etc. Quando em células formadoras de sangue, os tumores são denominados leucemias ou linfomas; enquanto que em células epiteliais, derivadas de qualquer uma das três camadas germinativas, são denominados carcinomas. Tumores benignos, por sua vez, constituem tumores cujas características micro e macroscópicas são relativamente inocentes; significando que os tumores permanecerão localizados, não se disseminarão para outras áreas e, geralmente, são passíveis de serem removidos cirurgicamente. A nomenclatura desse tipo de tumor segue as regras para os tumores malignos (adicionando-se o sufixo *–oma* ao tipo de célula da qual o tumor foi originado); com exceção dos tumores benignos epiteliais, cuja nomenclatura é mais complexa: alguns denominados com base nas células de origem, outros baseados no padrão microscópico e outros baseados em sua estrutura macroscópica.

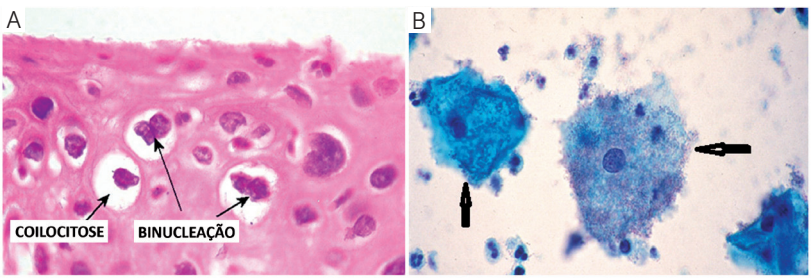
Avançando na prática

Prevenir é o melhor remédio

Descrição da situação-problema

Agora no setor de citopatologia oncótica do laboratório de análises anatomopatológicas, Tatiane aprendeu que a detecção precoce do câncer de colo do útero é possível através de um exame simples, a partir de esfregaço cervicovaginal, popularmente conhecido por papanicolaou. Além de permitir a detecção de lesões precursoras desse tipo de câncer, o achado de condições infecciosas também pode prever o desenvolvimento do câncer de colo uterino, uma vez que um dos fatores de risco é o histórico de infecções sexualmente transmissíveis. A citologia cervicovaginal tornou-se, então, uma importante alternativa diagnóstica. Ao receber duas amostras, Tatiane preparou os esfregaços cérvico-vaginais e os analisou ao microscópio óptico:

Figura 3.16 | Citopatologia Oncótica.



Fonte: <https://bit.ly/2A4NtGM>. Acesso em: 12 jun. 2018.

Após análise ao microscópio, Tatiane chegou à conclusão de que as amostras revelam características celulares indicativas de prováveis infecções causadas por quais micro-organismos. Quais são essas características?

Resolução da situação-problema

Após análise ao microscópio, a estagiária chegou à conclusão de que se trata, provavelmente, de infecção causada por **Papiloma Vírus Humano (HPV)**, no esfregaço (A), e infecção causada

por **Gardnerella vaginalis**, no esfregaço (B). Essas conclusões foram obtidas pela presença, no esfregaço (A), de coilocitose e binucleação, típicas de infecção por HPV; e pela presença, no esfregaço (B), de células-guia e células escamosas, recobertas por densas colônias de micro-organismo (setas), típicas de infecção por *Gardnerella vaginalis*.

Faça valer a pena

1. [Adaptado de HCFMUSP – Patologia Clínica] Marcadores tumorais constituem os testes mais utilizados na tentativa de diagnóstico precoce de alguns tipos de neoplasias, tais como câncer de mama, câncer de cólon, câncer de estômago e câncer de ovário; embora pouco específicos uma vez que podem se apresentar elevados em situações.
Fonte: Adaptado de <https://goo.gl/J578Uc>. Acesso em: 12 jun. 2018.

O marcador tumoral que costuma se elevar nos tumores de ovário é o:
a) CA 15.3.
b) CA 19.9.
c) CA 125.
d) CA 242.
e) CEA.

2. [Adaptado de Fundação Saúde, Médico – Ginecologia] A infecção persistente pelo vírus papiloma humano (HPV) é o principal fator de risco para a ocorrência de alterações capazes de progredir para a neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Quando não tratada, a NIC pode evoluir para o câncer de colo do útero; caracterizado pela ruptura e invasão da camada basal. O carcinoma invasor manifesta-se como uma massa exofítica ou infiltrativa; sendo o carcinoma de células escamosas composto por ninhos e projeções de epitélio escamoso maligno, queratinizado ou não, invadindo o estroma cervical subjacente.
Fonte: Adaptado de <https://goo.gl/5wa8UX>. Acesso em: 12 jun. 2018.

Assinale a alternativa correta a respeito do câncer de colo do útero.
a) O tipo mais comum de câncer do colo uterino é o sarcoma, por degeneração de mioma.
b) Nos últimos anos, houve uma piora da sobrevida de pacientes com câncer de colo uterino, relacionada à impossibilidade de diagnóstico precoce.
c) O câncer de colo do útero é o tipo menos frequente entre os tumores malignos do sistema genital feminino.

d) O diagnóstico do câncer de colo do útero é realizado por ultrassonografia transvaginal, tomografia computadorizada da pelve e colpocitologia oncótica.
e) Tabagismo e uso prolongado de pílulas anticoncepcionais estão entre os principais fatores de risco para o câncer de colo uterino.

3. [Adaptado de Secretaria de Estado de Saúde – SESA/ES, Técnico de Enfermagem] De acordo com dados do Ministério da Saúde, todos os anos são realizados cerca de 12 milhões de exames citopatológicos pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Um exemplo clássico é o exame preventivo do câncer de colo do útero, popularmente conhecido como exame de Papanicolaou.

Analise as afirmativas a seguir, a respeito desse exame:
I. O início de sua realização deve se dar aos 18 anos de idade.
II. Após dois exames negativos, o intervalo para a realização de um novo exame passa de anual para bianual.
III. O exame de Papanicolaou consiste em um procedimento realizado periodicamente, visando ao rastreamento do câncer do colo do útero e suas lesões precursoras.
IV. A vacinação contra o vírus papiloma humano (HPV) em adolescentes possui eficácia de 100% na prevenção do câncer de colo uterino.
V. O exame deve ser realizado somente até o início da menopausa.
Fonte: <https://goo.gl/ZD4cWA>. Acesso em: 12 jun. 2018.

Assinale a alternativa que contém as afirmativas corretas.
a) III, somente.
b) IV, somente.
c) I, III e IV.
d) II, III, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

Referências

AARESTRUP, B. J. **Histologia Essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

COELHO, F. R. G. et al. Câncer do Colo do Útero. In: COELHO, F. R. G.; COSTA, R. L. R. (Orgs). **Padronização em Ginecologia Oncológica**. 2. ed. São Paulo, SP: Tecmedd, 2007.p. 91-114.

_____. Câncer do Ovário/Trompa de Falópio/Tumores Metastáticos em Ovário. In: COELHO, F. R. G.; COSTA, R. L. R. (Orgs.) **Padronização em Ginecologia Oncológica**. 2. ed. São Paulo, SP: Tecmedd, 2007. 09, p. 132-156.

FIUSA, M. M. L. et al.. 2015. Causes and Consequences of Coagulation Activation in Sepsis: An Evolutionary Medicine Perspective. **BMC Medicine** 13 (1): 1–9. Disponível em: < https://bit.ly/2o0wiNL >. Acesso em: 22 ago. 2018

FUKAZAWA, E. M. Marcadores Tumorais em Câncer Ginecológico. In: COELHO, F. R. G.; COSTA, R. L. R. (Orgs.). **Padronização em Ginecologia Oncológica**. 2. ed. São Paulo, SP: Tecmedd, 2007. p. 304-307.

GIACCIO, M. R. S.; GUEDES, A. C.; BRENNA, S. M. F. Neoplasia Intra-Epitelial Cervical. In: RICCI, M. D. et al. (Orgs). **Oncologia Ginecológica**: Aspectos Atuais do Diagnóstico e do Tratamento. Barueri, SP: Manole, 2008. p. 69-79.

GIRIBELA, A. H. G.; GIRIBELA, C. R. G.; RICCI, M. D. Infecção pelo Papilomavírus Humano. In: RICCI, M. D. et al. (Orgs). **Oncologia Ginecológica**: Aspectos Atuais do Diagnóstico e do Tratamento. Barueri, SP: Manole, 2008. p. 37-53.

IMIANOSKI, F.; ABRÃO, K. C.; PIATO, S. Marcadores Tumorais. In: RICCI, M. D. et al. (Orgs). **Oncologia Ginecológica**: Aspectos Atuais do Diagnóstico e do Tratamento. Barueri, SP: Manole, 2008. p. 21-33.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C**. Robbins & Cotran, Patologia:** Bases Patológicas das Doenças. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

MUSSO, C.; PEREIRA, F. E. L. Alterações da Circulação. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo | Patologia Geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. p. 145-174.

PEREIRA, F. E. L. Introdução à Patologia. In: BRASILEIRO FILHO, **G**. **Bogliolo | Patologia Geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. p. 01-06.

_____. Inflamações. In: BRASILEIRO FILHO, **G. Bogliolo | Patologia Geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. p. 46-81.

_____. Degenerações | Morte Celular. In: BRASILEIRO FILHO, **G**. **Bogliolo | Patologia Geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. p. 82-109.

RICCI, M. D.; IMIANOSKI, F.; PIATO, S. Câncer Epitelial de Ovário. In: RICCI, M. D. et al. (Orgs.). **Oncologia Ginecológica**: Aspectos Atuais do Diagnóstico e do Tratamento. Barueri, SP: Manole, 2008. p. 211-240.

RICCI, M. D.; PIATO, S.; PINOTTI, J. A. Câncer do Colo Uterino. In: RICCI, M. D. et al. (Orgs.). **Oncologia Ginecológica**: Aspectos Atuais do Diagnóstico e do Tratamento. Barueri, SP: Manole, 2008. p. 133-167.

WERNER, B. et al. Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 5, p. 353-364, 2005. Disponível em: < https://bit.ly/2wlDJmG > Acesso em: 25 maio 2018.

Biologia molecular

Convite ao estudo

Prezado aluno, nesta unidade vamos abordar as bases moleculares do genoma e dos processos de replicação, transcrição e tradução. Seus objetivos ao final da leitura desta Unidade 4 são compreender os fenômenos biológicos envolvidos no ciclo celular, na diferenciação e na síntese proteica, bem como conhecer as principais técnicas utilizadas em biologia molecular.

Para compreender o assunto e atingir as competências e objetivos da disciplina, vamos analisar uma situação hipotética que se aproxima dos conteúdos teóricos que serão vistos por você nesta unidade. Fernanda Medeiros, a paciente miastênica que você acompanhou ao longo deste livro, não podia estar mais feliz: bem-sucedida profissionalmente, apresentando remissão completa dos sintomas sem terapêutica anticolinesterásica pós-timectomia e com uma estrutura familiar sólida, a jovem recebeu de sua ginecologista obstetra a notícia de que, após duas tentativas de fertilização in vitro, sua tão sonhada segunda gravidez foi concebida com sucesso. Alice, a primogênita de Fernanda, quase não se continha de ansiedade para saber o sexo do bebê, porque queria muito uma irmãzinha; mas, desta vez, quem ficou feliz foi Gustavo, marido de Fernanda, pois a família foi abençoada com um menino, batizado com o nome de Joaquim.

No decorrer desta unidade de ensino, você relembrará os processos de divisão e diferenciação celular, o Dogma Central da Biologia Molecular e as técnicas utilizadas na área. Na Seção 4.1, abordaremos mitose, meiose e diferenciação celular. Já na Seção 4.2, compreenderemos os fenômenos envolvidos na síntese de proteínas. Por fim, na Seção 4.3, trataremos das principais técnicas utilizadas em biologia molecular. Vamos lá?

Seção 4.1

Ciclo celular e diferenciação

Diálogo aberto

Gustavo, marido de Fernanda, ficou surpreso ao saber que é o pai quem determina o sexo do futuro filho, já que a mãe pode transmitir apenas o cromossomo sexual X, enquanto o pai pode transmitir ambos os cromossomos X e Y. Assim, ele decidiu ler mais a respeito de como os gametas são formados, descobrindo que são produzidos pelas gônadas (testículos e ovários) e que as gametogêneses masculina e feminina constituem processos muito semelhantes, diferindo basicamente quanto ao tamanho das células e número de gametas férteis resultantes. Qual é o fenômeno biológico envolvido na gametogênese? Esse fenômeno pode ser subdividido em duas fases. Você saberia dizer quais são elas e explicar, sucintamente, cada uma? Após fecundado, embora não possua capacidade de autorrenovação, um zigoto é uma célula totipotente capaz de gerar células com propriedades de célula-tronco, as quais, por sua vez, são capazes de gerar todos os tipos celulares do organismo. Qual é o fenômeno biológico envolvido nessa capacidade e de que maneira é controlado?

Não pode faltar

O corpo humano é composto por cerca de um trilhão de células, todas descendentes de uma única célula (zigoto), que diariamente se dividem e substituem suas antecessoras danificadas ou envelhecidas. Desde o século XIX, pesquisadores tentam tornar as células humanas imortais, uma vez que muitas doenças humanas se desenvolvem apenas em células humanas. Em 1951, dois pesquisadores finalmente conseguiram manter em laboratório uma linhagem celular viva, as células HeLa (nomeadas assim em homenagem à paciente da qual foram retiradas, Henrietta Lacks). Essas células se dividiam várias e várias vezes e passaram então a ser utilizadas para investigação de câncer, crescimento viral, síntese proteica, efeitos da radiação sobre as células, entre diversas outras pesquisas.

O ciclo de vida de uma célula (ciclo celular) compreende uma série de eventos macromoleculares que levam à divisão da célula e formação de duas novas células, constituídas por cromossomos idênticos aos da célula que se dividiu. O ciclo é dividido em três estágios: interfase (subdividido nas fases G_1, S e G_2), divisão celular ou **mitose** (subdividido em prófase, metáfase, anáfase e telófase) e divisão citoplasmática ou citocinese. Em todas as células de um mesmo tipo celular, a duração desse ciclo é aproximadamente a mesma, diferindo de um tipo celular para outro. O crescimento do citoplasma acima de um determinado volume desencadeia a divisão celular provavelmente devido à incapacidade do núcleo de controlar e/ou coordenar um volume citoplasmático acima do limiar de sua capacidade.

Antes de se dividir, uma célula copia todo o seu DNA (replicação) durante a interfase, o intervalo mais longo do ciclo celular, no qual a célula aumenta de massa, praticamente duplica o número de organelas citoplasmáticas e replica seu DNA. Na fase G_1, as moléculas de DNA originam moléculas de RNA, as quais passam para o citoplasma e promovem a síntese proteica. Nessa fase, a célula trabalha intensamente para produzir mais substâncias e aumentar seu volume.

Assimile

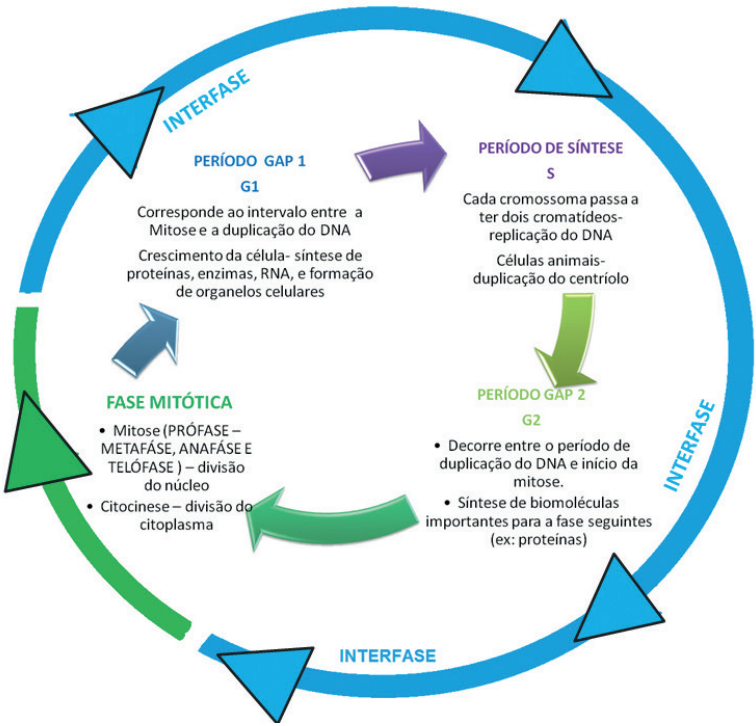
G → do inglês *gap*, "intervalo".

Dica! Memorize o "G" dessa fase não apenas como *gap*, mas também como *growth* (do inglês, "crescimento").

Na fase S (do inglês *synthesis*, "síntese"), as moléculas de DNA param de produzir RNA e se ocupam de sua replicação, isto é, constitui a fase de duplicação do material genético, na qual uma molécula de DNA sintetiza outra molécula de DNA idêntica a ela. Por fim, na fase G_2, todos os genes da célula já se encontram duplicados e, então, a célula para a síntese de DNA e volta a produzir mais RNA, visando a maior obtenção de proteínas e retornando ao seu desenvolvimento – crescendo até atingir a dimensão que desequilibrará a relação superfície x volume, o que, por sua vez, dificultará a absorção ou eliminação de substâncias e induzirá nova divisão celular.

Exemplificando

Figura 4.1 | Fases do ciclo celular



Fonte: <https://goo.gl/3rjtbE>. Acesso em: 20 jun. 2018.

Após a fase G_2, a célula entra em mitose já contendo duas cromátides irmãs (unidas pelo centrômero), uma vez que seus cromossomos foram duplicados durante a interfase. A maioria das células animais possui, próximo ao núcleo, um centrossomo que organiza os microtúbulos enquanto estão sendo formados. Esse centrossomo é duplicado minutos antes de a prófase começar e, durante essa fase, um dos centrossomos vai para o polo oposto do núcleo. A partir dos centrossomos, os microtúbulos começam a crescer e formar o fuso mitótico. Ao término da prófase, o envoltório nuclear se rompe e os microtúbulos penetram na região nuclear. Uma cromátide de cada cromossomo é presa a microtúbulos que se estendem de um polo do fuso, enquanto sua

cromátide irmã é presa a microtúbulos que se estendem do outro polo do fuso.

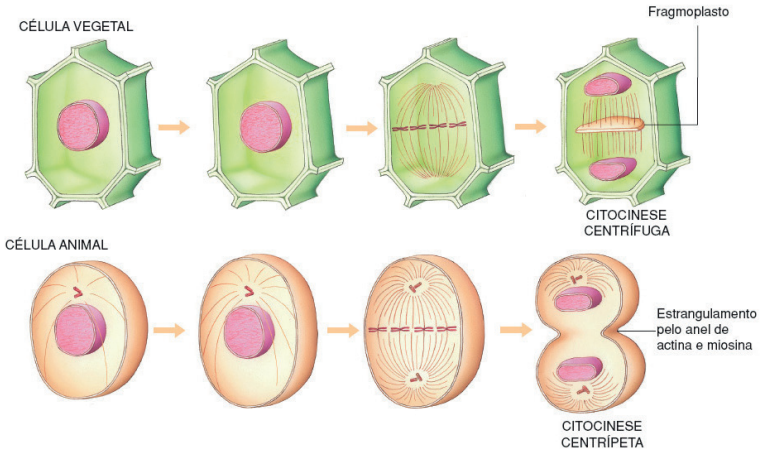
Na fase seguinte (metáfase), os microtúbulos passam a adicionar e liberar subunidades de tubulina e à medida que crescem e encolhem, empurram e puxam os cromossomos. Uma vez com o mesmo comprimento, os microtúbulos alinham os cromossomos entre os polos do fuso. Seguindo-se à metáfase, as cromátides irmãs de cada cromossomo se separam e partem opostamente em direção aos polos do fuso – fase denominada anáfase, a qual termina quando cada cromossomo e sua duplicata chegam a esses polos.

Por fim, a telófase se inicia quando os dois grupamentos de cromossomos se encontram nos polos do fuso e vesículas derivadas do envelope nuclear antigo se fundem em volta desses grupamentos, enquanto os cromossomos se descondensam. Quando cada conjunto de cromossomos se torna envolvido por um novo envelope nuclear, dois núcleos se formam.

Em células animais, após a mitose, ocorre a citocinese (divisão citoplasmática), na qual o citoplasma da célula se divide em dois. No equador do antigo fuso, filamentos de actina e miosina (principalmente) ligados à membrana plasmática se contraem, formando um anel. Esse anel puxa a superfície celular para dentro, enquanto continua se contraindo até que o citoplasma seja dividido. Em células vegetais, uma placa celular se forma entre os polos do fuso e divide o citoplasma quando ele atinge e se conecta à parede da célula-mãe. Ao final do processo, cada uma das células-filha encontra-se envolvida por sua própria membrana plasmática e sua própria parede celular.

Exemplificando

Figura 4.2 | Eventos ocorridos na citocinese de células vegetais versus células animais



Fonte: <https://goo.gl/Roi6jo>. Acesso em: 20 jun. 2018.

Reflita

O que aconteceria se as cromátides irmãs não se separassem como deveriam durante a mitose?

Diversos mecanismos controlam a replicação do DNA, bem como o início e o término da divisão celular. Esses mecanismos de controle estão presentes em determinados pontos do ciclo celular como "freios", que, quando acionados, param o ciclo naquele ponto e, uma vez liberados, permitem que o ciclo funcione novamente. Algumas proteínas, resultantes dos genes de verificação, são capazes de monitorar se o DNA de uma célula foi correta e completamente copiado, se está danificado e até mesmo se as concentrações dos nutrientes são suficientes para o crescimento da célula, interagindo para acelerar, retardar ou interromper o ciclo celular.

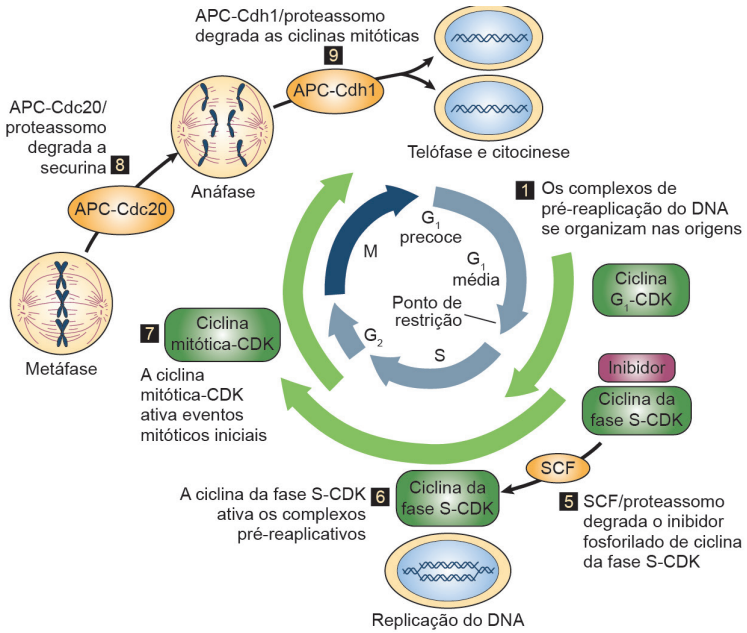
Se um gene de ponto de checagem sofrer mutação e sua respectiva proteína codificada não funcionar corretamente, a célula poderá pular a fase de interfase e a divisão celular poderá ocorrer

repetidamente, sem intervalo. Ainda, um DNA danificado pode ser copiado e esse defeito ser transmitido às células descendentes. Quando todos os mecanismos de checagem falham, a célula perde o controle sobre seu ciclo celular e seus descendentes podem formar um tumor no tecido ao redor. As proteínas que controlam os eventos do ciclo celular são as ciclinas e as quinases dependentes de ciclinas que, ao identificarem o DNA rompido ou incompleto, ativam determinadas proteínas em uma cascata de sinalização que interrompe o ciclo celular ou faz a célula morrer. As quinases são moléculas proteicas com atividade enzimática que adicionam um fosfato a outras proteínas, enquanto as ciclinas são proteínas reguladoras, assim denominadas por serem produzidas e posteriormente destruídas durante algumas fases do ciclo.

Há dois grandes grupos de ciclinas: as ciclinas G_1, que atuam na fase G_1, e as ciclinas M, que atuam na mitose. Em determinado momento da fase G_1 (denominado ponto de partida), fatores moleculares da matriz extracelular ou outras células estimulam a célula a se dividir. A partir desse ponto, a célula começa a sintetizar ciclina G_1 que, juntamente com a quinase Cdk_2, forma o complexo SPF (sigla das palavras em inglês *S-phase-promoting factor*). Esse complexo é necessário para o início do processo de replicação do DNA, fazendo a célula entrar na fase S.

Em determinado momento da fase S, a ciclina G_1 e outras ciclinas começam a sofrer proteólise e o complexo SPF se desfaz. A partir da fase G_2, a concentração de ciclina M começa a aumentar e forma, juntamente com a ciclina Cdc_2, o complexo MPF (*M-phase-promoting factor*), dando início à mitose. Quando as proteínas fosforiladas pela ação da Cdc_2 sofrem desfosforilação, a concentração de ciclina M diminui e determina o fim da mitose – o complexo MPF é, então, desativado na anáfase, dando lugar ao complexo APC (*anaphase-promoting complex*), promotor da degradação da ciclina M.

Figura 4.3 | Regulação do ciclo celular em eucariotos



Fonte: Lodish et al. (2005, p. 852).

Danos genéticos podem ocorrer se as células progredirem para a próxima fase do ciclo celular sem que a fase anterior se complete de maneira adequada. Se a anáfase se inicia antes que os dois cinetocoros do cromossomo em replicação estejam ligados aos microtúbulos do polo mitótico oposto, por exemplo, as células-filhas produzidas terão um cromossomo a mais ou a menos. Quando isso acontece durante a divisão meiótica que gera o zigoto humano, pode desencadear a trissomia do cromossomo 21 e resultar na Síndrome de Down.

Para minimizar a ocorrência de erros desse tipo, a progressão do ciclo celular é monitorada em diversos pontos de checagem, nos quais se garante que os cromossomos estejam intactos e que cada fase do ciclo esteja completa antes que a próxima fase seja iniciada.

Um desses pontos, denominado ponto de checagem do DNA não-replicado, identifica a não replicação do DNA e inibe a ativação do complexo MPF, inibindo a entrada, em mitose, de células que não tenham completado a síntese do DNA. Outro ponto, denominado ponto de checagem da ligação ao fuso mitótico, impede a entrada precoce da célula na anáfase, quando somente um cinetocoro de uma cromátide não está associado de maneira correta com os microtúbulos do fuso mitótico.

O ponto de checagem da segregação dos cromossomos monitora a localização dos cromossomos-filho em segregação ao final da anáfase, determinando se a Cdc14 ativa ficará disponível para promover a saída da mitose. Por fim, o ponto de checagem de dano no DNA promove a parada do ciclo em resposta ao dano no DNA, até que esse dano seja reparado. A parada em G_1 e em S impede que bases nitrogenadas danificadas sejam copiadas, perpetuando mutações no genoma. A replicação do DNA com dano também causa rearranjos nos cromossomos, que podem contribuir para o desenvolvimento de câncer. Já a parada em G_2 permite que quebras na dupla fita do DNA sejam reparadas antes da mitose.

Em células tumorais, normalmente um ou mais genes de verificação estão ausentes. Genes de verificação capazes de inibir a mitose são chamados de supressores porque quando ausentes, tumores são formados. Ao contrário, quando os genes de verificação estimulam a mitose, recebem o nome de proto-oncogenes. Ademais, mutações que alteram seus produtos ou a taxa na qual são formados podem ser responsáveis pela transformação de uma célula normal em tumoral. As proteínas codificadas por genes supressores de tumores, incluindo o ATM e o Chk2, normalmente atuam no ponto de checagem do DNA. Pacientes com mutações nas duas cópias desses genes desenvolvem cânceres com maior frequência que o normal. Outra proteína supressora (p53) contribui para a parada das células com dano no DNA e quando esse dano é muito extenso, a proteína também ativa a expressão de genes que levam a célula à morte por apoptose.

O processo de divisão celular que vimos até o momento (mitose) resulta na produção de duas células-filha geneticamente idênticas e contendo o mesmo número de cromossomos (2n) que a célula que as originou, denominada célula-mãe. Entretanto, em células germinativas (espermatozoides e oócitos), o processo de

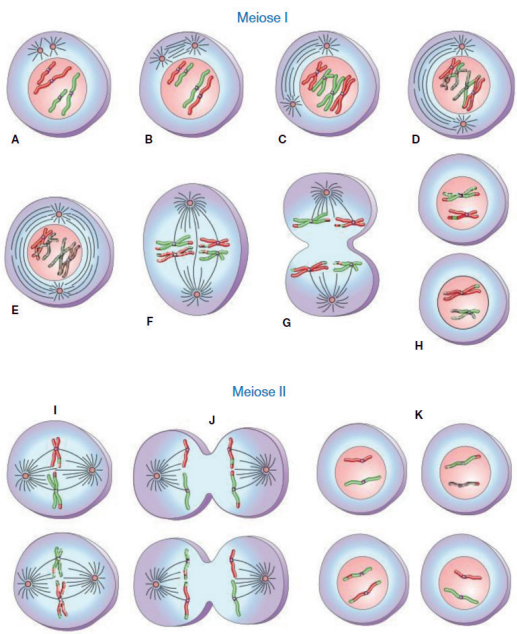
divisão resulta na produção de quatro células contendo metade do número de cromossomos (*n*) encontrado em células somáticas. Esse processo é denominado **meiose** (do grego *meion*, redução) e, para que ocorra, são necessárias duas divisões celulares sucessivas após a duplicação do DNA: meiose I e meiose II. O período S que antecede a meiose geralmente é mais longo que o período S que antecede a mitose, e, assim como a mitose, a meiose é dividida nas fases de prófase, metáfase, anáfase e telófase.

Assimile

A meiose é subdividida em duas fases:

- Meiose I: primeira divisão meiótica, após a duplicação do DNA. As células encontram-se na prófase I, especificamente em leptóteno (A), zigóteno (B), paquíteno (C), diplóteno (D) e diacinese (E). Cada uma das células resultantes (H) contém 2n cromossomos
- Meiose II: as células-filha (H) sofrem nova divisão meiótica (I e J), resultando em quatro células contendo n cromossomos.

Figura 4.4 | Eventos celulares ocorridos na meiose



Fonte: Junqueira e Carneiro (2015, p. 197).

A formação de tecidos e órgãos funcionais durante o desenvolvimento dos organismos multicelulares depende de uma série de divisões celulares, semelhante a uma árvore genealógica, denominada linhagem celular, regulada por fatores intrínsecos e extrínsecos. A linhagem celular se inicia com as células-tronco; células não especializadas, que podem indefinidamente originar novas células-tronco e células mais especializadas. Algumas linhagens celulares contêm células intermediárias (células progenitoras ou precursoras), cujo potencial para gerar células diferenciadas é mais limitado quando comparado ao das células-tronco.

Pesquise mais

Aprofunde seus conhecimentos a respeito das características biológicas das células-tronco por meio da leitura do seguinte artigo:

BYDLOWSKI, S. P. et al. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, suppl. 1, 5 jun. 2009. Disponível em: <https://goo.gl/q9HS4m>. Acesso em: 20 jun. 2018.

O zigoto, embora não possua capacidade de autorrenovação – e, portanto, não possa ser considerado tecnicamente uma célula-tronco –, é uma célula totipotente, capaz de gerar células com propriedades de célula-tronco, as quais, por sua vez, são capazes de gerar todos os tipos celulares do organismo. No estágio embrionário de oito células, cada célula pode originar qualquer tipo celular. Dessa forma, a subdivisão do organismo em partes e tecidos, quando nesse estágio, é reversível, o que não ocorre no estágio de 16 células, quando algumas células já se encontram comprometidas com vias de diferenciação específicas.

Em muitos tipos de células, o início da diferenciação definitiva está associado à parada do ciclo celular comumente em G_1, sugerindo que a transição para o estado diferenciado pode ser influenciada pelas proteínas do ciclo celular, incluindo as ciclinas e as quinases dependentes de ciclinas. A **diferenciação celular** constitui o processo de especialização das células, as quais passam a exercer funções específicas com grande eficiência.

As modificações celulares que ocorrem na diferenciação são resultado da ativação de determinados genes e da inativação de outros. Os fatores de transcrição essenciais para a diferenciação são específicos para cada tipo celular. Um grupo de fatores de transcrição denominados fatores determinantes do músculo (FDM), por exemplo, são fundamentais para o início da transcrição de genes específicos para o músculo. Por outro lado, a inativação seletiva de genes é igualmente importante, uma vez que, conforme a célula se diferencia, ela perde sua potencialidade – e essa perda ocorre por meio da inativação gênica.

A diferenciação celular é controlada por fatores intracelulares e extracelulares, exigindo, portanto, intensa comunicação célula-célula e célula-ambiente. A compartimentalização precoce de componentes citoplasmáticos no zigoto, por exemplo, ocasiona uma desigualdade que persiste nas clivagens, sendo responsável pelo primeiro passo de diferenciação celular. Fatores extrínsecos resultam de sinais emanados de outras células, da matriz extracelular do organismo em diferenciação ou de agentes provenientes do meio ambiente. Ainda, vários hormônios e fatores de crescimento produzidos em células distantes também interferem na diferenciação e no metabolismo celular.

Sem medo de errar

Os gametas são produzidos pelas gônadas (testículos e ovários) e as gametogêneses masculina e feminina constituem processos muito semelhantes, diferindo basicamente quanto ao tamanho das células e número de gametas férteis resultantes. A gametogênese é um processo que envolve um fenômeno biológico denominado **meiose**, o qual pode ser subdividido em duas fases, **meiose I** e **meiose II**. A meiose I consiste na primeira divisão meiótica, após a duplicação do DNA, a qual resulta em duas células-filha contendo 2n cromossomos. As células encontram-se na prófase I, especificamente em leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese. Na meiose II, as células-filha sofrem nova divisão meiótica e resultam em quatro células contendo n cromossomos. Após fecundado, embora não possua capacidade de autorrenovação, um zigoto é uma célula totipotente capaz de

gerar células com propriedades de célula-tronco; as quais, por sua vez, são capazes de gerar todos os tipos celulares do organismo em um fenômeno conhecido como **diferenciação celular** – processo de especialização das células, as quais passam a exercer funções específicas com grande eficiência. A diferenciação celular é controlada por fatores intracelulares e extracelulares, exigindo, portanto, intensa comunicação célula-célula e célula-ambiente. A compartimentalização precoce de componentes citoplasmáticos no zigoto, por exemplo, ocasiona uma desigualdade que persiste nas clivagens, sendo responsável pelo primeiro passo de diferenciação celular. Fatores extrínsecos resultam de sinais emanados de outras células, da matriz extracelular do organismo em diferenciação ou de agentes provenientes do meio ambiente. Ainda, vários hormônios e fatores de crescimento produzidos em células distantes também interferem na diferenciação e no metabolismo celular.

Avançando na prática

Síndrome de Down

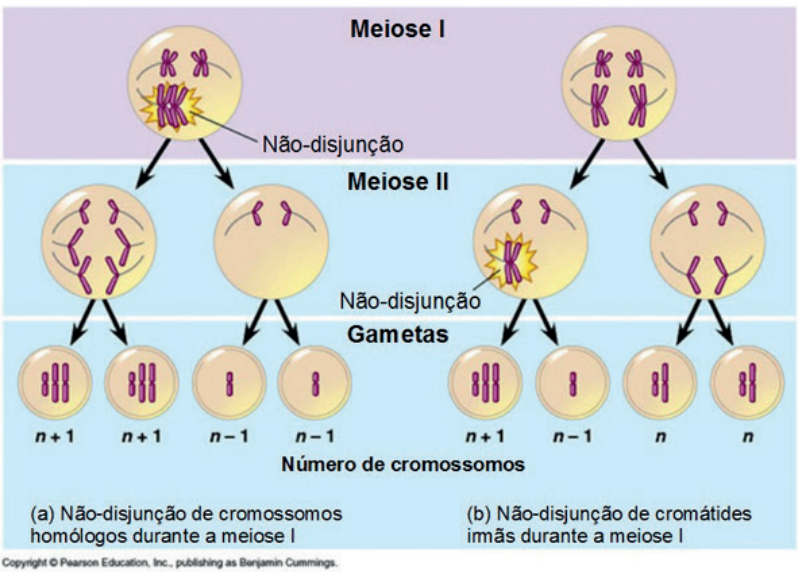
Descrição da situação-problema

Um casal cujo filho primogênito é portador da Síndrome de Down planeja mais um filho. No entanto, se preocupam com a possibilidade de o segundo filho também ser portador da doença e, então, decidem procurar uma ginecologista especialista em medicina reprodutiva. A médica explica ao casal que a Síndrome de Down é uma doença genética causada pela trissomia do cromossomo 21 e que, quando produzido em laboratório por meio de fertilização in vitro, é possível detectar se o embrião é portador de problemas genéticos antes de ser implantado no útero materno. Nessa técnica, denominada Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGD), uma ou duas células são retiradas no terceiro dia após a fecundação, quando o embrião se encontra no estágio de 6 a 8 células. Qual seria uma das hipóteses para a formação de um cromossomo 21 extra? Por que, durante esse estágio, é possível a retirada de uma ou duas células sem que haja prejuízo para o desenvolvimento do embrião?

Resolução da situação-problema

A progressão do ciclo celular é constantemente monitorada para garantir que os cromossomos estejam intactos e que cada fase do ciclo esteja completa antes que a próxima fase seja iniciada, evitando danos genéticos. Se a anáfase tiver início antes que os dois cinetocoros do cromossomo em replicação estejam ligados aos microtúbulos do polo mitótico oposto, esses cromossomos permanecem unidos (**não-disjunção dos cromossomos**) durante a divisão meiótica I e são transportados juntos para um dos polos que darão origem aos gametas – dessa forma, as células-filhas produzidas terão um cromossomo a mais (n + 1) ou a menos (n - 1), podendo desencadear a trissomia do cromossomo 21 e resultar na Síndrome de Down. O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PDG) é possível uma vez que, no estágio de 6 a 8 células, **cada célula pode originar qualquer tipo celular,** não implicando em prejuízos para o desenvolvimento embrionário. Por outro lado, não seria possível no estágio de 16 células, quando algumas células já se encontram comprometidas com vias de diferenciação específicas.

Figura 4.5 | Hipótese para a formação de um cromossomo 21 extra



Fonte: <https://goo.gl/BFJzVf>. Acesso em: 20 jun. 2018.

Faça valer a pena

1. [Adaptado de ENADE 2013 – Biomedicina] Células-tronco são consideradas um modelo ideal para estudos de geração embrionária, diferenciação celular, expressão e regulação gênicas, tendo se mostrado eficazes na terapia de reparação tecidual causadas por doenças neurodegenerativas em modelos animais. Analise as asserções a seguir, a respeito desse tipo celular:

I. A diferenciação das células-tronco embrionárias em células especializadas é controlada pela regulação da expressão gênica, visando à obtenção das propriedades teciduais em diferentes estágios do desenvolvimento. A adequada interferência na expressão gênica dessas células possibilita sua utilização em terapias de reparação tecidual para tratamento de diversas condições patológicas.

PORQUE

II. Células-tronco embrionárias são totipotentes e podem se diferenciar em quaisquer uma das três camadas germinativas (ectoderme, mesoderme e endoderme).

A respeito dessas asserções, assinale a alternativa correta.

a) As asserções I e II são proposições verdadeiras, e a II é uma justificativa da I.
b) As asserções I e II são proposições verdadeiras, mas a II não é uma justificativa da I.
c) A asserção I é uma proposição verdadeira, e a II é uma proposição falsa.
d) A asserção I é uma proposição falsa, e a II é uma proposição verdadeira.
e) e) As asserções I e II são proposições falsas.

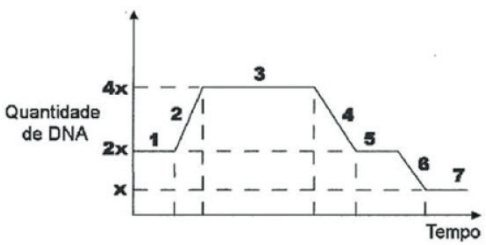
2. [Adaptado de EBSERH 2014, Médico Geneticista] A mitose resulta na produção de duas células-filha geneticamente idênticas e contendo o mesmo número de cromossomos (2n) que a célula que as originou, denominada célula-mãe. Entretanto, em células germinativas (espermatozoides e oócitos), o processo de divisão, denominado meiose, pode ser dividido em duas etapas (meiose I e meiose II), diferindo da mitose em alguns aspectos. Analise as afirmativas a seguir, a respeito da meiose:

I. Na meiose II, cada cromossomo de uma célula é duplicado para produzir uma cromátide-irmã para cada membro dos cromossomos homólogos.
II. Durante a meiose II pode haver contato físico entre as cromátides, resultando em um processo de recombinação homóloga.
III. A divisão na meiose I é denominada redução da divisão, tornando as células haploides.

IV. A meiose I é um processo idêntico à mitose.
V. O resultado final da meiose I são células-filha diploides, com combinações cromossômicas diferentes das encontradas na célula progenitora.

Assinale a alternativa que contém as afirmativas corretas.
a) I, apenas.
b) III, apenas.
c) II e V.
d) I, IV e V.
e) I, II, III, IV e V.

3. [Adaptado de ENADE 2011 – Biologia] O corpo humano é composto por cerca de um trilhão de células, todas descendentes de uma única célula (zigoto), as quais, diariamente, se dividem e substituem suas antecessoras danificadas ou envelhecidas. O ciclo de vida de uma célula (ciclo celular) compreende uma série de eventos macromoleculares que levam à divisão da célula e formação de duas novas células, constituídas por cromossomos idênticos aos da célula que se dividiu. O gráfico a seguir ilustra as variações na quantidade de DNA ao longo do ciclo celular:



Fonte: adaptada de <https://goo.gl/nx97Mz>. Acesso em: 20 jun. 2018.

Assinale a alternativa que contém a análise correta referente ao gráfico.
a) As fases 1, 2 e 3 representam, respectivamente, as fases G_1, S e G_2.
b) As fases 1, 2 e 3 representam a interfase, enquanto as fases 4, 5, 6 e 7, subsequentes, são características da célula em mitose, quando, ao final, há uma redução da quantidade de DNA na célula pela metade.
c) As fases de 1 a 5 representam a meiose I; enquanto que as fases 6 e 7 representam a meiose II.
d) A célula representada no gráfico é diploide, tendo sua quantidade de DNA duplicada no período S da interfase (fase 2) e, posteriormente, passando pelas fases da meiose para originar células-filha com metade da quantidade de DNA (fase 7, células haploides).

e) A fase 3 é caracterizada por um período em que não há variação na quantidade de DNA da célula, representando, portanto, uma célula durante os períodos da mitose: prófase, metáfase e anáfase.

Seção 4.2

Síntese proteica

Diálogo aberto

Durante sua consulta anual com o neurologista especialista em doenças neuromusculares, Fernanda sempre aproveitava para tirar suas dúvidas a respeito da doença da qual é portadora. Assim que soube que a miastenia grave é uma doença autoimune na qual há produção de anticorpos contra os receptores da acetilcolina, a jovem perguntou o que eram os anticorpos. O médico explicou à paciente que anticorpos são proteínas específicas, também chamadas de imunoglobulinas, produzidas pelas células de defesa para impedir que organismos patogênicos desencadeiem danos ao organismo. O especialista também explicou que qualquer erro na síntese dessas proteínas gera anticorpos defeituosos. Essa informação fez com que Fernanda ficasse curiosa para saber como ocorre a síntese proteica. Você seria capaz de explicar à jovem como se dá esse fenômeno e matar a sua curiosidade?

Não pode faltar

Aminoácidos são ácidos orgânicos formados por um átomo de carbono central (α) ligado a um grupamento amina ($-NH_2$), um grupamento carboxila (–COOH), um átomo de hidrogênio e um grupamento variável (cadeia lateral –R), com exceção do aminoácido prolina, que possui um grupamento imino (–NH–) no lugar do grupamento amina. Em pH neutro, os aminoácidos são predominantemente íons dipolares (*zwitterions*), estando a amina protonada ($-NH_3^+$) e a carboxila desprotonada ($-COO^-$). Em pH ácido, o grupamento amina permanece protonado ($-NH_3^+$) e o grupamento carboxila encontra-se sem dissociação (–COOH), diferente do que observamos em pH básico, no qual a amina protonada perde um próton ($-NH_2$) e a carboxila permanece desprotonada ($-COO^-$).

Entre os mais de 300 aminoácidos de ocorrência natural, apenas 20 constituem as subunidades monoméricas que formam as proteínas,

as macromoléculas biológicas mais abundantes e importantes na célula, a começar pelo fato de que é por meio delas que a informação genética é expressa. Além disso, as proteínas atuam no transporte e armazenamento de outras moléculas, aumentam a velocidade de reações químicas, defendem o organismo das invasões de agentes externos, geram movimento, transmitem impulsos nervosos e controlam o crescimento e a diferenciação celular.

Reflita

Alterações na sequência de aminoácidos podem ocasionar que consequências à função biológica da proteína?

Além das proteínas formadas apenas pelo encadeamento de aminoácidos, existem proteínas mais complexas em cuja constituição há, além das cadeias peptídicas, um radical não proteico que lhe confere propriedades especiais, como é o caso das glicoproteínas, lipoproteínas, cromoproteínas e nucleoproteínas. Nesse caso, são chamadas de proteínas conjugadas e o radical não proteico pode se ligar à cadeia peptídica covalente ou não-covalentemente.

Sintetizadas a partir de uma estrutura linear, as proteínas se enovelam espontaneamente em estruturas tridimensionais, as quais são determinadas por sua sequência precursora de aminoácidos, e designam sua função. Além da estrutura tridimensional, a função das proteínas é determinada por seus grupamentos funcionais, que podem ser: álcoois, tióis, tioéteres, ácidos carboxílicos, carboxamidas, entre outros. Cada proteína possui uma sequência particular de aminoácidos determinada pela sequência complementar de nucleotídeos no RNA previamente especificada pela sequência de nucleotídeos no DNA.

Proteínas podem se organizar estruturalmente de quatro maneiras:

a) Estrutura primária.
b) Estrutura secundária.
c) Estrutura terciária.
d) Estrutura quaternária.

A estrutura primária é a própria sequência linear de aminoácidos ao longo da cadeia peptídica, determinada geneticamente e

específica para cada proteína. Na estrutura secundária, as cadeias peptídicas se dobram em estruturas regulares, sendo as principais e mais estáveis a α-hélice e a folha β pregueada. Na α-hélice, a cadeia peptídica se retorce ao redor de um eixo, formando um bastão compacto, dentro do qual o grupamento –C═O de cada aminoácido forma pontes de hidrogênio com o grupamento –NH de um aminoácido quatro monômeros à frente na cadeia peptídica. Na folha β pregueada, a cadeia peptídica é quase totalmente distendida: duas ou mais fitas β unidas por pontes de –NH para –C═O reúnem-se formando as folhas.

A estrutura terciária das proteínas é compacta e assimétrica. Em casos de proteínas hidrossolúveis, o interior da estrutura é formado por aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas e a superfície é formada, em sua maior parte, por aminoácidos hidrofílicos que interagem com o meio aquoso. O contrário ocorre em proteínas hidrofóbicas: aminoácidos hidrofóbicos encontram-se na superfície para interagir com o meio, enquanto aminoácidos hidrofílicos encontram-se protegidos no interior da proteína. Nesse tipo de conformação, segmentos distantes na estrutura primária aproximam-se e interagem por meio de ligações não-covalentes entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos. Proteínas com estrutura quaternária são constituídas por duas ou mais cadeias peptídicas (subunidades) mantidas por ligações não-covalentes, dando origem a uma proteína funcional. A estrutura quaternária pode ser simples, constituída por duas subunidades idênticas, ou complexas, compostas por diversas subunidades diferentes.

A polimerização dos nucleotídeos dá origem aos ácidos nucleicos, as biomoléculas mais importantes para os seres vivos, desempenhando duas das mais relevantes funções: coordenação da síntese de todas as proteínas celulares e transmissão das informações genéticas. São estruturas compostas por uma pentose (ribose ou desoxirribose), uma base nitrogenada e um radical fosfato (HPO_4), proveniente do ácido fosfórico. Em uma molécula de ácido nucléico, centenas de nucleotídeos se encadeiam formando um filamento simples (ácidos ribonucleicos – RNA) ou duplo (ácidos desoxirribonucleicos – DNA). No caso específico do DNA, as duas cadeias polinucleotídicas apresentam-se interligadas por meio de suas bases nitrogenadas mediante pontes de hidrogênio. No DNA, as bases nitrogenadas são a adenina e a guanina, derivadas

da purina, e a citosina e a timina, derivadas da pirimidina. No RNA, as bases purínicas são as mesmas (adenina e guanina), enquanto, dentre as pirimidínicas, uma é igual à presente no DNA (citosina) e a outra é diferente: uracila, no lugar de timina.

O DNA encerra no seu código a programação para certo caráter, sendo necessário que forme um RNA que transcreva tal código. O RNA funciona como um filme negativo que "transcreve" a imagem real com as cores invertidas para, depois, "traduzi-la" no papel exatamente com as cores reais. Dessa forma, o RNA, formado no molde do DNA, passa ao citoplasma carregando consigo a "mensagem" do DNA. No citoplasma, o RNA cumprirá sua função e determinará a síntese de uma proteína, a qual terá um papel decisivo na manifestação do caráter hereditário condicionado pela presença daquele DNA nas células. Assim, conclui-se que o DNA possui um papel predominantemente genético, exercido apenas por meio da atividade do RNA.

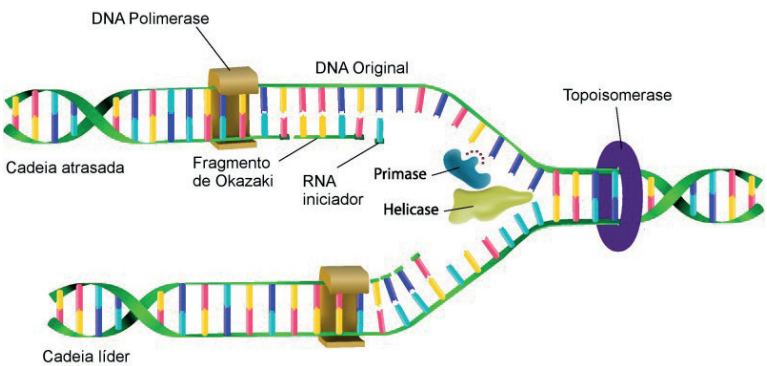
Sempre que uma célula sofre divisão para produzir duas células-filhas com a mesma informação genética da célula progenitora, o DNA precisa ser duplicado, evento que ocorre durante um processo denominado replicação. Como vimos na seção anterior desta unidade, antes de se dividir uma célula duplica seu material genético durante a interfase, o intervalo mais longo do ciclo celular e no qual a célula aumenta de massa e praticamente duplica o número de organelas citoplasmáticas. Na fase G_1, as moléculas de DNA originam moléculas de RNA, as quais passam para o citoplasma e promovem a síntese proteica. Nessa fase, a célula trabalha intensamente para produzir mais substâncias e aumentar seu volume.

A **replicação** envolve três importantes etapas: 1) separação das duas fitas do DNA; 2) síntese do DNA da extremidade 5' para a 3' e 3) proteção contra erros na replicação. A dupla hélice do DNA se desenrola a partir de um ponto específico denominado origem da replicação, no qual as pontes de hidrogênio que unem as bases nitrogenadas são rompidas, fazendo com que as duas fitas se afastem. Com cada uma das fitas expostas como molde, novas cadeias de polinucleotídeos são sintetizadas a partir da adição de nucleotídeos de DNA livres já existentes na célula, os quais se encaixam nas fitas que se afastaram caso as bases sejam complementares.

Para cada origem de replicação há dois pontos (forquilhas de replicação) nos quais as novas cadeias polinucleotídicas são sintetizadas, catalisadas pela enzima DNA polimerase III e avançando em direções opostas a partir da origem de replicação. Uma fita nova (contínua) é formada continuamente da extremidade 5' até a extremidade 3' na forquilha de replicação, a partir da fita molde exposta de 3' para 5'. A outra fita (descontínua) é formada de maneira semidescontínua, em pequenos fragmentos denominados fragmentos de Okazaki, cuja extremidade 5' fica mais próxima da forquilha de replicação que a extremidade 3'. Ao término da complementação por novos nucleotídeos, a enzima DNA ligase sela os fragmentos e formam-se duas moléculas de DNA idênticas entre si, cada qual contendo uma fita original e uma fita recém-sintetizada (replicação semiconservativa).

Exemplificando

Figura 4.6 | Replicação do DNA



Fonte: <https://goo.gl/RBHFtv>. Acesso em: 30 jun. 2018.

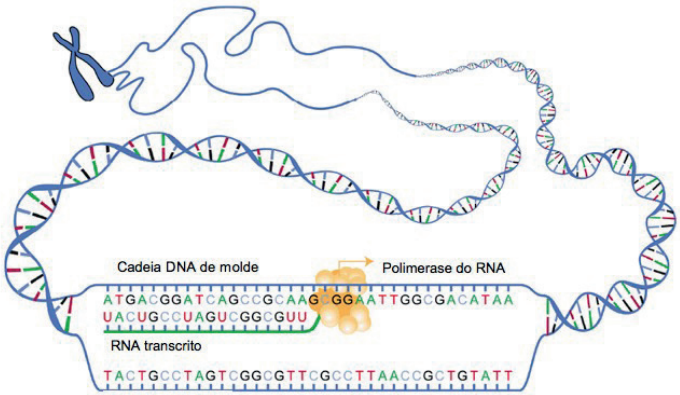
Quando um nucleotídeo é incorretamente incorporado à sequência gênica durante a replicação, ocorre uma pequena distorção na estrutura do DNA, reconhecida pela exonuclease de revisão de leitura – tipo especial de nuclease que se move no sentido contrário ao da polimerização e cliva o nucleotídeo incorreto, dando "uma nova chance" à DNA polimerase. Essa mudança

na geometria entre o 3'-OH e o nucleotídeo a ser incorporado diminui a velocidade de adição de novos nucleotídeos e aumenta a velocidade da atividade exonucleásica. Existe um período de tempo determinado, após cada ciclo replicativo, para que cada nucleotídeo incorretamente incorporado seja removido e substituído pelo correto. Caso essa revisão de leitura proteica não funcione nesse curto período de tempo, a molécula de DNA recém-sintetizada será metilada resultando em mutação.

Da mesma maneira que a síntese de DNA, a revisão de leitura pode acontecer sem a dissociação do DNA da polimerase. As exonucleases atuam como o botão "delete" de um teclado, removendo os erros mais recentes e diminuindo o surgimento de uma base incorreta de 10^5 para a cada 10^7 nucleotídeos adicionados. O nível de precisão é ainda melhorado mediante a atuação do sistema de reparo de malpareamentos pós-replicação. Entretanto, alguns nucleotídeos incorretamente adicionados conseguem escapar da detecção pelas exonucleases e geram um malpareamento entre a fita molde e a recém-sintetizada.

Após a replicação do DNA inicia-se a etapa da síntese do RNA, processo denominado **transcrição**, principal ponto de controle na expressão dos genes e produção de proteínas. Na presença da enzima RNA polimerase dependente de DNA, as pontes de hidrogênio que unem as duas fitas do DNA são rompidas e elas se afastam. Nucleotídeos livres de RNA encaixam-se em apenas uma das fitas (fita molde), porém, diferentemente da replicação, no sentido da extremidade 3' para a extremidade 5' da fita molde. Uma vez complementada, a nova fita de RNA (RNA mensageiro – RNAm) destaca-se de seu molde e migra para o citoplasma.

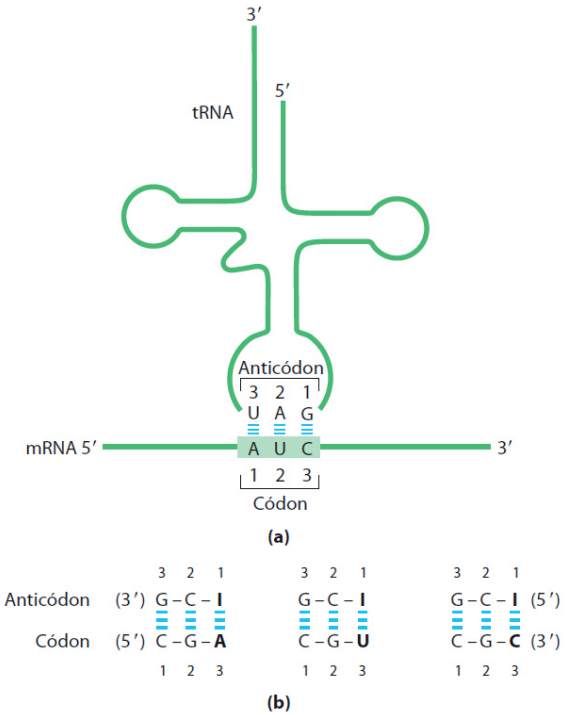
Figura 4.7 | Transcrição do DNA



Fonte: <https://goo.gl/RfmAf7>. Acesso em: 30 jun. 2018.

Por fim, inicia-se a **tradução** da informação genética ou síntese proteica propriamente dita: o RNAm se associa a um ribossomo existente no citoplasma, o qual se move da esquerda para a direita, abrangendo os códons (sequências de três bases nitrogenadas). A cada códon que o ribossomo abrange, é acrescentado um aminoácido específico à proteína em crescimento, trazido ao ribossomo pelo RNA transportador (RNAt). Uma vez percorrido todo o RNAm, a mensagem terá sido lida por completo, a proteína estará pronta e o ribossomo poderá, então, se desligar do RNAm. Uma mesma fita de RNA pode ser lida por diversos ribossomos, os quais percorrem o mesmo caminho, sintetizando, assim, diversas moléculas de proteínas exatamente iguais.

Figura 4.8 | Tradução do DNA



Fonte: Nelson e Lehninger (2014, p. 1110).

Os erros nas trincas de aminoácidos constituem repetições de trincas de sequências de nucleotídeos CGG e CAG em determinados genes, resultando em doenças progressivamente mais severas nos filhos e netos dos indivíduos afetados, como distrofia muscular, síndrome do X frágil e doença de Huntington – esta última causada pela repetição de resíduos de glutamina (códon CAG) na proteína mutante; a qual dificulta a transcrição nos neurônios cerebrais, além da transcrição do gene para o receptor de um neurotransmissor. Nessas doenças, as repetições de trinucleotídeos ocorrem nas matrizes de leitura abertas dos transcritos do gene com mutação, ocasionando expansões ou contrações do número de repetições de um único aminoácido – as repetições CAG, por exemplo, codificam uma repetição de poliglutamina.

Pesquise mais

Fazendo uma correlação com o conteúdo que vimos na Seção 3 da Unidade 3, saiba mais a respeito da associação entre o polimorfismo do códon 72 do gene p53 e o risco de infecções persistentes por papiloma vírus humano (HPV) e neoplasia do colo uterino por meio da leitura da dissertação referenciada a seguir:

RABACHINI, T. **Polimorfismo do códon 72 do gene p53 e risco de infecções persistentes por papiloma vírus humano (HPV) e neoplasia do colo uterino**. 2002. 139 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002, p. 23-37. Disponível em: <https://goo.gl/P1iFi8>. Acesso em: 30 jun. 2018.

Sem medo de errar

O neurologista de Fernanda explicou à jovem que qualquer erro na síntese das proteínas precursoras dos anticorpos gera anticorpos defeituosos. Essa informação fez com que Fernanda ficasse curiosa para saber como ocorre a síntese proteica. Antes de se dividir uma célula copia (replica) seu material genético durante a interfase, o intervalo mais longo do ciclo celular no qual a célula aumenta de massa, praticamente duplica o número de organelas citoplasmáticas e replica seu DNA. Na fase G_1, as moléculas de DNA originam moléculas de RNA, as quais passam para o citoplasma e promovem a síntese proteica. A **replicação** envolve três importantes etapas: 1) separação das duas fitas do DNA; 2) síntese do DNA da extremidade 5' para a 3' e 3) proteção contra erros na replicação. A dupla hélice do DNA se desenrola a partir de um ponto específico, denominado origem da replicação, no qual as pontes de hidrogênio que unem as bases nitrogenadas são rompidas, fazendo com que as duas fitas se afastem. Com cada uma das fitas expostas como molde, novas cadeias de polinucleotídeos são sintetizadas a partir da adição de nucleotídeos de DNA livres já existentes na célula, os quais se encaixam nas fitas que se afastaram caso as bases sejam complementares. Após a replicação do DNA inicia-se a etapa da síntese do RNA, processo denominado **transcrição**, principal ponto de controle na expressão dos genes e produção de proteínas. Na presença da enzima RNA polimerase dependente de DNA, as

pontes de hidrogênio que unem as duas fitas do DNA são rompidas e elas se afastam. Nucleotídeos livres de RNA encaixam-se em apenas uma das fitas (fita molde), entretanto, diferentemente da replicação, no sentido da extremidade 3' para a extremidade 5' da fita molde. Uma vez complementada, a nova fita de RNA (RNA mensageiro – RNAm) destaca-se de seu molde e migra para o citoplasma. Por fim, inicia-se a **tradução** da informação genética ou síntese proteica propriamente dita: o RNAm se associa a um ribossomo existente no citoplasma, o qual se move da esquerda para a direita abrangendo os códons (sequências de três bases nitrogenadas). A cada códon que o ribossomo abrange, é acrescentado um aminoácido específico à proteína em crescimento, trazido ao ribossomo pelo RNA transportador (RNAt). Uma vez percorrido todo o RNAm, a mensagem terá sido lida por completo, a proteína estará pronta e o ribossomo poderá, então, se desligar do RNAm. Uma mesma fita de RNA pode ser lida por diversos ribossomos, os quais percorrem o mesmo caminho, sintetizando, assim, diversas moléculas de proteínas exatamente iguais às moléculas precursoras.

Avançando na prática

Desvendando proteínas

Descrição da situação-problema

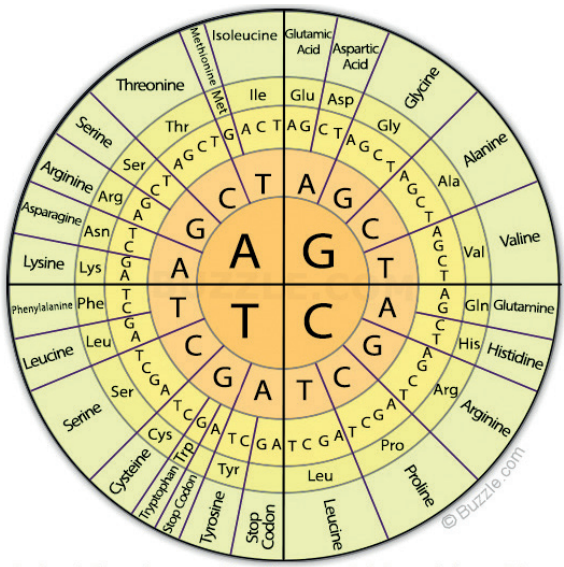
Um estagiário do Laboratório de Genômica e Proteômica da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) recebeu uma amostra do material genético de uma paciente atendida no Hospital de Clínicas com as seguintes informações: "J. M. F., sexo feminino, 59 anos, queixa-se de sede excessiva, aumento do apetite, perda de peso, cansaço, vista embaçada e micção excessiva; acordando várias vezes durante à noite para urinar". O estagiário processou a amostra e obteve as seguintes sequências gênicas:

Cadeia A – GGGATCGTAGAACAATGCTGCACCAGTATCTGCAGT TTGTACCAATTGGAAAATTACTGCAAT

Cadeia B – TTCGTAAATCAACACTTGTGCGGGAGTCACTTGGTAG AAGCCTTGTACTTGGTATGCGGGGAAAGGGGGTTCTTCTACACCC CCAAAACC

Com a ajuda do diagrama a seguir, o estagiário traduziu as sequências obtidas em códons, com a primeira letra do códon partindo do centro do diagrama:

Figura 4.9 | Diagrama dos códons de DNA



Fonte: <https://goo.gl/dd7ufM>. Acesso em: 30 jun. 2018.

Quais foram as sequências de aminoácidos obtidas pelo estagiário? Desafio: pesquise essas sequências e tente descobrir de que proteína se trata. Você descobrirá de qual patologia a paciente J. M. F. é portadora!

Resolução da situação-problema

As sequências de aminoácidos descobertas pelo estagiário foram Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn (cadeia A) e Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr (cadeia B). Essas sequências pertencem às cadeias A e B da proteína **insulina**, um hormônio produzido e secretado pelas células beta do pâncreas, responsável pela redução da glicemia ao permitir a entrada de glicose nas células, cuja ausência

ou escassez na produção causa **diabetes mellitus**, caracterizado por sede e micção excessivas, aumento do apetite, perda de peso, cansaço e vista embaçada.

Faça valer a pena

1. [Adaptado de UniRV 2017 – Auxiliar de Laboratório] Ácidos nucleicos são as biomoléculas mais importantes para os seres vivos, desempenhando duas das mais relevantes funções: coordenação da síntese de todas as proteínas celulares e transmissão das informações genéticas. Considere as sequências gênicas a seguir:
Fita 1 → AAAGATCCCGAATCGGTCGGCGATTTATCG
Fita 2 → TTTCTAGGGCTTAGCCAGCCGCTAAATAGC

Assinale a alternativa correta a respeito da síntese de proteínas.

a) As fitas 1 e 2 são complementares e representam um segmento de molécula de DNA.
b) Considerando-se a fita 1 como fita molde, o RNAm formado por essa sequência conterá as mesmas bases nitrogenadas presentes na fita 2.
c) Na fita 1 há 30 códons e 10 nucleotídeos.
d) Adenina, timina, citosina e guanina são aminoácidos essenciais, encontrados em todos os seres vivos.
e) Todas as fases do processo de síntese proteica ocorrem no interior do núcleo.

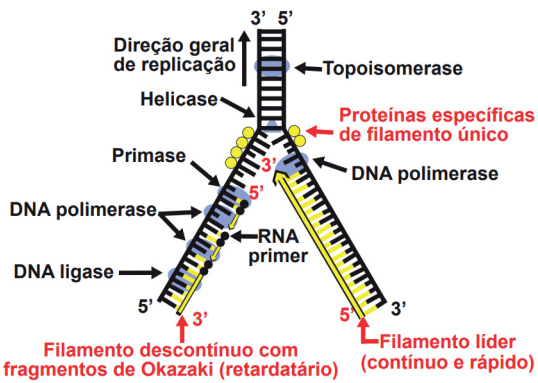
2. [Adaptado de ENEM 2011] Nos dias de hoje, praticamente todos os seres humanos já ouviram falar em DNA. Entretanto, apenas em 1952 confirmou-se que o DNA constitui o material genético dos organismos e, no ano seguinte, um modelo de DNA em dupla hélice foi descrito por Watson e Crick. Em 1958, Meselson e Stahl confirmaram o modelo descrito por Watson e Crick, cuja premissa básica era o rompimento das pontes de hidrogênio entre as duas fitas da molécula de DNA.

Os experimentos realizados sobre a replicação do DNA levaram à conclusão de que:

a) A replicação é conservativa, ou seja, a fita-filha dupla é recém-sintetizada e a fita original é conservada.
b) A replicação é dispersiva, ou seja, as fitas-filha contêm DNA recém-sintetizado e original em cada uma das fitas.
c) A replicação é semiconservativa, ou seja, as fitas-filha contêm uma fita original e uma fita recém-sintetizada.

d) A replicação é conservativa, ou seja, as fitas-filha contêm moléculas do DNA original.
e) A replicação é semiconservativa, ou seja, as fitas-filha contêm uma fita molde e uma fita codificadora.

3. [Adaptado de ENADE 2014 – Ciências Biológicas] Para que a replicação semiconservativa do DNA aconteça, é necessário que as duas fitas que formam sua dupla hélice se separem, expondo as bases nitrogenadas que servirão de base para o emparelhamento dos nucleotídeos na formação das novas cadeias complementares à fita molde. Ambas as fitas-filha são sintetizadas na forquilha de replicação por meio de um complexo de enzimas. Uma vez que as duas fitas-molde são antiparalelas, em uma das fitas a síntese ocorre no sentido 5'→ 3'; enquanto, na outra fita, a síntese ocorre no sentido 3' → 5'.
Analise a figura a seguir, que ilustra o processo de síntese proteica descrito no texto:



Para que a replicação completa do DNA aconteça, é necessária a atuação da enzima:
a) DNA polimerase no sentido 5' → 3' e DNA ligase.
b) DNA polimerase em qualquer sentido, gerando fragmentos de Okazaki.
c) DNA polimerase e DNA ligase, ocorrendo tanto no sentido 3' → 5' (modo lento) quanto no sentido 5' → 3' (modo rápido).
d) DNA polimerase percorrendo da extremidade 5' de uma das fitas-molde até a extremidade 3' da outra fita molde.
e) DNA polimerase no sentido 3' → 5', no emparelhamento de novos nucleotídeos.

Seção 4.3

Técnicas de biologia molecular

Diálogo aberto

Para alívio da família Medeiros, Joaquim não é portador de miastenia grave congênita e de fenda palatina. Conforme vimos em seções anteriores, a ginecologista de Fernanda sugeriu a fertilização in vitro para ambas as concepções de sua paciente porque, embora apresente herdabilidade limitada e ainda não totalmente esclarecida, a miastenia grave é marcadamente influenciada por fatores genéticos, e a fenda palatina apresenta elevado risco de se repetir em irmãos. A escolha dessa técnica foi devido à possibilidade de realização, antes da transferência do embrião para o útero, do diagnóstico genético pré-implantacional (PGD), exame que detecta uma condição genética específica, como a fenda palatina. Qual é a técnica de biologia molecular utilizada nesse procedimento? Em que se baseia essa técnica?

Não pode faltar

A descoberta de uma classe de enzimas bacterianas denominadas enzimas de restrição ou endonucleases, no final da década de 1960, revolucionou a biologia molecular, proporcionando avanços na medicina forense, na investigação de vínculo genético (determinação de paternidade) e no diagnóstico de doenças hereditárias, apresentando diversas vantagens em comparação a marcadores morfológicos, citológicos ou alozímicos. A dupla fita de DNA sofre clivagem por enzimas de restrição em determinadas sequências nucleotídicas; sendo o próprio DNA bacteriano protegido da clivagem pela modificação química dessas sequências. Cada enzima de restrição possui um sítio específico de reconhecimento, no qual é realizada a clivagem, sendo, geralmente, sequências de nucleotídeos simétricas, contendo de quatro a seis pares de bases.

Após a clivagem, os pequenos fragmentos de DNA obtidos podem, então, ser separados uns dos outros por meio da **eletroforese**, técnica bioquímica utilizada para separação de moléculas com base

em sua carga elétrica e peso molecular, em função da aplicação de um campo elétrico. Moléculas com carga negativa migram para o polo positivo (ânodo), enquanto moléculas com carga positiva migram para o polo negativo (cátodo).

Na eletroforese convencional, as substâncias a serem separadas estão em solução ou suspensão, não sendo empregado algum tipo de suporte. Essa técnica é bastante limitada, devido às soluções estarem sujeitas a uma série de influências físicas do ambiente que lhes causam perturbações, tais como ondas mecânicas e movimentos de convecção do líquido, pelo aquecimento da solução causado pela aplicação da diferença de potencial. Já na eletroforese em gel, a mistura de fragmentos de DNA é colocada em uma das extremidades de um bloco de gel de agarose ou poliacrilamida, contendo uma rede microscópica de poros, no qual é aplicada uma voltagem. Uma vez que o DNA possui carga negativa, os fragmentos migram em direção ao eletrodo positivo, sendo que os fragmentos maiores migram mais lentamente, impedidos pela matriz de agarose (WATSON et al., 2006).

As amostras de DNA são misturadas a um corante composto por azul de bromofenol e glicerol, utilizado para aumentar a densidade das amostras, impedindo que saiam dos poços, colorindo-as e servindo como indicador do processo eletroforético. Uma mistura de fragmentos de DNA, de tamanhos variáveis e equidistantes entre si, é colocada no primeiro poço para servir de comparação aos fragmentos da amostra, uma vez que contém fragmentos de tamanhos já conhecidos. Géis de poliacrilamida possuem poros menores que os de agarose, sendo utilizados para a separação de proteínas e pequenos fragmentos de DNA e RNA (cerca de 5 a 500 pb). Se houver a necessidade de separação de fragmentos maiores que 50 kb, torna-se necessária a utilização da eletroforese em campo pulsado (*pulsefield gel electrophoresis* – PFGE), consistindo, basicamente, de um gel submetido a uma corrente elétrica que se alterna em direções perpendiculares. As principais vantagens da utilização de géis de poliacrilamida em relação aos de agarose são, além dos poros menores e mais regulares: possibilidade de aplicação de maiores quantidades de amostra, utilização para recuperação e purificação de DNA e RNA, devido à relativa pureza de seus ingredientes, e maior resistência em relação à agarose (WATSON et al., 2006).

Um fragmento de DNA pode ser clonado, isto é, gerar várias cópias idênticas a ele, tornando possível a separação física de uma determinada extensão de DNA (em geral, um gene de interesse) do restante do DNA celular – no qual esse fragmento estaria presente em quantidades muito pequenas, quando comparado à massa final da sequência amplificada. A **clonagem** constitui um dos principais avanços da Biologia Molecular, tornando possível a tecnologia do DNA recombinante. DNA recombinante é qualquer molécula de DNA construída em laboratório, contendo fragmentos diversos, unidos em novas combinações por meio da ação da DNA ligase. Uma vez que o DNA possui a mesma estrutura química em todos os organismos, essa tecnologia permite a união de fragmentos de DNA de qualquer fonte, produzindo moléculas de DNA não encontradas na natureza. Ainda, uma vez que a união dos fragmentos é feita pela DNA ligase, a célula não é capaz de detectar que os fragmentos originalmente eram separados, tratando o DNA recombinante como uma molécula única. O DNA recombinante, por sua vez, pode ser introduzido no DNA de uma célula hospedeira (mais comumente uma bactéria, por se dividir rapidamente) e se replicar; transcrevendo-se como uma parte normal do próprio DNA celular.

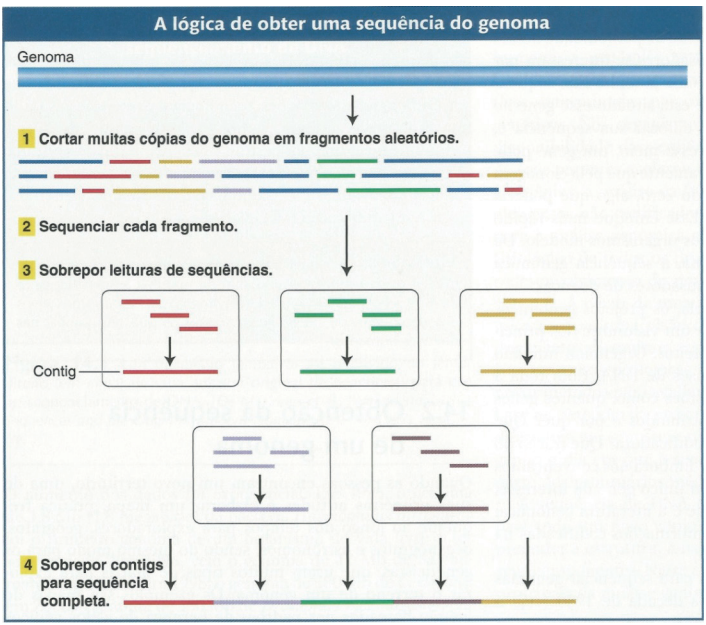
A obtenção de uma sequência completa de nucleotídeos de um segmento de DNA é importante para o entendimento da organização de um gene e sua regulação, sua relação com outros genes ou a função do RNA ou da proteína que ele codifica. Assim como na técnica do DNA recombinante, o **sequenciamento** explora a complementaridade de pares de bases, juntamente com o entendimento da bioquímica básica da replicação do DNA. A análise de genomas inteiros contribui para todos os aspectos das pesquisas biológicas, como a possibilidade de localizar genes que contribuem para muitas doenças determinadas por combinações complexas de fatores genéticos. Dessa forma, pesquisas utilizando um gene, de uma espécie cujo genoma já esteja sequenciado, demandam apenas a descoberta do local no qual está situado esse gene no mapa genômico, para então determinar sua sequência e, potencialmente, sua função.

Basicamente, a obtenção de uma sequência genômica se dá em quatro etapas: 1) fragmentação das moléculas de DNA do genoma em milhares a milhões de pequenos segmentos aleatórios; 2) leitura da sequência de cada um desses segmentos; 3) encontro, com

o auxílio de computador, da sobreposição entre os segmentos nos quais sejam idênticas suas sequências e 4) continuação da sobreposição de pedaços maiores, até que todos os pequenos segmentos estejam ligados. Sendo assim, o maior desafio do projeto genoma é a montagem de sequência, isto é, unir todas as leituras individuais em uma sequência consenso, para a qual há concordância (representação verdadeira e precisa do genoma em questão).

Exemplificando

Figura 4.10 | Etapas do sequenciamento genômico



Fonte: Griffiths et al. (2015, p. 424).

No final da década de 1970, Frederick Sanger desenvolveu um método com mais rapidez e acurácia, conhecido como sequenciamento de Sanger, que se baseia na extensão enzimática da fita de DNA e sua inibição por meio da inserção de um nucleotídeo análogo deficiente no grupamento 3'OH, conhecido como didesoxinucleotídeo (ddNTP). O método inicial desenvolvido por Sanger baseava-se em uma marcação radioativa que poderia ser feita em dNTPs (normalmente, citosinas), *primers* ou ddNTPs

terminadores. Com o aperfeiçoamento tecnológico, a detecção dos fragmentos com marcação radioativa foi substituída pela marcação com compostos fluorescentes (fluorocromos).

Dessa forma, cada ddNTP terminador passou a possuir uma cor específica, por meio da incorporação de um fluorocromo à sua estrutura, substituindo as quatro reações necessárias para o sequenciamento de uma fita de DNA por apenas uma – enquanto na detecção radioativa são necessárias quatro canaletas para cada sequenciamento (uma para cada ddNTP terminador), na detecção fluorescente apenas uma canaleta é necessária, já que cada ddNTP possui uma cor diferente. Sequenciadores automáticos associados a computadores e softwares específicos distinguem cada fluorocromo e armazenam o nucleotídeo correspondente em bancos de dados, deixando o resultado pronto para o pesquisador. Os sequenciamentos passaram a ser de até 700 bases com alta qualidade, comparados aos sequenciamentos de no máximo 100 bases realizados nos primórdios da técnica. Atualmente, os equipamentos mais sofisticados são capazes de realizar 96 sequenciamentos a cada duas horas.

Uma nova tecnologia de sequenciamento, denominada sequenciamento de nova geração (NGS), foi desenvolvida em meados de 2005 e evoluiu rapidamente, uma vez que promove o sequenciamento de DNA em plataformas capazes de gerar informações sobre milhões de pares de bases em uma única corrida. Duas plataformas de sequenciamento já possuem ampla utilização em todo o mundo, 454 FLX e Solexa, com capacidade de gerar informações muitas vezes maior que o sequenciamento de Sanger e com maior economia de tempo e custo, devido ao uso da clonagem in vitro e de sistemas de suporte sólido para as unidades de sequenciamento. A clonagem in vitro em suporte sólido possibilita que milhares de leituras sejam produzidas de uma só vez com a plataforma 454 FLX ou Solexa (WATSON et al., 2006).

O grau de semelhança entre sequências de DNA ou RNA pode ser determinado por meio de técnicas de hibridização, normalmente empregadas para determinar a distância gênica entre duas espécies, mas também para analisar genes expressos e não expressos. A análise dos genes de interesse se dá pelo emparelhamento de sequências de DNA complementares a uma sonda (probe), constituída por uma sequência de nucleotídeos complementares, desenvolvida

a partir de segmentos conhecidos do DNA ou RNA que se deseja identificar, e marcada por radioatividade, quimioluminescência ou anticorpos. A utilização dessas sondas possibilita a caracterização e identificação do DNA baseado em suas propriedades, destacando-se o emparelhamento de bases por meio de pontes de hidrogênio e a desnaturação/renaturação das cadeias complementares. As técnicas de biologia molecular e biotecnologia que utilizam a hibridização como princípio do método são diversas: *southern blotting, western blotting, northern blotting,* hibridização fluorescente in situ (FISH), entre outras.

O *southern blotting* baseia-se na hibridação entre moléculas de DNA (fixas em um suporte) com sondas marcadas, visando a localização de sequências específicas de DNA. A técnica é possível devido à estrutura em duplas fitas das moléculas de DNA as quais, quando aquecidas ou submetidas a um tratamento com soluções desnaturantes, tendem a se separar. As moléculas desnaturadas, uma vez submetidas a um resfriamento em condições controladas, tendem a se renaturar novamente. Dessa forma, a hibridação entre moléculas de DNA de diferentes origens é possível a partir do momento em que tais DNAs apresentam regiões complementares de sequências significantes.

A técnica de *southern blotting* consiste em uma modificação da técnica de RFLP: após a clivagem da molécula de DNA pelas enzimas de restrição e da separação por eletroforese em gel de agarose, o DNA é imerso em solução alcalina para desnaturar os fragmentos de DNA de fita dupla, os quais, posteriormente, são transferidos para uma membrana de náilon ou nitrocelulose a qual são aderidos, criando uma impressão ou marca. Os fragmentos são aderidos à membrana em posições equivalentes as que eles assumiram no gel após a eletroforese. A membrana é hibridizada com uma sonda de DNA fria ou radioativa e as condições de hibridação são definidas com base no grau de similaridade entre o DNA da amostra e o DNA da sonda. Se a sonda utilizada for fria, a revelação se dá por imunoensaio e precipitação de corante na própria membrana, mas se for radioativa, se dá por exposição da membrana a um filme de raios-X.

Já o *western blotting* consiste na imunodetecção de proteínas em filtro de nitrocelulose, rotineiramente utilizado para detecção de proteínas e em extratos proteicos, detecção de produtos de degradação proteica, caracterização de soros e anticorpos

monoclonais, varredura e caracterização de polipeptídeos recombinantes, determinação de massa molecular, caracterização de epítopos, entre outros. A técnica consiste na detecção de pequenas quantidades de proteínas as quais se encontram adsorvidas em uma membrana de nitrocelulose, por meio da reação com anticorpos específicos desenvolvidos para o reconhecimento do polipeptídeo em análise. O anticorpo é adicionado à membrana e ali reage por um determinado período de tempo, após o qual uma fração fica retida na região da membrana que contém o polipeptídeo específico. Em uma segunda etapa, o anticorpo adsorvido especificamente sobre o polipeptídeo pode ser detectado com um antissoro, isto é, um antianticorpo específico (segundo anticorpo ou anticorpo conjugado) quimicamente modificado por meio do acoplamento covalente de uma ou mais moléculas de uma enzima como a fosfatase alcalina, por exemplo. Esse reagente atua na detecção do anticorpo específico e permite sua visualização, em razão da atividade enzimática associada. Com o auxílio de substratos sintéticos para a enzima conjugada, torna-se possível a visualização da região do filtro no qual o polipeptídeo do ensaio está localizado; uma vez que o substrato utilizado é capaz de precipitar e formar uma camada colorida no local exato no qual se encontra o segundo anticorpo e, portanto, o anticorpo específico, consequentemente, do polipeptídeo que se deseja detectar (WATSON et al., 2006).

O *northern blotting*, por sua vez, é utilizado para a detecção de moléculas de RNA separadas por eletroforese e imobilizadas em um suporte, permitindo a análise da expressão de genes em diferentes estágios de desenvolvimento ou de diferentes tipos celulares – uma vez que são imobilizadas moléculas de RNA, incluindo os RNAm. A principal diferença em relação às técnicas anteriormente citadas consiste no fato de as moléculas de RNA serem polímeros de fita simples. Assim, o pareamento intramolecular de bases é frequente e promove um dobramento da molécula ou o pareamento de bases presentes em moléculas distintas, formando regiões de híbridos RNA-RNA. Dessa forma, a migração do RNA em géis de agarose não depende somente de seu tamanho, mas também do estado conformacional da molécula. Como essa técnica é realizada com um excesso de sonda de DNA, a quantidade de hibridização se relaciona à quantidade de RNAm presente na amostra original, permitindo que as quantidades relativas dos RNAm sejam determinadas.

Assimile

O quadro a seguir mostra uma comparação entre as três técnicas:

Quadro 4.1 | Comparação entre metodologia e resultados de três técnicas de hibridização

	Southern blot	*Northern blot*	*Western blot*
Gel	Agarose	Agarose	Acrilamida
Probe	DNA ou RNA fita simples complementar a uma sequência específica (fragmento de restrição).	DNA ou RNA fita simples complementar a uma sequência específica (transcrito).	Anticorpo primário para polipeptídeo específico, seguido de segundo anticorpo para detecção/ amplificação do primário.
Resultados	Amostra contém fragmentos de restrição de DNA específicos. Pode mensurar o tamanho do fragmento e a quantidade.	Amostra contém transcritos de RNA específicos. Pode mensurar o tamanho do fragmento e a quantidade.	Amostra contém polipeptídeos específicos. Pode mensurar o tamanho do polipeptídeo e a quantidade.

Fonte: elaborado pela autora.

Para se clonar um gene, é preciso identificar seus fragmentos correspondentes entre todos os clones armazenados em uma biblioteca. Esse procedimento é realizado utilizando-se uma sonda de DNA, cuja sequência é complementar a uma parte do gene de interesse, podendo essa sonda ser utilizada para identificar as colônias de células que possuam os clones contendo aquela região do gene. Esse processo é denominado hibridização em colônia, no qual uma

biblioteca de DNAc conterá milhares de insertos diferentes, cada qual contido em um vetor comum. Após a transformação de uma linhagem bacteriana hospedeira apropriada à biblioteca, as células são distribuídas sobre placas de Petri contendo meio de cultura sólido. Dessa forma, cada célula se multiplica e origina colônias de células isoladas, e cada célula pertencente a uma determinada colônia contém o mesmo vetor e o mesmo inserto da biblioteca.

Posteriormente, o mesmo tipo de membrana positivamente carregada, utilizada nas técnicas de *southern* e *western blotting*, é utilizado para fixar pequenas quantidades de DNA para incubação com sonda. Nesse caso, a membrana é pressionada em cima das placas com as colônias e uma parte das células de cada colônia, bem como seu DNA, é transferida para a membrana. Assim, a membrana retém uma amostra de cada clone de DNA posicionado na membrana, em um padrão semelhante ao padrão de colônias da placa, garantindo que o clone desejado, uma vez identificado pela incubação da membrana com a sonda, possa ser facilmente identificado por meio da colônia de células que o contém, e que o plasmídeo contendo o inserto de DNA apropriado possa ser purificado.

Reflita

Bactérias super-resistentes têm ameaçado a medicina moderna; uma vez que os antibióticos já não são o suficiente para o tratamento de certos agentes patogênicos, os quais desenvolveram resistência a estas drogas. Mas as bactérias também foram fundamentais para o avanço da Biologia Molecular. Você sabe por quê?

Os grandes avanços na biologia molecular se devem aos diversos experimentos realizados com fagos e bactérias. Os trabalhos pioneiros com a bactéria pneumococo, por exemplo, resultaram na descoberta de que o material genético era o DNA. Como vimos, diversas técnicas empregadas na biologia molecular e na biotecnologia utilizam esses micro-organismos para a clivagem do DNA essencial às técnicas de extração e clonagem de DNA, como vetores na técnica de DNA recombinante, entre diversas outras aplicações. As bactérias podem ser analisadas por meio de ferramentas da citologia, como a microscopia por

imunofluorescência (para localização de proteínas em células fixadas com anticorpos específicos), microscopia com fluorescência utilizando proteína fluorescente verde (para localização de proteínas em células vivas) e hibridização in situ por fluorescência (FISH – *fluorescence in situ hybridization*), para localização de regiões cromossômicas e de plasmídeos nas células.

A FISH permite a localização física precisa de genes ou sequências de DNA diretamente nos cromossomos presentes em preparações citológicas. A técnica, aplicada em metáfases humanas e núcleos interfásicos, utilizando sondas de DNA, tornou-se uma ferramenta essencial nos estudos do genoma humano, permitindo uma localização cromossômica regional bastante precisa de genes de cópia única ou sequências repetidas de DNA. Ainda, métodos de marcação não isotópica de sondas de DNA permitem que a FISH seja realizada em qualquer laboratório de citogenética. A hibridização in situ oferece diversas perspectivas para o mapeamento gênico, permitindo, atualmente, o mapeamento de qualquer gene ou sequência de DNA que já tenham sido clonados. Uma das vantagens é a possibilidade de detectar alterações tanto em metáfases e pró-metáfases, quanto em núcleos interfásicos, amnióticos e até mesmo em material fixado em parafina. Dessa forma, a técnica se consolidou como ferramenta de fundamental importância para a obtenção de um diagnóstico rápido das alterações cromossômicas numéricas e das doenças genéticas ligadas ao sexo, em líquido amniótico, vilo corial e restos ovulares a fresco ou fixados em parafina. Entre as possíveis aplicações da FISH estão o diagnóstico precoce das aneuploidias cromossômicas numéricas, determinação do sexo fetal, determinação de doenças genéticas em casos específicos e identificação do cromossomo *philadelphia* presente na leucemia mieloide crônica.

Baseadas nos mesmos princípios, outras duas técnicas foram desenvolvidas para ampliar o poder da técnica de FISH na análise dos cromossomos humanos: hibridação genômica comparativa (CGH – *comparative genomic hybridization*) e cariotipagem espectral (SKY). A CGH possibilita o aumento da resolução na detecção de alterações cromossômicas e melhora do diagnóstico sem causa definida, como retardo mental, diferenciação secundária feminina, menopausa precoce e alguns tumores. Atualmente, a técnica tem sido bastante utilizada na análise de doenças desenvolvidas

em consequência de acidentes nucleares que causam danos cromossômicos não detectados pela análise cariotípica simples.

A CGH permite analisar, em um único experimento, alterações do número de cópias de DNA de todo o genoma, utilizando, para tanto, uma amostra de DNA do paciente e uma amostra de DNA controle (cariotipicamente normal). As alterações são classificadas como perdas e ganhos de segmentos cromossômicos, em um nível de detalhamento 100 vezes maior que a citogenética clássica. Por convenção, a técnica baseia-se na hibridação competitiva in situ entre tecido normal e tecido de interesse, nos quais as regiões alteradas do DNA são quantificadas ao longo dos cromossomos na metáfase.

As imagens são capturadas por câmara CCD e avaliadas em um programa especial de análise de imagens. A intensidade do sinal de diferentes fluorocromos é quantificada em diferentes tons de cinza ao longo de um único cromossomo. Os segmentos gênicos são quantificados em perda ou ganho de informações, os quais podem ser duplicações ou deleções (perdas) e amplificações (ganhos) de segmentos do DNA. Nas deleções, as razões de fluorescência são menores, devido à ausência de sequências do DNA genômico encontrado em uma região específica do cromossomo, e são marcadas em verde. Já as amplificações apresentam razão de fluorescência maior, devido ao número de cópias de DNA encontradas em regiões específicas quando comparadas com o DNA controle, sendo marcadas em vermelho. Por fim, as regiões nas quais não houve perdas ou ganhos são destacadas em azul.

A exata identificação da região cromossômica deletada ou duplicada é fundamental para estabelecer a relação genótipo-fenótipo. A cariotipagem espectral (SKY) foi desenvolvida objetivando colorir simultaneamente cada cromossomo de uma cor, utilizando sondas de "pintura cromossômica" de cada um dos cromossomos humanos, marcadas por combinações de fluorocromos distintos. As 24 sondas desenvolvidas são misturadas em um coquetel, pré-hibridizadas com DNA rico em sequências repetitivas (evitando hibridizações cruzadas) e, então, as metáfases do DNA da amostra são hibridizadas. As imagens são capturadas por um microscópio de fluorescência, passando por um interferômetro, e os dados são analisados em um software específico, o qual gera uma imagem

em que cada cromossomo é marcado com uma cor diferente (WATSON et al., 2006).

A limitação dessa técnica consiste na incapacidade de detectar rearranjos intracromossômicos, como inversões e deleções. Ainda, a faixa de detecção é limitada pela resolução do cariótipo analisado e os centrômeros e braços curtos dos cromossomos acrocêntricos não sofrem hibridização devido à supressão de sequências repetitivas. A SKY tem sido bastante utilizada no esclarecimento de alterações citogenéticas previamente detectadas no cariótipo com bandeamento G (técnica para detecção de possíveis alterações numéricas e/ou estruturais em cromossomos obtidos de diferentes passagens de culturas de células-tronco mesenquimais), incluindo cromossomos marcadores, translocações e rearranjos complexos (WATSON et al., 2006).

Pesquise mais

Saiba mais a respeito da importância da citogenética no diagnóstico de doenças causadas por alterações cromossômicas por meio da leitura do artigo:

CHAVES, T. F.; NICOLAU, L. S. Citogenética e cariotipagem humana. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 4, n. 2, p. 57-66, 2013. Disponível em: <https://goo.gl/RuKSsH>. Acesso em: 10 jul. 2018.

Sem medo de errar

O diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) é um exame que consiste na biópsia de embriões pós-fertilização in vitro, no qual algumas células são retiradas para análise e diagnóstico de alterações cromossômicas antes da implantação do embrião na cavidade uterina, podendo também ser utilizado para identificação do sexo fetal. No PGD, comumente é empregada a **hibridização in situ por fluorescência** (**FISH**), técnica utilizada no diagnóstico precoce das aneuploidias cromossômicas numéricas, determinação do sexo fetal, determinação de doenças genéticas em casos específicos, identificação do cromossomo philadelphia presente na leucemia mieloide crônica, entre outros. A FISH permite a localização física precisa de genes ou sequências de DNA diretamente nos

cromossomos presentes em preparações citológicas, aplicada em metáfases humanas e núcleos interfásicos, utilizando sondas de DNA. A técnica oferece diversas perspectivas para o mapeamento gênico, permitindo, atualmente, o mapeamento de qualquer gene ou sequência de DNA que já tenham sido clonados. Uma das vantagens é a possibilidade de detectar alterações tanto em metáfases e pró-metáfases quanto em núcleos interfásicos, amnióticos, bem como em material fixado em parafina. A hibridação genômica comparativa (CGH), uma técnica recente baseada nos mesmos princípios da FISH, permite a análise de todos os cromossomos de um embrião, auxiliando em diagnósticos que até então não eram possíveis.

Avançando na prática

Desvendando técnicas

Descrição da situação-problema

Um estagiário do Laboratório de Citogenética Humana e Citogenômica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em sua tarde de organização das geladeiras do laboratório, encontrou alguns frascos contendo sondas de DNA (probes) sem identificação de qual sonda se tratava. No frasco 1 estava escrito "fragmento de restrição"; no frasco 2, "transcrito" e no frasco 3, "anticorpo primário para polipeptídeo". A que técnicas empregadas em biologia molecular se relacionavam as sondas de DNA contidas nos frascos 1, 2 e 3, respectivamente?

Resolução da situação-problema

O frasco 1 continha sondas compostas por DNA ou RNA fita simples complementar a uma sequência específica (fragmento de restrição), utilizadas na técnica de ***southern blotting***. O frasco 2 continha sondas compostas por DNA ou RNA fita simples complementar a uma sequência específica (transcrito), utilizadas na técnica de ***northern blotting***. Por fim, o frasco 3 continha sondas compostas por anticorpos primários para polipeptídeo específicos, utilizadas na técnica de ***western blotting***. O *southern blotting* se baseia na hibridação entre moléculas de DNA (fixas em um suporte) com sondas marcadas, visando à localização de sequências

específicas de DNA. Já o *western blotting* consiste na imunodetecção de proteínas em filtro de nitrocelulose, rotineiramente utilizado para detecção de proteínas e em extratos proteicos, detecção de produtos de degradação proteica, caracterização de soros e anticorpos monoclonais, varredura e caracterização de polipeptídeos recombinantes, determinação de massa molecular, caracterização de epítopos, entre outros. O *northern blotting*, por sua vez, é utilizado para a detecção de moléculas de RNA separadas por eletroforese e imobilizadas em um suporte, permitindo a análise da expressão de genes em diferentes estágios de desenvolvimento ou de diferentes tipos celulares – uma vez que são imobilizadas moléculas de RNA, incluindo os RNAm.

Avançando na prática

1. [Adaptado de FUVEST] A descoberta de uma classe de enzimas bacterianas denominadas enzimas de restrição ou endonucleases, no final da década de 1960, revolucionou a biologia molecular; proporcionando avanços na medicina forense, na investigação de vínculo genético (determinação de paternidade) e no diagnóstico de doenças hereditárias, apresentando diversas vantagens em comparação a marcadores morfológicos, citológicos ou alozímicos.

Enzimas de restrição são fundamentais à engenharia genética porque permitem:

a) Cortar DNA onde ocorrem sequências específicas de bases.
b) Inibir a síntese de DNA a partir de RNA.
c) Inibir a síntese de RNA a partir de DNA.
d) Modificar sequências de bases do DNA.
e) Passagem de DNA através da membrana celular.

2. [Adaptado de INMETRO 2010 – Pesquisador] Após a clivagem, os pequenos fragmentos de DNA obtidos podem, então, ser separados uns dos outros por meio de eletroforese, técnica bioquímica utilizada para separação de moléculas com base em sua carga elétrica e peso molecular, em função da aplicação de um campo elétrico. Moléculas com carga negativa migram para o polo positivo (ânodo), enquanto que moléculas com carga positiva migram para o polo negativo (cátodo).

A respeito da eletroforese de ácidos nucleicos, assinale a alternativa correta.

a) Pode ser realizada em géis de poliacrilamida ou de agarose, dependendo principalmente do tipo de ácido nucleico a ser analisado (DNA ou RNA).
b) Para a eletroforese, os ácidos nucleicos precisam ser misturados a um tampão de amostra, que deve conter um agente espessante.
c) A eletroforese de campo pulsado (PFGE) é utilizada para fragmentos pequenos de ácidos nucleicos.
d) A eletroforese em gel é mais limitada que a eletroforese convencional.
e) Géis de poliacrilamida possuem poros maiores que os de agarose, sendo utilizados para a separação de proteínas e grandes fragmentos de DNA e RNA.

3. [Adaptado de INMETRO 2010 – Técnico em Metrologia e Qualidade] Os grandes avanços na Biologia Molecular se devem aos diversos experimentos realizados com fagos e bactérias. Os trabalhos pioneiros com a bactéria pneumococo, por exemplo, resultaram na descoberta de que o material genético era o DNA. Como vimos, diversas técnicas empregadas na biologia molecular e na biotecnologia utilizam esses micro-organismos para a clivagem do DNA essencial às técnicas de extração e clonagem de DNA, como vetores na técnica de DNA recombinante, entre diversas outras aplicações.

Considerando as metodologias de biologia molecular, assinale a alternativa correta.

a) A técnica de *northern blotting* é utilizada para análise de DNA por meio de uma sonda.
b) A técnica de *southern blotting* é utilizada para análise de mRNAs transferidos de um gel para um suporte específico.
c) Clonagem de DNA refere-se à produção de várias cópias exatas de uma molécula, não sendo utilizada na amplificação de sequências.
d) Ao se cortar o DNA genômico aleatoriamente, serão observados genes em todos os fragmentos.
e) A endonuclease, uma das principais ferramentas do DNA recombinante, corta a molécula de DNA em sequências específicas.

Referências

ALBERTS, B. et al. Análise de genes e genomas. In: _____. **Fundamentos da biologia celular**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 10, p. 327-350.

BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). CespUnB. 2010. **Técnico em Metrologia e Qualidade, Biotecnologia**. Disponível em: <https://goo.gl/LcGpFd>. Acesso em: 10 jul. 2018.

_____. Ministério da Educação. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira. Sistema Nacional de Avaliação da Educação Superior. **ENADE – Biomedicina**. nov. 2013. Disponível em: <https://goo.gl/sxLWy9>. Acesso em: 20 jun. 2018.

_____. Ministério da Educação. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira. Sistema Nacional de Avaliação da Educação Superior. **ENADE – Ciências Biológicas**. 2014. Disponível em: <https://goo.gl/371b2b>. Acesso em: 30 jun. 2018.

_____. Ministério da Educação. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira. **Exame Nacional do Ensino Médio – ENEM**. 2011. Disponível em: <https://goo.gl/tguC1t>. Acesso em: 30 jun. 2018.

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. A biossíntese de ácidos nucleicos: replicação. In: _____. **Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2016. cap. 10, p. 247-276.

_____. A Transcrição do Código Genético: Biossíntese do RNA. In: _____. **Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2016. cap. 11, p. 277-321.

_____. Ácidos nucleicos: como a estrutura transfere informações. In: _____. **Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2016. cap. 9, p. 221-246.

_____. Síntese Proteica: tradução da mensagem genética. In: _____. **Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2016. cap. 12, p. 323-356.

COX, M. M.; DOUDNA, J. A.; O'DONNELL, M. Mutação e reparo do DNA. In: _____. **Biologia molecular**: princípios e técnicas. Porto Alegre: Artmed, 2012. cap. 12, p. 409-424.

EBSERH. Edital Nº 02 – Área Médica, Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia – Médico Geneticista. Disponível em: <https://goo.gl/ZzTGsc>. Acesso em: 20 jun. 2018.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. Genomas e genômica. In: _____. **Introdução à genética**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap. 14, p. 424.

INSTITUTO Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). 2010. Pesquisador – Tecnologia em Metrologia e Qualidade, Metrologia Aplicada à Bioquímica e à Biologia Molecular. Disponível em: <https://goo.gl/3Ee2Wo>. Acesso em: 10 jul. 2018.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Ciclo Celular e Meiose. In: _____. **Biologia Celular e Molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap. 9, p. 175-202.

_____. Divisão de Trabalho entre as Células: Diferenciação. In:_____. **Biologia**

Celular e Molecular. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap. 11, p. 233-244.

LODISH, H. et al. Origem, Linhagem e Morte Celular. In: _____. **Biologia Celular e Molecular**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 22, p. 895-932.

_____. Regulação do Ciclo Celular dos Eucariotos. In: _____. **Biologia Celular e Molecular**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 21, p. 849-894.

MALACINSKI, G. M. DNA recombinante e engenharia genética: moldagem molecular dos genes. In: _____. **Fundamentos de biologia celular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. cap. 15, p. 312-330.

_____. Transcrição. In: _____. **Fundamentos de biologia celular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. cap. 8, p. 148-149.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. Aminoácidos e proteínas. In: _____. **Bioquímica básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. cap. 2, p. 19-34.

MATIOLI, S. R.; FERNANDES, F. M. C. Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismos de ácidos nucleicos. In: _____. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, Editora / Sociedade Brasileira de Genética, 2012. cap. 19, p. 181-190.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. p. 1110.

PASTERNAK, J. J. Tecnologia do DNA recombinante. In: _____. **Genética molecular humana**: mecanismos das doenças hereditárias. São Paulo: Editora Manole Ltda., 2002. cap. 5, p. 133-144.

QUESTÕES dos vestibulares. FUVEST. 2015. Disponível em: <https://goo.gl/6vffeC>. Acesso em: 10 jul. 2018.

STARR, C. et al. Como as Células se Reproduzem. In: _____. **Biologia:** unidade e diversidade da vida. São Paulo: Cengage Learning, 2012. cap. 9, p. 140-153.

UNIVERSIDADE de Rio Verde. **Prova objetiva e redação - Auxiliar de Laboratório**. 2017. Disponível em: <https://goo.gl/jkyf93>. Acesso em: 30 jun. 2018.

WATSON, J. D. et al. Mutabilidade e reparo do DNA. In: _____. **Biologia molecular do gene**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. cap. 9, p. 235-242.

_____. Técnicas de biologia molecular. In: _____. **Biologia molecular do gene**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. cap. 20, p. 647-666.

ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. (Orgs.). Mutação e reparação do DNA. In: _____. **Biologia Molecular Básica**. Porto Alegre: Artmed, 2012. cap. 7, p. 133-137.

ISBN 978-85-522-1188-4