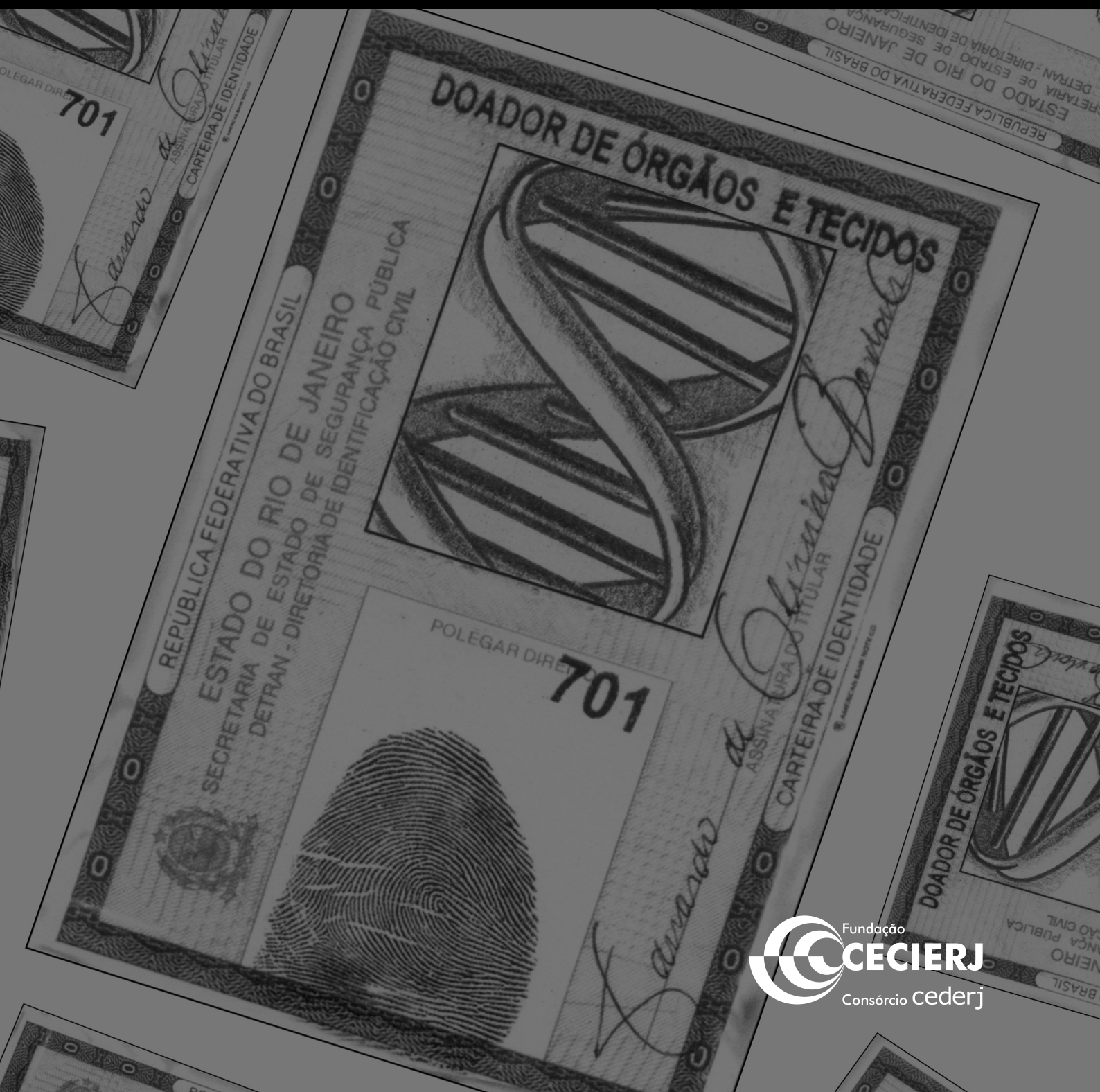


Francisco Esteves
Francisco Figueiredo
Franklin David Rumjanek
Ricardo Iglesias
Tania C. de Araújo-Jorge
Wilmar Dias da Silva

Grandes Temas em Biologia





Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

Grandes Temas em Biologia

Volume 1 - Módulo 1

Francisco Esteves

Francisco Figueiredo

Franklin David Rumjanek

Ricardo Iglesias

Tania C. de Araújo-Jorge

Wilmar Dias da Silva



GOVERNO DO
Rio de Janeiro

SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério
da Educação



Apoio:



Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Rua Visconde de Niterói, 1364 – Mangueira – Rio de Janeiro, RJ – CEP 20943-001

Tel.: (21) 2334-1569 Fax: (21) 2568-0725

Presidente

Masako Oya Masuda

Vice-presidente

Mirian Crapez

Coordenação do Curso de Biologia

UENF - Milton Kanashiro

UFRJ - Ricardo Iglesias Rios

UERJ - Cibebe Schwanke

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Francisco Esteves

Francisco Figueiredo

Franklin David Rumjanek

Ricardo Iglesias

Tania C. de Araújo-Jorge

Wilmar Dias da Silva

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Alexandre Rodrigues Alves

Nilce P. Rangel Del Rio

Márcio Paschoal

Marta Abdala

COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Maria Angélica Alves

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Equipe CEDERJ

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Andréa Dias Fiães

Renato Barros

ILUSTRAÇÃO

Eduardo Bordoni

CAPA

Eduardo Bordoni

Fábio Muniz

PRODUÇÃO GRÁFICA

Patricia Seabra

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

E79g

Esteves, Francisco.

Grandes temas em biologia. / Francisco Esteves.

– Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2010.

158p.; 19 x 26,5 cm

ISBN: 85-88731-15-0

1. Células. 2. Genética. 3. Projeto Genoma Humano.
I. Figueiredo, Francisco. II. Rumjanek, Franklin David.
III. Iglesias, Ricardo. IV. Araújo-Jorge, Tania C. de. V. Silva,
Wilmar Dias da. VI. Título.

CDD: 510

Governo do Estado do Rio de Janeiro

Governador
Sérgio Cabral Filho

Secretário de Estado de Ciência e Tecnologia
Alexandre Cardoso

Universidades Consorciadas

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**
Reitor: Almy Junior Cordeiro de Carvalho

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Vieiralses

UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
Reitor: Roberto de Souza Salles

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Aloísio Teixeira

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Motta Miranda

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO**
Reitora: Malvina Tania Tuttman

SUMÁRIO

Aula 1 – Evolução do conceito de célula: revendo "pré-conceitos" _____ **7**

Tania C. de Araújo-Jorge

Aula 2 – Evolução do conceito de célula: lições da história da ciência _____ **23**

Tania C. de Araújo-Jorge

Aula 3 – Evolução do conceito de célula: a visão contemporânea _____ **53**

Tania C. de Araújo-Jorge

Aula 4 – Evolução das células _____ **77**

Tania C. de Araújo-Jorge

Introdução às Aulas 5, 6 e 7 _____ **95**

Aula 5 – A herança de características morfológicas e a natureza
do material genético _____ **97**

Franklin David Rumjanek

Aula 6 – Como se obtém a sequência de uma molécula de DNA ou de RNA? _____ **113**

Franklin David Rumjanek

Aula 7 – O projeto Genoma Humano: sua importância e principais
aplicações _____ **131**

Franklin David Rumjanek

Glossário _____ **145**

Apêndice _____ **151**

Referências _____ **155**

Evolução do conceito de célula: revendo "pré-conceitos"

AULA

1

objetivo

- O objetivo desta aula é repensar o que você já sabe sobre célula, identificar o conceito do qual você parte e iniciar um processo de reconstrução e de aprofundamento de seu conhecimento sobre as células, percebendo como e quando esse conceito surgiu.

Pré-requisito

Você vai precisar apenas de papel, lápis preto, lápis de cor e papel vegetal ou similar, e do que já sabe sobre célula.

Os “conceitos”, tal como os reconhecemos, são ao mesmo tempo o produto e o processo de uma atividade de construção mental da realidade... Não são simples imagens ou representações mentais, mas sim indicadores de um modelo, um tipo de discurso intelectual, em resposta a um problema ou uma série de problemas.

(André Giordan)

REVENDO “PRÉ-CONCEITOS”

Até chegarmos à universidade, já vimos diversas imagens de células em livros, na televisão, em filmes, já passamos pela definição do que são células e ouvimos falar como foram descobertas.

EXERCÍCIO 1: PRÉ-AVALIAÇÃO

Faça a você mesmo as seguintes perguntas, e responda-as por escrito, sem qualquer consulta prévia a nenhum livro ou apostila: O que é célula? O que sei sobre célula? A que associo esse conceito? Já vi células ao microscópio, ou apenas em livros? Como elas eram? Sou capaz de desenhar o que me lembro? Em cinco minutos essa tarefa estará pronta e depois você irá trabalhar bastante sobre essa sua primeira produção.

Você tem a seguir uma série de exemplos de respostas que eu já obtive nesse exercício. É uma ótima maneira de continuarmos a debater essa questão:

“células são as unidades formadoras do corpo”

“células são unidades formadoras das coisas vivas”

“células compõem os seres vivos e são formadas por membrana, citoplasma e núcleo”

“células são as unidades básicas de organização da vida que se auto-reproduzem”

“células são muito pequenas e só podem ser vistas com microscópios”

“células se dividem, se alimentam e interagem com o meio ambiente”

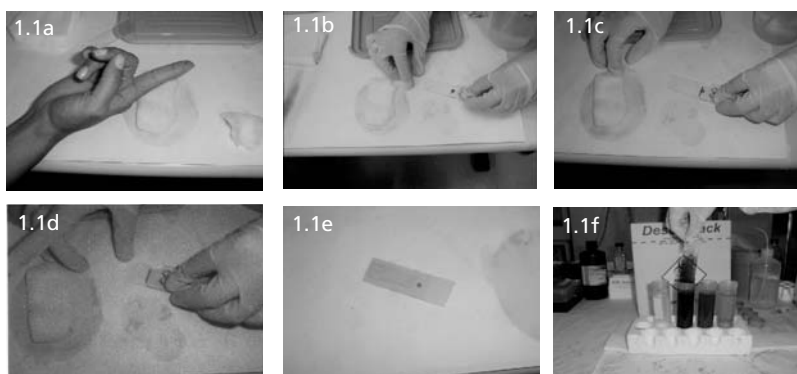
“células podem estar isoladas, como seres unicelulares, ou agrupadas, como seres pluricelulares”

Não vamos discutir cada uma agora. Vamos ao exercício 2 que consiste em ver células para repensar nossos conceitos. Na falta de um microscópio e de preparações que possamos examinar diretamente, vamos olhar várias imagens de células, obtidas em diferentes microscópios.

Você pode encontrar as imagens coloridas desta aula no material disponível no pólo.

FOTOGRAFIA

É o termo usado para imagens registradas e percebidas a olho nu. Para imagens que foram vistas ampliadas por lentes, usamos o termo fotomicrografia.



Figuras 1.1(a-f): Processo de preparação de uma lâmina para observação de sangue. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica [do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Tânia Cardona.

As seis figuras acima são imagens de sangue, que foi espalhado sobre uma lâmina (1.1a,b,c), passado em álcool para preservar as células, “pintado” com uma mistura de corantes (1.1f), observado ao microscópio óptico com conjunto de lentes que aumentaram 1.500 vezes e então fotografado. Esse é o procedimento para preparar o que chamamos de *esfregaço* sanguíneo. Como nosso caderno não é colorido, vamos fazer um exercício de colorir nossa imagem tal como vista ao microscópio. Na verdade estaremos reproduzindo o modo como as células eram vistas e representadas até a invenção da fotomicrografia em cores.

EXERCÍCIO 2: REPRESENTANDO UMA IMAGEM

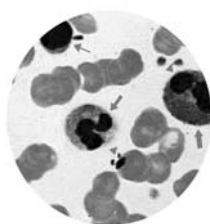


Figura 1.2a



Figura 1.2b

Figuras 1.2a/1.2b: Esfregaço de sangue humano corado (**Figura 1.2a**). Imagem cortesia do Atlas digital de Histologia do Deptº de Histologia da UERJ, autorizada pelo coordenador Luiz Henrique Monteiro Leal, obtida no site: <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/>. O esquema com a indicação das cores (**Figura 1.2b**) foi feito a mão em papel transparente, contornando-se cada estrutura.

Usando uma mistura de corantes vermelhos e azuis, obtemos imagens com tonalidades róseo-avermelhadas, violeta, azuis, e alaranjadas, que foram fotografadas em preto-e-branco gerando a imagem da **Figura 1.2a**. A **Figura 1.2b** é um desenho dos contornos das estruturas que ficaram coradas. Use lápis de cor para “colorir” o esquema da **Figura 1.2b**, como indicado: A-azul-escuro, a-azul-claro, v-vermelho-claro, r-rosa-alaranjado, V-violeta. Ao terminar você terá construído um esquema das estruturas que podem ser vistas no esfregaço sanguíneo.

Há muitas maneiras de obter imagens de células quando não se dispõe de microscópios. Livros-texto ou atlas sobre Biologia Celular, sobre Citologia, Histologia e Embriologia, Microbiologia, Botânica, enfim muitas possibilidades. Algumas fontes estão referidas ao final desta aula. Estarão disponíveis no pólo ou em bibliotecas universitárias. Outras estarão ao alcance pela internet.

Não se preocupe com nomes ou palavras que você não conheça. Nas disciplinas de Biologia Celular, que você estudará mais adiante no curso, todos os termos estranhos ganharão sentido.

EXERCÍCIO 3: ANALISANDO UMA IMAGEM

Quantas estruturas diferentes você vê no esquema que você coloriu? Faça a lista mais completa possível dessas estruturas, enumerando-as e descrevendo-as com suas próprias palavras. O que você acha que são células? As estruturas vermelhas? As estruturas azul-escuras, as azul-claras, as brancas? Como estamos falando de sangue, e muitos já ouviram falar de células vermelhas e células brancas, ou glóbulos vermelhos e glóbulos brancos, talvez reconheçam nas estruturas vermelhas os glóbulos vermelhos, também chamadas hemácias, medindo 7 milésimos de milímetro de diâmetro. Interessante pensar que, se fôssemos dispor em fila indiana todas as 25 bilhões de células desse tipo existentes numa única pessoa, elas formariam um colar de 5 mil quilômetros. Se esticássemos sua superfície, encheríamos meio campo de futebol.

Na **Figura 1.2a** e no **Esquema 1.2b**, existem outras estruturas além dos círculos vermelhos com centro esbranquiçado. Elas estão coradas em azul-claro com estruturas mais arroxeadas, maiores ou menores.

O que são? Talvez você arrisque (ou saiba) dizer que as estruturas que aparecem azul-claras com outras estruturas menores arroxeadas seriam as células brancas, ou leucócitos. Talvez você ouse até dizer que as estruturas mais escuras são os núcleos, pois já ouviu dizer que células têm membrana, citoplasma e núcleo. Por isso talvez aposte mais nos casos das estruturas apontadas com setas na **Figura 1.2a**, mas tenha dúvidas na estrutura apontada com ponta de seta. Mas como poderiam ser os glóbulos brancos, se são azuis e não brancos? Você talvez repare que os círculos vermelhos não aparecem totalmente vermelhos, e têm um centro claro, esbranquiçado. Seriam células brancas dentro das vermelhas? Poderiam ser núcleos nas células vermelhas? E como as estruturas arroxeadas poderiam ser núcleos se são bastante diferentes nas células azuladas que estão apontadas pelas setas de espessuras diferentes na **Figura 1.2a**? Os núcleos de todas as células seriam iguais ou diferentes? As células seriam iguais ou diferentes? E a célula azulada que parece ter *pontinhos* ou *fragmentos* arroxeados em lugar de um núcleo propriamente dito (apontada com uma ponta de seta)? Não tem núcleo? Ou tem? E mais, por que às vezes aparecem estruturas vermelhas que não são tão arredondadas? São perguntas que você pode se fazer ao olhar essas imagens. E o melhor exercício a ser feito quando se analisa uma imagem desse tipo, seja ao microscópio ou registrada em foto, *é listar mais e mais perguntas, quantas você conseguir pensar.*

Como respondê-las? Como saber o que são células?

Por enquanto deixe as perguntas no ar e passe a outras imagens, aproveitando a cor verde neste texto.

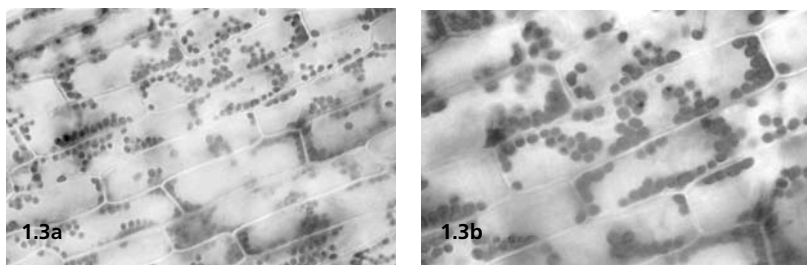


Figura 1.3: Imagem da planta aquática *Elodea*, fotografada ao microscópio óptico com lente objetiva que aumenta 40x (**Figura 1.3a**) ou 63x (**Figura 1.3b**). Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Cláudia Mendes.

As **Figuras 1.3a e 1.3b** são imagens da folha da planta comum de aquário chamada *Elodea*, observada ao microscópio óptico sem nenhuma coloração, apenas numa pequena gota d'água, com objetiva de 40 vezes na **Figura 1.3a** e de 63 vezes na **Figura 1.3b**.

EXERCÍCIO 4: ANALISANDO MAIS IMAGENS

Novamente a pergunta: o que são células nas imagens das **Figuras 1.3a e 1.3b**? Liste num papel todas as perguntas que você pode se fazer ao olhar essas estruturas.

Quando faço essa pergunta aos alunos não há um consenso fácil nas respostas. Muitos acham que são as bolinhas verdes que se vêem claramente na **Figura 1.3b**. Outros dizem que são os *tijolinhos*, os *quadrados* que vêm na **Figura 1.3a**.

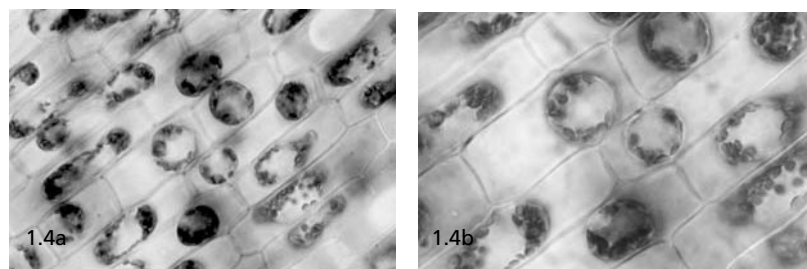


Figura 1.4: Imagem da planta aquática *Elodea* após imersão em solução hipertônica, fotografada ao microscópio óptico com lente objetiva que aumenta 40 x (**Figura 1.4a**) ou 63 x (**Figura 1.4b**). Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Cláudia Mendes.

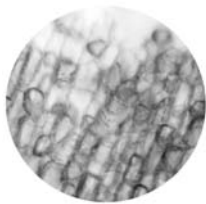


Figura 1.5a



Figura 1.5b

Figura 1.5: Imagens de fragmentos de cortiça. A **Figura 1.5a** foi fotografada ao microscópio óptico com lente objetiva que aumenta 40x, e é cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora, Cláudia Mendes. A **Figura 1.5b** mostra o desenho original de material semelhante observado por Robert Hooke, publicado em 1665, numa reprodução autorizada da imagem obtida no site www.roberthooke.org.uk

Nas Aulas 2 e 3 você vai saber mais sobre células eucarióticas e procarióticas.

Qual será a resposta certa?

Foi feito o experimento de colocar a folha numa solução aquosa com mais sal do que comumente se encontra em seu ambiente normal, e foram obtidas novas imagens, nas **Figuras 1.4a e 1.4b**. Esse procedimento leva a uma variação na forma das células que precisou de muito tempo para ser compreendida: algumas estruturas “murcham” em presença de mais sal (como na **Figura 1.4d**), enquanto outras permanecem intactas, como é o caso das fronteiras geometricamente dispostas na folha da planta, que serão conhecidas como paredes celulares. Por quê? Haveria alguma estrutura responsável por isso? Qual? Além disso, pode-se demonstrar que esse efeito é reversível: se colocarmos a folha que gerou a imagem da **Figura 1.4b** em presença de solução aquosa com menos sal, algumas estruturas vão “inchar” novamente e recompor a imagem da **Figura 1.3b**. *Não se vê a membrana, mas pode-se deduzir a sua existência.* Isso relembra o conceito de que as células se constituem de membrana e citoplasma.

Observe agora a **Figura 1.5a**, ao lado. Ela foi obtida fotografando o campo microscópico em que uma fatia muito fina de cortiça foi cortada e colocada entre lâmina e lamínula para observação com aumento de 400 vezes. Na verdade está refeito aqui o clássico experimento de Robert Hooke, cuja reprodução do desenho em sua publicação original é mostrada na **Figura 1.5b**. Há células nessas imagens?

O que são? Se parecem apenas buracos vazios e, como sabemos hoje, restos de células mortas, como podem ter gerado o termo que se consagrou posteriormente para designar célula, unidade de vida?

Fizemos todo esse caminho experimental, observando e perguntando, novamente observando, e não necessariamente concluindo, para mostrar que quando trabalhamos qualquer conceito biológico, conosco mesmos, com alunos de quaisquer níveis, ou com um público qualquer ao qual nos dirigimos, a visão que temos das células e do que é célula nos subsidia em toda a nossa construção ou re-construção desse conceito.

Todos aprendemos um dia que células são as unidades básicas auto-reprodutivas de organização da vida, com ou sem um núcleo individualizado, caso seja célula eucariótica ou procariótica. No entanto:

1. células não têm características diretamente perceptíveis;
2. células não são visíveis no limite de resolução do olho humano;
3. células estão fora da experiência do cotidiano das pessoas, crianças ou adultos;
4. o aprendizado do conceito de célula viva ocorre principalmente na escola;
5. como conceito abstrato que é, a construção do conceito de célula apresenta dificuldades típicas do ensino de conceitos abstratos, com uma pequena probabilidade de ocorrência de um paralelo entre as idéias de quem aprende com as idéias registradas na história da ciência;
6. e mais, ainda que microscópios sejam utilizados durante o aprendizado escolar, o que é raro acontecer em muitas escolas a simples observação de células ao microscópio óptico (ou por imagens como acabamos de fazer) pode não ser suficiente; porque as estruturas visíveis não necessariamente levam à intuição de célula como unidade básica de organização tecidual e como unidade morfo-funcional da vida (Aguiar, 1998)¹;

Na Aula 2 você vai saber mais sobre isso.

7. a própria história da evolução da Teoria Celular (Bechtel, 1984)² mostra que não basta *ver* células sob o microscópio para *descobrir* o que é célula: mais de 200 anos se passaram entre a observação de diversos tipos celulares e a formulação da Teoria Celular (Prestes, 1997)³. Durante esses 200 anos ocorreram experimentações, descobertas e transformações no pensamento científico, importantes para a concepção atual de célula, demonstrando que a Teoria Celular é um grande exemplo da necessidade de integração de idéias e trabalhos de diferentes cientistas, bem como do aperfeiçoamento de técnicas e instrumentos, que se modificaram ao longo dos anos.

Por isso é tão difícil responder às perguntas formuladas no exercício anterior, e não se deve tratar esse tema como simples e banal iniciação ao estudo dos seres vivos.

Não cabe discutir aqui como foi possível demonstrar qual é a resposta correta. Isso será tratado em muitos momentos no curso de Biologia, em sucessivas aulas de Biologia Celular que poderão aprofundar essas questões. Mas, para não deixar sem respostas algumas das perguntas formuladas ao olhar as imagens desta aula, seguem alguns comentários:

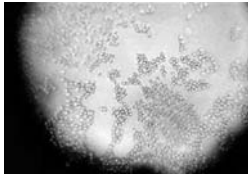


Figura 1.6: Imagem de sangue humano observada em microscópio simples, similar ao usado por Leeuwenhoek. Reprodução autorizada da imagem obtida no site www.science.demon.co.uk/wav-spe.htm/

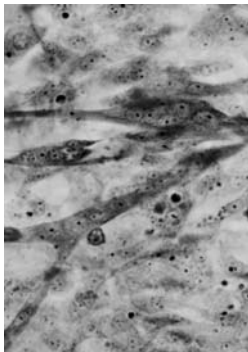


Figura 1.7: Células musculares esqueléticas em cultura, fotografadas ao microscópio óptico com lente objetiva que aumenta 40x. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Helene Barbosa.

1. Nas imagens de sangue, as células vermelhas são realmente as hemácias, ou glóbulos vermelhos, e as azuis são os leucócitos, ou glóbulos brancos, apesar de estarem coradas em azul. Se observar as células sem qualquer tratamento com corantes, você jamais as verá azuis como coloriu na **Figura 1.2b**, e as vermelhas aparecem acinzentadas. A **Figura 1.6** mostra o sangue observado num microscópio óptico simples, como os usados no século XVII. A necessidade de transformar as células de sua cor natural para outra (artificial), produzida quimicamente pela reação com um corante, foi o primeiro grande avanço no estudo das células, possibilitando vê-las com detalhes coloridos como os núcleos arroxeados do **Esquema 1.2b**. Mas foi também a primeira grande dificuldade, pois é difícil interpretar essas observações e concluir algo a partir disso. Em geral as células foram recebendo denominações ligadas ou à sua origem (p. ex., sanguíneas, fibrosas), ou à sua forma (p. ex., glóbulos), ou à maneira como reagiam quando tratadas com diversos corantes (p. ex., neutrófilas, basófilas ou acidófilas, se corassem com corantes neutros, ácidos ou básicos).

2. O conceito de que as células são compostas de membrana, citoplasma e núcleo é *relativo*. Nem todas as células têm núcleo, como as hemácias da **Figura 1.2a**; o núcleo das células pode ser diferente, como observado na **Figura 1.2a** e no esquema **Figura 1.2b**; há células com vários núcleos, como na **Figura 1.7**, de células musculares esqueléticas em cultura. Hemácias com núcleo, como as de aves, ou sem núcleo, como as de mamíferos, vivem e circulam mais de 4 meses cumprindo perfeitamente suas funções de transporte de gases por todo o organismo. E pode-se retirar experimentalmente o núcleo de uma célula, mantê-la viva por tempos variados segundo o tipo de célula e até reimplantar um novo núcleo, como na **Figura 1.8**.

Assim são feitas as clonagens que dão origem a animais famosos como a ovelha Dolly.

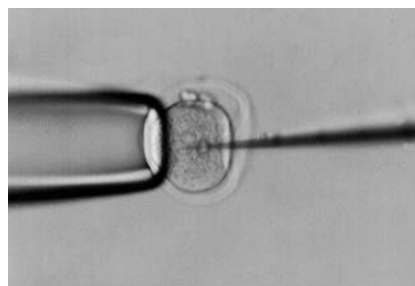


Figura 1.8: Injeção de genes numa célula-ovo já fertilizada de camundongo, no processo de preparação de um embrião transgênico ou de um clone. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://w.biotech.missouri.edu/tac/>

3. Outra definição de célula que também será relativizada é a de que célula se divide. Nem sempre isso é verdade. Por exemplo, as células da **Figura 1.2a** não se dividem. O controle da divisão celular é um dos processos mais importantes e complexos dos seres vivos. Basta lembrar que as células tumorais se caracterizam exatamente por se dividirem e reproduzirem descontroladamente. Em geral, as células param de se dividir quando se diferenciam para exercer sua função no organismo. Em cada tecido existe uma pequena percentagem de células capazes de se dividir e gerar células para a regeneração de todo o tecido: são as chamadas *células-tronco* (em inglês, *stem cells*) que podem ser usadas para transplante e regeneração de órgãos.

Nas Aulas 5,6 e 7 você vai saber mais sobre genes e clones. As diferenças morfológicas dos núcleos serão estudadas posteriormente, para que você compreenda como representam diferentes estados funcionais do núcleo.

4. A facilidade com que se observam algumas estruturas celulares, como as verdes das **Figuras 1.3 e 1.4** (cloroplastos de células vegetais) leva à confusão sobre o que é célula no material observado. O experimento de imersão da folha em solução com maior concentração de sal (hipertônica) do que aquela que existe no interior das células, mostrado na **Figura 1.4**, revela uma alteração na morfologia das células que demorou a ser compreendida e que serviu de base para a formulação do conceito de membrana: o efeito da osmose nas células, que é dependente de uma membrana semipermeável. Quando as células “murcham”, como nas **Figuras 1.4a-b**, perdendo água para o exterior, as paredes celulares permanecem intactas. E essas mesmas paredes podem ser reconhecidas nas imagens da cortiça na **Figura 1.5**. A dedução da existência de uma membrana a partir desse tipo de experimento levou à investigação de como seria essa estrutura, quais suas propriedades e características que, como sabemos, até hoje se constitui num campo específico de investigação.

O conceito e a estrutura das membranas celulares serão abordados mais adiante, nas disciplinas de Biologia Celular.

COMO CRIANÇAS E ADOLESCENTES CONSTROEM SEU CONCEITO DE CÉLULA?

Numa investigação sobre o conceito de células em crianças do ensino fundamental, nosso grupo buscou perceber os pré-conceitos dos alunos antes de um processo de aprendizagem no qual atividades com microscópios e com jogos iriam ser desenvolvidas (Mendes, 2000)⁴. A amostragem abrangeu 26 estudantes de 7ª série do ensino fundamental em escola pública do Rio de Janeiro, com idade média de 13 anos, após

o término das avaliações anuais e sua aprovação para a 8ª série. Partimos da pergunta “De que são formados os seres vivos?”, e a maioria dos alunos (85%) demonstrou conhecimento teórico de que são formados por células, enquanto cerca de 15% não formulavam claramente esse conceito. Fizemos então uma atividade de observação de células vegetais ao microscópio, assumindo como meta a capacidade de reconhecer nas imagens as características típicas das células vegetais: forma, parede celular, presença de cloroplastos. Essa foi a sequência de atividades realizadas, e os resultados obtidos:

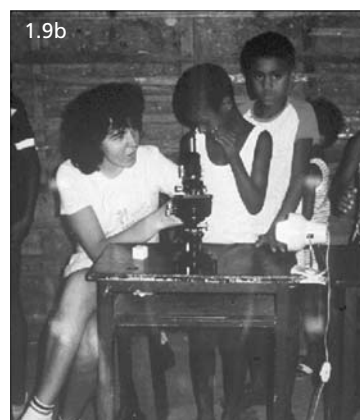


Figura 1.9: Crianças observando células ao microscópio, em atividades de divulgação científica promovidas pelo Espaço Ciência Viva, no Rio de Janeiro, numa oficina de trabalho com professores (**Figura 1.9a**) e na favela do Salgueiro (**Figura 1.9b**). Imagens cortesia do Espaço Ciência Viva.

ATIVIDADE 1

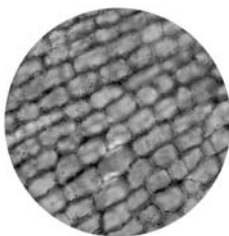


“O que você acha que vai ver quando olhar a folha dessa planta sob o microscópio?”

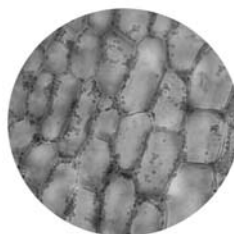
Respostas	número de alunos	%
Faz referência a células	20	76,9
células “ampliadas”	9	34,6
células vegetais	8	30,8
células (de modo esquemático)	2	7,7
células “juntas”	1	3,8
Não faz referência a células	5	19,2
“coisas pequenas e minhocas”	2	7,7
linhas	2	7,7
micróbios e sujeira	1	3,8
Não responderam	1	3,8
Total	26	100



1.10a



1.10b



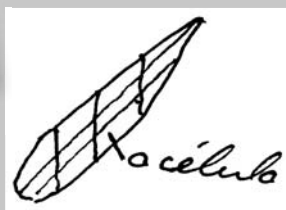
1.10c

Figura 1.10: Planta aquática *Elodea* ao natural (**Figura 1.10a**), observada ao microscópio óptico com lente objetiva que aumenta 40x (**Figura 1.10b**) ou 63x (**Figura 1.10c**). Imagens cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Claudia Mendes.

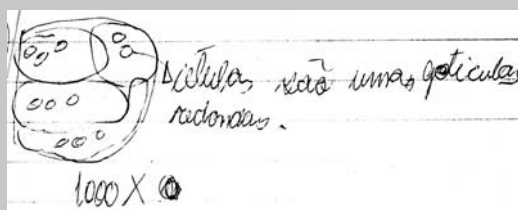
ATIVIDADE 2



Observe a planta ao microscópio, usando duas lentes objetivas para aumentar 40 e 63 vezes, e desene o que vê:



1.11a



1.11b

Figuras 1.11(a-b): Desenhos de células feitos por alunos de 7ª série do ensino fundamental após observação ao microscópio. Na **Figura 1.11a** temos um exemplo de representação e interpretação corretas das células vegetais observadas, enquanto na **Figura 1.11b** temos um exemplo de representação correta com interpretação errada. Imagens cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Claudia Mendes.

ATIVIDADE 3



Identifique em seu desenho e responda: *"O que você acha que é uma célula no material que está observando?"*

Desenhos com	número de alunos	%
Identificação correta de uma célula típica	4	15,4
Identificação incorreta - desenha a morfologia das células mas faz confusão de célula com cloroplasto	11	42,3
Desenha a morfologia das células mas não a identifica como tal	11	42,3
Total	26	100

EXERCÍCIO 5: ANALISANDO DADOS

Analise a seqüência das três atividades feitas com os alunos e conclua:

5.1 Qual o percentual de alunos nos quais foi possível detectar a expressão de conceitos errados ou confusos antes e depois da observação ao microscópio?

5.2 Qual o percentual de desenhos dos alunos que expressavam características típicas das células vegetais? Como você explicaria o fato de esse percentual ter sido encontrado?

5.3 Qual o percentual de alunos que demonstrou falta de familiaridade com imagens reais de células? Comente esse resultado.

5.4 Liste as hipóteses que lhe vêm à cabeça sobre por que os alunos têm dificuldade de formular o conceito de célula.

5.5 As respostas que você encontrou confirmam a noção de que, para o estudo da célula, não basta a observação ao microscópio, pois isso não garante a compreensão dos conceitos envolvidos na Biologia Celular?

Apenas aulas teóricas com o livro-texto e suas imagens esquematizadas ou fotografadas não ajudam o aluno a identificar a imagem da célula quando a vêem ao microscópio. No entanto, o conceito de célula está entre os conteúdos abordados em diversas fases do ensino fundamental e do médio. É um tema indiscutivelmente importante e pertinente, principalmente se analisarmos a quantidade de temas

correlatos a ele, como seres vivos, corpo humano e hereditariedade, entre outros, importantes na formação dos alunos e de cidadãos alfabetizados cientificamente. Mais recentemente, os temas de clonagem, transgênese e terapia gênica também precisam de base sólida de conhecimento em Biologia Celular. Embora o conceito de que os seres vivos são constituídos por células pareça de domínio geral, sua percepção não é intuitiva e isso pode dificultar sua compreensão. Pesquisas sobre o ensino de Biologia Celular indicam que existe uma grande dificuldade por parte dos alunos em compreender de maneira significativa como é a célula e seu funcionamento (Palmero, 1998)⁵. Na aula 4, vamos aprofundar essa questão. Por enquanto ficamos com as conclusões obtidas por Maria da Luz Palmero, numa revisão de 27 trabalhos sobre a conceituação de conteúdo biológico:

- Há desconhecimento ou compreensão muito pequena do *nível de organização celular*, com contradições inclusive para considerar os seres vivos como constituídos por células. Os alunos atribuem caráter celular a animais mas não tanto a vegetais (conceitos inclusive de que os vegetais são “menos vivos” do que os animais; para muitos, os vegetais nem têm células), e têm um nível baixo de compreensão de célula como unidade funcional, pois desconhecem a relação entre estrutura celular e função fisiológica. Além disso, não há clareza na representação mental da célula, com uma concepção pobre sobre o conteúdo celular, ausência de identificação de estruturas internas e atribuição de volume somente em alguns casos, com observação freqüente de imagens planas da célula.

- Há desconhecimento dos *processos vitais*, com problemas para compreender que todas e cada uma das células de um organismo pluricelular são as destinatárias dos nutrientes, e que respiração celular e fotossíntese são processos distintos e relacionados com processos energéticos. Não relacionam alimentação, fotossíntese, respiração e transpiração.

- Há desconhecimento da Química, pois não há a idéia de elemento químico ou de que a composição do corpo de um ser vivo e a de seus alimentos devam guardar relação. Foram detectadas dificuldades para compreender o corpo vivo como um sistema químico, e um profundo desconhecimento dos processos biológicos a nível bioquímico, além de um desconhecimento físico-químico dos processos celulares. Os alunos acham que a matéria viva não é constituída por átomos, e há dificuldades para compreender a presença dos mesmos elementos químicos tanto na matéria viva como na matéria inerte.

- Com relação à reprodução e à hereditariedade, nem sempre os alunos associam crescimento do indivíduo a reprodução celular, nem crescimento vegetal a estrutura celular ou proliferação celular. Os alunos não relacionam genes e cromossomas, acham que os vegetais não têm cromossomas, acham que diferentes células geram diferentes informações nas distintas partes de um mesmo organismo; acham que a célula-ovo se reparte entre as distintas células, não relacionando divisão celular e transmissão de informação genética. Também não compreendem que gametas são células.

Maria da Luz Palmeiro concluiu que a estrutura e o funcionamento celular apresentam sérios problemas para o aprendizado referente a diferentes campos da Biologia e que a simplificação de conceitos e processos pode gerar idéias e concepções errôneas, que muitas vezes são reforçadas pela instrução escolar.

RESUMO

Você viu que desenvolver e construir o conceito de célula viva não é uma questão simples e que, portanto, não basta ver, ler ou estudar o que é célula sem buscar compreender como podem ser constituídas conexões entre o que foi visto, lido ou estudado.

AUTO-AVALIAÇÃO

Ao longo da aula propusemos 5 exercícios. Eles serão usados em momentos posteriores nas próximas aulas. Você teve alguma dificuldade em realizar algum deles? Se já está com todos resolvidos, pode seguir adiante, pois a história de como esses conceitos foram gerados ao longo do desenvolvimento científico também é de grande ajuda para que cada um possa refazer esse caminho.

Se você teve dificuldade em algum exercício, pare e pense: como você classificaria o grau de suas dificuldades (nenhuma, pequena, média, grande):

- a. nos processos de descrição de estruturas, propostas nos exercícios 3 e 4?
- b. na redação de conceitos, proposta no exercício 1?
- c. na análise das tabelas propostas no exercício 5?
- d. na redação dos comentários sobre os dados das tabelas do exercício 5?

Se você achou que não teve dificuldade ou que ela foi pequena, passe para a próxima aula. Se sua dificuldade nesses exercícios foi média ou grande, procure no pólo o tutor para discutir as suas dúvidas.

Evolução do conceito de célula: lições da história da ciência

objetivo

- O objetivo desta aula é revisar essa história e entender por que transcorreram mais de dois séculos entre a observação microscópica de células e a formulação da Teoria Celular.

Pré-requisitos

Para um melhor aproveitamento, você deve dominar o conteúdo da Aula 1 e concluir os exercícios nela sugeridos.

Ao estudar fenômenos da natureza, antes de mais nada procuro realizar experimentos... Em diversas condições e circunstâncias alcançar uma regra geral que se aplique a todos os experimentos realizados. Esse é o método a seguir no estudo dos fenômenos da natureza. E a que propósito servem essas regras? Elas evitam que nos enganemos a nós mesmos, enganemos aos outros com promessas de resultados que não podem ser alcançados.

(Leonardo da Vinci, *Do ensaio sobre a metodologia das descobertas*).

RECUPERANDO O SABER GERADO PELA HISTÓRIA DA CIÊNCIA

A história da Ciência pode nos ajudar a entender a evolução do conceito de célula, e seu uso eficaz como instrumento de ensino tem sido demonstrado por vários autores (Gagliardi e Giordan, 1986)¹.

NO SÉCULO XVII, COMO OS ALUNOS HOJE: VENDO SEM COMPREENDER. AS PRIMEIRAS OBSERVAÇÕES DE CÉLULAS

Hoje aprendemos nas escolas que é a célula que caracteriza os seres vivos, compostos por elas e seus produtos. Que a célula é a unidade básica dos seres vivos, onde ocorrem as funções de respiração, digestão, excreção etc. Mas, assim como os alunos, também os cientistas viram as células ao microscópio mas não compreenderam suas observações microscópicas.



EXERCÍCIO 1: ANÁLISE DO CURSO TEMPORAL DE UM PROCESSO

Dentre os principais marcos históricos da formulação do conceito de célula e do desenvolvimento da Biologia Celular, listados no **Quadro 2.1**, destaque os sete passos (somente sete) que lhe pareçam os mais importantes e significativos.

Figura 2.1: Leonardo da Vinci (1452-1519), cientista, artista e filósofo italiano, um dos formuladores do moderno método científico. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>

Quadro 2.1: Evolução da Biologia Celular até a formulação da Teoria Celular

1450-1630	Desenvolvimento do método científico (de Leonardo da Vinci a René Descartes).
1590	Janseen inventou o microscópio simples (Figura 2.2).
1626	Redi postulou que as coisas vivas não surgem por geração espontânea.
1628	Harvey demonstra a circulação do sangue por vasos.
1655	Hooke descreve as “células” na cortiça.
1661	Malpighi descreve a circulação capilar no pulmão e trabalha em histologia e hematologia (1665-1666).
1669-1759	Estudos de embriologia de rã (Swammerdam, 1669) e de galinha (Malpighi, 1673, Wolff, 1759).
1672-1679	Histologia de plantas com os trabalhos de Grew (1672), Malpighi (1675-1679).
1652-1697	Trabalhos de Leeuwenhoek, com células de vida livre e muitos outros espécimes (Figura 2.3).
1674	Leeuwenhoek descobre os protozoários. Viu bactérias 9 anos depois.
1800-1850	Criados os vínculos pesquisa-ensino, com a instituição de um laboratório por cada cátedra universitária, levando a desenvolvimento dos instrumentos.
1825	Comercializados os microscópios de lentes acromáticas (Figura 2.4).
1830	Criadas as lentes aplanáticas que corrigiam as aberrações esféricas; intenso trabalho de microscopistas como Purkinje (1787-1869), Baillarger (1809-1890), Remak (1815-1865).
1833	Brown descreve o núcleo nas células de orquídea.
1835	Dujardin descreve o citoplasma nas infusões, e a isso se segue a redescoberta dos movimentos citoplasmáticos.
1838	Schleiden (1804-1881) e Schwann (1810-1882) propõem a Teoria Celular.



Figura 2.2: Microscópio simples de John Dollond, de 1765. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.utmb.edu/scopes/makers.htm>

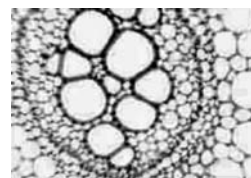


Figura 2.3: Corte transversal dos vasos de um ramo de feno, observado em réplica de um microscópio simples com uma única lente, como os usados por Leeuwenhoek. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.sciences.demon.co.uk/wavrbcs.htm>

O COMEÇO DA HISTÓRIA



Figura 2.4: Microscópio do fabricante Nachet, de 1860, igual ao de Pasteur. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.utmb.edu/scopes/makers.htm>



Figura 2.5: René Descartes (1596-1650), matemático e filósofo francês, um dos formuladores do moderno método científico. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.wihm.nlm.nih.gov/>

De acordo com a maioria dos historiadores, o descobrimento da célula data de 1667, com a comunicação de Robert Hooke (1635-1703) na Royal Society de Londres. Já criado o método científico, esse era o ambiente no qual a ciência estava se desenvolvendo extraordinariamente, especialmente a Física e a Matemática. Nessa época, os princípios básicos do método científico já eram assumidos pelos “experimentalistas”. As palavras de Leonardo da Vinci (1452-1519, **Figura 2.1**), na abertura desta aula, ilustram bem essa prática. O método se baseia na dúvida, e segundo Descartes (**Figura 2.5**) duvidar significa pensar. O essencial é duvidar da lógica do homem e fazê-la passar por um teste experimental. É dele a famosa frase *Penso, logo existo*.

A atividade científica já se desenvolvia nas associações e academias de ciência, fora das universidades conservadoras ligadas ao Estado ou à Igreja. Os membros das sociedades científicas já começavam a ser conhecidos menos como “sábios” e mais como “cientistas”.

Hooke foi contemporâneo de Newton. Era um jovem cuja inteligência vivaz possibilitou-lhe superar as dificuldades que sua origem humilde traziam para seu sonho de trabalhar numa universidade. Foi como membro do coro da Igreja de Cristo que ele ingressou na Universidade de Oxford, onde rapidamente se firmou, tendo conseguido por concurso seu primeiro cargo, de assistente do químico Robert Boyle. Hooke era muito habilidoso e gostava de construir modelos e inventos, como brinquedos mecânicos, relógio de madeira, barco que dispara enquanto navega, trinta modos diferentes de voar. Sete anos após estar trabalhando com Boyle, Hooke foi nomeado para o recém-criado cargo de Curador de Experiências da Royal Society, o que lhe garantia uma apresentação semanal aos membros da Sociedade de “três ou quatro experimentos formidáveis”, mostrando sua intensa atividade acadêmica. Construiu a bomba de ar usada nos experimentos em que Boyle enunciou a lei sobre os gases, construiu um quadrante regulado por parafuso para medir a posição dos astros, construiu o primeiro refratômetro para líquidos, o primeiro barômetro de leitura direta, um termômetro a

álcool. As contribuições teóricas de Hooke também mostram que ele não era apenas um artesão hábil e inteligente, mas um cientista. Foi Hooke quem sugeriu a necessidade de convencionar como zero da escala de temperaturas o ponto de congelamento da água e idealizou instrumentos meteorológicos, sendo chamado “pai científico” da Meteorologia. Ele realizou estudos sobre a combustão, a estrutura dos cristais e algumas questões da Astronomia.

Explosão de conhecimentos no século XVII: variedade de tipos de plantas: Antigüidade: 550 1623 (Caspar Bauhin); 6.000 1686 (John Ray): 18.000

Hooke construiu também o microscópio com o qual ficou conhecido por cunhar o termo *célula*. Apesar de o primeiro microscópio já ter sido construído 70 anos antes, por Jans e Zacharias Janseen ao combinar duas lentes convexas num tubo, o hábito de Hooke era criar e não repetir. Construiu então o primeiro microscópio com partes removíveis, em que as lentes podiam ser trocadas de acordo com o objeto a ser observado, em campo maior ou menor (Figura 2.6). Hooke moveu-se apenas pela sua curiosidade frente aos objetos a ser observados, tendo explorado pêlos, insetos, pulgas (Figura 2.7), piolhos, moscas, penas de aves, escamas de peixe, bolores sobre os alimentos. Quando gostamos de explorar o microscópio para saciar nossa curiosidade de ver coisas que não podemos ver a olho nu, nada mais estamos fazendo do que repetindo os experimentos de Hooke.



Figura 2.6: Microscópio composto construído por Robert Hooke para suas observações. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.ucmp.berkeley.edu/history/hooke.html>

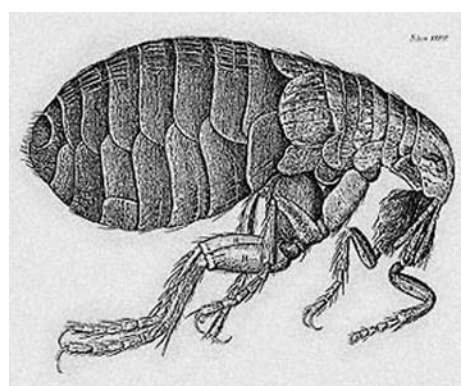


Figura 2.7: Pulga desenhada por Robert Hooke após observação em microscópio. Reprodução autorizada da imagem obtida no site www.roberthooke.org.uk

Aos 28 anos (1663), intrigado com “o fenômeno da cortiça” que a tornava um material de ampla utilização, procurou na sua estrutura microscópica a explicação para sua leveza, flutuabilidade e elasticidade. Examinando cortiça ao microscópio, viu uns poros. Fez uma preparação mais fina da mesma substância, e, em suas palavras: “Pude me dar conta com toda clareza de que estava perfurada e cheia de poros como um favo de mel.” Hooke imaginava esses poros como espaços alargados, divididos em diafragmas transversais. Representou-as com muita exatidão. Contou que havia 60 dessas células – foi o termo que empregou – situadas umas atrás das outras, em um décimo de oitavo de polegada, o que implicava mais de um milhão (1.666.400) em uma polegada quadrada ou $6,5 \text{ cm}^2$, quer dizer, um número difícil de acreditar. Estimou também o volume final de células numa polegada cúbica, obtendo valor superior a um bilhão, mais precisamente 1.259.712.000 células.

A revelação desse número, surpreendente até ao próprio Hooke, apontou para as dimensões infinitamente pequenas dessas estruturas que estava descrevendo pela primeira vez. Quando soube que a cortiça era uma parte da cobertura de certas árvores, lhe ocorreu examinar ao microscópio diversos fragmentos de vegetais e descobriu que “na polpa interna ou na medula de diversas plantas existia a mesma estrutura porosa”.

Suas conclusões estão publicadas no *Micrographia* (Figura 2.8), livro com vários capítulos. Mas, como já dissemos, ver não significa perceber nem compreender. Hooke interpretou suas observações de um modo bastante inesperado. Por um lado, procurou explicar as propriedades físicas do material, como já tinha feito antes para areia, neve, gelo, entre outros. No caso da cortiça, explica sua leveza, sua capacidade de compressão, sua impermeabilidade. Por outro, investigou se a organização microscópica não permitiria o aparecimento de pontos comuns entre os animais e vegetais. Hooke se perguntou se os poros observados não seriam o resultado do corte dos vasos ou dos condutos que transportam os sucos nutritivos dos vegetais, condutos comparáveis às artérias e as veias, pois estava sob a influência da descoberta de William Harvey (1578-1657), que causou grande impacto em 1628 demonstrando a circulação sanguínea (Figura 2.9). Hooke então achou lógico comparar essa rede vista na cortiça com o aparelho circulatório dos animais, mas buscou em vão as veias e as válvulas que abrem e fecham a passagem. Concluiu, dizendo: “Ainda que não tenha descoberto a passagem de uma cavidade para outra, nem com o microscópio, nem soprando, nem

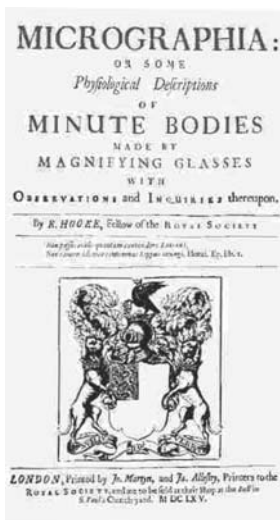


Figura 2.8: Capa de *Micrographia*, publicação clássica de Robert Hooke de 1665. Reprodução autorizada da imagem obtida no site www.roberthooke.org.uk.

com outros métodos, não pude descartar a conclusão de que os sucos naturais circulam por eles”. Não voltará a falar desse problema, nem identificará outras células nos capítulos seguintes, nem mesmo quando chega a desenhá-las.

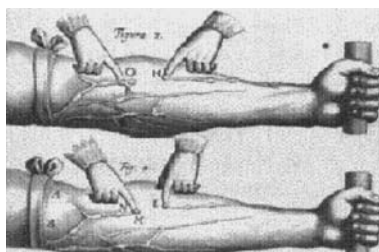


Figura 2.9: Ilustrações do trabalho publicado em 1639 por William Harvey (1578-1657), médico inglês, descrevendo a descoberta revolucionária da circulação do sangue nos vasos sanguíneos. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>

EXERCÍCIO 2: LEVANTAMENTO DE HIPÓTESES

Hooke viu os espaços de células, chamou-os de células mas não formulou o conceito de célula. Por quê? Liste as diversas hipóteses que você conseguir imaginar para explicar essa questão.

Na realidade, sua problemática não era de ordem biológica. Na introdução de *Micrographia*, escreve: “A verdade é que, até o presente, as Ciências da natureza têm sido sobretudo fruto da atividade do cérebro e da fantasia: já é hora de voltar à simplicidade e à segurança das observações referidas a objetos e materiais diretamente acessíveis à experiência.” Com ilustrações de objetos minerais, vegetais e animais, Hooke estava demonstrando até que ponto o microscópio amplia nosso campo de conhecimento. Os desenhos que ilustram o texto são de uma precisão impressionante. Na mesma época, Grew publicou outros desenhos relativos à estrutura dos vegetais em *Anatomy of Vegetables Begun*, enviados à mesma Sociedade. Centrou sua interpretação na estrutura global do tecido, que, a seu ver, é formado por uma admirável rede de fibras de uma extrema complexidade.

Foram formuladas numerosas teorias para explicar as características dos organismos vivos a partir de um suporte anatômico. Umas, a partir de Grew, admitiam a existência de uma substância plástica fundamental, contínua no princípio e depois dividida por paredes. Outras tratavam de caracterizar o ser vivo mediante uma unidade anatômica inicial, que desempenharia o papel de princípio no duplo sentido da palavra, “unidade primordial e princípio de inteligibilidade”.

Tanto Hooke como Malpighi (**Figura 2.10**), Grew e Leeuwenhoek, foram excelentes microscopistas. Mas por mais que vissem e desenhassem o que hoje compreendemos por células, não haviam ainda formulado o



Figura 2.10: Marcello Malpighi (1628-1694), médico e microscopista italiano, que descreveu inúmeras estruturas anatômicas de vertebrados. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>



Figura 2.11: Desenho de Marcello Malpighi de um corte de pulmão. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>

conceito de célula como base estrutural e funcional da vida, desenvolvido mais tarde por Schleiden e Schwann. As estruturas representadas em seus desenhos (**Figura 2.11**) eram designadas indiscriminadamente pelos termos “poros microscópicos” (Hooke, Grew), “utrículos”, “sáculos” (Malpighi), “bolhas”, “bexigas” (Grew), “células” (Hooke, Grew, Leeuwenhoek), ou “fibras” para Haller. Este último dizia que “a fibra é para o fisiologista o que a linha é para o geômetra” e a estrutura dita celular seria apenas secundária ao entrecruzamento das fibras.

A microscopia não fez progresso algum ao longo desse período. Ao faltar interesse por essas investigações, os instrumentos não progrediram e as técnicas continuaram sendo rudimentares. A partir de 1720 já era conhecimento comum entre os botânicos que as plantas eram constituídas de espaços microscópicos, mas não havia definição clara sobre seu significado. Esses espaços ora coincidiam com as células ora com pedaços de tecidos ou com substâncias intercelulares. E nenhum desses microscopistas preocupou-se em indicar qualquer traço ou conjunto de traços que lhes caracterizasse, que fosse um tipo básico partilhado por vários seres. No entanto, se observa certo amadurecimento no pensamento teórico.



Figura 2.12: Antony van Leeuwenhoek (1632-1723), comerciante e microscopista holandês, que observou e descreveu pela primeira vez células vivas. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>

Após as observações de Hooke, a história da Ciência nos aponta os trabalhos de Antony van Leeuwenhoek (1632-1723, **Figura 2.12**) como passos importantes para o desenvolvimento do conceito de célula. O interessante nesse caso era o fato de esse holandês não ser um cientista acadêmico, mas um comerciante de tecidos em Delf, com pouca instrução mas extrema habilidade, que não falava nem lia inglês, mas que realizou extraordinárias observações com os microscópios simples que ele mesmo construía (**Figura 2.13**). Suas descrições versavam, em particular, sobre infusões, espermatozoides, glóbulos vermelhos nucleados de peixes e até bactérias. Malpighi realizou também numerosas observações citológicas (**Figura 2.11**), entre as quais os capilares e a derme. As observações desses autores são notáveis, sobretudo levando-se em conta as condições de trabalho: utilizavam microscópios simples, quer dizer, lupas com lentes de distância focal muito pequena, mas de campo muito reduzido, ou então microscópios com objetiva e ocular; no primeiro caso, a exploração do objeto requeria enorme paciência, e no segundo o problema eram as aberrações capazes de deformar totalmente a imagem do objeto

estudado. Sua contribuição mais relevante foi a padronização de técnicas: Leeuwenhoek construía todos os seus microscópios. Recentemente Brian Ford tem trabalhado na Inglaterra construindo réplicas (Figura 2.14) similares aos microscópios de Leeuwenhoek e fotografando (Figura 2.15) materiais diversos, como os mostrados nas Figuras 2.16 (algas), 2.17 (microorganismo ciliado Vorticela), 2.18 (corte transversal de milho) e 2.19 (espermatozóides).



Figura 2.13: Detalhe do tamanho de um dos microscópios feitos por Leeuwenhoek no século XVII, em exposição em Antuérpia, Holanda. Alguns tinham o tamanho de um selo de correio. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.sciences.demon.co.uk/wavrbcs.htm>



Figura 2.15: Brian Ford, pesquisador inglês que trabalha sobre história da ciência, fotografando espécimes com réplicas de microscópios similares aos de Leeuwenhoek. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.sciences.demon.co.uk/wavrbcs.htm>



Figura 2.14: Réplica do microscópio de braço feito por Leeuwenhoek, em exposição em Utrecht, Holanda. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.utmb.edu/scopes>

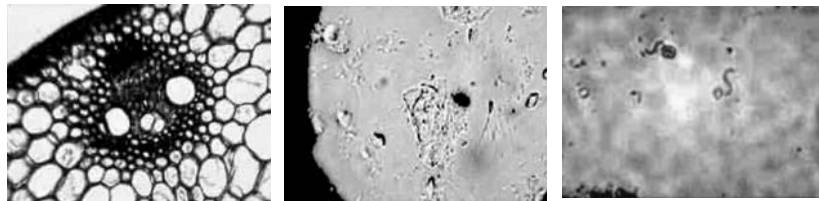


Figuras 2.16 e 2.17: Fotografia de algas verdes *Spirogyra* (Figura 2.16) e do microorganismo unicelular ciliado *Vorticela* (Figura 2.17) obtida em réplicas de microscópios similares aos de Leeuwenhoek. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.sciences.demon.co.uk/wavintr.htm>



As imagens resultantes revelam que os desenhos e as figuras originais de Leeuwenhoek eram de uma precisão extraordinária; esses microscopistas foram os inventores do desenho naturalista, que teve importância capital na investigação em Biologia até 1950; um desenho desse tipo exigia em geral 10 horas de trabalho, pois constantemente tinha-se que deslocar a preparação pelo reduzido campo de visão. Esse trecho de sua carta à Royal Society, em 25/12/1702, ilustra uma de suas descrições, do ciliado *Vorticela* (Figura 2.17):

Na estrutura esses pequenos animais têm a forma de um sino, e na abertura redonda há como um agitador e as partículas na água ficam em movimento. Vi quase 20 desses animais movendo-se levemente ao longo uns dos outros, com os corpos esticados e caudas firmes; de repente eles puxam seus corpos e caudas juntos, contraem e esticam seus corpos e caudas para fora de novo muito livremente, e continuam por algum tempo a fazer esse movimento: parecem estar se divertindo muito.



Figuras 2.18, 2.19 e 2.20: Fotografia de corte transversal de milho (**Figura 2.18**), de espermatozóides (**Figura 2.19**), e de bactérias (**Figura 2.20**) obtida em réplicas de microscópios similares aos de Leeuwenhoek. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.sciences.demon.co.uk/wavintr.htm>

As propostas de Leeuwenhoek passaram pela prova da confirmação e do controle social devido a suas comunicações terem sido extremamente objetivas e precisas, permitindo reproduzir as observações; durante mais de 100 anos elas constituíram o fundo comum da Biologia Microscópica. Seus descobrimentos tiveram uma ressonância considerável. Leeuwenhoek recebeu a visita da rainha Catarina da Rússia e da rainha da Inglaterra. Numa época em que o saber parecia codificado pelos livros, ele e outros microscopistas demonstraram que a natureza é mais rica que os livros, estimularam uma atitude favorável às Ciências Naturais e concederam à percepção a categoria de fonte de conhecimento. Iniciaram um movimento de exploração da natureza no âmbito das sociedades científicas, geralmente efêmeras, a primeira das quais foi a Academia dei Lincei, em Roma, de 1601 a 1635. Em vez de estudar os seres vivos em relação ao homem, exploraram sistematicamente o mundo vivo, vegetal (**Figura 2.18**, milho), animal (**Figura 2.19**, espermatozóides), e incluíram até os seres insignificantes que vivem nas águas, no intestino, nos resíduos e excrementos (**Figura 2.20**, bactérias). Sua curiosidade e seu entusiasmo os mantiveram em pé numa época em que nada se sabia sobre isso e colocava em dúvida o fundamento **EPISTEMOLÓGICO** de sua atitude: durante quase dois séculos, certos cientistas se sentiram obrigados a justificar em seu trabalho a escolha do material submetido a estudo. Leeuwenhoek foi o primeiro a descrever o núcleo (1700), nas

EPISTEMOLOGIA

É a ciência que estuda a ciência, é o estudo crítico dos princípios, hipóteses e resultados e das ciências já constituídas, que visa determinar seus fundamentos lógicos, seu valor e seu alcance.

hemácias de salmão. Descreveu também a retina, com as células que hoje conhecemos como cones e bastonetes, que discriminam as cores. Merecidamente Leeuwenhoek é considerado “pai da Bacteriologia”, tendo sido o primeiro a observar e descrever bactérias (**Figura 2.20**) num número enorme de materiais, em gotas d’água de chuva, rio ou mar e nos raspados de dentes.

Mas não se pode atribuir a paternidade da Teoria Celular a esses autores. Eles apenas interpretaram o que viam; seus descobrimentos eram antes de tudo uma fonte de admiração, que servia como ponto de partida para uma meditação filosófica ou religiosa. Não abordaram as observações efetuadas nos dois reinos e, no âmbito vegetal, se fixaram somente à membrana: o termo *célula*, que chama a atenção sobre as paredes, consagrou essa orientação. Esse exemplo ilustra a frase de François Jacob: *para que um objeto (científico) seja acessível à experiência, não basta descobri-lo, é preciso fazer uma teoria disposta a aceitá-lo*. Em particular, há que se colocar de entrada um problema científico para dispor de um critério organizador da observação que permita descobrir um sistema de relações.

UM SALTO DE QUASE 200 ANOS ATÉ O SÉCULO XIX

Algumas explicações propostas para justificar esse longo tempo baseiam-se na importância dos obstáculos próprios da Biologia, especialmente sua relação com o experimento e as modalidades de teorização. Superar esses obstáculos implicava, por um lado, uma modificação profunda na sociedade científica e, por outro, o descobrimento de uma problemática e de processos de pensamentos próprios da Biologia, numa época em que os cientistas eram generalistas, “filósofos” profundamente influenciados pelo notável desenvolvimento das Ciências Físicas. Toda ciência se baseava em dados reprodutíveis e generalizáveis. Para a Física do século XVIII, isso não era problema; bastava, por exemplo, precisar as coordenadas de espaço e de tempo. Ao contrário, o biólogo tinha dificuldades para satisfazer essas condições. O **Quadro 2.2** resume as principais transformações ocorridas nas condições de investigação que permitiram o desenvolvimento da Teoria Celular.

Para realizar observações reprodutíveis, era necessário controlar as **ABERRAÇÕES** devidas aos instrumentos e também os artefatos

Apesar da profusão de descobertas e relatos dos micrógrafos dos séculos XVII e do XVIII, o conceito de célula não evoluiu durante 120 anos, antes de uma nova exploração de descobrimentos. Por quê?

ABERRAÇÕES ÓPTICAS

Quando a luz passa por um prisma ela é desviada ou se refrata. Algumas cores refratam mais que outras e são focalizadas em pontos diferentes, diminuindo a resolução. Para corrigir isso foram criadas as lentes acromáticas, feitas com diferentes tipos de vidro com diferentes índices de refração. O resultado é um alinhamento melhor (mas não perfeito) de todas as cores num mesmo ponto de foco, com uma imagem mais nítida.



Figura 2.21: Microscópio de George Adams, de 1790. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.utmb.edu/scopes>



Figura 2.22:Quadro naturalista de Manet, *Dejeuner sur l'herbe*. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.ibiblio.org/wm/paint/auth/manet/>

produzidos pelas técnicas. Os microscópios de construção artesanal eram extremamente diversos, não só em forma mas também em seus próprios princípios; participavam da personalidade do cientista. Leeuwenhoek sempre se negou a emprestar seus melhores microscópios: suas características técnicas eram muito variáveis e os usuários ignoravam-nas totalmente. A utilização do instrumento agravava a subjetividade do observador, em particular porque as aberrações podiam ser da mesma magnitude que o objeto estudado. Ele dizia que *as relações entre a ciência e os cientistas eram do mesmo estilo das que existem entre o artista e sua obra: o instrumento era considerado um prolongamento da mão*.

Quadro 2.2: Condições para a elaboração da Teoria Celular

1. Desenvolvimento dos meios

- A evolução dos equipamentos e da própria forma de se desenvolver o trabalho dos cientistas afetou a Biologia Geral.
- Os cientistas eram generalistas, “filósofos”, influenciados pelo notável desenvolvimento das Ciências Físicas.
- A biologia deixa de ser uma metaciência (uma reflexão filosófica sobre disciplinas específicas) para chegar uma explicação da vida a partir de modelos cujas implicações podem passar por um controle experimental.
- Os métodos de preparação muito rudimentares ainda produzem artefatos sobre os quais ainda há pouca investigação.

2. Transformações na sociedade científica

- Mudaram as condições de pesquisa: fim dos mecenas e institucionalização das cátedras.
- Os cientistas passam a ser profissionais da investigação.
- A comunicação objetiva substitui a terminologia pessoal.
- O trabalho dos cientistas passa a se situar no âmbito da sociedade científica internacional.

3. Mudanças no ambiente intelectual

- Interesse renovado pelo mundo vivo.
- Moda da filosofia da natureza: marcou a Literatura, a Pintura, a Medicina e a Biologia.

4. Progressos no conhecimento dos seres vivos

- O descobrimento da organização celular dos vegetais e da existência de células em certos tecidos animais.
- A identificação do núcleo nas células vegetais e em algumas células animais.
- O descobrimento, no interior de algumas células, de uma matéria viva chamada protoplasma.

O termo *glóbulo* se refere aos glóbulos vermelhos observados por Leeuwenhoek; os glóbulos de gordura são figuras resultantes da aberração esférica. Em 1820, Mine Edwards escrevia: *a estrutura*

elemental é idêntica em todos os animais, todos os tecidos são formados pela união de corpúsculos esféricos de 1/200 mm. Os espermatozóides foram representados por Leeuwenhoek como glóbulos com cauda, por Joblot (1776) com barba, por Gerber (1820) com ânus e orifício genital.

Além disso, não se sabia que as técnicas levavam a artefatos. Nas observações *in vivo* era comum ver algas filamentosas ou pêlos sobre o material, estudado em seu meio natural. Essas observações eram colocadas no mesmo plano que as realizadas no material necrosado pela maceração, examinado sem clarear nem corar; nada se sabia sobre a fragilidade das estruturas vivas, sobre a ação dos líquidos conservantes utilizados pelas amas de casa ou nas aulas de anatomia: álcool, ácido acético, formol. Por exemplo, tecido conjuntivo era tão cortado para ser estudado que ficava reduzido a uma trama inerte de fibras, pois o procedimento do corte suprimia todos os elementos vivos. Em Biologia, um fato reproduzível implica o conhecimento preciso de múltiplas variáveis ligadas ao objeto, aos instrumentos, aos fatores do meio, obrigação ignorada naquela época, e cumprida apenas intuitivamente.

Podemos comparar o caminho percorrido pelos cientistas que geraram as bases da Teoria Celular como o inverso do caminho percorrido pelo artista. A obra de Monet ilustra essa analogia: o artista parte da realidade, como as flores da **Figura 2.23**, para pintar suas impressões sobre ela, segundo diversos pontos de vista (as flores pintadas na **Figura 2.24**), que podem variar tanto quanto queira o próprio artista. No caminho contrário, a partir de imagens que ele não sabe quão precisas são, o cientista tenta descobrir qual era a realidade que as gerou.



Figura 2.23: Flores aquáticas no lago do jardim da casa de Monet em Giverny. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Tania Araújo-Jorge.

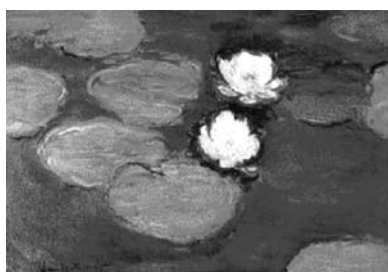


Figura 2.24: Pintura das flores da Figura 2.23, feita por Claude Monet, no quadro *Nymphaeas* (1840-1926). Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.ibiblio.org/wm/paint/auth/monet/>. Mais imagens podem ser vistas no site www.intermonet.com/oeuvre/



Figuras 2.25 e 2.26: Microscópio de 1700 (Figura 2.25) e de 1925 (Figura 2.26). Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.utmb.edu/scopes>

Para que uma observação reprodutível desemboque numa explicação científica, deve permitir que se extraiam fatos gerais. Naquele ambiente, esse procedimento era fácil em Física; um exemplo bem escolhido servia de modelo (por exemplo, o plano inclinado), de paradigma, ilustrando o princípio básico sobre o que se fundamentava a teoria. Mas os fenômenos biológicos parecem caracterizar-se pela abundância de exceções, e escapavam por isso de uma racionalização redutora. Na verdade, os objetos da Biologia não são os do realismo simples, mas se constroem progressivamente mediante confrontação de situações concretas e o enfrentamento de exceções; estas, longe de ser um obstáculo, constituem uma condição do progresso. Essa passagem raramente está ao alcance de um cientista isolado (que geralmente se conforma com uma monografia sem interpretação global), mas em geral se apóia numa comunidade científica suficientemente importante para permitir a discussão, e suficientemente estável para ter presentes os trabalhos anteriores e evitar a necessidade de redescobri-los. Isso era particularmente importante numa época em que se desconhecia a matéria com que a Biologia construía seus objetos (Baker, 1948 e 1949)².

Durante a metade do século XIX, quando a história nos situa a formulação da Teoria Celular, mudaram profundamente as condições de pesquisa (**Quadro 2.2**): foi institucionalizada, tendo sido substituídos os mecenas por recursos coletivos. Com poucas exceções, a maioria dos cientistas passaria a ser, sucessivamente, profissionais da investigação. Essa evolução se iniciou a partir de 1750: foram criadas as cátedras de ciências nas universidades alemãs (Gotinga, 1759) e foi desenvolvido o ensino superior na França durante a Revolução. Mas o vínculo institucional entre a pesquisa e o ensino, vínculo que leva à instalação de um laboratório por cada cátedra universitária, só se desenvolveu após o período 1800-1850 também nas universidades alemãs. Os cientistas ingleses, que se mostraram reticentes a seguir essa evolução por medo de perderem sua liberdade, logo se viram com dificuldades por falta de meios materiais.

A multiplicação de laboratórios permitiu um desenvolvimento rápido dos instrumentos, em particular do microscópio. Vários museus têm coleções que permitem a reconstrução dessa evolução. Contrastando com os microscópios simples de uma única lente do século anterior, como o exemplo da **Figura 2.2** (microscópio de John Dollond, 1765) ou até

mesmo com duas lentes, como o exemplo da **Figura 2.25** (réplica do microscópio de John Marshall, 1700), a construção desses instrumentos passou a ser patrimônio de oficinas especializadas, como Zeiss, Nachet, Leitz e Bausch & Lomb, dirigidas por ópticos com formação teórica, que trabalhavam juntamente com as universidades. As **Figuras 2.4 e 2.26** mostram essa evolução, com exemplos como o microscópio da Nachet (**Figura 2.4**), de 1860, similar ao usado por Pasteur, e o microscópio da Leitz (**Figura 2.26**), modelo do ano de 1925.

As características técnicas dos instrumentos se definiram então de um modo objetivo (aumento, campo, poder de resolução, importância da aberração) e seu emprego correto exigiria um aprendizado técnico para todos os usuários. Em consequência, o objeto técnico impõe sua lógica. Os laboratórios vão dispor de um mesmo suporte instrumental para produzir os fatos científicos. A comunicação objetiva substitui a terminologia pessoal, mas são ainda insuficientes as investigações sobre os artefatos produzidos pelos métodos de preparação muito rudimentares.

A racionalização dos instrumentos, que permite obter resultados reprodutíveis (como por exemplo o microscópio da **Figura 2.27**), representa apenas um aspecto das mudanças profundas nas condições da pesquisa (**Quadro 2.2**). Logo em seguida, o trabalho dos cientistas se situará no âmbito da sociedade científica internacional, que funciona como uma instituição em cujo seio se definem a problemática da investigação e os métodos ou técnicas que permitem levá-la a cabo; que administra os diferentes níveis de integração do saber, a comunicação da investigação, os tratados, os programas de ensino. A invenção individual fica sistematicamente enquadrada nas atividades sociais: investigação bibliográfica de partida, discussões para controlar, generalizar e remodelar o conjunto da estrutura conceitual. Antes dessa época, a história da Biologia se apresenta como uma sucessão de monografias, algumas das quais com uma considerável ressonância, como a de Wolff relativa à embriologia de galinha (1759). A causa inicial da mudança de atitude dos cientistas pode ter sido a transformação da sociedade científica.

A evolução dos equipamentos e da própria forma de se desenvolver o trabalho dos cientistas afetou mais diretamente a Biologia geral: durante a primeira metade do século XIX, deixou de ser uma metaciência, quer dizer, uma reflexão filosófica sobre ciências particulares (sistemática, zoologia, botânica, ou sobre trabalhos pontuais como os de Wolff),



Figura 2.27: Microscópio de 1880, do fabricante inglês Beck. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.utmb.edu/scopes>

para realizar a ambição de Lamarck e Treviranus, quer dizer, para chegar a uma explicação da vida a partir de modelos cujas implicações se submetem a controle experimental. No entanto, a investigação em Biologia tropeça sempre com a dificuldade de estabelecer proposições gerais, de não poder se apoiar em fatos gerais, por usar a linguagem positivista dos pesquisadores do século anterior. Por exemplo, os glóbulos vermelhos de sapos tinham núcleo mas os de mamíferos não, e isso confundia os microscopistas; o ovo parecia conter um ou dois núcleos, segundo os casos, e pode vir ou não acompanhado de glóbulos polares. A divergência não indica uma exceção, e por conseguinte uma ausência de lei geral, mas permite evitar as armadilhas do realismo simples, que generaliza o que chama mais atenção, em lugar de assinalar os fatos gerais através da diversidade de situações concretas.

Os aperfeiçoamentos do microscópio contribuíram também para uma tomada de consciência sobre a complexidade de um universo que outrora parecia muito simples: por exemplo, a partir de 1825 já não foi possível situar no mesmo plano todos os **GLÓBULOS** observados nos tecidos animais. O fato de que um grande número de laboratórios enfoca o mesmo problema contribuiu para acelerar consideravelmente o estabelecimento de fatos gerais, graças à comparação de situações diferentes. Em várias ocasiões, pesquisadores eminentes, como Virchow, Hertwig e Delage, demonstraram a importância da exceção nos descobrimentos biológicos.

Muitos termos
para células:
poros? utrículos?
sáculos? bolhas?
bexigas? células?
fibras?
glóbulos?

Paralelamente ao desenvolvimento dos meios, houve uma mudança no ambiente intelectual, com um interesse renovado pelo mundo vivo. Isso foi particularmente evidente na Alemanha, onde a moda da filosofia da natureza marcou a Literatura, a Pintura (exemplo na Figura 2.22), a Medicina e a Biologia. A atitude admirativa frente ao mundo vivo impulsionou o interesse pelos estudos microscópios. Por outro lado, a filosofia da natureza orientou de modo novo o pensamento científico, em busca de similaridades fundamentais na natureza para construir marcos gerais de explicação, e em busca de uma explicação do ser vivo baseada no conceito de interação dentro de um todo.

O desenvolvimento das idéias que culminaram com a Teoria Celular ocorreu no contexto do desenvolvimento da Revolução Industrial (1760-1870) e da ascensão da burguesia ao poder na Europa, quando o liberalismo vinha articulando a construção dos estados nacionais

(por exemplo, a unificação econômica da Alemanha entre 1828 e 1888). O desenvolvimento científico que gerou a Teoria Celular se insere num dos períodos mais explosivos do movimento cultural, que foi marcado pelos “gigantes atormentados do século 19” como Beethoven (1770-1827), Hegel (1770-1831), Tolstoi (1828-1910), Dostoievski (1821-1881) e Marx (1818-1883), entre outros. E, possivelmente, o desenvolvimento da Teoria Celular também foi influenciado pela filosofia de Hegel, a mesma que influenciou o surgimento do marxismo. A concepção que identifica o ser e o pensamento num princípio único, a idéia, que se desenvolve em três momentos: tese, antítese e síntese.

A “moda do microscópio” é anterior aos aperfeiçoamentos trazidos a partir de 1820. Cientistas notáveis, como Dutrochet e Purkinje, por exemplo, começaram suas investigações com um microscópio simples. O aparecimento de novos microscópios criou um entusiasmo transbordante. Henle e Schwann, alunos do grande fisiólogo J. Muller, compraram seus microscópios com seu próprio salário de ajudantes; Purkinje dava aulas de microscopia a domicílio. Por outro lado, o microscópio tinha ardentes opositores, principalmente entre os médicos. Mas enquanto estes publicavam panfletos, a nova geração de citólogos multiplicava seus trabalhos originais e seus descobrimentos. Antes de 1810, havia uma publicação de anatomia vegetal a cada 20 anos: após 1840, cada país contava com uma ou várias publicações periódicas com os novos textos relativos a esse campo. No entanto, os cientistas dessa época eram pouco especializados. Os trabalhos de Purkinje, por exemplo, se referem à antera, ao olho e ao ovo de galinha. Suas colorações em cortes de olho, cérebro e coração mostraram redes neuronais como as da **Figura 2.28**. O interesse recaía na forma, não por uma questão disciplinar, mas pela dificuldade de embasar um estudo sobre a matéria viva que acabava apenas de ser conhecida.

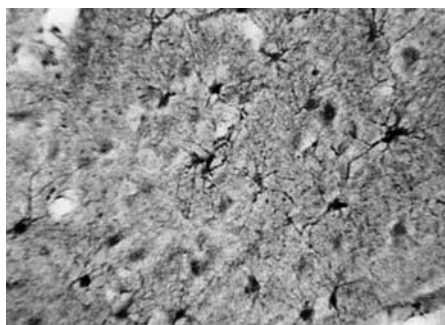


Figura 2.28: Rede de neurônios, similares às descritas por Johannes Evangelista Purkinje (1787-1869), fisiologista tcheco. Imagem cortesia do Atlas Digital de Histologia do Depto. de Histologia da UERJ, autorizada pelo coordenador Luiz Henrique Monteiro Leal, obtida no site: <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/>

A proliferação de trabalhos na França, na Alemanha e na Inglaterra conduziu a um importante conjunto de resultados novos. A atenção dos citólogos se desviou da parede para o conteúdo celular. Brown descobriu

o núcleo em 1831, e ampliou o conceito de célula nucleada aos vegetais a partir de suas próprias observações e dos dados obtidos por outros. Em 1835, Dujardin descrevia pela primeira vez o citoplasma nas infusões, com o nome de *sarcoda*, e logo os encontrou em outros tipos de células; o redescobrimento dos movimentos citoplasmáticos nos filamentos dos estames de flores e em certas algas filamentosas contribuiu para fixar a atenção na importância do conteúdo celular. Os trabalhos de Dutrochet, Purkinje, Henlee Valentin diversificaram as descrições das células animais; e os três últimos estabelecem um paralelismo com as células vegetais, cuja existência já era mais admitida.

A organização e o recolhimento de dados nessa época estavam orientados por duas problemáticas diferentes. Certos cientistas seguem um procedimento indutivo fundamentado na comparação de formas e buscam um ou vários elementos básicos. Treviranus, por exemplo, identifica nos tecidos animais três categorias de partes elementares: a matéria amorfa, as fibras e os glóbulos; essa classificação, puramente descritiva, não desembocará em propostas de investigação novas. Outros buscam apoio numa explicação biológica. Por exemplo, Turpin escrevia em 1826: “As diferentes vesículas do tecido celular... são outras tantas individualidades diferentes, que têm um centro vital particular de vegetação e propagação, e de alguma maneira estão destinadas a formar indivíduos por aglomeração.” Raspail escrevia em 1827: “Dê-me uma vesícula em cujo seio possam formar-se outras vesículas e as devolverei como mundo organizado.”



Figura 2.29: Matthias Schleiden (1804-1881), microscopista alemão. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>

Além desses precursores, menção especial merece Matthias Jacob Schleiden (**Figura 2.29**), devido à influência que exerceu sobre Schwann, que lhe deve o impulso para formular sua teoria, e também a aceitação de certas idéias falsas sobre a origem das células. Schleiden, um jurista que chegou tardiamente à investigação botânica, não “se contentava com descrever e classificar sem explicações”.

Em sua obra *Contribuições à fitogênese* (1838), anunciava claramente a generalidade da estrutura celular dos vegetais e tratava de explicar essa organização. Definia as plantas como agregados de seres totalmente individualizados, independentes e distintos, que são as células. Cada célula leva uma dupla existência, uma própria, que corresponde a seu desenvolvimento, e outra ocasional como componente da planta...

Infelizmente, defendia a tese da formação livre das células a partir da matéria desorganizada (blastema), numa época em que se multiplicavam as observações demonstrando que no reino vegetal as células provinham de células preexistentes. As últimas descobertas sobre a fisiologia das plantas haviam demonstrado que a formação do tecido celular, das fibras, dos vasos espirais, se reduziam em última análise à formação das células. A origem das células acabava de ser esclarecida por uma descoberta importante de Schleiden: seu ponto de partida era o núcleo (denominado por ele de citoblasto). O núcleo era descrito como de cor amarelada e estrutura interior granulosa; Schleiden descobriu também, no interior do citoblasto, um corpúsculo, o corpúsculo do núcleo, que aparecia tanto em forma de uma mancha quanto como um glóbulo oco. Verificou que os núcleos se formavam livremente no interior das células, numa massa de pequeninos glóbulos mucosos; e que assim que alcançam seu pleno desenvolvimento, aparecia em sua superfície uma vesícula muito pequena, transparente, a jovem célula, que sobressai sobre o núcleo como um vidro de relógio sobre este.

A FORMULAÇÃO DA TEORIA (1820-1860): UMA ANTECIPAÇÃO GENIAL DE SCHWANN

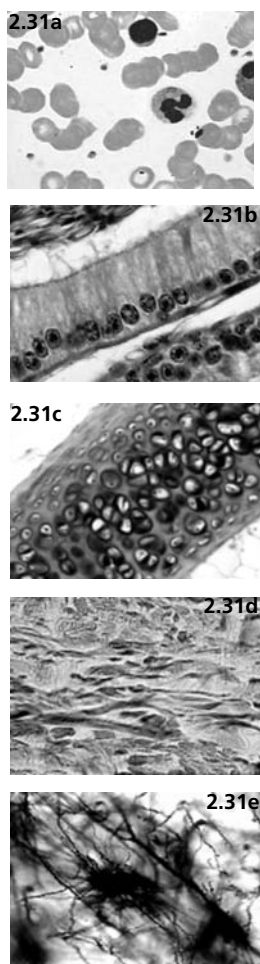
Segundo André Giordan, quase sempre, uma teoria considerada nova vem precedida de um lento trabalho de gestação, de esforços dispersos, de tentativas fragmentadas. Ao fim chega um momento em que as idéias que estão no ar se cristalizam de alguma maneira, encontram sua expressão completa no pensamento de um homem superior que aparece no momento favorável e nela coloca sua marca pessoal.

Theodor Schwann (1810-1882, **Figura 2.30**) era ao mesmo tempo um teórico genial e um hábil experimentador. Realizou investigações nos mais diversos campos, partindo quase sempre de um problema fisiológico. Em particular, mediu a força do músculo da perna de rã em função de fatores físicos (primeiro estudo quantitativo de uma força “vital”); descobriu a enzima digestiva pepsina; 20 anos antes de Pasteur, atribuiu aos microorganismos as fermentações e a decomposição, apesar de não ter podido impor esse ponto de vista; construiu um aparelho para medir a intensidade da respiração; e em seu trabalho mais notável, *Pesquisas microscópicas sobre a analogia da estrutura e do desenvolvimento entre*



Figura 2.30: Theodor Schwann (1810-1882), microscopista alemão. Imagem cortesia da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, obtida no site <http://www.nlm.nih.gov/>

Figura 2.31: As cinco classes de tecidos descritas por Schwann. Montagem com as imagens das Figuras 2.32 a 2.38, cortesia do Atlas Digital de Histologia do Depto. de Histologia da UERJ, autorizada pelo coordenador Luiz Henrique Monteiro Leal, obtida no site: <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/>



as plantas e os animais, desenvolveu a Teoria Celular, depois de um encontro histórico com Schleiden. A questão básica que norteou o trabalho de Schwann foi: “De onde se originam as novas células?” Por isso estudou modelos diferentes, nos quais ocorria a formação de novas células, e buscou a estrutura que regia o processo de formação celular. Apesar de o núcleo já ser conhecido como estrutura, foi a dedução de sua função na formação de novas células que embasou a formulação da teoria. Buscando critérios para o reconhecimento exato das células animais, Schwann concluiu que todas elas se caracterizavam por ter um núcleo e por se originarem de um processo similar ao que Schleiden havia descrito para células vegetais.

Schwann divide os tecidos do organismo animal em cinco classes (Figura 2.31), atendendo à sua composição original e celular: 1ª células independentes e isoladas, que nadam em líquidos, ou simplesmente situadas umas perto das outras e móveis (a); 2ª células independentes, unidas fortemente umas às outras, de maneira que constituem um tecido (b); 3ª tecidos cujas paredes, mas não as cavidades das células, estão soltas umas das outras (c); 4ª células fibrosas, que se alargam em uma ou várias direções, para formar feixes de fibras (d); 5ª células cujas paredes e cavidades se encontram soldadas umas com outras (e).

O QUE É CONCEITO?

No dicionário encontramos: do latim *conceptu*; aquilo que o espírito concebe; entendimento, opinião; síntese, substância; formulação de uma idéia por palavras; definição. Pensamento, idéia.

EXERCÍCIO 3: FORMULAÇÃO DA TEORIA

A idéia genial de Schwann foi perceber o que existia de semelhante em imagens da estrutura de diferentes tecidos dos seres vivos. Na Figura 2.31 (ampliada nas Figuras 2.32 a 2.36), estão imagens que ilustram as 5 classes de tecidos dos animais, nas quais Schwann se baseou para propor a Teoria Celular, até hoje aceita. Procure analisar essas imagens e, com base na descrição feita pelo próprio Schwann sobre a Histologia animal, procure deduzir quais as semelhanças que poderia haver entre estruturas

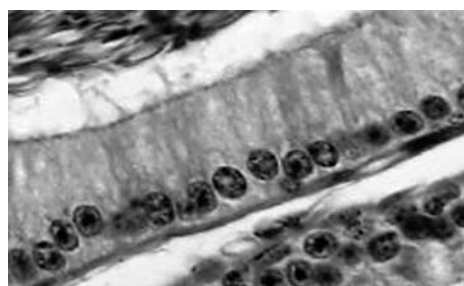
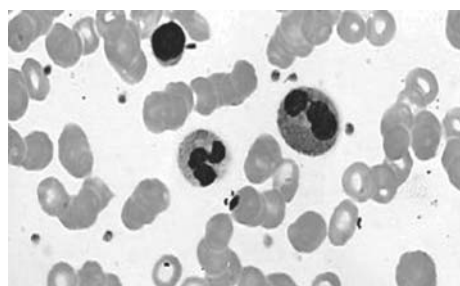
aparentemente tão diferentes. Vá escrevendo suas deduções durante a leitura e, ao final, compare suas anotações com o resumo do **Quadro 3.3**, procurando ver se seu caminho conduz às mesmas conclusões de Schwann.

Eis como Schwann descreveu essas 5 classes de tecidos animais:

Na primeira classe de tipos celulares estão os glóbulos sanguíneos (**Figura 2.32**), de natureza vesicular, com núcleo em algumas espécies, que permanece “colado” contra as paredes quando se distendem pela água, e cujo conteúdo é a matéria colorida vermelha. Os glóbulos linfáticos, mucosos e purulentos, pertencem também a esta classe: todos são células com núcleo.

Na segunda classe encontram-se os epitélios (**Figura 2.33**), o tecido córneo (epitélio de revestimento, unhas, penas), o pigmento e o tecido do cristalino. As células são independentes, se bem que suas paredes desaparecem ocasionalmente. Os epitélios compõem-se, comumente, de células redondas com um núcleo situado em sua superfície interna e com um ou dois nucléolos. Quando se associam tomam forma poliédrica. As células epiteliais podem mudar de forma, passando da forma primitiva globulosa a uma forma achatada ou estirada em longitude, como descrito por Henle no epitélio dos vasos; as células jovens nascem abaixo das antigas e diminuem de altura à medida que se aproximam da superfície, onde as células se alargam em cilindros, como se observou na mucosa intestinal. Há ainda as células do pigmento, das unhas, das penas e do cristalino.

No cristalino da galinha, após oito dias de incubação dos ovos, ainda não se observam fibras, só células redondas, pálidas, algumas das quais encerram um núcleo. Numa etapa mais avançada, algumas células maiores encerram uma ou duas menores. Os embriões maiores já têm a maioria das fibras do cristalino formada mas uma parte no entanto está inacabada, e existe além disso um grande número de células redondas ainda por mudar. As fibras prontas formam uma bola no centro da lente. As fibras mais próximas são prolongamentos ocos de glóbulos. Essas fibras depois passam a ter bordas dentadas como as que se vêem nas células dentadas das plantas. (T. Schwann)



Figuras 2.32 e 2.33: Células do sangue (Figura 2.32) e de epitélio do epidídimo (Figura 2.33). Imagens cortesia do Atlas Digital de Histologia do Depto. de Histologia da UERJ, autorizada pelo coordenador Luiz Henrique Monteiro Leal, obtida no site: <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/>

Na terceira classe, Schwann inclui a cartilagem (**Figura 2.34**) e os dentes. Estudando as cartilagens de brânquias de peixes, verificou que a estrutura primitiva da cartilagem é totalmente celular.

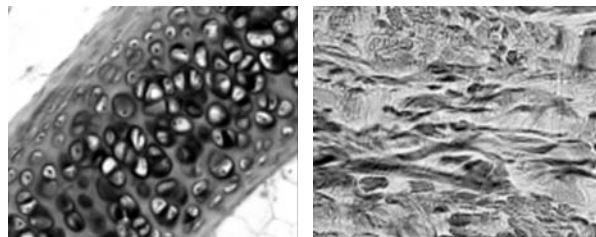
Vêem-se pequenas células poliédricas, apertadas umas contra as outras, e de paredes extremamente delgadas. Essas células têm um núcleo redondo, granuloso. Até a metade do raio branquial pode-se observar como se espessam cada vez mais as fronteiras das células.

Ao se avançar mais para a base do raio, deixa-se de ver a separação das células e só fica a aparência de uma substância homogênea na qual não se observa mais do que pequenas cavidades isoladas; somente em volta de cada célula se percebe um anel que marca o rastro da verdadeira parede celular. (T. Schwann)

Schwann deduz que toda substância intermediária das cavidades celulares não pode ser formada pelas paredes das células, mas que a substância intercelular contribui aqui para a formação da cartilagem.

Essa substância intercelular já podia ser observada quando as paredes das células ainda se tocavam; apresenta-se em forma de um triângulo situado entre três células contíguas. A formação da cartilagem se baseia aqui, em parte, no espessamento das paredes das células e, em parte, na substância intercelular. Nas cartilagens dos animais superiores, não se observou espessamento algum nas paredes sobre as células. A massa principal da futura cartilagem parece corresponder à matéria intercelular, que engloba várias gerações de células cartilaginosas. (T. Schwann)

Na quarta classe, Schwann inclui o tecido celular (conjuntivo, **Figura 2.35**), o tecido dos tendões e o tecido elástico.



Figuras 2.34 e 2.35: Células de cartilagem (Figura 2.34) e de tecido conjuntivo (Figura 2.35). Imagens cortesia do Atlas Digital de Histologia do Depto. de Histologia da UERJ, autorizada pelo coordenador Luiz Henrique Monteiro Leal, obtida no site: <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/>

A origem do tecido celular é o citoblastema sem estrutura: se forma no interior das células redondas com núcleo, que se transformam em células fibrosas, fusiformes, englobando um corpúsculo redondo

ou oval (núcleo), no que se distingue ainda um ou dois pontos escuros. O núcleo se acha achatado contra a parede da célula. Essas células se afinam por suas extremidades e se transformam em fibras. As pontas dessas células fusiformes dão lugar a fibras que, às vezes, se ramificam e acabam se convertendo em um feixe de fibras enfileiradas. As fibras dos tendões provêm de células, assim como as fibras do tecido celular. (T. Schwann)

A quinta classe de Schwann corresponde a células redondas ou cilíndricas, ou então estreladas (Figura 2.36). No primeiro caso, as células primitivas se situam umas em continuidade às outras, e se soldam entre si pelo ponto de contato. Logo se reabsorvem as separações, de maneira que as células primitivas se convertem em células secundárias, que crescem então como células simples. Esse parece ser o modo de formação dos músculos e dos nervos. No segundo caso, os prolongamentos das células estreladas entram em contato, se soldam e as paredes se reabsorvem, donde resulta uma rede de canais. (T. Schwann)

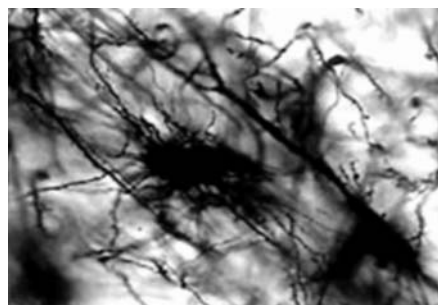


Figura 2.36: Células de tecido nervoso (neurônios). Imagem cortesia do Atlas Digital de Histologia do Depto. de Histologia da UERJ, autorizada pelo coordenador Luiz Henrique Monteiro Leal, obtida no site: <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/>.

Ao comparar suas preparações de embriões e de cartilagem com os cortes vegetais deste, Schwann conclui: *(dada) a identidade de fenômenos tão característicos, a produção das células do tubo neural do embrião não pode ter causa diferente da que dá origem às células vegetais.*

Schwann deduziu, das observações de Schleiden e das suas próprias, com tanta clareza como profundidade, as conseqüências mais gerais que servem para uma teoria da organização e do crescimento dos seres organizados.

Quadro 3.3: Resumo dos principais resultados a que chegou Schwann

1. Todas as células se originam de células preexistentes: As partes elementares mais diferentes dos animais e das plantas se desenvolvem de modo comum: sua origem é, em todos os casos, uma célula. As células se desenvolvem de diferentes maneiras para formar as partes constituintes dos organismos.

2. Todos os seres vivos são feitos de uma ou mais células.

3. A célula é a unidade básica da vida, a menor parte de um ser vivo que continua vivendo.

1838 - um marco para a Biologia.

4. Em cada tecido, só se formam células novas nos pontos onde penetram elementos nutritivos novos: daí a diferença entre os tecidos que contêm vasos e os que não os têm. Nos primeiros, o fluido nutritivo se estende por todos os sentidos; neste caso, as células novas aparecem em toda a espessura do tecido. Em tecidos carentes de vasos, o fluido nutritivo chega pela parte inferior, interna ou aderente, como ocorre na epiderme.

5. As células são pequenos órgãos nos quais residem as forças que dirigem a reabsorção e a secreção. Em todas as superfícies absorventes aparece uma camada de células semelhantes, que constituem o epitélio, rodeiam as vilosidades e são comparáveis às células das esponjas nas raízes das plantas.

6. Todas as células exercem sobre o citoblasto (núcleo) uma ação química a distância (metabolismo) que determina as secreções. Os vasos conduzem o líquido que se modificou; as células que compõem os canais das glândulas são os elementos modificadores.

ANALISANDO A TEORIA CELULAR PROPOSTA POR SCHWANN

A investigação de Schwann não se propõe unicamente a manifestar a existência de uma unidade anatômica para todos os seres vivos, em que pese a extraordinária diversidade de formas, mas a explicar, antes de tudo, os caracteres gerais de sua fisiologia por meio de uma mesma unidade funcional. A célula se define, mais do que por sua membrana, pelo conteúdo: uma massa citoplasmática com um núcleo em seu interior. Essas unidades são, ao mesmo tempo, o suporte das atividades muito variadas e variáveis (plásticas) dos seres vivos. O desenvolvimento é consequência de seu crescimento e da formação de outras unidades; outras funções, como a motriz, estão ligadas a uma diferenciação do conteúdo. As atividades metabólicas não se explicam unicamente pela composição da matéria viva, mas também por sua organização: por exemplo, as secreções não são um simples produto de “exsudação” (vazamento de líquido) dos tecidos, como se costumava afirmar nessa época, mas são produtos da atividade celular. Nos animais, podem dar lugar a substâncias intersticiais sólidas, como a cartilagem da **Figura 2.34** ou líquidas (linfa), mas estas, uma vez isoladas, já não manifestam atividade vital. Schwann admitia a natureza celular dos espaços vazios sem haver elucidado os mecanismos de sua formação e do desenvolvimento do embrião.

O QUE É TEORIA?

No dicionário encontramos: conhecimento especulativo, puramente racional; opiniões sistematizadas; conjunto de conhecimentos e de hipóteses que dão a explicação completa de certa ordem de fatos; conjunto de princípios fundamentais de uma arte ou de uma ciência; doutrina ou sistema fundado nesses princípios.

A Teoria de Schwann se diferencia, ao mesmo tempo, de construções especulativas que descuidam da confrontação sistemática com a experiência e de certos procedimentos indutivos que se limitam a estabelecer fatos gerais a partir da comparação de dados, com objetivo de tornar o conhecimento comunicável. É antes de tudo um avanço orientado para uma problemática. (Pode-se explicar a matéria viva a partir de uma mesma unidade funcional?). Essa problemática conduz a um número ilimitado de conclusões passíveis de teste por experimentação. Apresenta os dois caracteres de uma teoria operativa. De um lado, foi confirmada mediante confrontação com a experiência: em vez de saturar-se de hipóteses que se mostram mais ou menos contraditórias, ganhou coerência e simplicidade graças ao descarte de certos erros iniciais, como o da formação livre de células a partir de um blastema fundamental, ou o da formação dos vasos por agregação e crescimento de células. Por outro lado, a Teoria Celular estimulou a investigação biológica e favoreceu um desenvolvimento quase explosivo da Biologia Geral, tanto pelas idéias que transmitia como pela renovação das técnicas e dos métodos de investigação que provocou. A publicação da Teoria Celular por Schwann assinala o início de um movimento que constrói progressivamente a Biologia Geral sobre bases celulares: o início da Biologia Celular.

A Teoria de Schwann marca também uma evolução interessante nas relações entre a Ciência e a Filosofia. Nessa época esses dois campos se misturavam com frequência. Era comum que as revistas de Filosofia publicassem artigos científicos; por exemplo, ainda em 1851, Clarke publicou seu estudo microscópico da medula espinhal em *Philosophical Transactions*. A adoção de um ponto de vista vitalista ou mecanicista parece uma condição necessária da explicação científica. Schwann se livrou desse dilema afastando-se dos filósofos da natureza para adotar a posição de Kant, que distingue dois pontos de vista complementares: o da explicação científica, que só se refere aos dados acessíveis à experiência, e que compete a uma perspectiva mecanicista; e a do significado dos fenômenos observados, que define os problemas e os objetivos específicos da Biologia. A explicação reducionista da Ciência leva a problemas específicos da matéria viva, como a reprodução, que precisa definir previamente qual a sua finalidade: a manutenção ou a propagação da vida. A teoria admite duas leituras, segundo se parta do ponto de vista mecanicista ou finalista. O finalista insiste em que a célula é um dado que o homem não pode obter imediatamente, e que possui propriedades que lhe permitem manter sua atividade e sua reprodução. O mecanicista

“Teoria, em grego,
quer dizer o ser em
contemplação.”
(trecho da música
Quanta, de
Gilberto Gil)

na célula uma etapa do aumento da complexidade da matéria viva, devida unicamente a ações materiais. A vida se definia como o “modo de existência dos corpos albuminóides”, ou melhor, como o produto de uma interação entre moléculas ordenadas.

A orientação da investigação científica estava influenciada por condicionantes filosóficos prévios, em geral inconscientes. A veracidade da Teoria Celular provém, em parte, do fato de haver permitido o constante enfrentamento dos pontos de vista mecanicista e finalista no plano experimental, assim como a recolocação da formulação de perguntas e da interpretação dos fatos; assim a teoria conseguiu se liberar das armadilhas dos dogmatismos e se renovar.

O organismo é uma associação de células ou se decompõe em células?

Constantemente surge o problema das relações entre a célula e o organismo. É o organismo uma associação de células, ou se decompõe em células? O pensamento de Schwann é vago nesse aspecto que em sua época não podia ser estudado experimentalmente. No entanto, evitou a armadilha das analogias sociais que identificavam as relações célula-organismo com as de indivíduo-sociedade. Mas essa mistura de âmbitos provocou comumente discussões ideológicas que entorpeceram temporalmente o desenvolvimento da Teoria Celular. Os filósofos naturalistas consideravam a comunidade como um todo, pela mesma razão que estimavam que o organismo era um todo. Ao contrário, para Virchow, o organismo era uma associação de células, de onde se deduzia a superioridade da sociedade democrática, o que causou problemas frente ao fracasso da Revolução de 1848. Auguste Comte era contrário à Teoria Celular, pois temia sua transposição para a sociedade, a redução desta a uma simples reunião de indivíduos.

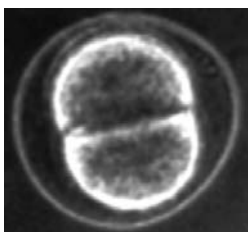


Figura 2.37: Embrião de ouriço-do-mar no estágio de duas células. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://library.thinkquest.org/3564/>

O DESENLACE DA FORMULAÇÃO E A ACEITAÇÃO DA TEORIA

Os trabalhos de Schwann suscitaram um movimento e desenvolveram uma lógica que permitiu que se retificassem rapidamente alguns erros graves e se confirmassem certas afirmações que num primeiro momento haviam parecido aventureiras.

Desapareceram as inexatidões a propósito da origem das células. Nos tempos de Schwann era difícil observar a divisão celular (Figura 2.37), pelo que as observações individuais conduziam a teorias

contraditórias: divisão de células vegetais, formação de células-filhas no seio de uma célula-mãe a partir do núcleo, diferenciação celular no interior do blastema não-organizado. A polarização das investigações para esse problema e os avanços da microscopia permitiram multiplicar as observações sobre a divisão celular nas células vegetais, com trabalhos decisivos de Nägeli (1845), Holmeister (1849) e num número crescente de tecidos animais, em particular nos ovos em fase de segmentação embrionária por Remak (1852). Virchow ampliou essa observação às células patológicas em 1855. Pouco depois, em 1859, os trabalhos de Pasteur dariam um duro golpe nas teorias de geração espontânea dos micróbios. A aproximação dos dois campos converteu a auto-reprodução celular num caráter essencial dos sistemas vivos.

Estabeleceu-se a natureza unicelular dos protozoários. Durante muito tempo todos os microorganismos que vivem na água estiveram agrupados sob a denominação de “infusórios”, quer se tratassem de protozoários, de rotíferos, de algas ou de vermes. O estudo microscópico de outros protozoários revelou uma grande complexidade e uma surpreendente analogia de funções com metazoários (movimentos celulares, captura de presas). Daí as múltiplas tentativas de encontrar os mesmos aparelhos: aparelho digestivo ou genital. Em 1845, Von Siebol formulou de maneira explícita a hipótese de que todos os protozoários deviam ser considerados unicelulares.

Até 1850, as diferentes proposições que definem a Teoria Celular já tinham sido formuladas em bases experimentais, em geral exatas, e todos os biólogos que empregavam o microscópio (embriologistas, biólogos, botânicos, professores de Medicina) tiveram que se situar em relação a ela.

Na Alemanha, fora de certos meios médicos, a receptividade à Teoria foi favorável, às vezes entusiasta. Ela serviu como marco conceitual para a maioria dos tratados de Histologia ou de Anatomia comparada que proliferaram entre 1841 e 1857, de autores como Henle, Gerlach, Reichert, Remak, Leydig e Virchow. O auge do aparecimento dos tratados, surpreendente para a época, demonstra que a Teoria estimulou um intenso esforço de investigação e permitiu recopilar um enorme número de dados dispersos. Durante várias décadas, os citologistas se viram obrigados a inventar técnicas e a estimular o desenvolvimento de instrumentos para responder às perguntas que a Teoria colocava.

Suas investigações permitiram aprimorar a formulação e serviram de ponto de partida para grande parte dos descobrimentos da Biologia Geral, que se multiplicaram a partir de 1860.

Na Grã-Bretanha, os meios médicos se mostraram reticentes, pois o emprego do microscópio ameaçava contrastar com os métodos de diagnóstico. Em 1845, Ackland deu cursos de Medicina com demonstrações práticas de microscopia. Alternando com bandejas de café, no fundo do anfiteatro, os microscópios apresentavam as ilustrações da conferência. Alguns professores se aproximavam de vez em quando, mas não conseguiram se adaptar a esse novo instrumento. Um médico, ao tentar colocá-lo no ponto certo, atravessou a preparação de lado a lado com a objetiva; outro declarou que não podia acreditar na exatidão do que via e que, ainda que as observações fossem exatas, não achava que Deus quisesse que vissem aquilo.

Por outro lado, devido a seu caráter prematuro, a Teoria Celular entrava em choque com a tradição cultural empirista, própria do pensamento anglo-saxão.

Huxley (1835) dizia que as células *não eram instrumentos, mas indicadores; nem produzem os fenômenos vitais, assim como também as conchas reagrupadas em linhas regulares ao longo da praia não eram os instrumentos de que se servia a força da gravidade da lua para atuar sobre os oceanos*. Em sua opinião, devia-se buscar a explicação das atividades vitais nas forças moleculares do protoplasma.

Na França, a Teoria Celular foi combatida por Robin, titular da cátedra de Histologia. Mas Canguilhem demonstrou que essa posição foi muito influenciada pela hostilidade de Auguste Comte à Teoria Celular. Ele a qualificava *de fantástica teoria, por demais fruto de um sistema evidentemente metafísico de filosofia geral*; para ele, uma teoria científica devia dar as coordenadas que permitissem descrever fatos gerais, em vez de raciocinar sobre fatos hipotéticos. Para Robin, a célula vegetal só era uma forma de organização entre outras, como as fibras e as substâncias amorfas. Depois de haver sido um brilhante micrógrafo, Robin abandonou o aperfeiçoamento de suas técnicas e a atualização de suas hipóteses de trabalho. Na França a Teoria Celular não entrou no ensino de Medicina (nem no ensino médio) até a criação de uma cátedra, em oposição, no Colégio de França (1875), e da morte de Robin em 1879. Na próxima aula veremos como se deu a evolução

CÁTEDRAS

Até a década de 60 o ensino na maioria das universidades no Brasil e no exterior ainda era organizado em cátedras e não em departamentos. A cátedra correspondia a uma disciplina (por exemplo Citologia, Histologia, Fisiologia ou Bioquímica), que era ministrada por um professor chamado “catedrático”, que significava o maior especialista, o mais sábio e o mais entendido naquele assunto. Definia portanto uma hierarquia de saber, na qual todos os demais colaboradores do professor catedrático eram apenas “assistentes” ou “colaboradores”.

da Biologia Celular no final do século XIX e durante todo o século XX, até o surgimento da Biotecnologia.

RESUMO

Você viu que, desde as primeiras observações de células no século XVII até a formulação da Teoria Celular por Schwann no século XIX, muitas condições tiveram que ser cumpridas para a evolução do conceito de célula. Viu também que a Teoria Celular foi formulada a partir de uma pergunta fundamental comum que norteou o trabalho de Schleiden em vegetais e o de Schwann em animais: “de onde se originam as novas células?” A conexão entre o conhecimento de múltiplos tecidos, das condições nas quais as novas células surgem em cada um e das características comuns a todas as células (citoplasma, núcleo, origem numa célula preexistente) levou à idéia (conceito) de que todos os seres vivos são feitos de uma ou mais células e de que a célula é a unidade básica da vida, a menor parte de um ser vivo. Inaugurou assim a era da Biologia Celular, do estudo do mundo vivo com base no conceito de célula.

AUTO-AVALIAÇÃO

Não bastou a invenção do microscópio óptico, nem a observação nem a descrição da estrutura microscópica dos seres vivos para que célula viesse a ter uma dimensão funcional. Verifique se você:

1. É capaz de identificar e caracterizar as 4 principais condições que propiciaram o desenvolvimento da Teoria Celular.
2. Percebeu os pilares fundamentais nos quais se baseia a Teoria Celular.
3. Percebeu as implicações da formulação da Teoria Celular para o desenvolvimento da Biologia como área de estudo (até então era chamada de História Natural).
4. Identificou as principais consequências da formulação da Teoria Celular em termos de avanços no conhecimento biológico e de desenvolvimento e elucidação de novas e velhas questões.

Escreva um texto sobre cada um desses quatro pontos.

Evolução do conceito de célula: a visão contemporânea

AULA 3

objetivo

- O objetivo desta aula é analisar como a Biologia Celular se desenvolveu após a construção do conceito de célula e a formulação da Teoria Celular, e qual é a visão atual de célula, de sua origem e sua evolução na Terra.

Pré-requisitos

Para um melhor aproveitamento, você deve dominar o conteúdo das Aulas 1 e 2 e concluir os exercícios e a auto-avaliação sugeridos.

Tudo que existe na Terra – oceanos, rios, montanhas e campos férteis, florestas e flores, criaturas que flutuam, voam, rastejam ou sobem em árvores, tudo –, incluindo nós mesmos, é na realidade constituído dos mesmos, embora reciclados, suprimentos iniciais, excetuada a pequena contribuição dos meteoros. Nosso mundo criou a si mesmo com novos arranjos, a partir dos mesmos átomos que surgiram no interior de uma estrela, que em seguida formaram o metal fundido, a crosta rochosa e os gases do planeta recém-nascido, um planeta que se cobriu de mares e que está nesse momento pronto para dar prosseguimento à dança da vida. Um grande sistema de reciclagem para compreender como a poeira estelar continua a se transformar em um planeta vivo, em toda essa espantosa complexidade de nosso belo mundo.

(Elisabet Sahtouris, em *A Dança da Vida*)

COMO EVOLUIU A TEORIA CELULAR DE SCHWANN E SCHLEIDEN? ELA SE APLICA ATUALMENTE?

A Teoria Celular formulada por Schwann se baseia em três pilares conceituais:

1. Todas as células se originam de células preexistentes;
2. Todos os seres vivos são feitos de uma ou mais células;
3. A célula é a unidade básica da vida, a menor parte de um ser vivo que continua vivendo.

Esses pilares continuam absolutamente válidos até os dias de hoje, mas o conceito de célula evoluiu ainda mais.

EXERCÍCIO 1: ANÁLISE DO CURSO TEMPORAL DE UM PROCESSO

O Quadro 3.1 mostra os principais marcos históricos dessa evolução. Destaque os sete passos (somente sete) que você considera mais significativos nesse processo.

Quadro 3.1: Evolução da Biologia Celular após a formulação da Teoria Celular

1838	Schleiden (1804-1881) e Schwann (1810-1882) propõem a Teoria Celular.
1845 em diante	Desenvolvimento de uma biologia baseada na Teoria Celular: hipótese de que todos os protozoários são unicelulares (Von Siebol, 1845), hipótese da natureza celular dos gametas (Kolliker, 1845; Gegenbaur, 1861).
1845-1855	Muitos estudos sobre divisão celular: Nageli (1845), Holmeister (1849), Remak (1852).
1855	Virchow postula que novas células se formam a partir das preexistentes.
1857	Kolliker descreve as mitocôndrias.
1859	Pasteur demonstra a inexistência de geração espontânea dos microorganismos.
1869	Miescher isola DNA pela primeira vez.
1879	Flemming descreve o comportamento de cromossomas durante a mitose.
1883	Descreve-se que células germinativas são haplóides, e é desenvolvida a Teoria da Hereditariedade com base nos cromossomas.
1850-1885	Introdução de novos corantes (1870-1878), de métodos de corte (micrótomos: 1870-1882), desidratação e montagem, melhoria dos sistemas ópticos com invenção da objetiva de imersão homogênea (1878) e das lentes apocromáticas (1882), do diafragma e do condensador a grandes empresas de microscópios (ex. Zeiss, Bausch & Lomb, Reichert, Powell etc.), melhorando a resolução da microscopia óptica.
1870-1880	Descrição dos estágios sucessivos da mitose em células vegetais (Strasburger, 1975) e animais (Remak, 1880).
1898	Golgi descreve o Aparelho que levaria seu nome.
1907	Invenção da cultura de tecidos por Harrison, seguida de seu aperfeiçoamento por Carrel (1912).
1926	Svedberg desenvolve a primeira ultracentrífuga analítica.
1930	Painter demonstra que os cromossomas gigantes das glândulas salivares de dípteros, conhecidos desde 1881, traduzem de modo visível a disposição linear dos genes.
1938	Behrens usa centrifugação diferencial para separar núcleo de citoplasma, e Zernicke inventa o microscópio de contraste de fase.
1939	A Siemens comercializa o primeiro microscópio eletrônico de transmissão.
1941	Coons usa anticorpos marcados com fluorocromos para detectar antígenos celulares.

1952	Gey e colaboradores estabelecem uma linhagem celular humana contínua.
1953	Crick, Wilkins e Watson propõem a estrutura em dupla hélice do DNA.
1955	Eagle define sistematicamente as necessidades nutricionais de células animais em cultura.
1957	Meselson, Stahl e Vinograd desenvolvem a centrifugação em gradiente de densidade em cloreto de cério para separação de ácidos nucleicos.
1965	Ham introduz os meios definidos sem soros. A firma Cambridge Instruments comercializa o primeiro microscópio eletrônico de varredura.
1976	Sato e colegas publicam artigos mostrando que células de diferentes linhagens precisam de diferentes misturas de hormônios e fatores de crescimento em meios definidos sem soro.
1981	São produzidos os primeiros camundongos e moscas de frutas transgênicos.

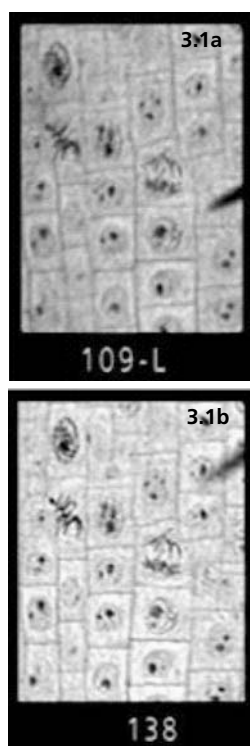


Figura 3.1(a-b): Células em divisão (mitose) na raiz de milho, fotografadas em microscópio com (b) ou sem (a) condensador. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.1-source-microscopes.com>

O desenvolvimento dos microscópios e sua produção por firmas ópticas especializadas, como Zeiss, Nachet, Leitz e Bausch & Lomb, permitiram que fossem introduzidos vários aperfeiçoamentos na qualidade das imagens obtidas.

Os microscópios de lentes acromáticas foram comercializados a partir de 1825, a correção da aberração esférica nas lentes aplanáticas foi inventada por Lister em 1830, e se estendeu com grande rapidez. Até 1840, o poder de resolução dos microscópios mais usados em laboratórios era por volta de 1 μm , magnitude que permite uma primeira exploração do domínio citológico. Dois exemplos de melhoria de imagem por uso de novas estratégias ópticas estão mostrados na Figura 3.1, extraídas do material disponível na Internet por uma empresa fornecedora de microscópios. As Figuras 3.1a e 3.1b estão no mesmo aumento, mas o modelo de microscópio 109-L (Figura 3.1a) não tem condensador, acessório presente no modelo 138 (Figura 3.1b). Já as Figuras 3.2a e 3.2b, os aspectos de cromossomas na divisão celular de raiz de milho são vistos num aumento de mil vezes, com (Figura 3.2a) e sem (Figura 3.2b) a imersão da lente objetiva em óleo. O óleo diminui a diferença da refração da luz na medida em que passa pelo material e pelas lentes, melhorando a imagem.

No período de 1860 a 1900, a Teoria Celular marcou a orientação dos trabalhos complementares, visando ao aprofundamento no conhecimento da organização e da estrutura das células e explicação das funções gerais dos seres vivos em termos de Biologia Celular. Processos como fecundação, desenvolvimento embrionário ou secreção foram estudados com base na Teoria Celular e em paralelo ao desenvolvimento das técnicas de Citologia. Nesse período iniciou-se também uma forte competição entre os diversos países, numa verdadeira “corrida científica”. Grandes progressos foram feitos nos planos dos equipamentos e dos métodos de fixação, coloração e corte de materiais, para acompanhar a melhoria no poder de resolução dos microscópios. As técnicas de fixação foram aprimoradas, sendo mais utilizados os agentes coagulantes fracos, como ácido ósmico, e os compostos de metais pesados. Os corantes se diversificaram, e aos naturais como carmim (desde 1850) e hematoxilina (a partir de 1862) se acrescentaram vários sintéticos, em particular os derivados da anilina, como fucsina e eosina (1878); as condições exatas de seu emprego, como escolha do corante e determinação da concentração favorável, foram definidas mas a invenção desse conjunto de técnicas exigiu cerca de 30 anos. Em 1886 são introduzidos por Pfeffer os corantes vitais (azul de metileno e vermelho neutro). No entanto, nessa época o divórcio entre citologistas e bioquímicos levava a estudos de formas sem conteúdo e de conteúdo sem forma. Pasteur (1822-1887), um químico que manejava o microscópio, foi uma exceção e talvez esse tenha sido um elemento importante em seu sucesso como pesquisador e líder científico.

Entre 1870 e 1880, foram descritas as figuras de mitose nos dois reinos, observadas inclusive in vivo durante seu desenvolvimento efetivo (veja a Figura 3.2).

EXERCÍCIO 2: ANÁLISE DE IMAGEM

A imagem da Figura 3.3 foi obtida em corte de raiz de milho, com uma coloração específica para DNA. Vários núcleos são vistos, em diferentes fases da divisão celular. Como na Aula 5, pegue um papel transparente (vegetal, celofane ou acetato) e desenhe uma cópia sobre a imagem da Figura 3.3, com a maior fidelidade possível de detalhes. Depois recorte todas as células que você identificar e organize todas as parecidas. Identifique as menores e as maiores, as que pareçam ter membrana nuclear,

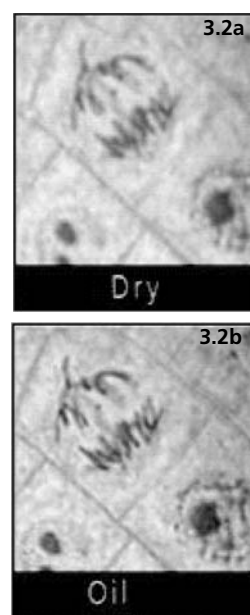


Figura 3.2: Diferença na nitidez das imagens de divisão em raiz de milho, fotografadas com (3.2a) ou sem (3.2b) o uso de lente objetiva de imersão em óleo. Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.1-source-microscopes.com>

as que pareçam ter cromossomas bem condensados, as que pareçam ter acabado de se dividir e compare-as. Lembre-se de esquemas que você já estudou sobre a divisão celular e proponha uma sequência para os eventos morfológicos que você conseguir perceber em cada célula. Ao final da aula compare com a sequência proposta no Guia de soluções de problemas e exercícios, e verifique se está parecida com a sequência que você fez. Discuta esses resultados com seu tutor no pólo.

RETOMANDO O FIO DA MEADA

As primeiras contagens de cromossomas foram realizadas a partir de 1860, e a constância dos cromossomas ao longo das divisões sucessivas levou Radl (1885) a propor sua permanência durante a interfase, período em que as células não estão se dividindo.

A partir de 1880, o interesse dos investigadores se centrou cada vez mais no citoplasma. Para os fundadores da Teoria Celular, o citoplasma era uma massa gelatinosa homogênea cuja atividade metabólica e movimento se devia somente à sua composição química. Mas o isolamento dos componentes químicos demonstrou que não bastava a simples presença das moléculas para provocar as atividades celulares, e que as células

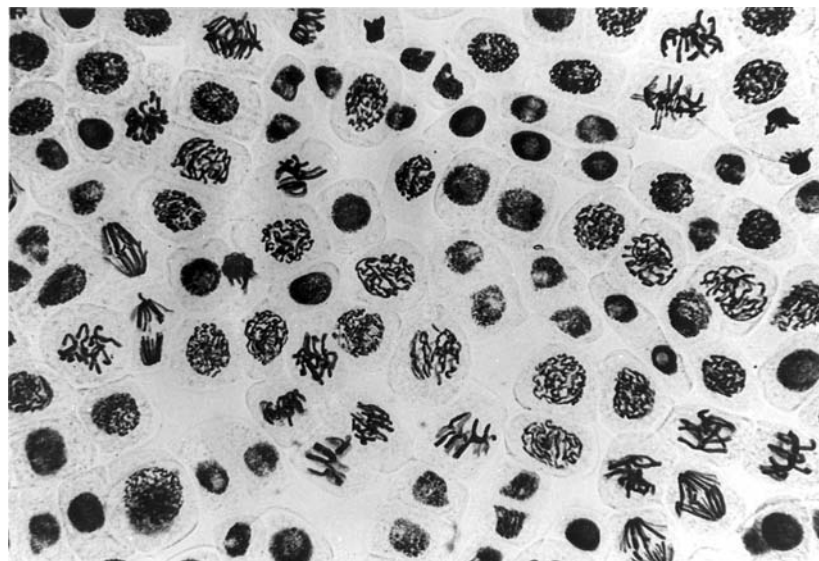


Figura 3.3: Células em divisão (mitose) na raiz de milho, fotografadas em microscópio óptico. Reprodução autorizada da imagem de John McLeish, do livro *Molecular Biology of the Cell*, de Alberts e cols., 1983, Garland Publ. Inc. NY.

podiam morrer com facilidade: era suficiente para provocar a morte. Em 1894 Fisher e Hardy demonstraram a relação entre o agente fixador (o que estabiliza a estrutura do material) e o tipo de artefato produzido.

E muita dúvida foi levantada sobre as estruturas visíveis no citoplasma sob condições de fixação e coloração. A existência das mitocôndrias (**Figura 3.4**) e do aparelho de Golgi (**Figura 3.5**) foi questionada por muito tempo.

Paralelamente à fisiologia do organismo, desenvolveu-se uma Fisiologia geral baseada na célula. Em 1894, Verworn trabalhou de maneira sistemática esse ponto de vista em seu tratado de Fisiologia geral: *Se a fisiologia se preocupa em explicar os fenômenos vitais e gerais, só chegará a um bom final se vier a se converter em fisiologia celular.*

Mas as funções não podiam ser explicadas simplesmente a partir das formas descobertas: atribuía-se uma função às estruturas com base em argumentos geralmente discutíveis. Os conhecimentos sobre o citoplasma não explicavam o metabolismo; não bastava demonstrar a permanência dos cromossomos para explicar a hereditariedade. Outra questão aparentemente contraditória com o conceito de célula formulado por Schwann era a existência de pontes citoplasmáticas entre as células (os plasmodesmas das células vegetais) ou de células multinucleadas (sincícios), como os músculos esqueléticos.

Será que a Teoria Celular estaria deixando de ser um instrumento de investigação, levando apenas a pesquisas de detalhes, e não estaria mais contribuindo para tentar explicar as grandes manifestações da vida na célula, no indivíduo, na espécie? Que articulação ainda podia existir entre os fatos e a teoria? Para Weismann, *uma teoria não é um cofre. Propõe temas de investigação submetidos à verificação e só podem ser refutadas as interpretações enquadradas com precisão.* Giordan sugere que até 1900 a Teoria Celular não havia esgotado seu potencial inovador, mas havia, sim, chegado a um ponto de desenvolvimento que tornava necessária uma reflexão epistemológica.

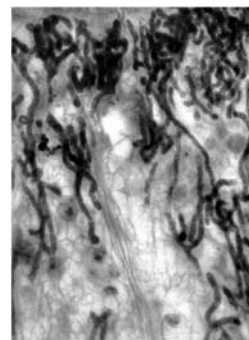


Figura 3.4: Marcação de mitocôndrias (em escuro) em células epiteliais, vistas por microscopia eletrônica de alta voltagem. Reprodução autorizada da imagem de Pierre Favard, do livro *Molecular Biology of the Cell*, de Alberts e cols. 1983, Garland Publ. Inc. NY.

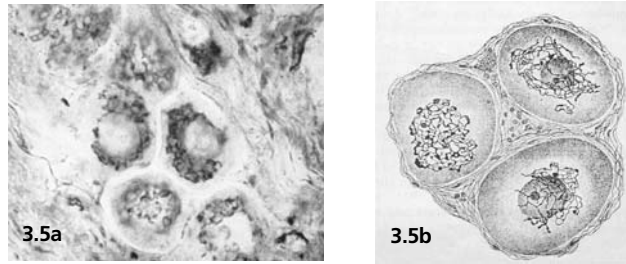


Figura 3.5: Lâminas originais de Camilo Golgi (3.5a), fotografadas com tecnologia dos anos 90, e desenhos originais de suas publicações (3.5b). Reprodução autorizada de figuras da publicação “Camilo Golgi and the discovery of the Golgi apparatus”, de Ariane Dröscher, em *Histochem. Cell Biol.* 109:425-430, 1998.

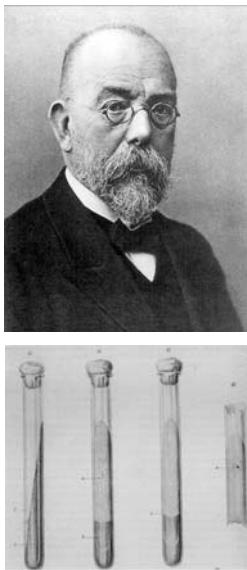


Figura 3.6: Robert Koch (3.6a) e uma ilustração original (3.6b) com a descrição do método para obtenção de culturas puras do bacilo. Reprodução autorizada de figuras da publicação *Historical perspectives on the etiology of tuberculosis*, de David S. Barnes, publicado em *Micr. Infec.* 2: 431-440, 2000.

Como isso não ocorreu, a evolução da Teoria Celular iria sofrer muito no decorrer das décadas seguintes. Isso aconteceu devido a mudanças na sociedade e no modo de pesquisa e de ensino. Ao converter-se numa disciplina materializada em ensinamentos específicos e em laboratórios especializados, a Citologia passa a ocupar um território definido no conjunto do saber biológico. Passa pela fragmentação disciplinar simbolizada pela especialização das cátedras, e tende a perder de vista sua função inicial, de estabelecer uma ponte de união entre os diferentes campos da Biologia. Alheias a essa problemática, a Genética, a Microbiologia, e sobretudo a Bioquímica se constituem como campos autônomos, não integrados com a Citologia nem em seu ensino oficial, nem mesmo na formação de pesquisadores.

Em paralelo à evolução dos conhecimentos sobre as células animais e vegetais, surgiu a Microbiologia, introduzindo novos desdobramentos à Teoria Celular de Schwann, levando ao desenvolvimento do **conceito de célula procariótica**. Essa evolução surgiu entre 1850 e 1890, com o desenvolvimento da bacteriologia, a partir dos estudos iniciais de Koch (Figura 3.6a) e Pasteur (Figura 3.7), bem como de seus colaboradores, adversários respectivamente na Alemanha e na França. Após o desenvolvimento dos métodos de cultivo em meio semi-sólido por Koch (Figura 3.6b), que possibilitou a obtenção de culturas puras com bactérias de diferentes tipos, inclusive as patogênicas (tuberculose, difteria, sífilis, cólera), a orientação morfológica progressiva da Biologia Celular tropeçava num obstáculo importante: como explicar que as bactérias possam manifestar as propriedades das células vivas se sua aparência não demonstra a maioria dos elementos do arsenal celular, sem núcleo, sem plastos, sem sexualidade? Isso só foi resolvido quando a observação morfológica dos cromossomos foi substituída pela detecção dos ácidos

nucleicos, quando então as bactérias (e depois os vírus) mudaram de aberrantes para o material mais apropriado para os estudos de genética e de certas vias metabólicas, como a síntese de proteínas.

Essas questões só começaram a ser superadas quando se intensificou o uso de corantes vitais e da cultura de células, inventada em 1907 por Harrison e posta em prática por Carrel a partir de 1912, porém sem se estender a muitos laboratórios de Citologia. Além disso, procurando aumentar o poder de resolução dos microscópios, foi introduzida a iluminação por luz ultravioleta, que a partir de 1920 se concretizou nos microscópios de fluorescência. Finalmente começou-se a tentar situar ao nível da célula as manifestações bioquímicas características dos seres vivos. A Bioquímica já havia identificado muitos componentes, já havia descoberto certos produtos do metabolismo intermediário, bem como as enzimas que catalisavam certas reações, esboçado a arquitetura de certos ciclos metabólicos, mas isso não era explicável através de uma organização celular estática. Foram idealizadas técnicas para localizar componentes, como análise microquímica, uso de isótopos naturais como chumbo e deutério, estudo da composição dos ácidos nucleicos ao microscópio de luz UV acoplado a fotômetros etc. E foram introduzidas a centrifugação e a ultracentrifugação para isolar e determinar a composição química de componentes celulares e sua atividade (gerando os resultados que culminaram com os prêmios Nobel de Fisiologia e Medicina em 1974).

Foi a comoção provocada pela Segunda Guerra Mundial que mudou profundamente as condições de pesquisa e permitiu a renovação da problemática e dos procedimentos de inovação, especialmente com a introdução da microscopia eletrônica (microscópio atual na Figura 3.8). Isso levou ao renascimento da Teoria Celular a partir de 1945. Vamos ver um pouco como isso se deu.

A GUERRA E O DESENVOLVIMENTO DA BIOLOGIA CELULAR

Pouco antes da Segunda Guerra Mundial, os responsáveis políticos e os organismos decisórios concluíram que a pesquisa era um fator essencial de poder das nações e do desenvolvimento econômico. Aumentaram os recursos, orientaram e coordenaram a pesquisa. Em 1939, na França foi criado o CNRS (Conselho Nacional de Pesquisa



Figura 3.7: Pasteur, busto em frente ao Instituto Pasteur de Paris. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Tania Araújo-Jorge



Figura 3.8: Microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 10, usado no Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular do Instituto Oswaldo Cruz. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Maria Nazareth Meirelles.

Científica), cujo similar brasileiro (CNPq) foi criado 13 anos depois. A evolução se acentuou no final da guerra devido à corrida armamentista, ao desenvolvimento da energia nuclear e às enormes verbas necessárias para a exploração espacial. A pesquisa se tornou uma função essencial da sociedade moderna e absorveu cerca de 3% do PIB dos países desenvolvidos. Diminuiu a distância entre pesquisa básica e aplicada, e os centros de investigação espacial e de desenvolvimento armamentista passaram a contratar equipes universitárias de pesquisa, injetando recursos extra-orçamentários via contratos temporários.

O fato de um conselho científico passar a definir as grandes linhas de investigação criou confrontações e contatos interdisciplinares que facilitaram a renovação das questões e das técnicas, estimulando o trabalho em equipes, levando à participação de competências complementares para a solução de um mesmo problema. Por exemplo, a contagem de cromossomos passou a ser reprodutível quando Tijo e Levan articularam cultura de células, transferência para meio hipotônico e um método específico de fixação. Fruto do grande avanço da Física nesse período, o primeiro microscópio eletrônico foi comercializado em 1939. Porém, o emprego seguro da microscopia eletrônica, uma das bases da Biologia Celular contemporânea, exigiu 15 anos de pesquisa para definir os métodos específicos de fixação, corte e preparação que dessem resultados úteis e confiáveis, como mostrado na **Figura 3.9**.

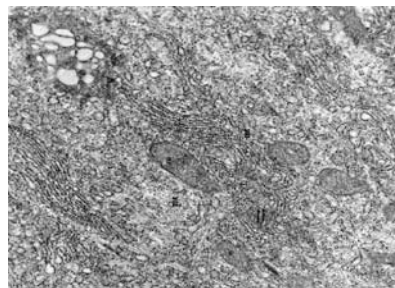


Figura 3.9: Citoplasma de célula eucariótica visto em microscopia eletrônica de transmissão. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Tania Araújo-Jorge.

Essa articulação de técnicas de microscopia eletrônica, óptica, bioquímicas, e imunoquímicas levou ao **conceito atual de células eucariótica e procariótica**, em que estrutura e função estão mais claramente associadas, no qual o desafio passa a ser desvendar os sistemas funcionais de regulação dos diferentes processos celulares vitais.

A diferença fundamental entre células procarióticas e eucarióticas refere-se ao processo de compartimentalização por membranas, especialmente quanto ao material genético.

EXERCÍCIO 3: ANÁLISE DE IMAGEM

As imagens da Figuras 3.9, 3.10 e 3.11 foram obtidas com microscopia eletrônica de transmissão. Como no exercício 2, pegue um papel transparente (vegetal, celofane ou acetato) e desenhe uma cópia sobre as imagens dessas figuras, procurando identificar os compartimentos de cada uma. Verifique em quais imagens os compartimentos são definidos por membranas. Há estruturas diferentes em todas elas? Há compartimentos em todas elas? Discuta esses resultados com seu tutor no pólo.

O Quadro 3.2 mostra a classificação atual dos seres vivos baseada nas diferenças fundamentais de sua estrutura celular. O Quadro 3.3 indica a origem evolucionária das três linhagens de seres vivos, tal como atualmente se constrói (Woese, 1998; Kostianovsky, 2000)^{1,2}.

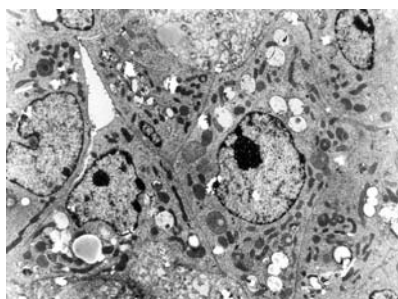


Figura 3.10: Células eucarióticas (fígado de camundongo) vistas em microscopia eletrônica de transmissão. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pelo autor Renato Porrozzi de Almeida.

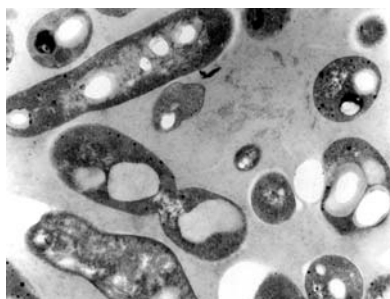


Figura 3.11: Células procarióticas (bactérias metanotróficas) vistas em microscopia eletrônica de transmissão. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Tania Araújo-Jorge.

Quadro 3.2: Classificação atual dos seres vivos

Procariotos	Eucariotos
Sem núcleo individualizado – têm uma “área” nuclear	Com núcleo individualizado
Sem sistema de membranas	Com sistema de organelas delimitadas internas (organelas) por membranas internas
DNA presente geralmente como um único cromossoma, circular, que contém apenas um conjunto de genes	DNA presente como cromatina no núcleo, estruturado em diversos cromossomas, e com exceção dos gametas está organizado em dois conjuntos de genes (diplóides)
Divisão por fissão binária	Divisão por mitose (em geral)
Células mais antigas (3,8 bilhões de anos)	Células mais recentes (1,5 bilhão de anos)
Subdividem-se em: arqueobactérias (3 bilhões de anos) e eubactérias (3,8 bilhões de anos)	Subdividem-se em: plantas, animais, fungos e protistas (protozoários)

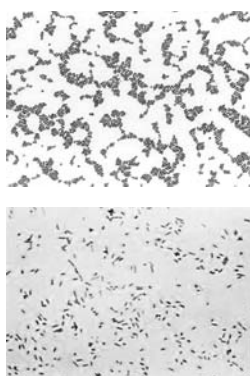
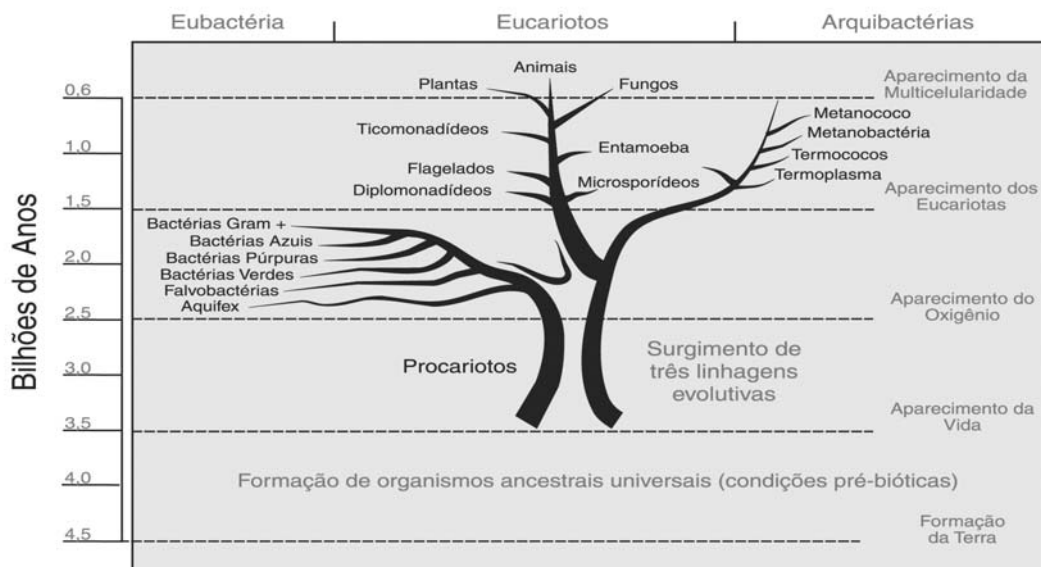


Figura 3.12: Bactérias coradas pelo método de Gram, quando positivas, aparecem roxas (3.12a), e quando negativas aparecem avermelhadas (3.12b). Reprodução autorizada da imagem obtida no site <http://www.bact.wisc.edu/MicrotextBook/>

É muito mais difícil classificar procariotos e protistas eucariotos do que classificar eucariotos multicelulares, por serem mais simples e terem muito menos características óbvias. Algumas características usadas para classificar os procariotos incluem: coloração pelo método de Gram positivas ou negativas se tiverem ou não afinidade pela estrutura da parede celular, respectivamente – **Figura 3.12**), percentagem molar de guanina e citosina no genoma, temperatura de crescimento, capacidade de formar esporos, existência e tipo de aceptor de elétrons para respiração, capacidade fotossintética, motilidade, forma celular, capacidade de usar fontes diversas de carbono e nitrogênio, ou ainda requerimentos nutricionais específicos. Isso permite uma classificação determinativa que, no entanto, não se baseava em nenhum sistema natural do procarioto e não permitia a projeção de propriedades de organismos já descritos para outros novos e estreitamente relacionados porém não idênticos. Não permite também estudos sobre origem e evolução de funções celulares, como resistência a drogas, aerobiose ou fotossíntese, porque não havia quadro evolutivo (histórico). A filogenia molecular veio suprir essa deficiência nas classificações de procariotos, comparando similaridades em seqüências de DNA, de RNA ou de proteínas.

Quadro 3.3: Esquema da árvore evolutiva: os eucariotos e as arqueobactérias têm um período de evolução simultânea e por isso têm várias propriedades comuns



ESTRUTURA E FUNÇÃO: DA ANATOMIA À FISIOLOGIA CELULAR

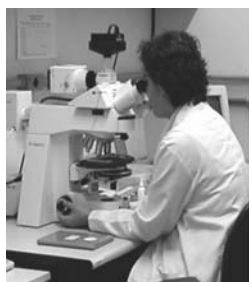
Após a confirmação do primeiro grande postulado, de que todas as células se originam de células preexistentes, duas grandes áreas foram intensamente exploradas. A primeira, iniciada quando se observaram corpúsculos intracelulares, como as mitocôndrias (Figura 3.4) e o aparelho de Golgi (Figura 3.5), e posteriormente todas as demais organelas intracelulares hoje conhecidas (Quadro 3.4). Isso levou ao desenvolvimento do conceito de *compartimentalização estrutural*, seguido posteriormente pela *compartimentalização funcional* das atividades metabólicas das células. A segunda área relacionou-se aos estudos do processo de divisão celular, aos estudos sobre o comportamento dos cromossomos, à descoberta do DNA e à evolução do conceito de gene, essencial para a Biologia Celular contemporânea, nesta era que vivemos, já chamada pós-genoma.

Quadro 3.4: Compartimentos e suas funções nas células eucarióticas

<p>1 m = 60.000.000.000.000 de células</p>	Compartimento	Função	Presença em
	Núcleo e seus compartimentos: nucléolo, poros, cromatina (DNA + histonas)	Compartimentalização do metabolismo, separando todas as funções ligadas ao DNA (replicação e transcrição); no nucléolo ocorre a formação dos ribossomas que são então exportados para o citoplasma	Eucariotos (animais, vegetais e fungos)
	Citoplasma	Ambiente físico-químico no qual ocorre a maioria dos processos metabólicos das células, tradução das mensagens de RNA	Eucariotos e procariotos
	Membrana celular	Limite celular, controle de entrada e saída de substâncias, comunicação celular e percepção do meio ambiente	Eucariotos e procariotos
	Matriz extracelular	Suporte, sinalização e comunicação celular, retenção de substâncias e nutrientes	Eucariotos e procariotos
	Parede celular (especialização da matriz extracelular)	Suporte, proteção, filtração molecular de substâncias	Eucariotos (vegetais, fungos) procariotos (eubactérias)
	Junções intercelulares	Comunicação intercelular, associação funcional de células de um mesmo tecido	Eucariotos

Citoesqueleto	Rede de fibras (túbulos e filamentos) envolvida no movimento e na forma celular, no transporte intercelular de vesículas, interconectando todas as organelas e ancorando-se na membrana	Eucariotos e alguns Procariotos (envolvido na forma)
Ribossomas	Síntese de proteínas; em procariotos os ribossomas são mais simples	Eucariotos e procariotos
Sistema de endomembranas: retículo endoplasmático, Golgi, endossomas	Síntese e trânsito de substâncias (lipídeos, proteínas e glicoproteínas), para dentro e fora da célula	Eucariotos
Lisossomas	Digestão celular em ambiente ácido	Eucariotos
Peroxisomas	Detoxicação, por ação de catalase	Eucariotos
Mitocôndrias	Respiração; controle de apoptose	Eucariotos/origem procariótica
Cloroplastos	Produção de glicose, conversão de energia luminosa em energia química	Eucariotos/origem procariótica
Cílios, flagelos e pili	Movimento: estruturas especiais para movimentação e conjugação	Eucariotos e procariotos
Centríolo	Organização do fuso mitótico	Eucariotos (só animais)

Esse conceito de compartimentalização funcional das células eucarióticas, estruturadas em organelas (**Quadro 3.4, Figura 3.11**) implica exatamente o que sua origem francesa (“*organelles*”) quer dizer: pequenos órgãos nas células, todos trabalhando duro em suas próprias funções, ainda que, como um todo, elas mantenham a célula viva e ajudem a manter o equilíbrio (a homeostasia) do ambiente celular interno. Não vamos descrever detalhadamente cada uma, pois isso será objeto do estudo aprofundado da Biologia Celular, em momentos sucessivos. Mas é importante saber que a descrição de diversas organelas nas células eucarióticas trouxe muitas respostas, mas colocou cada vez mais perguntas sobre a origem e a função de cada um desses compartimentos. Essas questões alimentam hoje uma pesquisa que produz em média 10 mil novos trabalhos por ano, sobre temas variados de Biologia Celular.



Figuras 3.13 e 3.14: Microscópios atuais usados no Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular do Instituto Oswaldo Cruz. Microscópio óptico (Figura 3.13) e microscópio eletrônico de varredura (Figura 3.14). Imagens cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Tania Araújo-Jorge

Os instrumentos disponíveis atualmente, como os exemplos das Figuras 3.8, 3.13, 3.14, permitem a obtenção de imagens estáticas e dinâmicas das células, cobrindo aumentos até 1.500 vezes no caso da microscopia óptica (**Figura 3.13**, limite de resolução = 200 nm) ou até 1.000.000 de vezes no caso da microscopia eletrônica (**Figuras 3.8 e 3.14**, limite de resolução = 0,2 nm). Muitos recursos ópticos e eletrônicos estão disponíveis, como poderá ser visto mais profundamente no curso de Biologia Celular I, tais como contraste interferencial e combinação de filtros ópticos ou modificações no tipo de iluminação, como campo claro e escuro. A microscopia de fluorescência e seu aperfeiçoamento no sistema confocal a *laser* garantiram um “renascimento” da microscopia óptica, que hoje compõe, com os demais tipos de microscopia e com um enorme arsenal de abordagens instrumentais e metodológicas aplicáveis a células vivas, a base sobre a qual a nova Biologia Celular está sendo construída, que possibilita a busca para as respostas a questões ligadas não apenas à estrutura mas a mecanismos e regulação das funções celulares a nível molecular. As mudanças nas escalas do que estaremos discutindo estão ilustradas na **Figura 3.15**.

Mas existe uma diferença entre a visão com que o cientista admira as imagens de células obtidas por esse novo arsenal tecnológico, por mais bela que seja, e a visão que um não-especialista pode compor com tudo isso, que na maioria das vezes fica bastante fragmentada. Por isso reproduzo a seguir um trecho do livro recente de André Giordan (Giordan, 1999)³, ainda não traduzido do francês para o português,

nem publicado no Brasil. No entanto, segundo o que conheço é dos que melhor retrata uma visão simples e clara do papel das células na composição de nosso corpo:

...Todos esses dados dão apenas uma simples idéia da organização sensacional e maliciosa do meu corpo. Ele contém quarenta a sessenta mil bilhões (13 zeros!) de unidades de base: as células. Essas pequenas queridas não ficam nunca desempregadas e participam, sem exceção, na minha manutenção ou meu funcionamento. Em resumo, eu sou uma «empresa» que emprega dez mil vezes mais indivíduos do que a população total da Terra!

Melhor: cada uma das minhas células não é só um modesto tijolinho, sabiamente arrumado ao lado de suas vizinhas. Ela tem em seu interior sofisticações impensáveis. Sua membrana, uma pele de alguns centésimos de micra de espessura (são necessárias mil delas para obter um milímetro), é por si só uma obra de arte de arquitetura. O que espanta mais é seu aspecto mutável e mutante. Algumas são profundamente fissuradas ou exibem depressões em crateras, outras são deformadas por suas protuberâncias. Todas essas células são, em todo caso, recheadas de receptores, «antenas» escondidas em suas dobras, ou desdobradas para decodificar suas informações vindas de outras células nervosas.

Todas se comunicam, recebem muitos milhares de mensagens diferentes a cada segundo, cada uma podendo se relacionar com muitas, centenas de milhares de exemplares e, enquanto trabalham, conversam assim, para se coordenar. Vem daí sua eficácia.

A pequenos espaços, a parede das células se deforma, sob o efeito das “bombas” (proteínas complexas) que aspiram substâncias e expulsam outras, em geral açúcares simples como glicose ou sais minerais. As conseqüências desse mecanismo são fundamentais: é sobre esse princípio que se fabrica o influxo nervoso na base de minhas reações e de cada um de meus pensamentos.

1 célula =
100.000.000.000
de moléculas

Em outros locais ainda, o envelope de membrana se invagina completamente. Fluxos de matéria são projetados com grande estrondo dentro de enormes bolsas (de endocitose, para os entendidos) que facilitam a entrada de substâncias complexas ou insuficientemente digeridas, como as proteínas ou os lipídeos. Rios tumultuosos de substâncias de todo tipo, pequenas, grandes, livres ou associadas a transportadores filiformes,

distribuem-se em todas as direções. Centenas de milhares de reações químicas acontecem aí a cada instante.

No entanto, não reina a baderna no citoplasma, como os pesquisadores gostam de denominar essa porção do espaço interior em cada célula. Tudo aí é organizado, regido, planejado. Vesículas, bolsas e tubos isolam os protagonistas. Milhares de oficinas especiais. As organelas fazem o resto. Não que estas últimas brilhem por seu tamanho: a maior parte não é nem mesmo visível ao microscópio. Apenas com uma aparelhagem eletrônica, que aumente 1.000 a 2.000 vezes, pode-se vê-las. Ora, uma simples célula de alguns centésimos de milímetro pode conter centenas de mitocôndrias (1.000 a 2.000 nas células do fígado – Figura 3.10), locais de intensa atividade energética, ou ainda dezenas de milhares de ribossomas que sintetizam milhares de proteínas diferentes.

Felizmente, a Vida, em sua genialidade, encontrou o modo de compactá-los e reduzir atravancamento: as letras dessas mensagens são substâncias químicas. Com um tamanho que não passa de meio nanômetro (isto é, um bilionésimo de um metro), estocar muito num espaço ínfimo é uma Babel.

SIMBIOSE

É um termo criado em 1873 pelo botânico alemão Anton de Bary, e significa a convivência de tipos muito diferentes de organismos. Foi aqui adaptada por Giordan para se referir a moléculas.

*É claro que essas células são, por sua vez, constituídas de elementos imensamente menores: as moléculas. Cem bilhões (11 zeros!), em média, se abarrotam dentro de cada uma de minhas células. Ao todo, um corpo humano de cerca de 70 quilos tem 6×10^{24} destas peças constitutivas. Seis milhões de bilhões de bilhões de moléculas, entremeando-se em perfeita **SIMBIOSE**.*

Essas moléculas, de novo, se decompõem em elementos ainda menores: os átomos. Mil quadrilhões (ou um bilhão de bilhões de bilhões), próximos de algumas unidades, me compõem. Por fim, cada um de meus átomos comporta um ou vários prótons, nêutrons e inúmeros elétrons em interação, constituídos por sua vez, ao menos os primeiros dos três, por partículas elementares, os quarks.

Fiquemos por aqui. Evitemos de nos atrapalhar descendo mais ainda no infinitamente pequeno. Não é fácil, na verdade, deixar de se sentir deslumbrado diante de um tal luxo, uma tal variedade de elementos. Vamos resumir: meu corpo é constituído de um sistema de órgãos compostos de células contendo organelas fabricadas a partir de moléculas feitas à base de átomos que compreendem um núcleo com um ou mais prótons e eventualmente nêutrons feitos a partir de quarks, sem esquecer os elétrons.

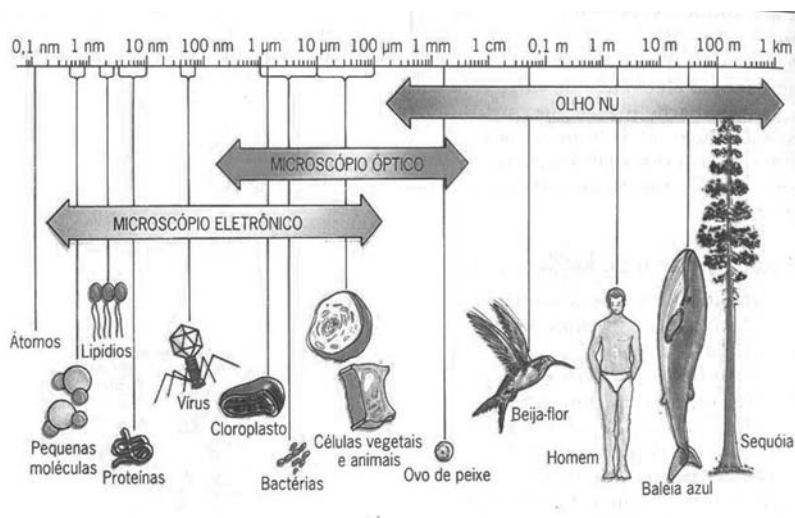


Figura 3.15: Escalas em potências de 10.

O tamanho respectivo desses elementos pode ajudar a ver mais claro. Suponhamos que um átomo tivesse na base um milésimo de milímetro; uma molécula, cem vezes maior, mediria nessa escala um milímetro; uma proteína, que é uma grande molécula, um centímetro; um vírus, 10 centímetros; uma bactéria, cem vezes maior que um vírus, um metro; e uma célula, 10 mil vezes maior do que uma molécula e um milhão de vezes maior do que um átomo, 10 metros.

Agora nós dois. Aqueles dentre nós que medem 1,75 m, mediriam, sempre nessa escala, 1.750 km, a distância de ida e volta Rio-Brasília de avião. Para estes – ou estas – que medem um metro e sessenta, chegam aos 1.600 km.

Face a tal complexidade, meu eu biológico, que chegou a esse ponto de definição, não pode ficar parado, insensível: um sentimento legítimo de orgulho e uma prazer superior deve invadir meu ser. A próxima vez que eu me olhar no espelho, pela manhã, vou me perceber de um outro modo. Vou me encher de orgulho, sabendo que sou imensamente mais elaborado que todos os objetos que me cercam. E vou me repetir que sou capaz e responsável por governar semelhante “mecânica”, o que me eleva à categoria de “divindade”! Que tal, desde já, procurar mais alguém? Um aumento de consciência e de respeito por meu corpo me facilitaria a tarefa. Estresse, excesso de comida, de bebida, de drogas, a começar pelo álcool, o tabaco e os medicamentos inúteis, não são sempre indispensáveis quando analisados a distância.



Figura 3.16: Rio-Brasília

Você pode saber mais sobre biosfera em Dinâmica da Terra.

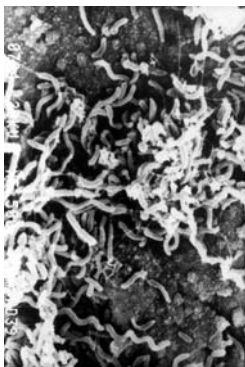


Figura 3.17: Biofilme de células procarióticas (bactérias redutoras de sulfato) vistas em microscopia eletrônica de varredura. Imagem cortesia da Coleção Digital de Imagem Biológica do Instituto Oswaldo Cruz, autorizada pela autora Claudia M.L.M. Coutinho

PROCARIOTOS E EUCARIOTOS: MUITOS TIPOS DE CÉLULAS, CÉLULAS DENTRO DE CÉLULAS, OU CÉLULAS EVOLUINDO EM CÉLULAS?

Uma das questões que permanecem atuais é a da origem evolutiva das células eucarióticas (**Quadro 3.3**). Desde as primeiras observações de bactérias por Leeuwenhoek, por volta de 1660, até o nascimento oficial da Bacteriologia com Koch, em 1882, e a compreensão atual de que nossa biosfera e nossa própria história evolutiva está interligada com a vida microbiana, foi um longo caminho. 80% da história da vida na Terra são microbianos: a primeira célula viva apareceu há cerca de 3,8 bilhões de anos, enquanto a multicelularidade há apenas 600 milhões de anos (correspondendo à explosão de vida animal no período geológico Cambriano), e o primeiro registro fóssil de um humano data de apenas de 35 mil anos atrás. Portanto, durante mais de 3 bilhões de anos, só existiram esses seres unicelulares.

As bactérias replicaram-se, evoluíram e se adaptaram com muito sucesso e estão presentes em cada canto do planeta, até mesmo em áreas de temperaturas extremamente altas ou baixas. Elas se organizam em biofilmes (**Figura 3.16**), que funcionam como os tecidos de organismos multicelulares. Ainda sujeito a controvérsia, a cronologia do aparecimento de organismos eucariotos, segundo alguns cientistas, é de aproximadamente 1,4 bilhão de anos atrás, e mostra milhões de anos de “parada” evolutiva, em vez do “gradualismo” em que se pensava antes, e se relaciona com o chamado “equilíbrio pontual” (Gould & Eldredge, 1993)⁴, usado para descrever a evolução das espécies: longos períodos de estagnação (ou equilíbrio) são interrompidos por períodos rápidos de mudanças bruscas (ou pontuações). Esse mesmo padrão de processo pode ter ocorrido no início da evolução celular.

Apesar de suas diferenças, os eucariotos e procariotos são semelhantes a nível molecular porque são compostos pelos mesmos tipos de moléculas. Retomando as palavras de Elisabet Sahtouris (Sahtouris, 1998)⁵, que citamos na abertura deste texto, “tudo que existe na Terra é na realidade constituído dos mesmos, embora reciclados, suprimentos iniciais, excetuada a pequena contribuição dos meteoros”. Crick dizia: “Na natureza há apenas uma linguagem: a química.” Retomo parte do texto de André Giordan, do mesmo livro e capítulo citado anteriormente:

Resta que, apesar de sua alta organização, meu corpo é fabricado a partir de um número muito pequeno de elementos químicos. Dois terços de meu peso são constituídos, em termos de moléculas, de água. Água corrente! Eu, que peso 70 quilos, pesaria 23 sem água. Os glicídios (açúcares), os lípídeos (gorduras) e as proteínas representam praticamente todo o resto. A isso se acrescenta uma pitada de sais minerais. E o material genético (os ácidos nucleicos), onde está estocada toda a informação necessária à minha fabricação e ao funcionamento de meu organismo? Irrisório: menos de um grama. Tratando-se de átomos, enfim, 96% de minha pessoa repousam sobre somente quatro deles: oxigênio (que só existe sob forma de gás), carbono, hidrogênio e nitrogênio. Os átomos de hidrogênio são os mais numerosos do lote (dois terços), mas muito mais leves, se comparados aos outros: 16 vezes menos pesados que os átomos de oxigênio. Isso representa, em massa, sempre para um corpo de 70 quilos: 45 quilos e meio de oxigênio, 12 quilos de carbono, 7 quilos de hidrogênio e dois quilos e 100 gramas de nitrogênio, um quilo e meio de cálcio, oitocentos e sessenta gramas de fósforo, trezentos gramas de enxofre, 70 gramas de cloro, alguns gramas de magnésio, de ferro, de fluor, de zinco, de cobre, alguns miligramas de iodo, de cobalto, de manganês, de molibdênio, de cromo, de selênio e traços de valádio, de níquel, de alumínio, de chumbo, de estanho, de titânio, de bromo, de boro, de arsênico, de silício e até de ouro! Mas somente alguns microgramas deste último (na química da Vida, a raridade de um elemento não significa que não tem interesse. Meu corpo não poderia viver sem essas quantidades infinitesimais que constituem os poucos microgramas de ouro contidos em mim, assim como os poucos microgramas de valádio, pois todos os dois participam de minha proteção imune, e são tão indispensáveis quanto o quilo de cálcio). Tantos elementos que se encontram sobre, e sob, a Terra. Ao preço atual das matérias-primas, eu “valeria” com meu corpo, se essa idéia surgisse em mim, cerca de 100 dólares. E, ainda, comprando produtos químicos de boa qualidade. Mas nada me impede essa idéia: mesmo não custando caro, eu não tenho preço.

Com as pesquisas sobre a origem de mitocôndrias e cloroplastos, e com o acúmulo de evidências sugerindo que são antigos hóspedes bacterianos de um fagócito primitivo, pela primeira vez se começou a conceber que as células eucarióticas não passam de **QUIMERA**, ou seja, de

QUIMERA

Termo original latino – *chimaera*, que designava um monstro fabuloso formado com partes de vários animais.

estruturas mistas, compostas por partes de origens diferentes. Esse novo conceito de célula teve importantíssimas implicações. Por um lado, levou à identificação de conjunto de genes de origens diferentes nas células eucarióticas, como por exemplo os genes do DNA nuclear e do DNA mitocondrial. Esses dois tipos de materiais genéticos mantêm certas diferenças que permitem por exemplo que marcadores de velocidade evolutiva de um determinado gene possam ser estimados no DNA nuclear ou no DNA mitocondrial. Dentre as diversas linhas de pesquisa abertas com essa novidade, uma busca atualmente rastrear a origem das diferentes populações humanas a partir dos componentes paternos e maternos, assumindo que o DNA paterno pode ser identificado por certos genes expressos no DNA do núcleo (o único material do pai que entra na célula originária da mãe e que formará a célula-ovo), enquanto o DNA materno pode ser acompanhado por genes expressos exclusivamente no DNA mitocondrial (Pena *et al.*, 2000)⁶, pois todas as mitocôndrias são idênticas às do óvulo original, que era da mãe (isso falando de organismos diplóides sexuais; existem muitas outras variações, que não teremos tempo nem espaço para comentar aqui).

Esse conceito de célula como quimera teve também a implicação dos enormes potenciais para manipulação celular, cuja expressão máxima é a clonagem (ver ref. 6), demonstrada cabalmente, e até dramaticamente, na produção da ovelha Dolly, que foi criada com a inserção de um núcleo completo de uma das células não sexuais de sua mãe dentro do citoplasma do óvulo também retirado desse mesmo animal, do qual havia sido extraído o núcleo que continha só metade do material genético previsto para a formação de uma nova ovelha. A remoção de compartimentos celulares, o efeito de sua ausência ou de sua superexpressão (excesso de um tipo de organela), ou ainda o efeito de sua substituição por componente similar da mesma ou de outra espécie, têm sido estratégias bastante usadas para o estudo das funções de compartimentos e de moléculas específicas nos compartimentos celulares. Enfim, chegamos à percepção de que a célula é um todo, mas que ao mesmo tempo também é um conjunto de partes que, desde que corretamente articuladas, podem não ter necessariamente a mesma origem porém são capazes de manter o funcionamento geral da célula (metabolismo, divisão, diferenciação etc.).

Finalmente, esse conceito de célula eucariótica quimérica revolucionou a idéia de origem da vida na Terra, abrindo diversas hipóteses diferentes, dentre as quais a de uma origem extraterrestre; ou a de que a vida não tem qualquer outra forma ancestral porque é, em si, singular; ou ainda a de que uma forma ancestral surgiu entre várias formas concorrentes por um processo de seleção darwinista; ou que no início poderia ter havido várias formas diferentes de vida, mas todas as outras linhagens se extinguíram; ou, finalmente, a possibilidade de que um mero acidente tenha dado origem à forma ancestral de vida entre várias igualmente possíveis).

Sahtouris comenta que *“atualmente o trabalho dos geólogos e biólogos está se fundindo, gostem eles ou não, porque a mesma poeira estelar que foi transformada em planeta rochoso continua a ser transformada em criaturas vivas que mais tarde são transformadas novamente em rocha. Da mesma maneira que criaturas são feitas de átomos que foram outrora parte de rochas; quase todas as rochas da superfície da Terra são feitas de átomos que foram outrora parte de criaturas – criaturas que formaram a si mesmas com os átomos de rochas ainda mais antigas. Nosso lar jamais foi um lar pronto para usar, ou habitat, no qual as criaturas vivas desenvolveram-se e ao qual se adaptaram (como se fossem extraterrestres se adaptando). Isso porque não só rochas se rearrumam e se tornam criaturas vivas e reverterem o processo, mas criaturas vivas também rearrumam as rochas e as transformam em habitats – em locais suficientemente confortáveis para que vivam e se multipliquem”*.

A reconstituição da seqüência de eventos que levaram à transformação de procariotos em eucariotos é hipotética, deduzida de registros vivos, fósseis e moleculares. Vamos tratar desses aspectos na próxima aula.

RESUMO

Você viu que a formulação da Teoria Celular por Schwann no século XIX inaugurou a Biologia sobre bases celulares, e, em si, a Biologia Celular. Viu também como foi rápido o crescimento do conhecimento nessa área, explosivo durante o século XX. O desenvolvimento tecnológico e de equipamentos foi, ao mesmo tempo, alimentado pelas questões científicas abertas com a Teoria Celular e alimentador de resultados conclusivos para a visão contemporânea de célula. Viu ainda que o conceito de célula evoluiu para dois tipos principais, a eucariótica e a procariótica, e o que há de comum e de diferente entre eles.

AUTO-AVALIAÇÃO

Depois de 3 aulas sobre a evolução do conceito de célula, faça um pequeno texto sobre cada um dos pontos abaixo, verificando se você:

1. É capaz de identificar os principais marcos históricos da evolução do conceito de célula.
2. É capaz de analisar imagens e construir esquemas com elas, destacando os componentes estruturais das células, perceptíveis em microscopia óptica e eletrônica.
3. Já sabe diferenciar bem células procarióticas (bacterianas) das eucarióticas, tanto em termos de suas características básicas como em sua morfologia em microscopia óptica e eletrônica. A compreensão das escalas de tamanho é muito importante.
4. Compreendeu o conceito de célula eucariótica quimérica e compartimentalizada.

Evolução das células

AULA

4

objetivo

- O objetivo desta unidade é analisar como surgiram as células, e como se chegou às teorias contemporâneas de origem celular procariótica e eucariótica.

Pré-requisitos

Para melhor aproveitamento, você deve dominar o conteúdo das Aulas 1 a 3 (especialmente esta última), e concluir os exercícios e a auto-avaliação lá sugeridos.

Nada faz sentido em Biologia senão à luz da evolução.
(Theodozius Dobzhansky)

O trabalho dos geólogos e biólogos está se fundindo, gostem eles ou não, porque a mesma poeira estelar que foi transformada em planeta rochoso continua a ser transformada em criaturas vivas... que mais tarde são transformadas novamente em rocha...
(Elisabet Sahtouris, A Dança da Vida).

RETOMANDO O FIO DA MEADA

Como surgiu a vida? De onde? Com quê?

É hipotética a reconstituição da sequência de eventos que levaram ao surgimento da célula bacteriana, à geração de sua enorme biodiversidade durante o longo período de 2 bilhões de anos nos quais parece que as bactérias reinaram absolutas em nosso planeta, bem como dos eventos que levaram à transformação de procariotos em eucariotos. Essas hipóteses foram deduzidas de registros vivos, fósseis e moleculares.

Talvez o planeta fosse ainda habitado exclusivamente por procariontes, se não fosse um extraordinário desenvolvimento que deu origem a diferentes tipos de células, denominadas eucariontes ou células eucarióticas. As consequências desse evento foram enormes. Basta dizer que todos os organismos multicelulares hoje consistem em células eucariontes que são muito mais complexas que as procariotas. A multicelularidade apareceu apenas há 600 milhões de anos.

AS QUIMERAS: CÉLULAS DENTRO DE CÉLULAS

...por toda a nossa elegância e eloquência como uma espécie, por todos os nossos maciços lobos frontais, por toda a nossa música, nós não progredimos muito além do que os nossos antepassados microbianos. Eles ainda estão conosco, são partes de nós, ou, em outras palavras, nós somos parte deles.
(Lewis Thomas, 1987)¹

Como foi comentado na aula anterior, com as pesquisas sobre a origem de mitocôndrias e cloroplastos, e com o acúmulo de evidências sugerindo que são antigos hóspedes bacterianos, pela primeira vez se começou a conceber que as células eucarióticas não passam de quimeras, ou seja, de estruturas mistas, compostas por partes de origens diferentes.

A percepção é de que a célula eucariótica é um todo, mas que ao mesmo tempo também é um conjunto de partes que, desde que corretamente articuladas, podem não ter necessariamente a mesma origem porém são capazes de manter seu funcionamento geral.

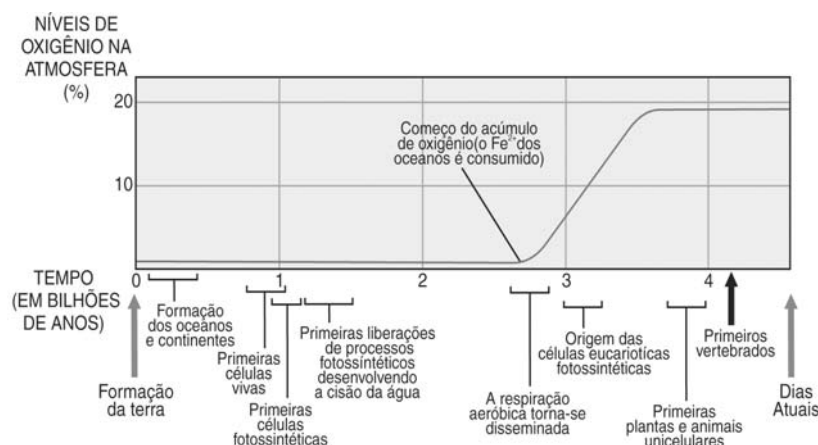


Figura 4.1: Mudanças dos níveis de oxigênio na atmosfera e surgimento dos seres vivos na Terra. (Modificado a partir do livro *Biologia Molecular da Célula*, Alberts et al., 1994)

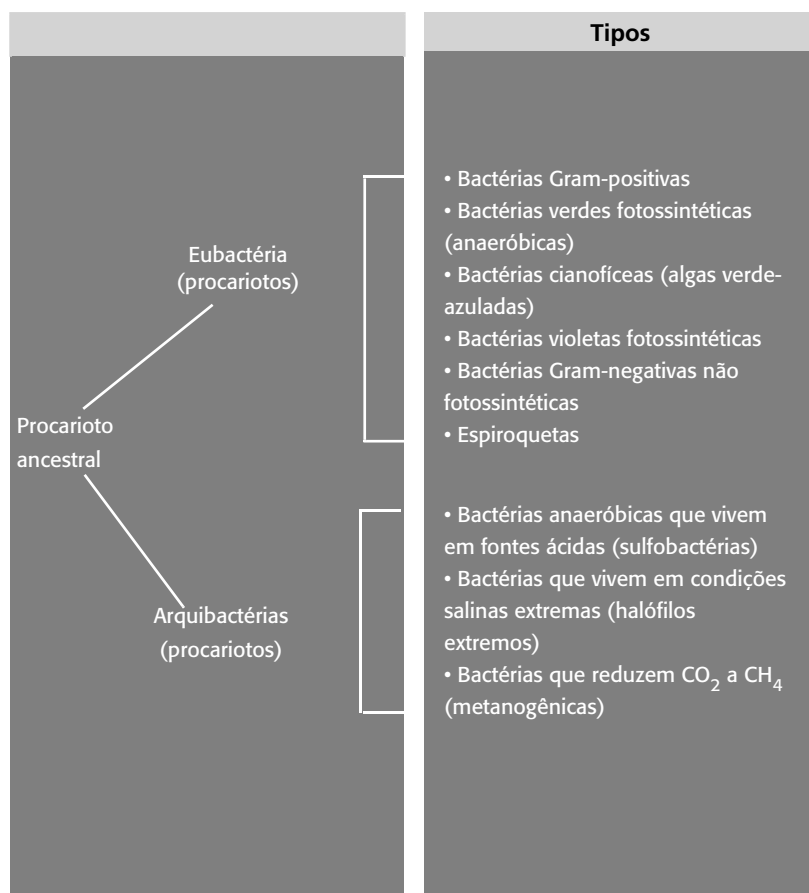
Por volta de 3,7 bilhões de anos atrás surgiram os primeiros seres vivos na Terra. Nosso planeta provavelmente teve sua origem há 4,6 bilhões de anos. Esse pequeno tempo para o aparecimento das primeiras formas de vida e o conceito de célula eucariótica quimérica fizeram com que alguns cientistas (até mesmo alguns renomados, como Francis Crick) especulem sobre a origem extraterrestre, a teoria da pan-espermia.

Nossa biosfera e nossa própria história estão interligadas com a vida microbiana. A **Figura 4.1** mostra que, com o aparecimento sucessivo de bactérias fotossintéticas, os níveis de oxigênio no ar passaram a ser lesivos para as células anaeróbicas, favorecendo a seleção de células aeróbicas. O estudo evolutivo de sua origem, além de nos fascinar uma vez que estamos buscando nossas próprias origens, pode nos ajudar a melhor entender a complexidade da Biologia.

NATUREZA DA LINHAGEM EUCARIONTE

É importante lembrar que, em 1990, Woese mudou radicalmente a classificação a que estávamos acostumados (ver Aula 3).

Quadro 4.1: Dois domínios no reino procarionte



Com base no seqüenciamento comparado de moléculas de RNA ribossômico (ver Aulas 5 e 7), ele primeiro anunciou que as bactérias não são membros de uma única família, mas que pertencem a dois grupos que devem ter se separado logo no início da vida celular. Ele elevou, então, os dois grupos à categoria de reino, arqueobacteriano e eubacteriano, agrupados sob o nome de procariontes, em contraposição aos eucariontes. Woese ainda promoveu esses reinos em domínios arqueano e bacteriano para enfatizar suas diferenças. No entanto, essa última proposta ainda não foi aceita. De qualquer forma, no **Quadro 4.1** estão relacionados os principais tipos de procariontes dos dois domínios.

As bactérias são Gram-negativas ou positivas segundo a afinidade e coloração pelo método inventado pelo bacteriologista dinamarquês Gram.

Essa diferença se deve ao fato de as bactérias Gram-negativas terem uma membrana externa adicional depois da membrana interna e da parede celular de mureína, como todas as demais eubactérias. Nas bactérias Gram-positivas, que não têm essa membrana externa, a parede celular de mureína é bem mais espessa e tem afinidade pelo corante de Gram.

Na **Figura 4.2** há um esquema mostrando porque a superfície das bactérias pode ter ou não afinidade pelo corante de Gram.

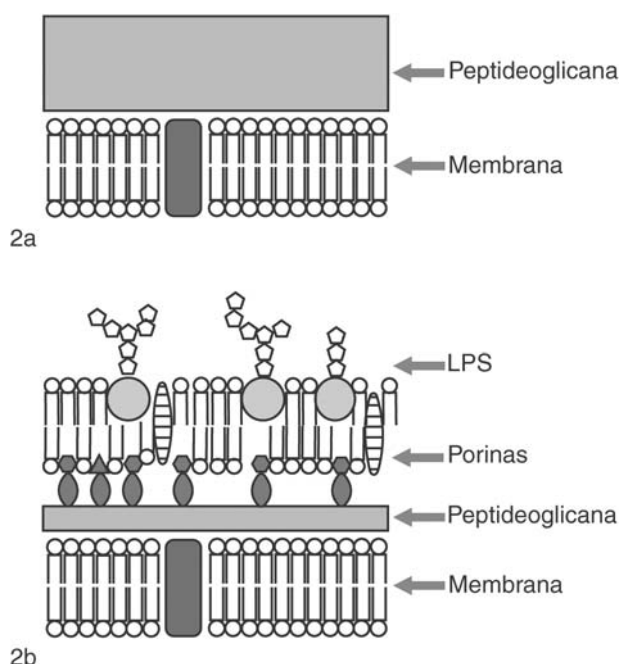


Figura 4.2: Esquema da superfície de bactérias Gram-positivas (2a) e Gram-negativas (2b), original de Tania Araújo-Jorge.

A natureza da linhagem eucarionte é incerta. A maior parte das evidências aponta para um procarionte que teria se destacado de um ramo arqueobacteriano e evoluiu na linhagem eucarionte, depois da primeira bifurcação da árvore da vida (ver **Quadro 3.3**, Aula 3). Em aparente conflito com tal possibilidade, os eucariontes possuem algumas características que parecem derivar de uma eubactéria. O genoma da célula eucariota é composto por genes informacionais, similares aos genes das arqueobactérias e genes operacionais, mais similares às eubactérias. Os genes informacionais são definidos em geral como aqueles envolvidos em processos de transferência de informação, como a transcrição, tradução e replicação. Os genes operacionais são aqueles envolvidos com funções metabólicas. Esse conflito poderia ser assim esquematizado:



Algumas teorias atribuem esse fato à evolução convergente, à transferência horizontal de genes e até mesmo a uma fusão primordial entre uma arqueobactéria e uma eubactéria. Além disso, segundo estudos com base no seqüenciamento comparado de moléculas de RNA ribossômico, os eucariontes, que comumente se acreditava que tivessem origem em um (único) tronco procarioto, cerca de um bilhão de anos atrás, têm quase 3 bilhões de anos de idade. Essa foi outra bomba que Woese “deixou cair” no mundo científico. Os eucariotos então, derivam de uma linhagem que se bifurcou na árvore da vida virtualmente no mesmo momento em que as arqueobactérias e as eubactérias se separaram. O antepassado comum encontra-se na raiz de uma trifurcação. No entanto, bifurcações, e não trifurcações, traçam o desenvolvimento de uma árvore evolutiva.

Há portanto três possibilidades:

1. A primeira bifurcação separou a arqueobactéria e a eubactéria e, depois, os eucariontes formaram uma nova ramificação na linhagem arqueobacteriana.
2. Os procariontes se separaram primeiro, mas os eucariontes formaram uma ramificação na linhagem eubacteriana.
3. A primeira bifurcação separou os eucariontes dos procariontes que, mais tarde, se subdividiram em arqueobactéria e eubactéria.

Há ainda uma quarta possibilidade para tornar esta história ainda mais confusa; a partir da análise de filogenética molecular, o pesquisador francês Patrick Forterre especula se na verdade a célula eucariota não seria mais primitiva, numa hipótese da termorredução. Ele acredita que a adaptação a uma alta temperatura é um aperfeiçoamento posterior, alcançado através da simplificação, e seria uma adaptação secundária ao calor. E, uma vez surgida essa adaptação, esse tipo de organização teria se mostrado extremamente bem-sucedido e teria então invadido todos os nichos atualmente ocupados pelas bactérias. Nessa organização, o cromossomo circular dos procariotos teria uma vantagem, pois seria mais termoestável, e o processamento do RNA-mensageiro (RNAm) que ocorre nos eucariotos traria uma maior possibilidade de erro, sendo assim o processo do procarioto mais fidedigno.

A teoria mais aceita é a que acredita que as células eucariotas evoluíram de um ancestral procarioto (**Quadro 3.3**, Aula 3). Há a suspeita de que logo depois de a vida ter surgido, as eubactérias e as arqueobactérias

se dividiram do ancestral comum. A época da bifurcação das células eucariotas ainda é incerta. Alguns acreditam que se ramificou há 3 bilhões de anos, enquanto outros, mais recentemente, há 1,4 bilhão de anos, ou ainda há 850 milhões de anos (Cavalier-Smith, 2002). Estas especulações são feitas a partir do “relógio molecular” que pode ser algumas vezes mal calibrado e em registros fósseis, como mostra o exemplo da **Figura 4.3**. Muitas questões ainda ficam para ser respondidas, tais como: como isto ocorreu? Qual foi a sequência de eventos que transformaram os procariotos em eucariotos? Essas questões são difíceis de serem respondidas, uma vez que nenhum intermediário dessa momentânea transição sobreviveu ou deixou fósseis como pista.

RECONSTRUÇÃO DE UMA HISTÓRIA

Dessa forma, a reconstrução proposta por diversos cientistas é baseada em três tipos de registros: 1º) o registro vivo, 2º) o registro fóssil (**Figura 4.3**), e 3º) o registro molecular. O registro vivo se baseia no estudo de parentes vivos de protistas ancestrais, como as giárdias (**Figura 4.4**) e os microsporídeos. Esses microrganismos são os exemplos mais próximos de “fósseis vivos” da célula eucariótica primitiva. O registro fóssil envolve pesquisas de microfósseis ancestrais de rochas sedimentares, na tentativa de reconstruir a sequência cronológica e evolutiva da vida na Terra. O registro molecular compara as sequências ribossomais de diferentes microrganismos para determinar as relações filogenéticas.

Pela análise do registro vivo se cogitou que o ancestral da célula eucariótica era anaeróbica e não possuía nem mitocôndria nem cloroplasto. Essa hipótese é corroborada pelo registro fóssil porque as células eucariotas apareceram há 1,4 a 1,5 bilhão de anos, enquanto as células com mitocôndria e que usavam oxigênio apareceram mais tarde na evolução – há 850 milhões de anos. As Giárdias são anaeróbicas mas não se pode descartar a idéia de que esses fósseis vivos perderam secundariamente a mitocôndria em resposta adaptativa à vida parasitária. Os biólogos há muito suspeitavam que a mitocôndria e os plastídeos descendiam de bactérias que foram adotadas pela célula hospedeira como endossimbiontes. Essa teoria foi reavivada em 1967 por Lynn Margulis. Várias evidências mostraram que as mitocôndrias (bactérias violetas) e os cloroplastos (cianobactérias) tiveram origem ao mesmo tempo e depois

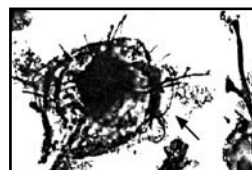


Figura 4.3: Exemplo de um microfóssil protista do grupo Roper, *Tappania plana*, mostrando processos assimetricamente distribuídos e várias protrusões em forma de bulbos, características de eucariotos relacionadas ao citoesqueleto presente nesses organismos há aproximadamente 1,5 bilhão de anos. Javaux E, Koll AH & Walter MR (2001). Morphological and ecological complexity in early eukaryotic ecosystems. *Nature* 412: 66-69.

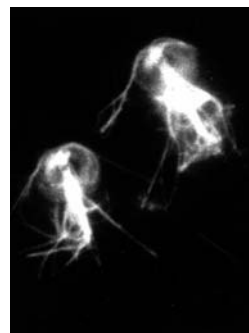
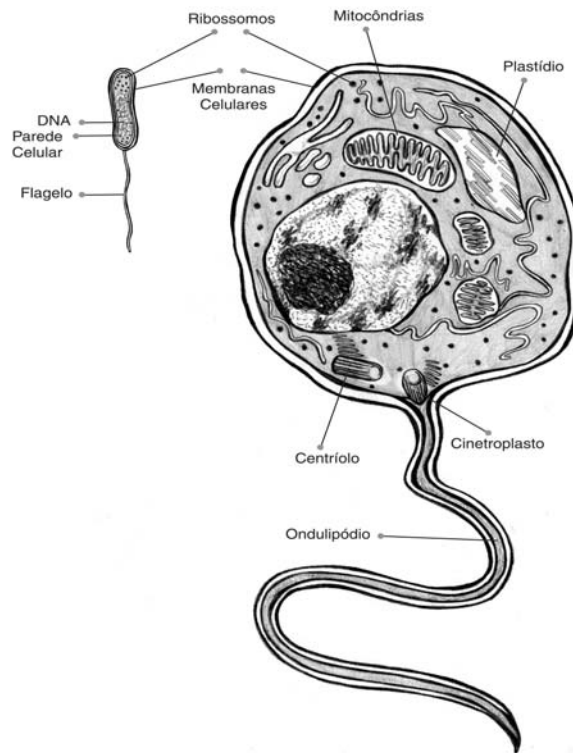


Figura 4.4: Imagens de *Giardia lamblia* ao microscópio eletrônico. Mais informações no site: <http://www.geocities.com/CollegePark/Lab/4551/> Reprodução autorizada por Dr. Bohdan J. Soltys.

Outras semelhanças entre mitocôndrias, plastídeos e bactérias: forma, tamanho, sensibilidade a antibióticos, a dupla membrana e mistos sistemas enzimáticos.

da formação do núcleo. A mais convincente evidência é a presença de um sistema genético vestigial, mas ainda funcional, nessas organelas. Mais de mil espécies de protistas (protozoários) não apresentam mitocôndria. A *Giardia lamblia* não possui nem mitocôndria nem Golgi, e estudos moleculares com a sequência de RNA-ribossomal mostraram que essa sequência era mais próxima das células procariotas, o que confirma a hipótese de que esta se separou do tronco eucarioto muito cedo na evolução, antes do aparecimento do oxigênio na atmosfera.



Figuras 4.5a e 4.5b: Esquema da estrutura dos procariotos (Figura 4.5a) e dos eucariotos (Figura 4.5b). Os eucariotos são 10 a 100 vezes maiores que os procariotos. Modificado a partir de L. Margulis, *O planeta simbiótico*.

TRANSIÇÃO PROCARIOTO-EUCARIOTO (FIGURAS 4.5 E 4.6)

Existem diferentes teorias que explicam a origem da célula eucariota. Uma delas, proposta por Christian De Duve (De Duve, 1997)², prêmio Nobel de 1974, pressupõe um estágio pré-endossimbiótico, marcado por transformações do procarioto em um fagócito primitivo, e um estágio pós-endossimbiótico caracterizado pela simbiose entre o

fagócito primitivo e a bactéria que respirava. Esse pressuposto se baseia no fato de que a adoção do endossimbionte é normalmente apresentada como resultado de algum tipo de encontro (predação agressiva/invasão passiva e associação benéfica) entre dois procariotos típicos.

No entanto, essas definições são problemáticas, já que as bactérias não exibem esse comportamento. Na visão desse autor, a simples fusão dos procariotos não levaria à formação da célula eucariota com todas as suas características. Dessa forma, deveria existir uma célula hospedeira grande, capaz de fagocitar a bactéria. Para isso acontecer, esse fagócito primitivo deveria ter adquirido várias propriedades associadas às células eucariotas, tais como ser capaz de engolfar corpos volumosos, como bactérias, de ser uma célula maior que suas presas e de estar envolvida por uma membrana flexível capaz de incorporar objetos extracelulares, como os fagócitos modernos.

O fagócito primitivo deveria ter também uma rede de compartimentos internos, conectada com a membrana externa e especializada em processar o material digerido, bem como um esqueleto interno para garantir um suporte estrutural e, provavelmente, ter uma maquinaria interna para flexionar a membrana externa e mover o conteúdo para dentro. O autor afirma que o desenvolvimento dessas estruturas celulares representaria a essência da transição procarioto-eucarioto. O maior problema, então, seria dar explicações plausíveis para uma construção progressiva dessas características de forma a ser assegurada pela seleção natural. Cada pequena mudança na célula deveria ter garantido sua chance de sobrevivência e reprodução (vantagem adaptativa), de forma que a nova característica deveria aumentar e se espalhar na população.

Existem diferentes hipóteses para o nascimento da célula eucariótica: 1ª. poderia ter origem extraterrestre; 2ª. a vida poderia não ter qualquer outra forma ancestral porque seria única; 3ª. e uma forma ancestral teria surgido entre várias formas concorrentes por um processo de seleção darwinista; 4ª. no início poderia ter havido várias formas diferentes de vida, mas todas as outras linhagens se extinguíram; 5ª. a possibilidade de que um mero acidente tenha dado origem à forma ancestral de vida entre várias igualmente possíveis.

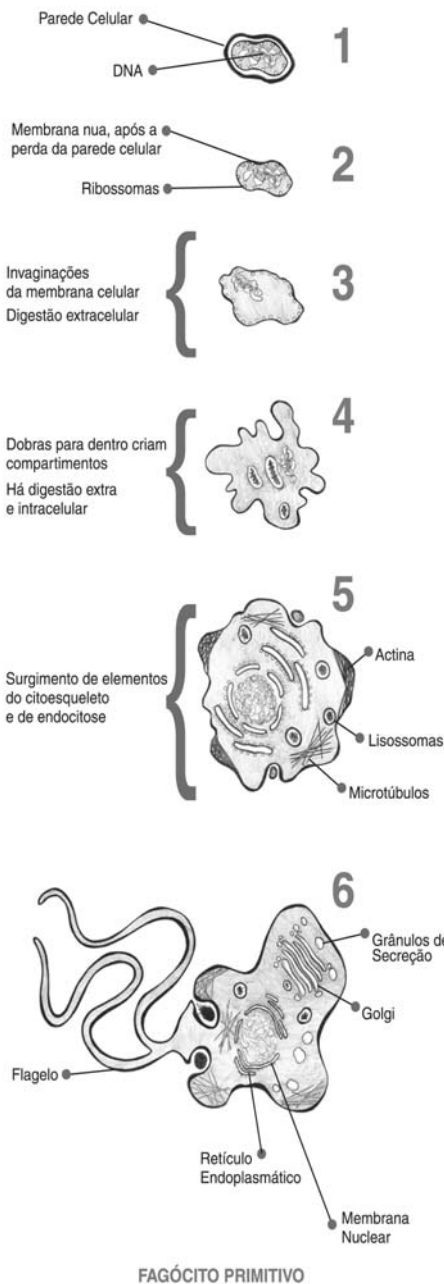


Figura 4.6: Esquema hipotético do processo de evolução das células eucarióticas a partir da incorporação seqüencial de endossimbiontes. Modificado de De Duve, C, The birth of complex cells. Sci Am. 274(4):50-57, 1996.

Mas de todas, a hipótese mais aceita é a de Lynn Margulis conhecida como endossimbiose seqüencial de quatro ancestrais bacterianos para a formação da célula eucariótica verde das algas, em 4 estágios:

1º– uma arqueobactéria fermentante, que gosta de enxofre e calor (termoacidófila), se funde com uma bactéria natatória e formam o nucleocitoplasma, substância básica, anaeróbica, dos ancestrais das células de todos os animais, plantas e fungos, com capacidade de divisão por mitose;

2º– o complexo se torna capaz de fagocitar e incorpora uma bactéria que respirava oxigênio;

3º– o complexo tripolar;

4º– fagocita mas não digere completamente bactérias fotossintetizantes verdes.

Em outros momentos, no curso, essas questões serão discutidas profundamente. Vamos aqui dar apenas uma idéia da teoria com maior número de adeptos, defendida por Lynn Margulis, por Christian De Duve e por Elisabet Sahtouris. Podemos imaginar a seqüência da **Figura 4.6** assim:

ESTÁGIOS HIPOTÉTICOS DA EVOLUÇÃO DAS CÉLULAS EUCARIÓTICAS (FIGURA 4.6)

A) Estágio ancestral, da protocélula à formação das eubactérias Gram-negativas

1. Formação da protocélula (hipotética), ocorrida possivelmente nas condições ambientais de um “caldo primordial”, formado por aminoácidos, proteínas, enzimas e substratos, açúcares, DNA e RNA, grandes moléculas que primeiro se formaram sem qualquer presença celular, evoluindo em reações químicas de trocas livres, especialmente em áreas costeiras, lagunas, poços e poças, que foi se espessando e evoluindo quimicamente, desidratando e reidratando. Fosfolipídeos que tivessem surgido nesse “caldo primordial” viriam a formar bicamadas (biomembranas) que sempre tendiam a formar esferas e a se auto-selar, como bolhas de sabão; introduziriam a enorme

vantagem da *encapsulação*; **SISTEMAS METABÓLICOS** simples, como o de encadeamento de açúcares (muito útil para a posterior formação do sistema de parede celular protetora para as jovens células) também podem ter evoluído nessa grande sopa e ter sido encapsulados pelas membranas;

2. Estavam dadas as condições para a formação de um protocitoplasma, com sistemas metabólicos antigos como a fermentação do açúcar em álcool usando um mecanismo de recuperação de energia ligado ao tio-éster;

3. Ancoragem de alguns sistemas metabólicos em membranas lipídicas que servissem como ponto de atração para peptídeos hidrofóbicos; o encurvamento progressivo dessa estrutura pode formar sacos de membranas duplas, muito semelhantes às membranas das bactérias Gram-negativas;

4. O encontro casual dessas membranas com sistemas metabólicos de síntese de proteínas com seqüências típicas para inserção em membranas teria sido selecionado para preservar essa grande vantagem de poder inserir proteínas num mar de lipídeos, permitindo a passagem de substâncias hidrofílicas por uma membrana hidrofóbica;

SISTEMAS METABÓLICOS

São conjuntos de moléculas com capacidade de reagir umas seqüencialmente com as outras, formando produtos que servem a novas reações químicas. Todas essas reações, em presença de enzimas específicas que atuam como catalisadores, ou seja, aceleradores das reações, podem passar a ocorrer bem mais rápido, uma vantagem que seria sempre preservada e selecionada evolutivamente.

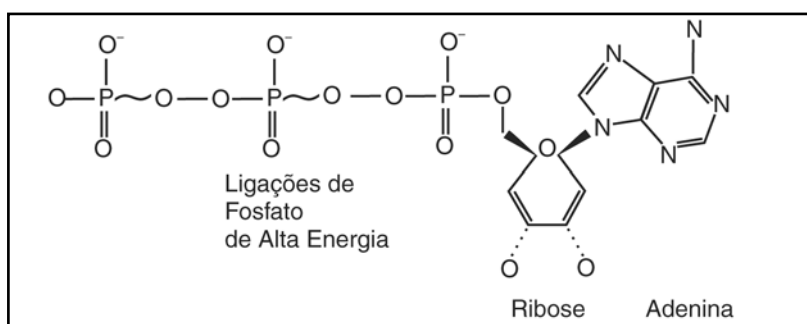


Figura 4.7: A estrutura química do ATP (trifosfato de adenosina), principal molécula energética dos seres vivos.

5. A captação de blocos de carboidratos e de sistemas metabólicos que possibilitassem a montagem de polímeros desse tipo de moléculas, essencial para o desenvolvimento das paredes celulares;

6. A formação de moneras primitivas, eubactérias Gram-negativas, fermentadoras (*ou bolheiras*). Elas já estavam se multiplicando há mais de 3 bilhões de anos, num ambiente onde o principal elemento na atmosfera era o nitrogênio. As primeiras células podem ter encontrado ATP (trifosfato de adenosina, um composto que armazena energia,

Figura 4.7) pronto no meio circundante, mas aprenderam a fabricá-lo e mantinham em reserva o ATP até que ele fosse necessário para construir, reparar ou fazer outros tipos de trabalho. Algumas estirpes dessas bactérias aprenderam a usar restos de ácido e álcool de outras, e estabelecer ciclos eficientes com os refugos comuns encontrados. Outras aprenderam a tornar usável o nitrogênio da atmosfera e combiná-lo com outros elementos.

B) Estágio pré-endossimbionte

7. O fenômeno decisivo para esse estágio foi a perda da capacidade de sintetizar a mureína, componente da parede celular (ver Figura 4.6), criando a possibilidade de a célula crescer. Isso levou à separação da linhagem que originou tanto os eucariotos como as arqueobactérias, todos sem parede (veja Quadro 3.3 da Aula 3);

8. Outro fenômeno importante foi a aquisição de ésteres lipídicos na membrana, aumentando sua fluidez e permitindo que a célula aumentasse ainda mais sua superfície pela formação de dobras e invaginações;

9. As propriedades auto-selantes das bicamadas lipídicas transformaram as invaginações mais profundas em vesículas intracelulares, capturando alimentos e enzimas digestivas. Assim, ao invés de extracelular, a digestão passou a ser intracelular. Outras vesículas também formadas por invaginações podiam dar origem ao sistema de citomembranas característico das células eucarióticas modernas, com o que conhecemos como retículo endoplasmático liso e o rugoso (quando ribossomas se associam), nas quais a produção de proteínas fica compartimentalizada;

10. Durante essas internalizações de membrana da célula procariótica ancestral, o cromossoma que estava ligado a essa membrana pode ter sido levado ao interior da célula e ficado encapsulado por uma dupla membrana, formando o núcleo. Existem muitos traços moleculares comuns entre a membrana nuclear dos eucariotos e a membrana bacteriana original;

11. Simultaneamente à expansão celular e à formação de membranas intracelulares foi necessário o desenvolvimento de um sistema de proteínas do citoesqueleto, presentes nos eucariotos mais antigos que se conhece. Esse sistema é composto por moléculas protéicas tipo “lego” que podem ser arrumadas de modo reversível formando filamentos e redes entre a membrana

O conhecimento da estrutura do citoesqueleto é relativamente recente na Biologia Celular. É extremamente importante, dada a sua universalidade em termos de estrutura e aplicabilidade. É um sistema que possibilita desde a formação das teias de aranha até as cápsulas virais, passando por todas as redes de formação de endossomas. O sistema de filamentos contráteis dá à célula suporte, forma flexível, movimento e mobilidade ao conteúdo intracelular.

e o núcleo, com filamentos contráteis de actina, microtúbulos e filamentos intermediários. Esse é um dos sistemas mais elaborados e complexos que se conhece, com actina, tubulina, miosina e centenas de proteínas adicionais, dineína, cinesina, e todas as proteínas vinculadas à estrutura interna da membrana nuclear. Muitas dessas estruturas se juntam e separam espontânea e reversivelmente, devido à complementariedade química;

12. As invaginações de membrana e da captação de substâncias, dependentes de receptores, desenvolveram-se num processo que chamamos fagocitose e endocitose, presente nos eucariotas mais antigos que ainda restam sobre a Terra. O conteúdo dos endossomas (vesículas internalizadas), convergindo para vesículas com enzimas hidrolíticas digestivas (os lisossomas), concluía o sistema de digestão intracelular. As moléculas digeridas eram evacuadas por exocitose e a membrana era reciclada;

13. Estava completa a transformação de um procarioto num fagócito primitivo, e podem assim ter se formado os primeiros eucariotos, anaeróbicos, sem mitocôndrias nem cloroplastos, nem Golgi, mas com citoesqueleto e capacidade endocítica (como *Giardia*, tricomonídeos e microsporídeos, seres hoje majoritariamente parasitas). Mais de mil espécies de protozoários e fungos não têm mitocôndrias;

14. Tendo sido testadas por milhares de anos pela seleção natural, só sobreviveram as mudanças que demonstraram vantagens evolutivas muito fortes;

15. Em paralelo a essa evolução do nosso fagócito ancestral primitivo, outros seres procariontes também evoluíram e apareceram sobre a Terra: as eubactérias violetas e azuis. Num contexto em que o número de bactérias *bolheiras* já estava ficando excessivo em relação ao suprimento de nutrientes existente, foram criadas novas formas de produzir energia, lançando mão da melhor fonte de energia disponível: a luz do sol, ou energia solar. Essas bactérias, de algum modo, conseguiram certos elementos químicos sensíveis à luz, como as porfirinas e a clorofila, e puderam passar a usar essa energia para quebrar as moléculas em seus átomos originais e reconstruí-los em açúcares, em partes de DNA e em ATP. Iniciou-se a era das bactérias azul-verdes, fotossintéticas, que com sucesso multiplicaram-se rapidamente. Ao contrário das *bolheiras* que precisavam de alimentos externos, as azul-verdes produziam seu próprio alimento, reciclando o gás carbônico existente e o produzido

Os microorganismos mais antigos se constituem em excelentes modelos de estudo de Biologia Celular, não por aspectos ligados à sua capacidade de provocar doenças (patogenicidade), que não são características de todos, mas pela possibilidade de desvendar as estratégias evolutivas que foram conservadas ao longo dos 3 bilhões de anos que separam o aparecimento de vida na Terra e o aparecimento das primeiras células eucarióticas (veja Quadro 3.3 da aula3).

pelas primeiras. O material de refugio desses microorganismos no entanto era poluente para os seres vivos da época: oxigênio. Mortal, permite a combustão, é mais destrutivo do que a radiação ultravioleta, pois as grandes moléculas necessárias para construir os primeiros seres vivos jamais poderiam ter se formado se a atmosfera fosse tão rica em oxigênio como é agora. Surgiram nas azul-verdes enzimas que tornavam o oxigênio inofensivo para elas. Outras “aprenderam” a construir filtros ultravioletas para sua proteção. Outras formaram colônias, deixando torrar e morrer as células externas para formar camadas de proteção às células internas (ver **Figura 4.1**);

16. Finalmente, foi a descoberta de um outro sistema de reciclagem, de uso desse refugio, que levou ao aparecimento de outro tipo de bactérias, as *respiradoras*, as bactérias violetas (cianobactérias), que aprenderam a queimar alimento com oxigênio, no processo que chamamos de *respiração*, a terceira maneira de fabricar ATP depois da fermentação das *bolheiras* e da fotossíntese das azul-verdes. As bactérias bolheiras, as azul-verdes e as respiradoras foram os únicos habitantes da Terra durante dois bilhões de anos (a grande era bacteriana), metade da vida da própria Terra. Elas foram responsáveis pela criação da atmosfera, parecida com a existente hoje, com oxigênio e metano, e pelas demais conseqüências da evolução da vida na Terra (**Figura 4.1**). Trocando seus genes entre si, vários tipos de moneras podiam se especializar numa função (fermentação, respiração ou fotossíntese), sem perder o potencial de realizar a outra. Esse processo hoje é denominado de repressão e expressão gênica, ou de mecanismos de liga-desliga de determinados genes. Todos os elementos ancestrais das células eucarióticas atuais estão presentes nessas bactérias: instruções para mudança de forma, bolas, ampolas, conexões, filas, filmes ou grandes tapetes de unidades associadas, instruções para formação de esporos, para formação de estruturas móveis, para instrumentos de conjugação sexual e transferência de material genético. Quando descobriu o enorme potencial educativo existente no estudo das bactérias, a Bacteriologia nascente com a Medicina e as doenças causadas por microorganismos se converteu rapidamente numa Microbiologia de solos e ambientes, e desta na atual Biotecnologia.

O genoma humano foi seqüenciado num trabalho feito em consórcios de cientistas, num esforço internacional (o Projeto Genoma, publicado na revista britânica *Nature* (www.nature.com), ou numa empresa americana de biotecnologia criada com o mesmo fim (a Celera, publicado na revista americana *Science* (www.sciencemag.org)). Para saber mais sobre isso veja na Aula 7 ou visite o site www.comciencia.br/reportagens/genoma/genoma1.htm

C) Estágio pós-endossimbionte

17. Segundo Margulis, o grande salto foi dado quando as bactérias, cada vez mais especializadas, reuniram-se dentro das mesmas paredes, provavelmente por uma associação de fagocitose pelo fagócito primitivo descrito acima, e pela sua não-digestão integral, permitindo a adaptação desse hóspede, num processo que chamamos de endossimbiose (Figura 4.6). A fagocitose de bactérias violetas com subsequente endossimbiose levou à formação de células eucarióticas com mitocôndrias, que mais tarde vieram dar origem a fungos e a animais. A fagocitose de cianobactérias levou à formação de células com cloroplastos e a combinação dos dois processos levou ao desenvolvimento de plantas e algas.

18. Nesse processo ocorreu transferência de parte do material genético do antigo hóspede para o núcleo do hospedeiro, e a manutenção apenas da parte de DNA necessária para codificar algumas proteínas do próprio simbionte;

19. Ocorreu também o aperfeiçoamento do sistema de transporte vesicular, com a adição de organelas adicionais, como o Golgi e o versátil retículo endoplasmático, que se transforma em liso ou rugoso de acordo com a ligação temporária de ribossomas a sua superfície. Redes complexas de endomembranas podem se segregar progressivamente para garantir maior eficiência funcional.

CONCLUSÃO

Nestas quatro aulas em que analisamos a evolução do conceito de célula, procuramos desenvolver a idéia de que, em menos de 200 anos, desde que Schwann enunciou os pilares da Teoria Celular, nossa visão sobre o que é célula mudou muito. Mudou de modo a percebermos que a simples visão de uma célula ao microscópio ou através de uma bela imagem não descortina todos os segredos que ela esconde quanto ao seu funcionamento.

E mais. Mudou de modo a percebermos que somos, em cada uma de nossas células, fruto da interação de sistemas moleculares ancestrais, presentes até hoje em parentes que fermentam nossa massa de pão ou produzem iogurte em nosso leite, ou revestem de lodo e limo a parede do aquário de casa. Somos grandes quimeras de simbioses que se perpetuam através de nós mesmos e de nossa prole. A recente conclusão do projeto Genoma impôs a revisão do conceito de humanidade como algo específico e especial.

As notícias divulgadas na mídia no final de 2000, quando foi publicado o genoma humano, mostram que o ser humano só tem cerca de 30 mil genes, e não os 100 mil previstos. Mostram que apenas 1% é exclusivamente humano, ou seja, dos dois metros de DNA enrolados dentro de cada célula humana, só dois centímetros são exclusivamente humanos. Temos os genomas inteiros de vermes e vírus em nosso código genético e, longe de ser ruim, isso nos ajudou a evoluir. *De certa forma, acabamos com o orgulho de nossa espécie. Temos apenas o dobro do número de genes de um verme. Nossa inteligência e complexidade emergem de outras fontes, de nossa rica interação com o planeta. Ainda há muito a descobrir”, disse Francis Collins, do projeto Genoma. Ou ainda “a genética banuiu de vez o conceito de raça. Negros, brancos e asiáticos diferem tanto entre si quanto dentro de suas próprias etnias. Há diferenças biológicas ínfimas entre nós. Essencialmente somos todos gêmeos, disse Craig Venter, da Celera.*

O seqüenciamento do genoma humano, junto com dezenas de projetos de seqüenciamento do genoma de outros seres vivos (alguns dos quais no Brasil), mostrou claramente que a essência da humanidade está na interação desses genes com o ambiente. Nosso conceito de célula hoje é mais amplo e necessariamente mais aberto do que o de Hooke, que ao ver em 1655 um fragmento de cortiça sem células vivas, lançou o termo *células*; ou ainda do que o de Schwann que, em 1838, deu o grande salto de perceber a relação entre estrutura e função celular, que cada célula sempre derivava de outra e que plantas e animais eram semelhantes.

Nosso conceito de célula hoje admite que somos quimeras moleculares que evoluíram para a melhor estrutura que permite nossa sobrevivência neste planeta, em suas condições atuais. Como estamos em plena “crise de adolescência” do planeta, como sugere Elisabet Sahtouris, é possível que a Vida ainda encontre outras formas de resolver os problemas que nós, como elementos decisivos na transformação do planeta, vimos criando para ela.

RESUMO

Você viu que a origem das células eucarióticas, as primeiras a serem descobertas e sobre as quais foi formulado o conceito de célula e desenvolvida a Teoria Celular, relaciona-se intimamente com as células bacterianas, procarióticas. Viu que, dentre diversas teorias existentes sobre a origem das células, destaca-se a teoria da simbiose sequencial, propondo que a célula eucariótica teria surgido da incorporação simbiótica sequencial de quatro ancestrais procarióticos, trazendo componentes de arqueobactérias (o parceiro original) e de eubactérias (os subseqüentes). Viu que a teoria mais aceita é a de um fagócito primitivo que incorporou as bactérias, e também que esta é uma questão que está longe de estar resolvida, com muitas teorias e controvérsias a respeito, e com a perspectiva de desenvolvimento de novas informações e de novos conceitos relacionados à origem da vida eucariótica nas próximas décadas.

AUTO-AVALIAÇÃO

Faça um texto sobre cada um dos pontos abaixo, verificando se você:

1. É capaz de identificar as relações que existem entre as arqueobactérias, as eubactérias e os eucariotos.
2. Sabe diferenciar a estrutura de bactérias Gram-negativas e positivas.
3. É capaz de recontar a história do surgimento das células procarióticas e eucarióticas, segundo o ponto de vista com o qual você mais se identificou.

Introdução às Aulas 5, 6 e 7

Para tratar do time herança, DNA e genoma, nosso curso será dividido em três seções:

I. Introdução histórica sobre a natureza do material genético. O nascimento da Biologia Molecular e o seu desenvolvimento. O objetivo e a história do projeto genoma; a elaboração da estratégia e alguns princípios básicos; um novo tipo de abordagem em pesquisa, envolvendo a organização de grandes consórcios internacionais; o desenvolvimento associado da tecnologia de automação e da bioinformática.

II. Resumo dos principais resultados obtidos; como analisá-los; uma visão genômica das áreas biomédicas; mapas físicos dos cromossomas; integração com a citogenética; aplicações imediatas e perspectivas.

III. O impacto do projeto genoma na sociedade; benefícios e malefícios; possíveis dilemas éticos.

Introdução

A herança de características morfológicas e a natureza do material genético

AULA 5

objetivo

- Esta aula descreve a trajetória do pensamento científico a respeito da hereditariedade e de como descobriu-se que o DNA era a molécula que transmitia as características genéticas ao longo das gerações. A aula também versa sobre os fundamentos da estrutura do DNA a título de introdução para as técnicas de seqüenciamento dos ácidos nucléicos.

As revistas *Nature* e *Science* publicam artigos científicos sobre as mais variadas especialidades das Ciências. Como são revistas tradicionais e possuem corpo editorial muito rigoroso, gozam de reputação internacional e seus artigos têm grande credibilidade.

Quando consideramos que há pouco mais de 50 anos não se conhecia a natureza do material genético e que há somente 141 anos não se imaginava sequer que havia um material genético sob a forma de moléculas, temos que admitir que o progresso na Biologia Molecular foi vertiginoso. Recentemente, duas publicações em revistas importantes, *Nature* e *Science*, revelaram o primeiro esboço do genoma humano, realizado por duas equipes rivais, que usaram estratégias diferentes para atingir suas respectivas metas. Uma das equipes compôs o Consórcio Internacional do Sequenciamento do Genoma Humano; a outra, a *Celera Genomics*, é uma empresa particular. O consórcio internacional também é conhecido como o consórcio público, uma vez que todos os dados conseguidos foram tornados públicos, isto é, as seqüências geradas são depositadas num banco de dados a que o público tem acesso.

O genoma humano ainda não está inteiramente sequenciado. Pode-se apenas afirmar que somente os cromossomas 21 e 22 estão completos. Nos outros 21 cromossomas do ser humano existem ainda muitos “buracos”, cerca de 100.000 trechos “difíceis” que ainda precisam ser elucidados. Isso acontece principalmente pelo fato de o genoma apresentar regiões que contêm muitas repetições, o que representa uma barreira técnica. Há também regiões do DNA que não fazem parte dos genes mas que se interpõem entre estes (seqüências intergênicas ou introns). Tudo isso dificulta a montagem do quadro geral.

Tampouco sabe-se o número exato de genes presentes no genoma humano. No momento existem aproximações que convergem para a faixa de 30.000 a 40.000 genes. Esse valor diverge bastante das estimativas iniciais de 100.000 genes, que prevaleciam antes de o Projeto Genoma Humano começar.

Diversos **GENOMAS** de espécies **eucariotas** (que possuem núcleos) encontram-se na mesma situação, isto é, uma grande parte de seu genoma já foi sequenciada, mas ainda falta “limpar” a informação de forma a apresentar o produto acabado. De qualquer modo, com a informação já disponível seria possível encher centenas de livros do tamanho de catálogos telefônicos de grandes cidades como São Paulo e Rio de Janeiro.

É importante notar também que embora o projeto do genoma humano seja o resultado de mais de uma década de trabalho intenso realizado por duas grandes equipes, os dados ainda que incompletos,

GENOMA

De um organismo, seja ele unicelular ou pluricelular, representa toda a sua carga de DNA. Nos eucariotos o genoma encontra-se no núcleo e em organelas como mitocôndria e cloroplastos. Nos procariotos o genoma encontra-se disperso no citoplasma.

representam somente 3% do genoma total! Isso porque as equipes dos projetos genoma humano decidiram seqüenciar somente o DNA que efetivamente codificasse proteínas, ou RNA. Isso significa que somente as regiões compostas de **GENES** foram seqüenciadas. O restante do DNA, chamado pejorativamente de “DNA lixo”, ainda permanece desconhecido. Esse “DNA lixo”, que também é chamado de “DNA parasita”, compõe a maior parte do genoma e ainda constitui um grande mistério, porque os cientistas não sabem exatamente descrever a sua origem. O modelo mais aceito é que esse “DNA lixo” ou “DNA parasita” foi se acumulando ao longo da evolução, e agora permanece como uma verdadeira relíquia do passado.

A seguir descreveremos essa trajetória relativamente curta que culminou com o conhecimento íntimo sobre o genoma.

A HISTÓRIA DA BIOLOGIA MOLECULAR

A história da Biologia Molecular começou com uma grande discussão estimulada pela observação de que as várias espécies na natureza reproduziam-se gerando sempre filhotes que essencialmente são muito parecidos com seus progenitores. Por que um jacaré gera somente jacarés, um tatu gera somente tatus e uma bactéria gera outras bactérias e assim por diante? De que forma então esses organismos “sabem” como manter nos descendentes as suas próprias características? Quais são os mecanismos que regem a *fidelidade* da reprodução das espécies?

As primeiras propostas para responder a essas perguntas foram muito imaginativas, mas talvez a que tenha sido a mais duradoura foi a hipótese da *pré-formação*, que prevaleceu no século XVII. De acordo com essa hipótese, os **GAMETAS*** conteriam um minúsculo ser já formado e que, depois de transmitido para a fêmea, desenvolver-se-ia durante a gestação. Esse ser teria todas as características dos seus ancestrais e, num dado momento, seria ativado para crescer e finalmente nascer. No caso da espécie humana, os gametas teriam um “homúnculo” e, no caso das outras espécies, um “animálcule”. A **Figura 5.1** ilustra um homúnculo num espermatozoide.

Mas esse modelo ainda embutia várias perguntas difíceis de responder. Em que gameta estaria o homúnculo? Nos espermatozoides ou nos óvulos? Essa dúvida criou duas correntes, a corrente dos

GENES

São seqüências de DNA que contêm um código composto por quatro “letras” diferentes, que na verdade são as abreviaturas das bases aminadas que compõem o DNA. Esse código eventualmente é convertido (decodificado) em proteínas através do mecanismo da tradução, que ocorre no citoplasma das células. Os genes também podem codificar somente moléculas de RNA em vez de proteínas.

GAMETAS

São células diferenciadas do sistema reprodutor de um organismo sexuado (cuja reprodução envolve sexos diferentes), que possuem metade dos cromossomos das células somáticas (não sexuais). No homem os gametas são os espermatozoides e na mulher os gametas são os seus óvulos.

O frade Gregor Mendel (1822-1884) foi o criador da genética moderna. Em 1866 no mosteiro de São Tomás em Brno (República Checa) ele descobriu, trabalhando com ervilhas, que vários caracteres eram transmitidos aos descendentes segundo certas regras, que eventual-mente tornaram-se as Leis de Mendel. O grande mérito de Mendel foi interpretar seus resultados sob a luz da estatística e do cálculo de probabilidades. Graças a esse tratamento matemático foi possível prever como ocorreria a transmissão da informação contida no DNA. Na época de Mendel nem se suspeitava que o DNA estava envolvido no processo, mas em virtude dos resultados obtidos por Mendel, foi possível postular a existência de duas cópias do mesmo gene, ou alelo, o que futuramente levaria à descoberta da natureza diplóide (duas cópias de cada cromossoma) das células autossômicas, isto é, não germinativas.

O gene dominante é aquele que é expresso num indivíduo heterozigoto (um indivíduo que possui um gene dominante e um gene recessivo). Por exemplo, se a cor marrom for dominante sobre a cor azul, os descendentes de um cruzamento entre um indivíduo de cor marrom com um indivíduo de cor azul, terão cor marrom, caso os descendentes sejam heterozigotos. Isso significa que o gene da cor marrom domina o gene da cor azul.



Figura 5.1: Homúnculo em gestação num espermatozóide, de acordo com as teorias do século XVII.

“espermistas” e a dos “ovistas”, respectivamente, que acirradamente disputavam o privilégio de abrigar o homúnculo. Havia muitas outras perguntas. Em que momento se formaria o homúnculo? De que forma o homúnculo preservaria as características das espécies? E assim, sucessivamente. As idéias envolvendo a pré-formação predominaram até o século XIX, quando então Mendel introduziu a primeira análise matemática associada à reprodução, cujos resultados sugeriram que existiam *unidades de hereditariedade*. Mendel utilizou a ervilha (*Pisum sativum*) como modelo experimental. Essa espécie de planta crescia fácil e rapidamente e apresentava características bem pronunciadas que podiam ser classificadas sem muita dificuldade. Por exemplo, **MENDEL** observava a cor e a forma das sementes, a cor e forma da vagem, a altura do talo etc. Após examinar uma grande população desses organismos, tais observações permitiram que Mendel finalmente elaborasse suas famosas leis da herança* (ver explicação no glossário).

As leis da herança estavam de acordo com os valores esperados, quando aplicavam-se as leis de probabilidade. (distribuição dos caracteres estudados como a cor, forma etc.) e se repetiam tão regularmente que era possível até fazer previsões quanto à distribuição dos caracteres adquiridos pelos organismos. Concluiu-se assim que, para cada caráter adquirido pelos descendentes, deveria haver um “plano central” nos ascendentes que de alguma forma era decodificado em cor, forma, altura etc. Esse “plano central” foi denominado unidade mendeliana de herança. Mendel observou também que, nas gerações sucessivas, algumas características predominavam sobre outras. Mendel descreveu então o comportamento **recessivo** ou **DOMINANTE*** de certos caracteres, o que o levou a postular que cada planta deveria conter **duas** unidades de hereditariedade para cada característica. No entanto, a natureza química desse “plano central”, ou das unidades mendelianas de herança, ainda estava longe de ser estabelecida, principalmente porque

os resultados de Mendel permaneceram ignorados pela comunidade científica por cerca de 50 anos.

Uma pequena pista sobre a natureza do material genético foi obtida em 1871 por Miescher, que a partir de estudos realizados com **pus***, conseguiu isolar nucleoproteínas, chamadas então de nucleínas. As nucleínas (encontradas nos núcleos de todas as células) possuíam características ácidas, dissolviam-se em soluções alcalinas diluídas e continham quantidades relativamente altas de fósforo.

Quando ocorre uma infecção bacteriana num ferimento, os leucócitos sangüíneos convergem para o local infectado. Nesse sítio, os leucócitos fagocitam os microrganismos invasores. Essa população de células fagocíticas constitui o pus. Muitas das células fagocíticas encontram-se destruídas no local da infecção e desse modo, uma amostra de pus terá uma quantidade relativamente grande de DNA.

O passo seguinte na elucidação do material genético foi dado por Walter Sutton em 1903, com a descoberta de que os cromossomas* poderiam ser os carreadores das unidades mendelianas de herança. Sabia-se também que, quando um espermatozóide penetrava num óvulo, ele também contribuía com seus cromossomas. Sutton também levou em conta as observações de Mendel a respeito do número das unidades de herança, notando que os gametas somente possuíam a metade do número de cromossomas das células somáticas.

As unidades mendelianas de herança, que passaram a ser chamadas de **genes** pelo cientista dinamarquês Wilhelm Johannsen, foram estudadas em detalhe pelo fundador da Genética moderna, Thomas Hunt Morgan, que usou a mosca *Drosophila melanogaster* como modelo experimental. Ele conseguiu determinar a localização e a distância relativa entre certos genes na estrutura dos cromossomas. Esse trabalho foi realizado por um de seus estudantes, Alfred Sturtevant, que conseguiu mapear os genes nos cromossomas através de cálculos que levavam em conta quantas vezes ocorriam certas características **fenotípicas***, que eram observáveis após vários cruzamentos entre as moscas. Curiosamente, Morgan, que nasceu no mesmo ano da publicação do trabalho de Mendel, leu esse trabalho sem inicialmente dar muita credibilidade. A partir daí, passou-se a aceitar que os cromossomas alojavam muitos genes e que estes possuíam o código que transmitia e determinava as características dos ancestrais para os descendentes.

Thomas Hunt Morgan (1866-1945) introduziu a teoria cromossomal da hereditariedade. No início de seu trabalho com *Drosophila*, Morgan não estava convencido sobre as Leis de Mendel mas logo seus resultados o converteram num ardente defensor da genética. Eventualmente Morgan sugeriu que os fatores de hereditariedade de Mendel poderiam ser os próprios cromossomos. Morgan e seus discípulos também conseguiram demonstrar a distância entre os genes simplesmente realizando experimentos de cruzamentos entre as moscas e determinando a presença de certos caracteres nos descendentes. Por exemplo, se certos genes sempre apareciam nos descendentes, a explicação mais provável é que eles se encontravam próximos uns dos outros no cromossomo.

O fenótipo é o conjunto das propriedades observáveis de uma célula ou de um organismo. O fenótipo resulta da interação entre o genótipo e o ambiente.

O estudo dos genes deve muito às bactérias e aos fungos. Como modelo experimental, os fungos e as bactérias são muito úteis. Eles crescem rapidamente em meios de cultura simples, são **haplóides***, geram indivíduos idênticos entre si e permitem então estudar certas características transmitidas a partir de somente um organismo.

Uma célula haplóide é aquela que tem a metade do número de cromossomos das células somáticas. No homem as células somáticas têm um genoma diplóide de 46 cromossomos e as células haplóides (os gametas) têm 23 cromossomos.

Foi justamente trabalhando com a bactéria que causa a pneumonia infecciosa, o *Streptococcus pneumoniae* que, em 1928, Frederick Griffith observou que podia transformar uma cepa* não-patogênica de *S. pneumoniae*, numa cepa patogênica, isto é, que produzia a doença no animal do experimento, apenas através do contato entre as duas. Com essa observação, Griffith concluiu que alguma mensagem (sob a forma de compostos orgânicos) era transmitida de uma célula para outra. Faltava identificar que moléculas eram essas.

GEORGE W. BEADLE e Edward L. Tatum, trabalhando com o fungo *Neurospora crassa*, observaram que após irradiação com raios X, ocasionalmente eles isolavam esporos* que em cultura não cresciam tão bem quanto os demais. Nesses casos, para que o fungo mutante crescesse, bastava enriquecer o meio de cultura com uma vitamina ou um aminoácido. Com esses resultados, Beadle e Tatum concluíram que os esporos mutantes deveriam possuir enzimas deficientes que não conseguiam sintetizar a vitamina ou o aminoácido essencial para seu crescimento, e puderam então estabelecer a importante relação: **um gene: uma enzima**, isto é, para cada enzima responsável pelo metabolismo dos fungos havia necessidade de um gene. Sabendo-se que as enzimas são proteínas, essa relação passou a ser generalizada como **um gene: uma proteína** (por razões que serão discutidas mais adiante, atualmente essa afirmação precisou ser adaptada para **um gene: um polipeptídeo**).

Estudos subsequentes de Joshua Lederberg, trabalhando com a bactéria *Escherichia coli*, revelaram que, quando as bactérias entravam

GEORGE WELLS

BEADLE iniciou seus trabalhos em genética usando também o modelo da *Drosophila*. Ele conseguiu realizar transplantes do tecido que dava origem aos olhos das moscas, com a finalidade de verificar se o pigmento do olho poderia ser transferido de um indivíduo ao outro. Os resultados sugeriram a presença de fatores que teriam essa função. Logo Beadle trabalhando juntamente com E.L. Tatum passou a trabalhar com fungos devido a maior facilidade de cultivo. Os resultados com fungos mutantes formaram a base do princípio de um gene para cada enzima. Em 1958, Beadle, Tatum e Lederberg ganharam o prêmio Nobel por esse trabalho.

em contato umas com as outras (conjugação), era possível observar a transferência de certas características metabólicas, ou seja, os genes eram transferidos de uma bactéria à outra. Nada se sabia ainda sobre a natureza química dos genes, embora Stadler houvesse demonstrado que quando mutações eram causadas por luz ultravioleta, o comprimento de onda da luz UV mais completamente absorvido pelos ácidos nucleicos provocava a maior taxa de mutações.

Finalmente em 1944, através de experiências simples, usando o *Streptococcus pneumoniae* (a bactéria causadora da pneumonia infecciosa), OSWALD AVERY, Colin MacLeod e MacLyn McCarty descobriram que o material genético era o ácido desoxirribonucleico, o DNA! Essa etapa efetivamente inaugurou a Biologia Molecular.

Nessas experiências, os cientistas usaram duas cepas diferentes das bactérias, um mutante não-patogênico e uma cepa patogênica, isto é, que causava a pneumonia. Quando injetada em ratos, a cepa patogênica os matava. A cepa não-patogênica não tinha efeitos letais. Os pesquisadores descobriram que, num tubo de ensaio, a cepa não patogênica tornava-se patogênica após contato com a cepa patogênica, *conforme já descrito por Griffith*, isto é, o material genético responsável pela patogenicidade era transferido de uma bactéria à outra. Isso também ocorria quando a cepa patogênica era tratada a alta temperatura e liberava seu material genético. Avery, MacLeod e McCarty fizeram então uma série de experiências, em que o material genético era submetido a tratamentos que degradavam especificamente certas classes de macromoléculas. Por exemplo, quando os pesquisadores extraíam esse material das bactérias patogênicas, tratavam com proteases (enzimas que somente degradam proteínas) e incubavam o extrato assim tratado com as bactérias não-patogênicas, estas passavam a ser patogênicas. Conclusão: *o material genético não era protéico*. Experiências semelhantes foram feitas até que os cientistas trataram o extrato bacteriano com desoxirribonucleases ou DNases (enzimas que degradam especificamente o ácido desoxirribonucleico, o DNA) e verificaram que aí sim, as bactérias não-patogênicas permaneciam não-patogênicas, isto é, não ocorria a transferência do material genético porque este havia sido degradado pela enzima desoxirribonuclease (DNase). Conclusão, se a DNase degradava o material genético, por mais incrível que pudesse parecer (pois na época acreditava-se que o material genético consistia de proteínas), a molécula do DNA é que continha a informação genética.

Alguns procariotos e fungos podem assumir uma forma que é muito resistente a altas temperaturas, dessecação, etc. Essas formas são chamadas de esporos. Já se encontrou esporos de aproximadamente 250 milhões de anos e que quando cultivados em meio apropriado, viveram normalmente. Acredita-se hoje em dia que os esporos não tem um limite conhecido de longevidade e praticamente são imortais.

OSWALD THEODORE AVERY

(1877-1955), intrigado pelos resultados de Griffith, resolveu repetir seus experimentos. Avery teve a idéia de usar o modelo experimental de Griffith para pesquisar a natureza química do fator de transformação. Quando em 1944 os seus resultados apontaram o DNA como responsável pela transformação, Avery relutou muito em publicar seu trabalho. A razão para tal devia-se ao fato de que quase todos os cientistas contemporâneos de Avery acreditavam que os genes eram proteínas. Foi somente após 1950 que os resultados de Avery passaram a ser aceitos pela comunidade científica.

Em 1952, essa conclusão foi confirmada pelas experiências de Alfred Hershey e Martha Chase, usando **vírus***, por meio de marcação específica de proteínas com o isótopo ^{35}S e do DNA, com ^{32}P . Esses cientistas demonstraram que, após a infecção de células com o vírus marcado, somente a radioatividade associada ao ^{32}P (e, portanto, ao DNA) encontrava-se no interior das células. Essa experiência demonstrou que somente o DNA entrava nas células.

Nas células as principais enzimas que degradam os ácidos nucleicos são a DNase e a RNase. Essas enzimas fazem parte do metabolismo celular e em condições fisiológicas agem tanto na correção de erros que ocorrem durante a replicação do DNA, como na degradação do RNA-mensageiro, ou mRNA, assim como o RNA ribossomal.

Os vírus são elementos genéticos constituídos de proteína (capsídeo) que podem conter o DNA ou RNA como seu ácido nucleico. Os vírus que, rigorosamente são cristais, somente conseguem se replicar no interior de células. Em geral, quando os vírus se replicam, a célula que os hospedou é destruída e os vírus infectam novas células. O estágio entre as infecções é o estágio extracelular dos vírus. É importante ressaltar que os vírus não são considerados como seres vivos.

A ESTRUTURA DO DNA

A partir dessa descoberta fundamental, o DNA passou a ser uma molécula intensamente estudada, pois todos os biólogos queriam saber de que forma a informação estava contida na molécula do DNA e como ocorria o armazenamento e a transferência dos caracteres de uma geração a outra. Naturalmente, imaginou-se que a solução deveria estar na estrutura dessas moléculas.

Esse enigma foi resolvido por uma dupla de pesquisadores, James Dewey Watson e Francis Crick, que, em 1953, propuseram um modelo estrutural para a molécula do DNA que permanece verdadeiro até os dias de hoje. Watson e Crick usaram os resultados de **difração de raios-X*** de Rosalind Franklin e de Maurice Wilkins, que conseguiram cristalizar a molécula do DNA e medir as distâncias entre os átomos que constituíam o polímero. Com todos esses dados, Watson e Crick construíram um modelo (usando hastes e garras metálicas do laboratório, assim como chapas metálicas cortadas no formato das bases aminadas; veja **Figura 5.3**), em que a molécula do DNA exibia cadeias duplas de nucleotídeos interligados por meio de ligações fosfodiester (veja a estrutura mais adiante). As cadeias interagem entre si através de **pontes de hidrogênio*** (ligações não-covalentes) e **interações hidrofóbicas***, formadas entre as bases que estão voltadas para o interior da cadeia.

Com esse modelo, Watson e Crick postularam também em sua publicação histórica que, por ocasião da divisão celular, cada uma das cadeias do DNA seria copiada por um sistema enzimático (ainda não conhecido na época), o que perpetuaria o código contido na sequência das bases nitrogenadas. Essa previsão mostrou-se verdadeira.

De 1953 para cá, houve um tremendo avanço na compreensão não só da estrutura do DNA e do RNA como também dos mecanismos de replicação e de regulação da **expressão gênica**. Para que se tenha uma idéia do progresso, você já deve ter sentido o impacto da clonagem da ovelha *Dolly* a partir de células somáticas* de um doador. Após a recente clonagem do camundongo *Cumulina*, de bezerros, de macacos e de porcos, *Dolly* não é mais o único vertebrado superior clonado. Foi desenvolvida também a tecnologia para a identificação de indivíduos e para analisar a genealogia de indivíduos e os primeiros esforços no sentido de realizar terapia gênica, o que representa uma especialidade da Medicina, na qual as correções são feitas diretamente nos genes defeituosos. Essa é chamada de Medicina Molecular. Igualmente estimulante foi a descoberta de que a injeção de DNA em animais experimentais pode funcionar como uma vacina, o que apresenta algumas vantagens sobre as vacinas tradicionais, baseadas em inoculações de proteínas. Há muitas outras aplicações da Biologia Molecular, mas talvez as que mais tenham chamado a atenção nos últimos tempos foram os vários projetos **Genoma***.

Todas essas aplicações foram, direta ou indiretamente, a consequência do conhecimento tanto da estrutura do DNA, como também do mecanismo de biossíntese desse polímero. A seguir, discutiremos alguns princípios básicos que nortearam toda essa tecnologia.

Algumas noções sobre as estruturas dos ácidos nucléicos são essenciais para compreendermos como foi feito o sequenciamento.

A molécula do ácido desoxirribonucleico (DNA) é um polímero, isto é, uma grande molécula composta de unidades que se ligam umas às outras. Essas unidades são chamadas **monômeros***. Se imaginarmos um colar de contas, o polímero seria o colar e as contas seriam os monômeros. O DNA possui quatro tipos diferentes de “contas”, conforme veremos mais adiante.

Um polímero é uma molécula que em geral é constituída da repetição de unidades estruturais iguais ou semelhantes, isto é, da mesma classe química. Essas unidades estruturais são chamadas de **monômeros**. No caso do DNA, os nucleotídeos são os monômeros. No caso das proteínas, os monômeros são os aminoácidos. No caso da celulose e do amido, o monômero é a glicose.

As dimensões do DNA podem variar muito, dependendo da espécie de onde for extraído. A **Tabela 5.1** mostra essa variação na natureza. Observe que, para medir as diferenças, os tamanhos dos diferentes genomas foram expressos em número de bases multiplicado por mil, ou kilobases, cuja abreviatura é kb. É comum encontrar também a notação **pb**, ou pares de bases.

Tabela 5.1: Dimensões do DNA em diversos organismos

Organismo ou partícula	Massa molecular	Tamanho em kb
plasmídeo	$1,4 \times 10^6$	3,0
vírus políoma	$3,2 \times 10^6$	5,1
maioria das bactérias	$2,0-2,6 \times 10^9$	4,7
<i>Drosophila</i>	$7,9 \times 10^{10}$	165000
homem	$8,0 \times 10^{10}$	3200000

A = adenina
C = citosina
G = guanina
T = timina

Os monômeros, ou seja, as unidades estruturais que constituem a molécula de DNA e do ácido ribonucleico (RNA), são os nucleotídeos (**Figura 5.2**). Todos os nucleotídeos consistem em: 1) um açúcar de 5 átomos de carbono, ou uma pentose, que no DNA é a desoxirribose (no RNA, um outro tipo de ácido nucléico, a pentose é uma ribose, cuja única diferença da desoxirribose é um radical de OH a mais). Repare na **Figura 5.3** a diferença entre a desoxirribose e a ribose; 2) uma base nitrogenada (adenina, timina, citosina e guanina, cujas abreviações são respectivamente, **A, T, C e G**) e 3) um radical de ácido fosfórico. O DNA é considerado como um ácido devido ao ácido fosfórico.

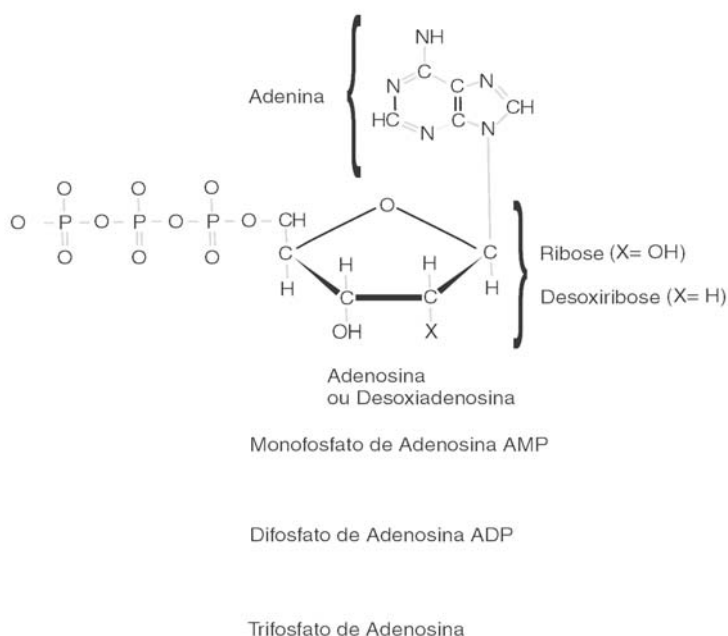


Figura 5.2: Estrutura de um nucleotídeo mostrando o ácido fosfórico, o açúcar (a desoxirribose) e a base amina adenina.

Vamos lembrar, neste momento, que por ser um ácido o DNA exibirá uma carga elétrica negativa em pH neutro ou alcalino.

A **Figura 5.3** mostra as estruturas das bases nitrogenadas.

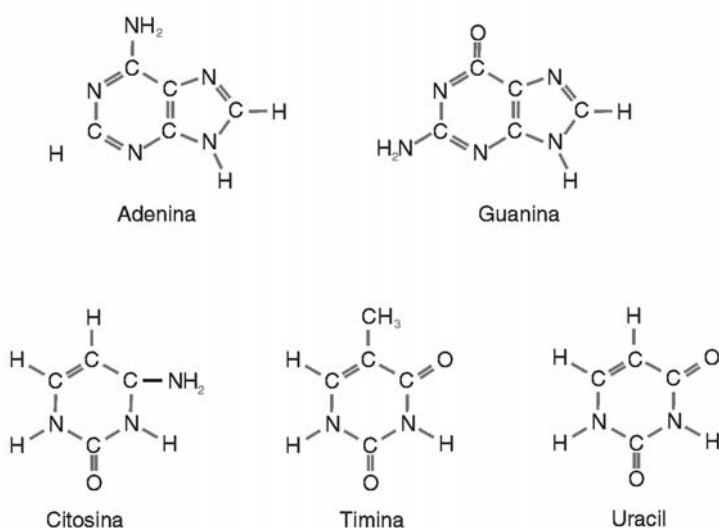


Figura 5.3: As bases aaminadas que fazem parte dos nucleotídeos do DNA e do RNA.

Observando a estrutura do nucleotídeo (**Figura 5.2**) é possível notar que a molécula da desoxirribose possui 5 átomos de carbono. Esses átomos são numerados 1', 2', 5'. Essa notação foi usada para descrever as duas extremidades de um DNA linear. Uma **extremidade** termina com o fosfato ligado no carbono 5' da desoxirribose. Logo, essa extremidade é chamada **extremidade 5'**. A outra extremidade do DNA termina na hidroxila que está ligada ao carbono 3' da desoxirribose. Logo, por analogia essa outra extremidade é chamada **extremidade 3'**.

Os projetos Genoma buscam saber qual a sequência, ou seja, qual a ordem dessas bases em cada cadeia do DNA, de uma extremidade do cromossoma até a outra. Esse conhecimento é importante porque, como já sabemos interpretar o código genético, será possível então traduzir a informação da sequência do DNA em sequências de proteínas (ou de RNA).

O projeto do genoma humano produzirá, desse modo, um enorme dicionário!

Voltando à molécula do DNA, os nucleotídeos unem-se uns aos outros através de ligações fosfodiéster (**Figura 5.4**) que ocorrem entre a hidroxila do carbono 5' da pentose e a hidroxila do carbono 3' do nucleotídeo seguinte. Assim, uma das extremidades dos ácidos nucleicos é sempre denominada de 5' (o polímero termina com o ácido fosfórico livre) e a outra, de extremidade 3' (o polímero termina com a hidroxila do carbono 3' livre) conforme mostra a **Figura 5.4**.

As pontes de hidrogênio são forças fracas de atração entre um átomo eletronegativo (p. ex., oxigênio, nitrogênio ou enxofre) e um átomo de hidrogênio que está ligado a um outro átomo eletronegativo. Desse modo o hidrogênio é compartilhado entre os dois átomos eletronegativos, efetivamente formando uma ponte entre eles. No caso de polímeros como o DNA, a soma das forças de atração de todas as pontes de hidrogênio da molécula é suficientemente forte para manter unidas as duas cadeias (ver **Figura 5.5**).

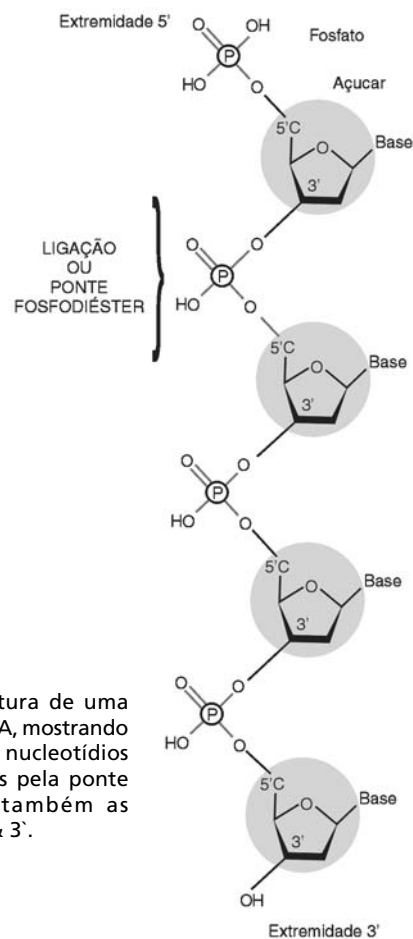


Figura 5.4: Estrutura de uma das cadeias do DNA, mostrando de que modo os nucleotídeos estão interligados pela ponte fosfodiéster e também as extremidades 5' & 3'.

Quais são as forças que mantêm as duas cadeias do DNA unidas? A Figura 5.5 mostra as **pontes de hidrogênio***, que são forças fracas de interação e estabelecem ligações entre as duas cadeias. Como ao longo do DNA existem muitas pontes de hidrogênio, o somatório dessas forças é suficientemente forte para manter as cadeias unidas no interior da célula. Note que entre a timina e a adenina, existem duas pontes de hidrogênio, ao passo que entre a citosina e a guanina ocorrem três pontes de hidrogênio.

Logo, quanto maior a quantidade de C e G no DNA, mais estável será a associação entre as suas cadeias. O fato de encontrarmos A interagindo sempre com T e C com G deve-se às dimensões moleculares das bases nitrogenadas e de seus radicais, assim como ao posicionamento dos grupos que vão formar as pontes de hidrogênio. Desse modo, as cadeias formam um encaixe perfeito. Além das pontes de hidrogênio, a estrutura de dupla cadeia é mantida também por **interações hidrofóbicas*** entre os anéis heterocíclicos das bases aminadas. Isso quer dizer simplesmente que essa porção do nucleotídeo é apolar, isto é, não tem afinidade pela água. Num ambiente aquoso, como no interior da célula, as bases tendem espontaneamente a interagir umas com as outras, isto é, a base de uma cadeia interage com a base da outra cadeia. Recordando, A interage com T e C interage com G.

A estrutura de dupla hélice do DNA encontra-se na Figura 5.6.

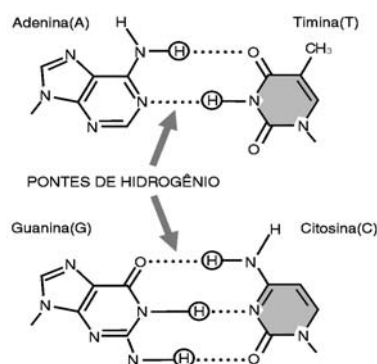


Figura 5.5: Pontes de hidrogênio entre as bases aminadas. As pontes estão representadas pelas linhas pontilhadas.

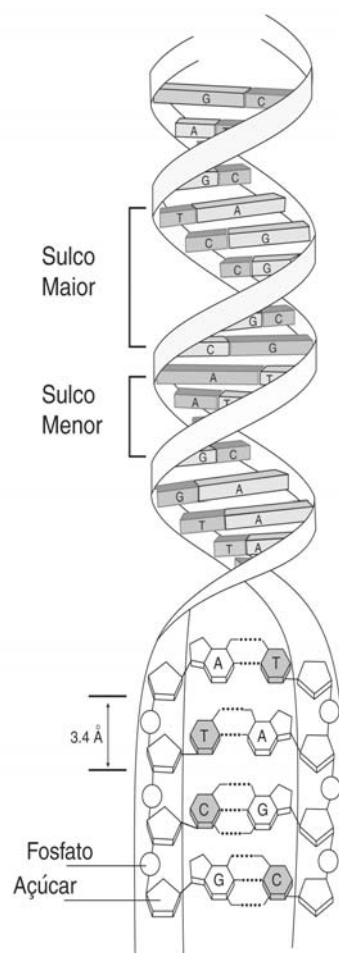


Figura 5.6: Estrutura do DNA mostrando as duas cadeias, os sulcos da molécula; no detalhe, as pontes de hidrogênio.

As cadeias do DNA possuem seqüências de bases aminadas que são complementares entre si. Isso significa que se em uma das cadeias houver adenina, na cadeia oposta bem em frente à adenina, haverá uma molécula de timina. No caso da guanina, haverá a citosina. Desse modo, se conhecermos a seqüência de bases em uma cadeia, sempre será possível deduzir qual a seqüência da cadeia complementar. Por exemplo, se numa cadeia a seqüência for AACG, na outra cadeia a seqüência será TTGC.

Observe que a estrutura espiralada forma duas reentrâncias ou sulcos principais: o sulco maior e o sulco menor. Essas reentrâncias são importantes na interação de proteínas com o DNA.

A história da descoberta da estrutura da dupla-hélice do DNA foi escrita pelo próprio Watson em seu famoso livro *A dupla-hélice*. Além de descrever a evolução do pensamento que culminou com o clássico modelo de Watson & Crick, o livro narra com humor cáustico e suspense todo o ambiente de competição que existia entre os laboratórios que se dedicavam ao DNA. O maior concorrente de Watson e Crick (que ainda não tinha terminado sua tese de doutorado) era Linus Pauling, da Caltech, nos Estados Unidos. Pauling, que já havia recebido o prêmio Nobel de Química, propôs um modelo no qual o DNA teria uma hélice tripla. Esse erro deveu-se a um descuido de Pauling, que não havia levado em conta a carga do fosfato da cadeia do DNA. Watson, Crick e Wilkins compartilharam o prêmio Nobel em 1962. Rosalind Franklin morreu em 1958. Como as regras do prêmio Nobel proíbem homenagens póstumas, Rosalind Franklin infelizmente não recebeu o devido reconhecimento pelo seu esforço.

FORÇAS DE ATRAÇÃO E DE REPULSÃO ENTRE AS CADEIAS DO DNA; DESNATURAÇÃO

Podemos observar que as bases nitrogenadas possuem anéis cíclicos e heterocíclicos. Sabemos que esses anéis possuem uma natureza apolar que lhes confere uma característica hidrofóbica (pouca afinidade pela água). Assim, quando a molécula do ácido nucléico se encontra numa solução aquosa, as bases nitrogenadas espontaneamente voltam-se para o interior do polímero, uma região relativamente pobre em moléculas de água.

São esses mesmos anéis que absorvem luz ultravioleta (máximo de absorção em 260 nm). É por isso que a luz ultravioleta do sol pode causar lesões sérias no DNA das células da pele, muitas vezes levando ao melanoma (câncer de pele).

Quando as pontes de hidrogênio são rompidas, por exemplo, através de temperatura elevada, as forças que mantêm unidas as cadeias do DNA são eliminadas e ocorre a sua separação. Esse processo denomina-se *desnaturação* do DNA.

A desnaturação do DNA é mostrada na **Figura 5.7**.

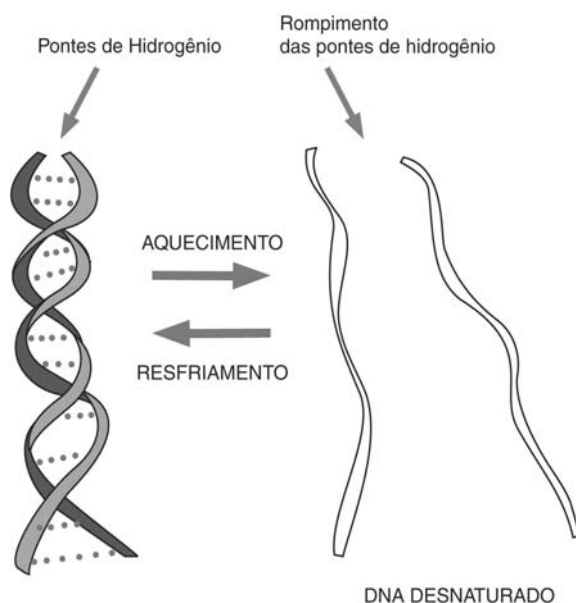


Figura 5.7: Desnaturação do DNA.

A separação das cadeias do DNA ocorre naturalmente no interior da célula por ocasião do processo de biossíntese, ou de replicação do DNA, antes da divisão de uma célula. Só que, nesse caso, a desnaturação do DNA não é resultado de aumento de temperatura, mas sim de proteínas específicas que bloqueiam as pontes de hidrogênio e as interações hidrofóbicas, e assim deixam que ocorra a desnaturação mesmo em baixa temperatura. Durante a replicação do DNA, é importante que suas cadeias separem-se para que o sistema enzimático da DNA polimerase possa ligar-se a cada uma das cadeias.

EXERCÍCIOS

1. O que significa a expressão “DNA lixo” ?
2. Em que observação Mendel baseou-se para propor que havia duas unidades de hereditariedade?
3. Como foi realizada a experiência de Avery, MacLeod e McCarty para mostrar que o DNA era a molécula que continha a informação genética ?
4. Quais são as principais forças que mantêm unidas as cadeias do DNA ? Existem forças de repulsão entre as cadeias ?
5. O que significa a desnaturação do DNA?

RESUMO

Nesta aula você aprendeu como uma pergunta fundamental (como é transmitida a informação genética de uma célula a outra) gera diversas idéias e modelos para explicá-la. Você também aprendeu como os modelos evoluem em função dos resultados experimentais. No final do capítulo você aprendeu alguns detalhes importantes sobre a estrutura do DNA que vão ajudá-lo a compreender como é realizado o seqüenciamento do DNA.

AUTO-AVALIAÇÃO

Se a sua resposta para a pergunta 1 for semelhante ao texto da página 84, você entendeu a diferença entre DNA codificante e não-codificante, isto é, o DNA que possui mensagens (genes) e o resto da molécula que não codifica nada. A sua resposta para a pergunta 2 pode ser comparada com o texto da página 85. Se a sua resposta for parecida, isso significa que você está pensando da mesma forma que Mendel e entendeu o conceito das duas unidades de hereditariedade e também o conceito de gene dominante e recessivo. Para verificar se você acertou a pergunta 3 dê uma olhada na página 88. Ali você encontrará a estratégia que permitiu uma conclusão histórica. A leitura das páginas 93 e 94 confirmará que você compreendeu por que a molécula do DNA é do jeito que hoje conhecemos (dupla cadeia). Se você compreendeu como as cadeias do DNA se mantêm unidas, você não terá dificuldade de responder à pergunta 5, que está respondida nas páginas 94 e 95 e na **Figura 5.7**.

AULA 6

Como se obtém a seqüência de uma molécula de DNA ou de RNA?

objetivo

- Nesta aula discutiremos os princípios da técnica de seqüenciamento dos ácidos nucléicos. Para tal, explicaremos brevemente como ocorre a replicação do DNA, visto que a técnica lança mão da enzima que realiza a síntese de DNA na célula. Também nesta aula descreveremos os principais resultados já obtidos pelo projeto do genoma.

FREDERICK SANGER (1918-)

é um bioquímico britânico, até hoje o único cientista detentor de dois prêmios Nobel de Química na história da Ciência. O primeiro prêmio Nobel foi agraciado em 1958 por sua contribuição sobre a estrutura das proteínas. O segundo foi concedido em 1980 por seu trabalho com os ácidos nucleicos. Graças à técnica de sequenciamento de Sanger, o DNA – que era a molécula mais difícil de sequenciar – passou a ser a mais fácil. Atualmente é mais fácil e mais rápido sequenciar o DNA que sequenciar proteínas. Desse modo, os pesquisadores preferem deduzir a sequência das proteínas a partir da sequência do DNA.

Antes de discutirmos o sequenciamento do DNA propriamente dito, é preciso descrever brevemente como se passa a biossíntese do DNA, porque o método que foi inventado para tal depende desse processo.

Na década de 70, **FREDERICK SANGER** (ganhador de dois prêmios Nobel de Química) propôs uma estratégia baseada na reação de síntese do DNA.

Na célula, a síntese do DNA é realizada pela enzima DNA polimerase. Essa enzima fica localizada no núcleo das células eucariotas e sintetiza a cadeia complementar do DNA, tomando como molde a cadeia já existente. Desse modo, quando o DNA é replicado, cada molécula nova é constituída de uma cadeia “velha” e de uma cadeia “nova”.

A cadeia nova tem uma sequência complementar à cadeia molde. Isto é, se a sequência da cadeia molde for AATG, a cadeia nova terá uma sequência TTAC, porque já sabemos que no modelo descrito por Watson e Crick A sempre forma par com T e C sempre forma par com G. As cadeias do DNA são complementares entre si.

Esse processo, em que uma das cadeias funciona como molde para a cadeia nova, representa uma replicação **semiconservadora** do DNA. Esse processo está ilustrado na **Figura 6.1**.

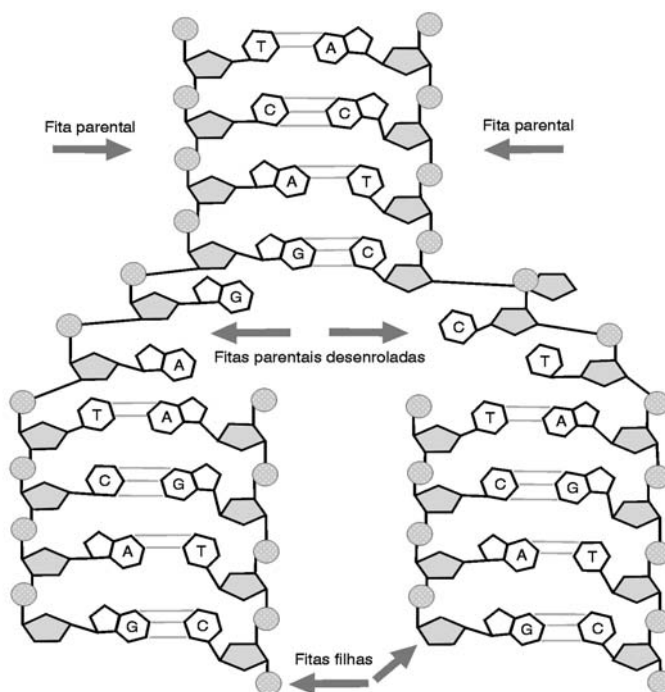


Figura 6.1: Esquema da replicação semiconservadora do DNA.

Note que a síntese da nova cadeia incorpora os monômeros trifosfatos dos nucleotídeos, abreviados de dNTPs, em que N representa qualquer uma das quatro bases na nova cadeia de DNA. Observe também que as cadeias complementares do DNA são “antiparalelas”, isto é, uma parece estar de cabeça para baixo em relação à outra. Na realidade, uma cadeia simplesmente possui um sentido vetorial oposto em relação à outra cadeia (veja a **Figura 6.1**).

A reação de polimerização inicia-se num determinado ponto da cadeia, especificado por um oligonucleotídeo já associado à molécula de DNA (veja na **Figura 6.2**). Esse oligonucleotídeo complementar é chamado *primer* ou “iniciador”. Na célula esse iniciador é um pequeno pedaço de RNA, que é sintetizado por uma enzima chamada de *primase*.

A brilhante idéia de Sanger foi acrescentar à mistura de reação um trifosfato de nucleotídeo ligeiramente modificado. Esse trifosfato foi denominado análogo didesoxi. Veja na **Figura 6.3** as estruturas de um análogo didesoxi, cuja base pode ser qualquer uma das quatro bases e compare com a estrutura de um nucleotídeo “normal” (**Figura 6.3**).



Figura 6.2: Diagrama mostrando a importância do primer ou iniciador para a síntese das cadeias novas do DNA.

Repare que o análogo didesoxi não possui nenhuma hidroxila na posição 3' da pentose. Por causa dessa modificação, a enzima DNA polimerase *não* consegue estender a cadeia do DNA além desse ponto, *sempre que uma molécula do análogo didesoxi for incorporada*. Isso acontece porque, como pode ser observado na **Figura 6.4**, os nucleotídeos formam uma ponte (chamada de ponte fosfodiéster) entre a hidroxila do carbono 3' da pentose, e o carbono 5' da pentose do nucleotídeo seguinte.

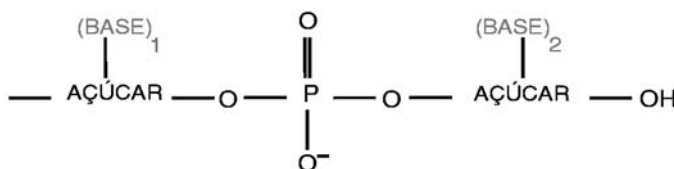


Figura 6.4: A ponte fosfodiéster entre dois nucleotídeos.

O grupamento hidroxila é representado na estrutura da desoxirribose pelo radical OH. É justamente esse grupamento que permite que o ácido fosfórico estabeleça uma ligação do tipo fosfodiéster, ou seja, a valência formada entre o ácido fosfórico e o grupamento OH. Quando a hidroxila está ausente, como na molécula do análogo didesoxi, a reação com o ácido fosfórico não ocorre.

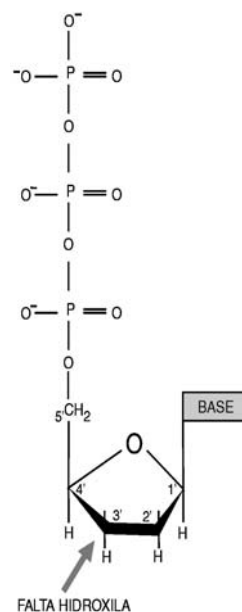


Figura 6.3: Estrutura do análogo didesoxi, mostrando a ausência dos grupamentos hidroxila na molécula da pentose.

Para melhor compreender o que se passa, imagine um trem e os seus vagões. Os vagões ligam-se uns aos outros através do engate. Se por ventura um dos vagões só possuir um engate na sua dianteira, ele liga-se ao trem, mas nenhum outro vagão vai ligar-se na sua parte traseira, porque ele não tem um engate aí.

O análogo didesoxi pode ser representado por esse vagão com somente um engate. Se dispuséssemos de 4 tipos diferentes de vagões (por exemplo, vagões de cores diferentes) com somente um engate dianteiro, cada um representando uma das bases do DNA, poderíamos reconhecer especificamente qual base interrompeu o processo de síntese.

Voltando à nossa seqüência, se entre os nucleotídeos incluirmos um análogo didesoxi marcado com um isótopo radioativo ou com um marcador fluorescente (a cor do vagão com somente um engate), os fragmentos obtidos após a reação serão radioativos ou fluorescentes e, portanto, de fácil detecção por meio de **AUTO-RADIOGRAFIA** ou por um leitor de *laser* (um dispositivo que automaticamente registra a presença de fluorescência por meio de um pico).

Vamos agora simular uma reação com um análogo didesoxi da adenina, que foi acrescentado à mistura de reação. A DNA polimerase começa a sintetizar a cadeia complementar acrescentando os vários nucleotídeos de acordo com a seqüência molde. Num dado momento, aleatoriamente, na posição em que deveria entrar um nucleotídeo da adenina, entra o análogo didesoxi-A. Nesse momento, essa cadeia não pode mais ser estendida, porque, como já sabemos, o análogo didesoxi é um vagão sem o *engate traseiro*. Como na reação existem várias outras moléculas de DNA sendo replicadas, o mesmo acontece com cada uma, de modo que ao final da reação teremos uma coleção de fragmentos de DNA de vários tamanhos diferentes, *mas todos terminando em A!*

Em seguida realizamos as mesmas reações, cada uma delas contendo um análogo didesoxi-C, didesoxi-G e didesoxi-T. O resultado será equivalente ao que vimos anteriormente. Teremos vários fragmentos de DNA de diversos tamanhos, mas todos terminando respectivamente em C, G e T. A nossa coleção de fragmentos está ilustrada na **Figura 6.5**.

AUTO-RADIOGRAFIA

É uma técnica usada para localizar, por meio de fotografia, a posição de uma molécula radioativa. Para tal, basta colocar o gel, ou a membrana que contém o material radioativo, em contato direto com um filme de raios X. Após algum tempo o filme de raios X é revelado como uma fotografia comum. O resultado aparece como uma região escura, com a forma de uma banda, no caso do fracionamento do DNA.

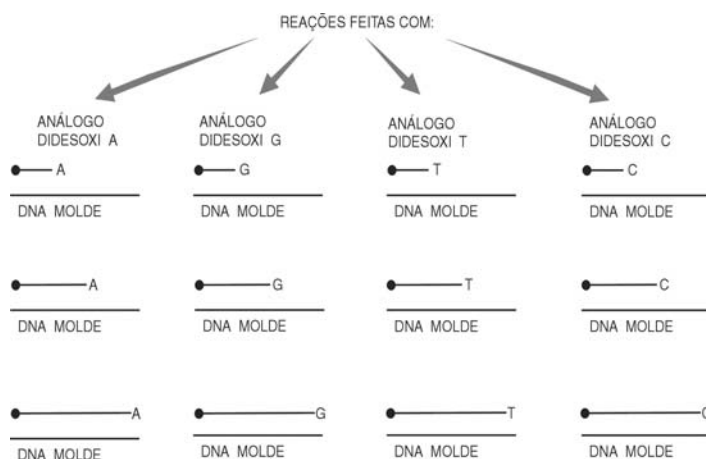


Figura 6.5: Princípio do método de seqüenciamento de Sanger por terminação da síntese da cadeia complementar.

O que Sanger fez em seguida foi fracionar esses fragmentos num sistema de eletroforese, utilizando um gel que permitia discriminar precisamente os tamanhos desses fragmentos de DNA.

A eletroforese aproveita-se do fato de que o DNA tem carga negativa, conforme já mencionamos. Desse modo, todos os fragmentos de DNA que se encontrarem num campo elétrico migrarão para o pólo positivo (desde que o pH da solução seja neutro ou ligeiramente alcalino). O processo da eletroforese em gel (de agarose, ou de poliacrilamida) é ilustrado na **Figura 6.6**.

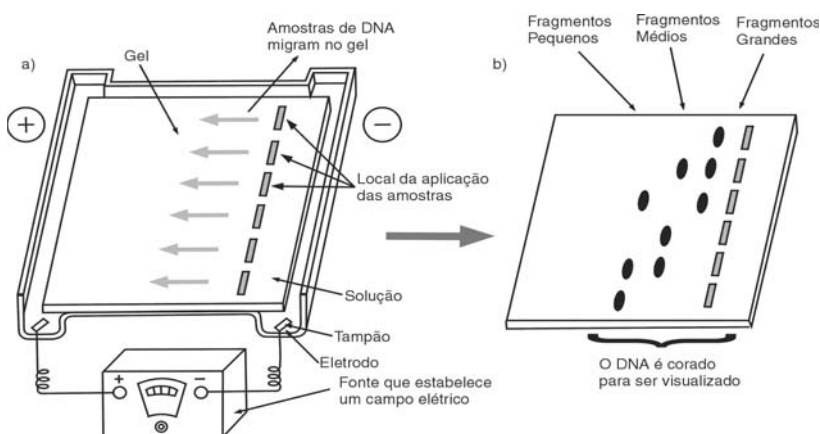


Figura 6.6: Aparelho de eletroforese e o resultado do fracionamento dos fragmentos de DNA.

Os elétrons de certos compostos, quando excitados com luz num determinado comprimento de onda, atingem um nível de energia mais alto que os elétrons não excitados. Quando os elétrons excitados voltam ao seu nível de energia normal, emitem luz em um comprimento de onda maior do que a luz que os excitou inicialmente. Essa emissão de luz é chamada fluorescência e pode ser detectada tanto por filmes fotográficos como por sensores especiais.

Mesmo que não se obtenha a seqüência completa em uma cadeia, basta seqüenciar a cadeia oposta. Como as cadeias são antiparalelas e complementares, o segmento de DNA que estiver faltando numa cadeia poderá ser deduzido a partir da seqüência da cadeia oposta.



Figura 6.7: Um exemplo de um resultado obtido após o fracionamento dos produtos obtidos na reação com os quatro tipos de análogos didesoxi. A leitura da sequência é realizada de baixo para cima.

É fácil entender também que, quanto maior for o fragmento de DNA, mais lentamente este migrará no gel, porque haverá resistência física maior para o seu deslocamento. Inversamente, os fragmentos de DNA menores migram mais livremente. Imagine uma pessoa muito corpulenta tentando mover-se numa multidão. Ela o fará com uma certa dificuldade, o que tornará seu progresso mais lento. Uma pessoa miúda será bem mais ágil.

O processo da eletroforese em gel de poliacrilamida permite uma resolução tão grande dos fragmentos, que é possível distinguir entre aqueles que variam por apenas um nucleotídeo.

Um gel de sequenciamento típico está ilustrado na **Figura 6.7**. Essas reações de sequenciamento poderiam ter empregado análogos didesoxi marcados radioativamente ou com um radical que emite fluorescência. Ambas, a radioatividade e a fluorescência, impressionam igualmente a emulsão fotográfica do filme de raios X. Desse modo, se após o fracionamento o gel for exposto a um filme de raios X, os fragmentos deixarão uma impressão nele. Esse mesmo tipo de gel é apresentado na **Figura 6.8** sob a forma de um diagrama, com a finalidade de compreendermos como se faz a leitura da sequência.

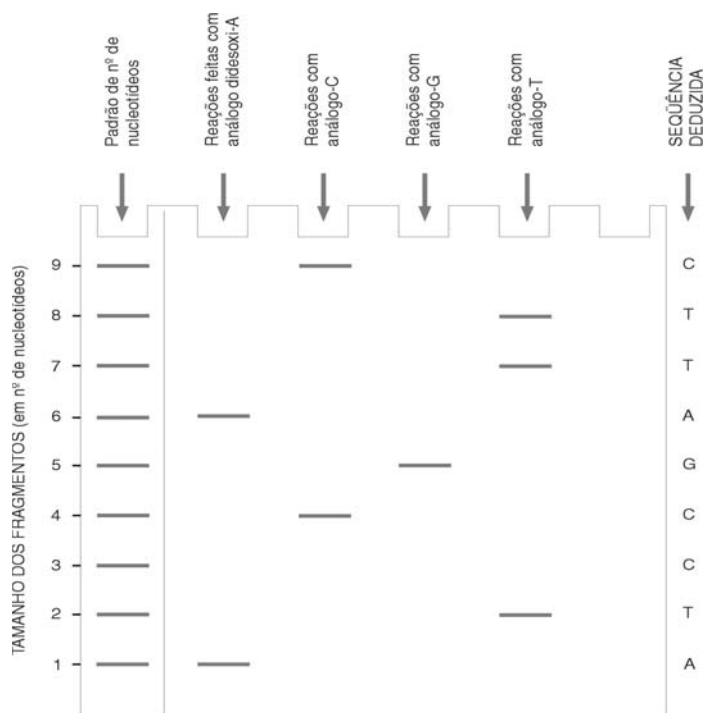


Figura 6.8: Diagrama de um resultado de sequenciamento mostrando como se faz a leitura dos resultados.

Vamos agora decifrar a sequência. Para tal, observe a **Figura 6.8**. Qual é o menor fragmento detectável no gel? É o fragmento com somente um nucleotídeo (na prática, em geral não se consegue detectar somente um nucleotídeo no gel de poliacrilamida; a leitura em geral começa após algumas dezenas de nucleotídeos).

Esse nucleotídeo tem como base a adenina, pois encontra-se na raia que contém os fragmentos obtidos de reações utilizando o análogo didesoxi-A. O fragmento seguinte tem, portanto, dois nucleotídeos e é encontrado na raia do gel correspondente ao tubo contendo a mistura de fragmentos que sempre terminam em T. Logo, se o primeiro nucleotídeo é A e o segundo é T, a sequência do dinucleotídeo é AT. Seguindo o mesmo raciocínio, procede-se à leitura do terceiro, quarto, quinto nucleotídeos e assim por diante. Basta então realizar a leitura de baixo para cima, anotando em qual pista encontra-se o próximo fragmento. No final da leitura, obtém-se a sequência deduzida que se encontra na extrema direita da **Figura 6.8**.

Atualmente, os projetos Genoma utilizam análogos didesoxi que emitem fluorescência de quatro cores diferentes, uma para cada base. Dessa forma é possível automatizar-se o sistema, o que permite o sequenciamento de centenas de nucleotídeos num mesmo gel.

Os equipamentos de alta demanda são em grande parte automatizados e, na verdade, a leitura dos resultados é realizada inteiramente por sensores e interpretada pelos computadores. Um resultado típico de sequenciamento automático encontra-se na **Figura 6.9** (veja a figura na página 158), que mostra como esses resultados são interpretados e registrados no computador.

A HISTÓRIA DOS PROJETOS GENOMA

Quando o primeiro sequenciador automático foi introduzido no mercado, na década de 80, foram propostos vários projetos de sequenciamento completo dos genomas de várias espécies de interesse especial, como o nematódio de vida livre *Caenorhabditis elegans*, que foi o primeiro organismo multicelular a ter seu genoma sequenciado.

A razão para essa escolha é que o *C. elegans* já vinha sendo estudado há muito tempo e tornou-se um alvo desejável porque já se conhecia toda a sua biologia. Esse conhecimento incluía a embriologia,

os mecanismos de reprodução, o número, o tipo e o destino de todas as suas células. Assim, só faltava desvendar seu genoma para que todas as informações sobre esse verme fossem conhecidas.

O projeto do genoma do *C. elegans* consumiu oito anos e foi conduzido conjuntamente por dois laboratórios diferentes. O Centro de Sequenciamento de Genoma em St. Louis, nos Estados Unidos, e o Centro Sanger, em Hinxton, na Inglaterra, sob a coordenação de John Sulston. Sabe-se agora que o genoma desse organismo possui 97 Mb (97 milhões de pares de bases ou de pares de nucleotídeos) e codifica cerca de 19 mil proteínas, um número consideravelmente maior do que se esperava antes de o projeto começar.

Outros organismos também já foram seqüenciados; uns porque muitos cientistas já vinham trabalhando com vários aspectos de sua biologia/bioquímica; outros, devido ao interesse médico. Portanto, já estão disponíveis os genomas da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), da *Drosophila melanogaster*, *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *Mycoplasma genitalium*, plasmódio e muitas bactérias e vírus. Outros organismos estão sendo seqüenciados no momento, incluindo os parasitas *T. cruzi* (doença de Chagas) e o *Schistosoma mansoni* (causador da esquistossomose). Em São Paulo, está em andamento o projeto do genoma do câncer, que pretende compilar os dados seqüenciais dos tumores mais freqüentes na população.

Há também os organismos que afetam a agricultura e que, portanto, têm interesse econômico. No Brasil, recentemente foi terminado o seqüenciamento da *Xylella fastidiosa*, uma bactéria que ataca as laranjas, produzindo a doença do “amarelinho”. Como a exportação da laranja tem grande importância na economia do País, é possível que a seqüência do DNA dessa bactéria venha a surgir uma forma mais eficiente e mais ecológica de controle dessa praga. Terminou recentemente o projeto do genoma da cana de açúcar e em breve será iniciado o projeto do genoma de bactérias envolvidas na fixação de nitrogênio, o que será potencialmente importante tanto no plantio propriamente dito quanto na economia em fertilizantes. O uso mais moderado de fertilizantes será também ecologicamente muito importante, porque evitar-se-á que o uso excessivo deles atinja os lençóis freáticos de água que abastecem as várias comunidades.

Em 1992, começou a competição! O Dr. Craig Venter fundou o *Institute for Genomic Research* (TIGR) que, além de pretender seqüenciar todo o genoma, aproveitou o ímpeto para realizar a reboque, o seqüenciamento de alguns outros microorganismos de interesse médico e biotecnológico, como a bactéria *Haemofilus influenza*. O mesmo Dr. Venter viria a fundar, em 1998, uma companhia particular, a Celera, que através de uma nova estratégia propunha a montagem do genoma sem o auxílio de mapas. Essa estratégia é chamada *shotgun sequencing*, de espingarda cartucheira, isto é, que atira grãos de chumbo para todos os lados. A técnica do *shotgun* que viria a ser adotada pelos dois projetos baseia-se na seleção aleatória de fragmentos para seqüenciamento. O princípio da *shotgun sequencing* está resumido no diagrama da **Figura 6.11**. Note na figura como é feita a montagem final com base no reconhecimento das seqüências que se sobrepõem.

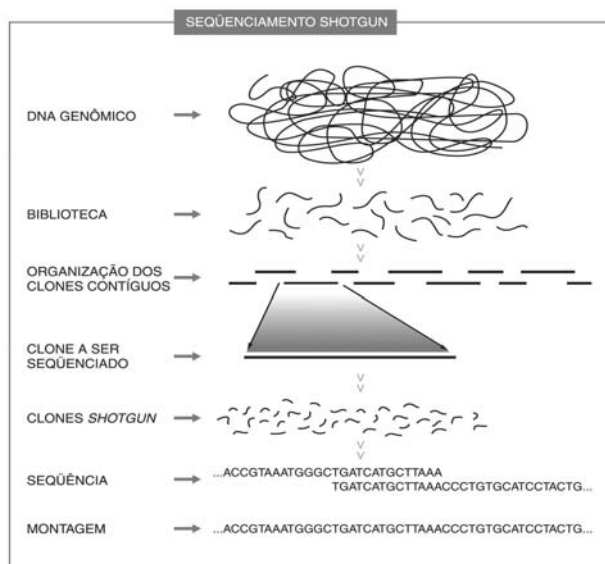


Figura 6.11: Diagrama mostrando a abordagem do *shotgun* para o seqüenciamento de genomas.

Em 1996, o projeto do genoma chegou a uma importante decisão: tornar públicos os dados de seqüenciamento obtidos, através de bancos de dados acessíveis a qualquer pesquisador. Mais tarde, a companhia Celera discordaria dessa decisão. O projeto do genoma humano então agregou cinco grandes centros, apelidados de G5 (grupo dos cinco), para aumentar suas chances na grande “corrida” do genoma. No final de 1999, seria publicada a primeira seqüência completa de um cromossoma humano, o cromossoma 22. Em maio de 2000, o cromossoma 21 também

seria totalmente seqüenciado, e no primeiro semestre de 2001, ambos os projetos, o público e o privado, anunciam o primeiro esboço do genoma humano completo!

No início, a previsão (otimista) tinha sido a de que o projeto terminaria em 2015. No entanto, com o progresso tecnológico que ocorreu ao longo de aproximadamente 10 anos, principalmente no que se refere à automação dos equipamentos, foi possível adiantar os resultados em quase 15 anos! Devemos lembrar também que outros projetos do tipo genoma haviam sido idealizados há mais tempo e foram conduzidos simultaneamente com o genoma humano. Por motivos óbvios, os primeiros projetos concentraram-se em organismos cujo genoma era bem menor que o humano. Hoje em dia, no entanto, não há qualquer restrição ao tamanho de um genoma, que pode ser decifrado com as técnicas mais modernas.

RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS OBTIDOS NO GENOMA HUMANO

Os números especiais da revista *Nature*, vol. 409, de 15 de fevereiro de 2001 e *Science*, vol. 291, de 16 de fevereiro 2001, dedicadas inteiramente aos projetos Genoma, apresentam um rico material para aqueles que desejarem aprofundar seus conhecimentos.

Além do DNA nuclear humano, o DNA mitocondrial já está seqüenciado. Mencionamos essa espécie de DNA não-nuclear porque a informação extraída daí foi também importante para elucidar algumas patologias ligadas à mitocôndria e também porque o DNA mitocondrial passou a constituir uma ferramenta muito útil para medir tanto a evolução, como a identificação de indivíduos.

Comparado ao DNA cromossomal nuclear, o DNA mitocondrial é minúsculo. São apenas 16.569 pares de bases, compondo 37 genes que codificam as proteínas que participam do processo de **FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA**. O DNA mitocondrial foi seqüenciado em 1981 no laboratório de Frederick Sanger, em Cambridge. Além das seqüências codificantes, descobriu-se um pequeno trecho, chamado de alça D, que não codifica proteína alguma, mas que contém duas regiões altamente variáveis (HV1 e HV2), ou, no jargão genético, altamente polimórficas. Essas regiões são tão variáveis que podemos identificar um indivíduo por suas seqüências polimórficas no DNA mitocondrial.

O gene da amelogenina codifica uma proteína do esmalte dos dentes. Na mulher, o gene da amelogenina, que localiza-se no cromossoma X, possui uma deleção de seis pares de bases em comparação com o gene masculino, que fica no cromossoma Y. Isso significa que na mulher o gene da amelogenina é menor. Assim, se uma amostra de tecido revelar somente uma banda em eletroforese em gel de poliacrilamida, sabemos que o tecido é de uma mulher (um par de cromossomas X, logo, dois fragmentos do mesmo tamanho). Se a amostra for de um homem (XY), observaremos dois fragmentos de DNA de tamanhos diferentes, um maior, localizado no cromossoma Y, e um menor, localizado no cromossoma X.

FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

É o processo bioquímico de síntese de ATP nas mitocôndrias durante a oxidação de um metabólito, ao longo da cadeia respiratória. É nesse processo que o oxigênio molecular é consumido pelas células aeróbicas.

Uma outra peculiaridade desse DNA também foi aplicada recentemente em Antropologia. Descobriu-se que o DNA mitocondrial tem uma herança exclusivamente materna. Isso acontece porque, por ocasião da fertilização do óvulo, a cauda do espermatozóide, que contém a maioria de suas mitocôndrias, não penetra na célula. Mesmo as poucas mitocôndrias dos espermatozoides que lograrem penetrar no óvulo, eventualmente serão degradadas. Na verdade, a presença de mais de um tipo de DNA mitocondrial no óvulo, a heteroplasmia, impede o desenvolvimento pleno do embrião. Desse modo, quando o zigoto começa a dividir-se para formar o embrião, todas as mitocôndrias futuramente encontradas nos diversos tecidos terão sido obrigatoriamente originárias do óvulo, ou seja, terão uma origem materna. Assim, examinando-se a sequência da alça D, podemos traçar a matrilinearidade de uma pessoa.

Esse conhecimento foi usado recentemente para estabelecer que o nosso ancestral comum mais recente foi uma mulher que viveu na África há cerca de 200.000 anos, a nossa “Eva Africana”. Tal conclusão foi possível porque além de reconhecer sequências de DNA específicas de regiões da África, sabe-se que as mutações no DNA mitocondrial ocorrem com frequência conhecida. Portanto, temos à nossa disposição um “relógio molecular”. O relógio molecular baseia-se no princípio de que, quanto mais mutações um DNA acumula, mais antigo ele é.

Foi também o DNA mitocondrial que confirmou que os hominídeos separaram-se dos demais primatas cerca de cinco milhões de anos atrás.

No lado aplicado, o DNA mitocondrial permite a identificação de restos mortais em grandes desastres, que envolvem mutilações diversas que impedem o reconhecimento de um indivíduo. Por exemplo, em incêndios, quedas de aviões, explosões etc., os restos mortais estão muito danificados e, sobretudo, misturados. Como o DNA mitocondrial resiste mais à degradação que o DNA nuclear, é possível tomar-se uma amostra dele e seqüenciá-lo. Essa sequência será então comparada à sequência do DNA mitocondrial de um parente ascendente, descendente ou lateral, que pelo vínculo familiar contenha o mesmo DNA mitocondrial. Por exemplo, uma amostra de DNA mitocondrial pode ser comparada com o DNA mitocondrial da mãe, dos filhos (se a vítima for uma mulher) ou de irmãos da vítima, mas não com o DNA mitocondrial do seu pai. Nesse contexto, é possível também se descobrir o sexo de uma vítima pelo seu

DNA. Nesse caso, busca-se um outro marcador, o gene da amelogenina, que se encontra nos cromossomos sexuais.

Com relação ao DNA nuclear, alguns dados importantes que foram revelados, ou que confirmam observações anteriores sobre o genoma humano são os seguintes:

- 90% da eucromatina (região rica em genes) já foram seqüenciados pelo Consórcio Público e pela Celera; determinou-se, através de previsões baseadas em algoritmos, que existem cerca de 35.500 genes no genoma humano.

A previsão do número de genes é feita de três maneiras: a) por evidência direta, isto é, a presença de etiquetas de seqüências expressas (EST de *expressed sequence tags*), que são trechos de seqüências presentes no RNA mensageiro e que, portanto, refletem a ocorrência de genes; b) evidência indireta baseada na semelhança de uma seqüência com outra já descrita; c) pela análise de grupos de **exons*** de seqüências conhecidas. Portanto, o número total de genes presentes no genoma humano pode vir a alterar-se no futuro, principalmente porque ainda não é possível comparar os dados do genoma humano com aqueles de outros vertebrados (esses projetos ainda estão em andamento).

Como já foi mencionado, a presença de introns* também dificultou a previsão final do número de genes. Imagine que em média os genes humanos possuem exons (a parte do gene que codifica uma mensagem) medindo cerca de 150 pares de bases e que esses exons podem estar separados uns dos outros por introns de até 10.000 pares de bases. Imagine uma fita que contém uma determinada mensagem apenas em pequenos trechos (os exons) separada por longos trechos sem mensagem alguma (os introns). Desse modo, quando se analisa uma seqüência contendo introns tão grandes, fica difícil montar a estrutura final do gene, isto é, juntar todas as seqüências que correspondem aos exons. A despeito dessas dificuldades, acredita-se que o número final de genes ficará na faixa de 30.000 a 40.000.

O conjunto total de proteínas codificadas pelo genoma humano (também chamado de proteoma) é mais complexo do que aquele dos invertebrados. Isso ocorre devido principalmente à presença de domínios, na sua estrutura, que permitem uma maior variedade de arranjos tridimensionais. Isto é, as proteínas dos vertebrados são mais versáteis em sua arquitetura do que as proteínas dos invertebrados. Um outro dado

Nos eucariotos, os genes podem estar interrompidos por seqüências que não codificam proteínas. Essas seqüências, também conhecidas como intergênicas, ou introns, separam os exons, que são as seqüências codificantes. Uma comparação que ajuda a compreensão dessa característica estrutural de certos genes, é a editoração que se faz com fitas de som ou de vídeo. O editor pode reconhecer numa fita trechos ruins, sem mensagem sonora ou visual (os introns). Após eliminar essas partes o editor junta as partes com mensagens (os exons), formando assim uma mensagem coerente.

Para melhor compreender o problema criado pelos introns, imagine que a seguinte sentença está presente numa fita: “Não há sentido em clonar seres humanos.” Agora assuma que essa sentença está dividida em vários trechos, separados por conjuntos de letras que não significam coisa alguma (os introns). Por exemplo, mesmo conhecendo a sentença, identificá-la no meio dos “introns” não é um problema trivial. No caso do DNA esse problema é mais difícil ainda porque não conhecemos necessariamente a mensagem contida no gene.

PROTEOMA

De modo análogo ao genoma, é a coleção de todas as proteínas que compõem um organismo, ou um tecido. A caracterização dessa coleção não é tão simples quanto no genoma porque, dependendo da situação fisiológica do tecido num dado momento, a composição das proteínas pode mudar dramaticamente. Por exemplo, o proteoma de um indivíduo em jejum pode diferir muito do proteoma de um indivíduo que acabou de comer uma feijoada e que também ingeriu várias doses de caipirinha!

que começa a emergir é a razão entre o número de proteínas sintetizadas e o número de genes. Com os dados já disponíveis, calcula-se que *cada gene humano codifica aproximadamente três proteínas diferentes*. Isso ocorre devido ao fenômeno da *editoração* do RNA (*splicing*), que pode juntar exons diferentes presentes numa região genômica de diferentes formas, produzindo proteínas diferentes. Desse modo, é fácil perceber que mesmo possuindo um número menor de genes em relação ao que se supunha, o genoma humano pode talvez produzir um **PROTEOMA*** mais complexo. Entenda-se por complexidade uma diversificação maior em relação ao proteoma de outras espécies.

- Centenas de genes humanos parecem ter surgido em consequência de transferência horizontal de genes de bactérias; isso significa que, ao longo da evolução, muitos genes bacterianos foram incorporados ao nosso genoma. Muitos genes também foram formados através de transposons, ou elementos de transposição. Esses elementos são, na verdade, pequenos trechos de DNA que podem “saltar” ao longo do genoma de um sítio para o outro, inserindo-se em regiões específicas por meio de enzimas chamadas de transposases. A transposição requer, na maioria dos casos, a participação de intermediários de RNA, embora também ocorra a inserção direta do DNA.

Algumas das seqüências bacterianas inseriram-se espontaneamente no Genoma Humano utilizando esse mecanismo. Ficou aparente também que a maioria das seqüências repetitivas do genoma derivam de elementos de transposição, isto é, dos trechos de DNA migratórios.

- Já foi identificado mais de 1,4 milhão de SNPs, abreviatura de *single nucleotide polymorphism*, no genoma humano. Isso significa variações em um único nucleotídeo, o que dá uma idéia sobre a variabilidade, ou polimorfismo, que pode ocorrer entre indivíduos. O polimorfismo total, incluindo a região não-codificante, é maior ainda, uma vez que o “DNA lixo” apresenta naturalmente tolerância muito mais alta para as mutações. Foi confirmado também que nos homens a freqüência de mutações é aproximadamente o dobro daquela ocorrida nas mulheres. Assim, a maior parte das mutações ocorre no homem. Possivelmente, a razão para tal deve-se ao fato de o homem produzir bilhões de gametas, o que aumenta a probabilidade de erros de replicação, principalmente durante a meiose. Em contraste, as mulheres, desde o nascimento, já possuem um número definido de gametas, que apenas amadurecem a partir do início do ciclo menstrual.

- Outras diferenças moleculares entre homens e mulheres ficaram evidentes com o esboço de genoma. Por exemplo, verificou-se que a taxa de recombinação (a troca de material genético entre os cromossomas homólogos durante a meiose) é mais alta nas meioses masculinas do que nas meioses femininas. A propósito da taxa de recombinação, o projeto do genoma também revelou que, para a maioria dos cromossomas, a taxa de recombinação é menor nas regiões próximas ao centrômero (a região na qual os braços do cromossoma se encontram) e aumenta nas regiões mais afastadas dos centrômeros dos cromossomas. Observou-se também que as taxas de recombinação tendem a ser mais altas nos braços curtos dos cromossomas, o que promove a ocorrência de pelo menos um **CROSSING OVER** por cromossoma por meiose. Ainda sobre a taxa de recombinação, ficou patente também que esta varia de cromossoma para cromossoma. Por exemplo, partes do cromossoma 13 são relativamente estáveis, isto é, não ocorre a recombinação aí. Por outro lado, no cromossoma 12 dos homens e no cromossoma 16 das mulheres, o processo da recombinação é intenso.

- Já se sabia que no genoma havia agrupamentos de CpG (nucleotídeos C ligados a nucleotídeos G pela ponte fosfodiéster), chamados *ilhas de CpG*. Essas regiões estão envolvidas na supressão de certos genes, isto é, uma forma de *desligar* um gene (por exemplo, no fígado existem genes que sintetizam grandes quantidades de albumina; os mesmos genes estão suprimidos em outros tecidos, como nos músculos, ou nos rins). O projeto Genoma revelou que essas *ilhas de CpG* são mais densas justamente nas regiões cromossomiais mais ricas em genes. Tal dado confirma a ocorrência de uma “vigilância” maior naquelas regiões com uma grande densidade gênica.

CROSSING OVER

Ou recombinação, é um evento que ocorre nos cromossomos por ocasião da meiose. Durante a recombinação, há uma troca recíproca de segmentos de DNA em posições correspondentes entre dois cromossomos homólogos. Desse modo, o fenômeno do *crossing over* produz uma diversidade muito grande entre as seqüências dos vários alelos contidos nas moléculas de DNA.

EXERCÍCIOS

1. O que é um análogo didesoxi e como é utilizado no seqüenciamento dos ácidos nucléicos?
2. Por que é importante conhecer o genoma das várias espécies de interesse?
3. O que significa o seqüenciamento do tipo shotgun?
4. De que modo o seqüenciamento do DNA mitocondrial é útil?
5. O que são exons? E introns?

RESUMO

Nesta aula você aprendeu de que modo é realizado o seqüenciamento dos ácidos nucléicos através do método de terminação da síntese com análogos didesoxi dos nucleotídeos. Você também leu quais foram as principais informações obtidas sobre o genoma humano e quais as maiores dificuldades de reconhecer os genes dentro das seqüências gerais.

AUTO-AVALIAÇÃO

Se a sua resposta a pergunta 1 foi parecida com o texto encontrado nas páginas 100, 101 e **Figura 6.3**, você sabe distinguir entre os nucleotídeos naturais e aqueles modificados quimicamente para atender a estratégia idealizada por Sanger. Você também compreendeu o princípio da técnica de seqüenciamento dos ácidos nucléicos.

A importância dos projetos Genoma está descrita nas páginas 104 e 105 se a sua resposta à pergunta 2 está de acordo com esse texto, você apreciou qual a importância de se estabelecer o número de genes das espécies e as suas homologias e a proximidade relativa de cada um nos cromossomos. A resposta correta para a pergunta 3, encontrada na página 106 do texto e resumida na **Figura 6.11**, mostra que você entendeu bem a problemática do seqüenciamento e que consegue distinguir entre as estratégias disponíveis. A resposta para a pergunta 4 encontra-se nas páginas 107 e 108. Se você respondeu de modo semelhante, isso mostra que aprendeu que existem tipos diferentes de ácidos nucléicos na célula e quais as aplicações possíveis no estudo da Genealogia. A resposta correta da pergunta 5 demonstra que você compreendeu o processo de editoração do DNA e como esse processo dificulta reconhecer um gene com os dados disponíveis de seqüência. A resposta para essa pergunta encontra-se nas páginas 108 e 109 no glossário.

O projeto Genoma Humano: sua importância e principais aplicações

objetivo

- Esta aula tratará do principal motivo pelo qual esse gigantesco projeto foi executado. Também serão discutidas as conseqüências do projeto para a sociedade, tanto as benéficas — como no caso da Medicina — quanto aquelas que podem gerar problemas éticos e que certamente exigirão uma nova legislação.

Apesar do interesse despertado pelo projeto Genoma Humano, no início nem todos estavam entusiasmados. Havia várias objeções a tal iniciativa. As principais críticas eram:

1. A Biologia “grande” significava a má Biologia. Querendo dizer que projetos dessa natureza acabariam envolvendo centenas de pesquisadores e técnicos que, durante muito tempo, executariam apenas tarefas rotineiras, sem muito investimento intelectual, o que seria contrário à tradição de pesquisa científica. Nesse contexto, Sydney Brenner, do *Medical Research Council*, chegou a afirmar jocosamente que o seqüenciamento era tão tedioso que deveria ser executado por prisioneiros. Quanto pior fosse o crime, maior seria o trecho de DNA a seqüenciar.

2. Tecnicamente seria muito difícil executar o seqüenciamento em tempo hábil. Na época em que tais observações foram feitas, não havia ainda equipamento que permitisse o desenvolvimento eficiente de uma tarefa tão complexa. No entanto, com o advento da tecnologia de automação e também com o crescente aperfeiçoamento dos equipamentos, as técnicas passaram a ser muito confiáveis e os cientistas sentiram-se cada vez mais seguros para embarcar nesse ousado projeto. Deve-se acrescentar também que houve um tremendo avanço no poder computacional. Todos somos testemunhas de como, em uma década, os computadores diminuíram de tamanho, adquiriram mais velocidade, memória e também se tornaram mais acessíveis. A propósito, é interessante mencionar que os projetos do tipo genoma criaram, ou ajudaram a criar, uma nova especialidade da Biologia, a Bioinformática. Essa atividade foi importante para permitir o processamento da enorme quantidade de dados gerada pelos seqüenciadores automáticos. Foram os especialistas em Bioinformática que elaboraram os diversos algoritmos que efetivamente transformavam a grande quantidade de “letras” geradas pelos vários laboratórios participantes num mapa coerente contendo as seqüências e as localizações dos genes nos seus respectivos cromossomas. O fato é que o projeto do Genoma Humano terminou bem antes do que havia sido previsto.

3. O custo seria muito alto, cerca de US\$ 3 bilhões. De fato, projetos do tipo Genoma são caros, mas essa objeção foi contornada através da formação de grandes consórcios, de financiamentos especiais e com a entrada de empresas particulares nesse tipo de empreitada. O interesse das

Em pesquisa existe uma velha discussão que pretende dividir a investigação científica em pesquisa básica e pesquisa aplicada. No primeiro caso, a pesquisa é feita exclusivamente visando à compreensão de um fenômeno. Por exemplo, descobrir detalhes sobre o transporte de moléculas através das membranas biológicas, ou compreender como se passa a regulação da transcrição de um gene. No segundo caso, a pesquisa é realizada para solucionar um problema prático qualquer. Por exemplo, o desenvolvimento de um fármaco para a terapia de uma doença ou a produção de uma vacina.

empresas, que será esmiuçado mais adiante, foi estimulado pela possível exploração comercial das seqüências contidas no genoma.

Por que fazê-lo? Por que tantos grupos estão voltados no momento para esse tipo de pesquisa?

Embora os projetos Genoma envolvam muitos laboratórios e centenas de pessoas dedicadas exclusivamente a esse tipo de análise, além de equipamentos caros e uma quantidade enorme de material descartável e de consumo, o legado será fundamental.

A razão para tanto interesse deve-se ao potencial para solucionar tanto os problemas puramente biológicos como aqueles mais aplicados, o que inclui a área médica e a área forense. Os resultados obtidos vão constituir uma valiosa fonte de referência que poderá responder a várias perguntas fundamentais. Já se comparou o projeto do Genoma Humano à Química, no contexto da tabela periódica dos elementos, que permitiu que muitos estudos sistemáticos fossem realizados. O projeto do Genoma Humano constituiria, assim, uma espécie de tabela periódica para a pesquisa biomédica. Portanto, o grande investimento inicial deverá render muitos dividendos.

Na área básica, por exemplo. Quantos genes tem uma determinada espécie? Qual a origem de uma outra espécie? Qual o grau de semelhança entre as espécies, do ponto de vista molecular? Os dados seqüenciais permitirão realizar comparações precisas entre várias espécies e determinar em que ponto da evolução as espécies divergiram e com que rapidez. É muito provável que em breve a **filogenia molecular*** venha a substituir inteiramente a filogenia morfológica/anatômica tradicional e assim contribuir para modelos evolutivos mais completos.

Um outro ângulo propõe-se a responder quais proteínas estão envolvidas no controle da replicação celular? De que forma é regulado o sistema imune? Existem novos hormônios no nosso organismo? Existem padrões estruturais que determinam tipos de funções bioquímicas? Seremos capazes de reproduzir no laboratório tais padrões e assim desenhar fármacos mais específicos? Com os dados do genoma humano, será possível realizar estudos sistemáticos dessa natureza.

Por que as espécies que têm aproximadamente o mesmo número de genes são tão diferentes? Por exemplo, o genoma da planta *Arabidopsis thaliana*, com cerca de 25.000 genes, não está muito longe do genoma humano, com seus cerca de 35.000 genes. Quais mecanismos moleculares

A classificação das espécies encontradas na natureza (a taxonomia) é uma especialidade da Biologia que foi fundamental para a elaboração de hipóteses evolucionistas. Até há relativamente pouco tempo, o estudo comparativo anatômico/morfológico entre indivíduos era a única ferramenta disponível para estabelecer as semelhanças e diferenças entre as espécies. Depois que as técnicas de seqüenciamento de proteínas e de ácidos nucléicos tornaram-se disponíveis, foi possível realizar estudos de homologia entre essas moléculas. Essa especialidade chama-se filogenia molecular e tem por princípio o conceito de que as diferenças encontradas entre as seqüências de proteínas e ácidos nucléicos de indivíduos de espécies diferentes refletem a distância evolutiva entre estes.

CÓDON

É a denominação para uma sequência de três nucleotídeos que codifica um determinado aminoácido. A tabela completa contendo essa equivalência chama-se código genético. Assim, quando o mRNA liga-se aos ribossomos, as sequências são lidas de três em três nucleotídeos. Descobriu-se também que o código genético é degenerado, isto é, um único aminoácido pode ter mais de um códon. Por exemplo, o aminoácido serina possui seis códons diferentes. Em contrapartida, o aminoácido metionina possui somente um.

DOENÇA MONOGÊNICA

É aquela que resulta de defeitos de somente um gene. Nas doenças poligênicas, vários genes estão envolvidos.

produzem diferenças fenotípicas tão evidentes? Quais são os marcadores genéticos espécie-específicos? Essa informação permitirá a identificação precisa não só de espécies vivas como também de espécies extintas; será possível também medir os padrões de migração, esclarecer certos aspectos da Paleontologia e da História em geral. Os primeiros resultados dos vários projetos Genoma revelaram também sequências jamais descritas antes. Que genes são esses e quais as suas funções na célula?

Na área médica/veterinária, as aplicações serão igualmente amplas. Porém é necessária uma advertência. A euforia inicial sobre o projeto do Genoma Humano pode ter induzido à falsa idéia de que todos os problemas genéticos estariam resolvidos, o que decididamente não é verdade. O projeto do Genoma Humano não é a panacéia que se poderia imaginar. Como um exemplo oportuno, podemos citar a anemia falciforme, uma doença hereditária que resulta de uma única alteração em um **CÓDON** do gene da hemoglobina. Essa mudança produz uma molécula de hemoglobina que se torna insolúvel no interior das hemácias. Essa situação eventualmente prejudica o transporte de gases no sangue e o indivíduo homozigoto não sobrevive. Já se conhece essa substituição do ácido glutâmico pela valina há mais de 50 anos e, no entanto, não existe ainda nenhuma terapia nova para essa doença.

Contudo, o conhecimento do genoma humano vai ampliar a identificação de genes que produzem doenças, isto é, as doenças hereditárias poderão ser mapeadas com precisão, tanto no caso das **DOENÇAS MONOGÊNICAS** como nas síndromes que podem envolver vários genes diferentes. Nesse caso, a pergunta seria: quais cromossomos apresentam as modificações responsáveis por uma determinada doença? Quais destas estão presentes desde o nascimento? Quais aparecem mais tarde? O que deflagra as modificações? Qual o mecanismo da doença? E assim por diante. Tais perspectivas irão fortalecer significativamente a prevenção de muitas doenças associadas a modificações das sequências do DNA, pois, com uma boa prevenção, o tratamento naturalmente será mais eficiente. Ademais, o próprio tratamento poderá ser mais específico para um determinado indivíduo, pois se sabe que as pessoas reagem de forma diferente para certos tratamentos. Até o momento já foram identificadas mutações causadoras de doenças em cerca de 1.100 genes.

Alguns exemplos objetivos mostram de que forma o conhecimento sobre o genoma será útil. A apoproteína E é a parte protéica que compõe

uma lipoproteína, isto é, uma proteína que está presente no soro e que normalmente transporta lipídeos entre os tecidos do corpo. Sabe-se que uma única modificação no gene dessa apoproteína está associada à doença de Alzheimer. Embora essa doença seja de fato uma síndrome que envolve fatores múltiplos, é possível perceber que o estudo de certos genes eventualmente levará ao diagnóstico preciso, além de contribuir para estratégias de tratamento. Um outro exemplo também é dramático.

Através de comparação de seqüências genômicas, sabe-se que uma única modificação no gene CCR5 do receptor de quimiocina torna um indivíduo resistente ao HIV (o vírus da AIDS) e, por conseguinte, resistente à síndrome.

Será possível também determinar a freqüência de mutações em certas regiões cromossômicas e, principalmente, realizar diagnósticos com maior sensibilidade. Esse detalhe é importante porque em breve não será mais necessário depender tanto de técnicas invasivas, como as biópsias. Portanto, o diagnóstico precoce poderá detectar um tumor bem no início do processo de transformação, o que facilita tanto o tratamento como a remoção do tecido. Os estudos ambientais serão também beneficiados. Por exemplo, quais poluentes ambientais interferem diretamente no DNA? De que forma?

Os estudos epidemiológicos receberão um enorme reforço do conhecimento gerado pelo genoma humano. Uma área especialmente importante é aquela associada ao abuso de drogas e à dependência química, um problema que tem afetado profundamente a sociedade nos principais centros urbanos do mundo. Sabe-se agora que 40-60% dos fatores envolvidos no risco de um indivíduo viciar-se em álcool, opiatos ou cocaína são genéticos. Já se suspeitava de fatores genéticos porque os efeitos do vício, ou a própria dependência, são duradouros, o que indica que ocorrem alterações muito estáveis no cérebro. Apesar disso, até agora tem sido muito difícil encontrar quais proteínas estão envolvidas no estabelecimento da dependência química. O estudo comparativo de receptores e de outras proteínas relevantes será muito mais fácil, pois será possível dissecar ao nível molecular quais as alterações pertinentes.

Um outro aspecto importante, diretamente derivado do conhecimento gerado pelo seqüenciamento do genoma é aquele associado à terapia gênica. Já estão sendo desenvolvidas técnicas em que defeitos genéticos identificados poderão ser reparados ao nível molecular, antes mesmo que

LINHAGEM DE CÉLULAS GERMINATIVAS

É composta de células que dão origem a células reprodutoras.

RETROVÍRUS

São uma classe de vírus cujo material genético é o RNA em vez de DNA. No interior das células, esses retrovírus sintetizam DNA a partir de RNA.

CÉLULAS-TRONCO

São células de reserva, cujo papel é substituir as células que são normalmente destruídas durante a vida de um animal. Portanto, células como as hemácias, células epiteliais, células da pele e outras, são normalmente substituídas a partir das células tronco. As células tronco podem dividir-se indefinidamente e têm o potencial de transformar-se em qualquer tipo de célula, isto é, são totipotentes. É justamente essa propriedade das células tronco que está atraindo tanta pesquisa atualmente, pois os cientistas desejam compreender como produzir especificamente certos tecidos. Isso seria de extrema utilidade em transplantes autólogos.

se manifestem nas crianças ou nos adultos. Alguns métodos já foram testados em seres humanos; outros estão ainda na fase experimental, usando animais como modelos.

De uma forma geral, a terapia gênica lança mão de estratégias diferentes, que dependem do alvo, isto é, do gene que se quer reparar. Em alguns casos, é possível substituir o próprio gene defeituoso, que idealmente passa a integrar-se ao genoma; em outros casos, substitui-se o produto do gene defeituoso, isto é, a proteína. No primeiro caso, a terapia gênica significa a transferência de material genético para as células de um organismo, o que pode ser feito de duas maneiras principais: a) o método *ex vivo*, na qual os genes normais são transferidos para células em cultura que depois são transferidas para o organismo; esse método implica que as células a serem transferidas sobrevivam em cultura, o que limita o tipo de célula a receber a terapia, porque nem toda célula pode ser cultivada; b) o método *in vivo*, que requer a transferência do material genético diretamente para o organismo. Essa segunda estratégia é mais difícil, porque existe a necessidade de dirigir o gene modificado para o tecido alvo. De qualquer modo, em todos os casos, é essencial que se conheçam as seqüências não só dos genes a serem reparados, mas da região do cromossomo onde o gene será inserido. Mais uma vez fica evidente a utilidade do conhecimento gerado pelo projeto Genoma.

Idealmente, as células modificadas seriam da **LINHAGEM GERMINATIVA**, que poderiam desse modo ser injetadas num embrião que eventualmente desenvolver-se-ia normalmente. No entanto, há casos em que as células somáticas* são o alvo da terapia. A terapia gênica já foi testada em um caso de imunodeficiência, que se manifesta devido à deficiência da enzima adenosina desaminase, uma enzima envolvida no metabolismo da adenina. Defeitos nessa enzima inibem a função do sistema imune. Nesse caso, linfócitos de uma criança afetada foram removidos da circulação e infectados com um **RETROVÍRUS** que possuía, em seu DNA, o gene normal da enzima adenosina desaminase. Depois, os linfócitos foram reinjetados na paciente. Como as células não fazem parte da linhagem de **CÉLULAS-TRONCO**, esse procedimento não representa uma cura, e terá que ser repetido várias vezes para periodicamente substituir as células defeituosas. Uma outra doença importante, passível de tratamento usando uma abordagem semelhante (infecção com um vírus modificado), é a fibrose cística. Essa doença é causada por um gene anormal que codifica o gene RTFC

(de regulador transmembrânico da fibrose cística). Os portadores do gene defeituoso não conseguem transportar o íon cloro através das membranas celulares, o que acaba gerando muitos problemas, principalmente no epitélio das vias aéreas. Em função desse defeito, ocorrem infecções crônicas que eventualmente levam à insuficiência respiratória. Em ratos e primatas já se tentou a correção do defeito por meio da infecção com adenovírus modificado, isto é, contendo o gene normal da RTFC, o que produziu bons resultados.

Há muitas outras doenças que no futuro poderão ser controladas, ou curadas, através de modificação de genes defeituosos. Dentre as doenças de maior interesse, podemos destacar o câncer (em suas várias modalidades); a hipercolesterolemia familiar; doenças neurológicas, como a doença de Alzheimer; as coagulopatias, como a hemofilia; e as hemoglobinopatias em geral (anemias diversas).

No caso de doenças causadas pelo excesso de produção de uma determinada proteína, ou pela produção imprópria de uma proteína reguladora (que normalmente estaria reprimida), será aplicada a técnica do RNA anti-senso, que já demonstrou ser útil em plantas.

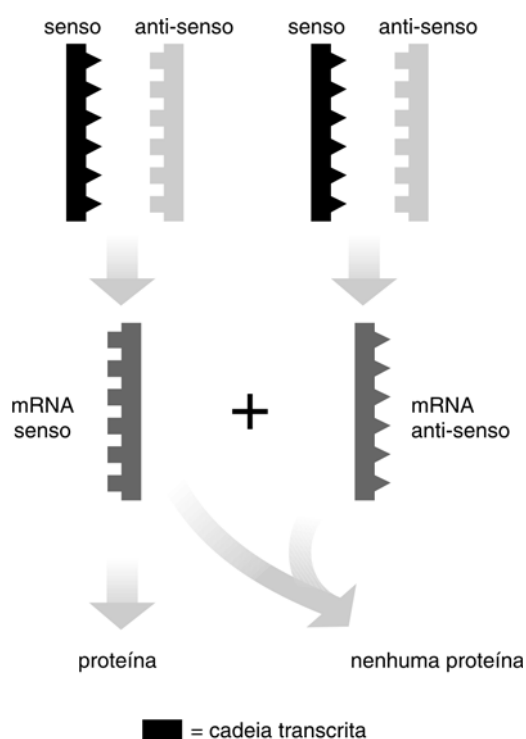


Figura 7.1: RNA anti-senso.

PLASMÍDEO

Encontrado em bactérias, consiste num tipo de DNA circular extracromossomal. Esse DNA plasmidial pode ser transferido de uma bactéria a outra. Na verdade a relação entre o plasmídeo e a bactéria pode ser considerada como simbiose, pois há benefícios para ambos. O plasmídeo confere à bactéria resistência aos antibióticos e o plasmídeo usa a bactéria para replicar-se. Em Biologia Molecular os plasmídeos são usados como vetores de clonagem, pois são abundantes e replicam-se rapidamente. Desse modo, se um gene de interesse for inserido num plasmídeo, a cada vez que houver replicação do mesmo, o gene também será replicado.

Essa técnica baseia-se na introdução de DNA portando uma sequência invertida com relação ao gene normalmente presente no genoma. Quando o gene normal e o gene “invertido” forem transcritos, os seus respectivos RNAs terão sequências complementares entre si. Em função dessa complementaridade, os RNAs passam a formar moléculas híbridas, isto é, com uma estrutura de cadeia dupla. Como tal RNA não consegue ser traduzido* no nível dos ribossomas, a proteína não será sintetizada. Essa técnica está ilustrada na **Figura 7.1**.

Uma outra abordagem que já vem sendo usada há algum tempo é o tratamento com o uso de proteínas recombinantes, isto é, proteínas que são produzidas por bactérias modificadas geneticamente. Vários peptídeos ou proteínas de interesse médico já estão sendo produzidos dessa forma. A lista inclui a insulina, o hormônio do crescimento, a vacina contra hepatite B, eritropoetina, somatostatina, fatores de coagulação do sangue, fatores de estimulação de colônias, interleucinas etc. Esses produtos são obtidos através da inserção dos respectivos genes humanos no genoma bacteriano ou no DNA de **PLASMÍDEOS** seguida da purificação da proteína a partir do extrato das bactérias.

As sequências presentes no genoma humano vão permitir que outros genes sejam usados na produção das proteínas, com finalidade não só de tratamento mas também de pesquisa básica.

O IMPACTO DO PROJETO GENOMA NA SOCIEDADE; BENEFÍCIOS E MALEFÍCIOS; POSSÍVEIS DILEMAS ÉTICOS

Sempre que a Ciência ou a Medicina dão um salto qualitativo, acabam afetando a sociedade. Foi assim desde Darwin, com a sua hipótese fundamental, passando pela época em que as vacinas foram introduzidas, as bombas atômicas, os primeiros transplantes de órgãos e até recentemente, com a clonagem da Dolly e de outros animais superiores e o advento dos alimentos transgênicos. Isso acontece porque, ao absorver os novos conceitos, a sociedade sente que precisa reavaliar seus valores a fim de poder conviver com a nova realidade. Essa reação da sociedade já foi bem explorada em livros marcantes, como *Admirável Mundo Novo*, de Aldous Huxley e 1984, de George Orwell e outros. Longe de ser uma atividade removida da comunidade, como quer o imaginário popular, a Ciência talvez seja a atividade mais influente do homem. Max Perutz

Max Perutz, cientista austríaco que depois adquiriu a cidadania britânica, ganhou o prêmio Nobel de Ciência em 1962, juntamente com J.C. Kendrew, por ter elucidado a estrutura tridimensional das proteínas hemoglobina e mioglobina. Um dos livros publicados por Max Perutz, *A Ciência é Necessária?*, narra historicamente como os cientistas influenciam profundamente a sociedade.

já afirmara que ao longo da História, os cientistas tiveram um impacto muito maior sobre a sociedade do que guerreiros, políticos e artistas.

Com o projeto do Genoma Humano, aconteceu o mesmo. As pessoas perceberam que essa novidade mudaria substancialmente suas vidas, para o bem ou para o mal. É esse tipo de problemática que nós discutiremos a seguir.

Além dos benefícios para a Ciência básica e para a Medicina já discutidos anteriormente, o que mais nos afeta em função do conhecimento produzido pelo genoma humano?

O primeiro problema é a criação de novas castas na população. A casta dos geneticamente bem-dotados e a casta dos deficientes genéticos, potenciais ou de fato. Essa situação é curiosa e um tanto antagônica. Se por um lado o conhecimento das seqüências genômicas contribui para eliminar o nocivo conceito de raça, por outro, tem o potencial de estabelecer categorias genéticas diversas, levando em consideração principalmente a possibilidade de mapear um indivíduo no contexto médico. A palavra possibilidade está destacada porque uma grande parte da informação disponível precisa ainda ser comprovada experimental e estatisticamente. Por exemplo, sabe-se que a predisposição para certas doenças, incluindo doenças neurológicas e alguns tipos de câncer, pode ser detectada no DNA.

Ao se investigar as diferenças entre os genótipos dos indivíduos, descobre-se que independentemente das origens geográficas, somos todos diferentes uns dos outros, exceto os gêmeos idênticos. Se compararmos entre si os membros de etnias diferentes, verificamos que as diferenças **não** são mais pronunciadas que aquelas que já existem entre os indivíduos. Examinando-se o polimorfismo do DNA de uma pessoa, *não é possível determinar a sua procedência geográfica*. Desse modo, entre humanos, não há uma justificativa genética para a raça. O que ocorreu foi que o homem como espécie distribuiu-se por todo o planeta e em função de um processo adaptativo (e não de cruzamentos selecionados) adquiriu características fenotípicas próprias. O conceito de raça é melhor aplicado a populações de animais domésticos que sofreram seleção artificial. Por exemplo, os criadores podem selecionar certas características e fazer com que através de cruzamentos sucessivos essas características passem a se destacar nas gerações subseqüentes.

Embora a legislação vigente proteja um indivíduo contra a discriminação, as companhias de seguro têm uma certa imunidade com relação a esse código. No momento, nada impede que uma companhia seguradora que oferece um plano de saúde resolva reorganizar suas tabelas levando em consideração os riscos revelados pelo mapeamento genômico de uma pessoa, além daqueles já empregados, como é o caso dos prêmios diferenciados por faixas etárias. Nesse cenário, o indivíduo que apresentar certas seqüências terá que pagar um prêmio maior, ou ainda ser excluído da cobertura. Essa mesma informação pode ser repassada e adotada pelos empregadores. Uma firma pode então decidir se vale a pena ou não contratar um candidato em função do risco que este apresentar (licenças médicas freqüentes e aposentadoria precoce) de acordo com o seu perfil genético.

É importante notar que a informação médica revelada pelo padrão genômico de uma pessoa pode até ser correta. No entanto, não existem restrições a outras informações que podem não estar corretas ou que estão comprovadas, mas que mesmo assim seriam encaradas como verdadeiras tanto pelas seguradoras como pelos empregadores.

SOCIOBIOLOGIA

É o estudo da base biológica para o comportamento. A sociobiologia busca demonstrar que alguns tipos de comportamento possuem uma origem genética. Isso inclui o QI (quociente de inteligência), aptidão para certas tarefas, homossexualismo, tendências criminosas, alcoolismo etc. A despeito de inúmeras experiências já realizadas é ainda muito difícil isolar a influência do meio ambiente sobre o comportamento.

A potencial estratificação genética da sociedade não pára aí. Já há muitos anos, a **SOCIOBIOLOGIA** tenta correlacionar vários aspectos comportamentais à constituição genética dos indivíduos. Os casos mais notórios envolvem características consideradas indesejáveis pela sociedade. Exemplos são a tendência à violência, o homossexualismo, o alcoolismo, a dependência de drogas e a esquizofrenia. Embora esta última seja decididamente uma síndrome médica, foi incluída nessa lista por representar uma condição que historicamente já foi muito subvertida.

Em diversas ocasiões, torna-se “conveniente” alienar uma pessoa alegando sua incompatibilidade, real ou não, usando para tal um diagnóstico que, mesmo entre os psiquiatras, não é trivial. A História está repleta de exemplos. Há também um esforço coletivo muito grande para demonstrar que a inteligência é herdada e, portanto, o QI poderia também deixar sua marca no genoma.

A velha discussão sobre ambiente *versus* genética não cabe aqui, mas existe uma grande fração da população que acredita que há uma predisposição genética para o nosso comportamento mais geral. Existem até resultados de experimentos genéticos que, a despeito de serem mal

controlados, foram publicados em periódicos de boa reputação, o que empresta uma razoável credibilidade a essas noções. Nesse contexto, mais uma vez, é possível que vários setores da sociedade recrutem também esses parâmetros para determinar em que camada um indivíduo se encaixa.

Novamente, por exemplo, é inteiramente possível que os empregadores resolvam incluir no currículo de um candidato os seus dados obtidos a partir de certos marcadores genéticos que supostamente definirão se a sua constituição genética é ou não compatível com o comportamento esperado. Estaremos, assim, diante de uma situação bastante ditatorial, bem semelhante à inflexibilidade dos preconceitos.

Um segundo aspecto importante que foi se delineando ao longo do projeto do Genoma Humano é aquele ligado às patentes. Esse é um problema real e mais premente, que já mobiliza contingentes de advogados que defendem os mais diferentes interesses, públicos ou privados.

Conforme já mencionamos anteriormente, o projeto do Genoma Humano público teve um competidor poderoso, a companhia *Celera Genomics Incorporated*, chefiada pelo Dr. Craig Venter. Essa e outras empresas de Biotecnologia não estavam competindo simplesmente pelo prazer da competição. Eles antecipavam enormes lucros gerados por patentes diversas, que poderiam originar-se de processos de terapia gênica, produtos recombinantes, seqüências úteis para identificação de pessoas, seqüências usadas em *kits* de diagnósticos, bancos de dados e assim por diante. Quando essa tendência de patentear seqüências de DNA começou, imediatamente o público imaginou, equivocadamente, que toda a espécie humana teria que pagar direitos às empresas donas das patentes, como se fosse um imposto adicional simplesmente por portar e usar biologicamente aquelas seqüências em seus genomas. É claro que não é essa a situação. As patentes são destinadas a proteger os autores de uma “invenção” e não proteger uma descoberta. Existem regras claras sobre a concessão de patentes que devem nos tranquilizar com relação à propriedade do DNA:

1. O processo ou invenção deve ser novo.
2. O processo deve envolver uma etapa inventada pelo autor.
3. O processo ou invenção deve ser descrito detalhadamente e essa descrição é pública.
4. O processo ou invenção deve ser usado numa aplicação industrial.

DNA recombinante é qualquer fragmento de DNA que foi inserido num vetor (em geral o DNA de plasmídeo, de bactéria ou de vírus) para fins de clonagem. Essa denominação originou-se do fato de que tecnicamente a inserção do fragmento de DNA é uma forma de recombinação.

No caso das seqüências do genoma, a patente daria direitos a um uso específico, um método que empregasse a seqüência propriamente dita. Além disso, a patente é, em essência, uma forma de excluir outras pessoas que queiram usar essa mesma técnica. E mesmo assim uma patente vale em geral por um tempo determinado, que em muitos países é de 20 anos. Desse modo, não há risco de que venhamos a pagar um imposto sobre o nosso DNA!

Na verdade, até o suposto direito sobre uma determinada seqüência tem limitações. Recentemente, na área de identificação por meio do DNA, certas seqüências que eram vendidas pela empresa americana Promega sob a forma de *kits* de identificação passaram a ser recusadas nos tribunais porque os advogados alegavam que como as seqüências do DNA dos *kits* não eram conhecidas, essas não serviam como evidência. A Promega foi então obrigada a publicar as seqüências, o que automaticamente invalidou qualquer direito assegurado por patente.

Apesar dos possíveis aspectos comerciais negativos das patentes, há também um lado positivo. Em última análise, a busca por patentes estimula a pesquisa científica, e quanto mais pesquisa houver maiores serão os benefícios para a humanidade.

Finalmente, há um outro aspecto ético derivado do conhecimento do genoma humano que deve ser mencionado. Como já comentamos, o avanço na Medicina preventiva será enorme devido à capacidade de realizar diagnósticos precoces, até mesmo *in utero*. É claro que os diagnósticos serão úteis naqueles casos em que uma terapia puder ser implementada. Mas como ficam aqueles casos para os quais não houver nenhuma terapia, como as doenças degenerativas que inevitavelmente levam à morte? O que fazer então? Para que servirá esse conhecimento? A pessoa afetada ou a sua família têm o direito de saber o que ocorrerá? O Estado poderá sancionar o aborto de fetos nos quais forem encontradas seqüências indicativas de patologias diversas? Ou ainda proibir que certos casais tenham filhos em função da probabilidades de produzir doenças letais em seus descendentes?

Todas essas questões são muito importantes e agora fazem parte de uma nova especialidade, o Biodireito, que aos poucos vai adaptando a legislação no sentido de acomodar o vertiginoso progresso científico.

EXERCÍCIOS

1. Quais foram os principais argumentos contrários ao projeto do Genoma Humano?
2. O que significa a terapia gênica?
3. Quais são os maiores benefícios práticos dos resultados obtidos no genoma humano?
4. Quais são os principais problemas éticos envolvidos no projeto do Genoma Humano?

RESUMO

A aula descreveu de que modo a informação obtida com o seqüenciamento do genoma pode ser aplicada. A aula também levanta alguns possíveis problemas éticos trazidos por esse conhecimento.

AUTO-AVALIAÇÃO

As páginas 113 e 114 resumem quais foram os principais argumentos contrários ao projeto Genoma Humano. Se a sua resposta coincide com esse texto, você compreendeu como um projeto multi-institucional difere daquele que é realizado num laboratório de pesquisa padrão e como é importante considerar todos os argumentos. A resposta para a pergunta 2 pode ser encontrada nas páginas 116 e 117. Se a sua resposta está parecida com esse texto, você compreendeu que embora exista um grande acervo tecnológico para manipular o DNA, há ainda várias restrições quanto ao seu uso no ser humano. A sua resposta para a pergunta 3 pode ser comparada ao texto das páginas 114 e 118. Há nessas páginas alguns exemplos da aplicação do conhecimento e é possível que você tenha até acrescentado uma outra idéia. A resposta da pergunta 4 pode ser comparada com o texto da seção "O impacto do Projeto Venoma na Sociedade". Uma resposta correta demonstra que você compreendeu toda a gama de consequências que acompanha qualquer descoberta científica.

Grandes Temas em Biologia

Glossário

Células somáticas – Qualquer célula de um organismo além da célula germinativa.

Células-tronco – Células de “reserva”, cujo papel é substituir as células que são destruídas naturalmente ao longo da vida de um animal. As células tronco podem dividir-se infinitamente. Após a divisão, a célula pode tanto diferenciar-se numa célula específica de um tecido ou permanecer como uma célula-tronco.

Cepa – Grupo de indivíduos que possuem várias características em comum. Esse termo é geralmente usado para colônias de bactérias derivadas de uma única colônia. Como as bactérias dividem-se por mitose, todos os membros da cepa possuem as mesmas propriedades bioquímicas.

Códon – Sequência composta por três nucleotídeos no RNA mensageiro (mRNA) que define um determinado aminoácido. Em outras palavras, cada aminoácido pode possuir desde um até seis códons. A tabela que define quais os códons dos aminoácidos é chamada de código genético. É através do código genético que podemos deduzir qual a sequência de uma proteína a partir da sequência do ácido nucléico. Os códons também codificam o sítio de início da tradução (onde começa a síntese das proteínas) e o sítio de terminação (ou os códons STOP).

Cromossomos – Estrutura composta de longas moléculas de DNA associadas com proteínas histonas (nos eucariotos) e que no conjunto contém toda a informação genética de um indivíduo. Quando as células encontram-se no processo da divisão por mitose, os cromossomas condensam-se e podem ser observados por microscopia óptica.

Difração de raios X – Técnica utilizada para desvendar a estrutura tridimensional de moléculas. Para tal, é necessário dispor de cristais da molécula de interesse. Um cristal é qualquer agregado que forma um sólido cujos planos se interceptam em ângulos definidos e no qual existe uma estrutura interna regular, repetitiva dos átomos que o compõem. O cristal é irradiado com feixes de raios X em vários ângulos, e os raios difratados são registrados numa placa fotográfica. A estrutura do cristal é deduzida em função do padrão obtido, que permite calcular a distância entre os planos do cristal, a distância entre átomos etc. usando equações trigonométricas.

Diplóide – Ver haplóide

Por sua invenção da técnica da PCR, Kary Banks Mullis recebeu o prêmio Nobel de Química em 1993. Reza a lenda que Kary Mullis teve a idéia da técnica dez anos antes, durante uma viagem noturna de carro de três horas

Dominante – Um gene é *dominante* quando o carácter associado a ele está presente no fenótipo de um indivíduo, independentemente do fato de o indivíduo ser homozigoto ou heterozigoto. Em outras palavras, o produto desse gene sempre estará expresso na célula que o contém. Em contraste, um gene *recessivo* somente estará presente no fenótipo de um indivíduo se este for homozigoto, isto é se os seus dois alelos estiverem sendo expressos.

Esporo – Uma unidade reprodutora, geralmente microscópica, que pode consistir de uma ou mais células. Os esporos são produzidos por fungos, bactérias e algumas plantas e protozoários. Os esporos são em geral muito resistentes e podem ficar dormentes durante muito tempo.

Exons – Essa estrutura compreende um trecho de DNA que efetivamente codifica uma seqüência parcial de uma proteína ou uma molécula de RNA. Portanto, um exon isoladamente corresponde somente a uma parte de um gene e por conseguinte, somente a uma parte do produto protéico. Os exons estão separados uns dos outros pelos introns, ou seqüências intergênicas, que podem ocupar longas seqüências de nucleotídeos. Somente quando todos os exons juntam-se através do processo de splicing ou de editoração é que formam um gene completo.

Fenótipo – O conjunto total de características estruturais e funcionais observáveis num organismo. O fenótipo inclui também as características que resultam da interação do genótipo com o meio ambiente.

Filogenia molecular – Técnica usada para comparar as seqüências de DNA ou de proteínas obtidas de vários indivíduos que se desejam estudar. As homologias e as diferenças encontradas nas seqüências de uma mesma proteína ou de um mesmo gene sugerem a distância evolutiva entre os indivíduos estudados. Quanto maior for a diferença, maior a distância, e vice-versa.

Fluoróforo – Uma substância composta por átomos que fluorecem quando excitados por luz de um determinado comprimento de onda. Desse modo, se uma molécula estiver ligada a um fluoróforo, toda a molécula fluorecerá quando adequadamente excitada. Os fluoróforos são usados como “marcas” que permitem localizar uma molécula numa mistura, num tecido, numa célula etc.

Gametas – Qualquer célula reprodutora madura, cujo núcleo funde-se com o núcleo do gameta de sexo oposto. Os gametas são haplóides, isto é, possuem a metade do número de cromossomas das células somáticas, e são classificados como masculinos ou femininos.

Genoma – O total da informação genética de um indivíduo que fica contido no DNA de células eucariotas e procariotas. Nos vírus, o genoma pode ser tanto constituído de DNA como de RNA. Cada organismo possui somente um genoma, seja este haplóide, diplóide ou poliplóide.

Haplóide – Uma célula ou um organismo que possui somente um conjunto de cromossomas. Uma célula haplóide tem em geral a metade do número de cromossomas de uma célula *diplóide*. Assim, num organismo que se reproduz sexualmente, os gametas são haplóides.

Herança (genética) – Em função de seus resultados com o cruzamento das ervilhas, Mendel postulou alguns princípios (mesmo sem conhecer como as características de um indivíduo eram transmitidas aos descendentes). Esses princípios são: a) *princípio da segregação* (ou a 1ª lei de Mendel): afirma que, na formação dos gametas, os determinantes de uma característica qualquer (presentes em pares) separam-se de tal forma que os gametas têm probabilidade igual de receber um ou outro; b) *princípio da independência*: a segregação de membros de um par de alelos independe da segregação de outros pares na formação dos gametas.

Iniciador (ou primer) – Pequena seqüência de um oligonucleotídeo de cadeia única (ou de RNA no caso da célula) que se hibrida por complementaridade ao DNA estabelecendo o ponto de início da síntese da cadeia complementar de DNA. Os iniciadores ou *primers* são usados na técnica da PCR para selecionar o ponto a partir do qual o DNA será amplificado.

Interações hidrofóbicas – Forças de atração que se estabelecem entre moléculas apolares (sem carga) e que são favorecidas numa solução aquosa, uma vez que as moléculas apolares não interagem com o solvente, que no caso é a água. No caso do DNA dissolvido em água, as bases aminadas dos nucleotídeos tendem a interagir umas com as outras e, portanto, estão voltadas para o interior do polímero.

Introns – Nos eucariotos, qualquer seqüência intragênica que não é expressa no mRNA. Isso significa que em alguns genes os exons estão separados uns dos outros por introns. Os introns também são conhecidos como seqüências intervenientes, isto é, que separam.

Linhagem germinativa – Qualquer linhagem de células que dá origem aos gametas.

Monômero – Qualquer molécula que se associa com outra molécula (idêntica ou não) formando uma molécula maior, composta das unidades que se associam. Um *polímero* é composto de várias unidades de monômeros. Por exemplo, uma proteína é um polímero formado pela associação de vários aminoácidos, os monômeros.

Plasmídeos – Pequeno DNA circular encontrado em muitas bactérias. Os plasmídeos podem ser transferidos de uma bactéria a outra por conjugação e correspondem ao DNA não-cromossomal. Os plasmídeos são os responsáveis pela resistência das bactérias a antibióticos, uma vez que contêm genes que codificam enzimas que degradam o antibiótico, ou que impedem a entrada deste na células. Devido às suas características de replicação, os plasmídeos são muito úteis na engenharia genética como vetores de clonagem de genes.

PCR – (de *polymerase chain reaction*) ou reação em cadeia da polimerase) – técnica inventada por Kary Mullis para amplificar uma determinada sequência de DNA através de ciclos sucessivos em que a enzima DNA polimerase sintetiza novas cadeias complementares ao DNA molde. O produto amplificado é determinado pela distância delimitada pelos iniciadores. Essa técnica lança mão de uma enzima DNA polimerase purificada a partir de bactérias termofílicas e que, portanto, resiste aos vários ciclos de desnaturação do DNA envolvidos na reação. Atualmente essa é uma das técnicas mais usadas em Biologia Molecular.

Ponte de hidrogênio – Forças fracas de interação entre átomos eletronegativos, como por exemplo o oxigênio e o átomo de hidrogênio que está ligado a algum outro átomo eletronegativo. As pontes de hidrogênio podem ser consideradas forças iônicas de ligação.

Proteoma – Coleção de todas as proteínas codificadas pelos genes de um determinado organismo ou de um órgão.

Pus – Secreção geralmente observada em feridas sépticas, isto é, infectadas por microrganismos, geralmente bactérias. Essa secreção resulta da presença de células fagocíticas e leucócitos polimorfonucleados que invadem a região da lesão e ativamente fagocitam os microrganismos.

Recessivo (gene) – Veja em *dominante*.

Retrovírus – Vírus cujo genoma consiste de duas cópias de uma molécula de RNA de cadeia única. Ao invadir um hospedeiro, o RNA atua como um molde para a síntese de um DNA complementar (cDNA) através da ação da enzima transcriptase reversa.

Sociobiologia – Ramo da Biologia que procura explicar o comportamento dos animais como um programa contido nos genes. Assim, para a Sociobiologia, comportamentos variados teriam uma origem genética, e não cultural.

Tradução - Processo de síntese de proteínas que ocorre no citoplasma das células. A síntese ocorre em organelas chamadas ribossomas, nas quais o RNA mensageiro (mRNA) é decodificado em aminoácidos ligados ao tRNA.

Transposon - Ou elemento de transposição; uma sequência de DNA que é transferida como uma unidade de um *replicon* para outro. O replicon é uma unidade que pode compreender todo um conjunto de genes ou, no caso das bactérias, o cromossoma inteiro, que está sob o controle de uma única sequência reguladora. Em outras palavras, o transposon é um trecho de DNA que pode conter vários genes e que se transfere como um todo de um sítio do genoma para outro.

Vírus - Agente infeccioso não-celular que somente se reproduz no interior das células. Os vírus são menores que as células e são geralmente compostos por um genoma que pode ser DNA ou RNA, além de uma capa protéica.

Grandes Temas em Biologia

Apêndice

Vários *sites* na Internet contêm informação útil a respeito de projetos do tipo genoma. Esses *sites* apresentam em geral bancos de dados com as seqüências e as suas localizações nos cromossomas.

Genoma humano:

<http://www.tigr.org/tdp/mdb/mdbcomplete.html>

<http://genome.ucsc.edu>

<http://www.ebi.ac.uk>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

<http://www.ensembl.org>

<http://workbench.sdsc.edu>

Genoma do câncer:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ncic-gap/>

<http://www.ludwig.org.br/ORESTES/>

Mapeamento do genoma humano:

<http://www.genlink.wustl.edu/>

Mutações e doenças hereditárias:

<http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html>

Genomas de vários organismos, incluindo plantas:

<http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdbinprogress.html>

Proteomas de parasitas:

<http://www.ebi.ac.uk/parasites/proteomes.html>

Literatura Adicional Recomendada

1. RUMJANEK, F.D. *Introdução à Biologia Molecular* – Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 2001.
2. ALBERTS, B. et al. *Biologia Molecular da célula*, 3ed. São Paulo: Artmed, 1997.
3. JUNQUEIRA, L.C., & Carneiro, J., *Biologia Celular e Molecular*: 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
4. DE ROBERTIS. *Bases da Biologia Celular e Molecular*: 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
5. COOPER, G.M. *A célula, uma abordagem molecular*, 2ed. São Paulo: Artmed, 2001.

Publicações históricas compilando a história e os resultados do projeto do genoma humano

Nature, vol. **409**, 15 de fevereiro de 2001

Science, vol. **291**, 16 de fevereiro de 2001

Grandes Temas em Biologia

Referências

Aulas 1

AGUIAR, L.E.V. *Pesquisa e experimentação como instrumentos de motivação para o ensino e aprendizagem de ciências*. 1998. Tese (Doutorado) – IOC, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1998.

BECHTEL, W. The evolution of our understanding of the cell: a study in the dynamics of scientific progress. *Stud. Hist. Phil. Sci.*, v. 15, p. 309-356, 1984.

PRESTES, M.E.B. *Teoria celular: de Hooke a Schwann*. São Paulo: Scipione, 1997. (Coleção Ponto de Apoio).

MENDES, C.L.S. *Com Ciência na Escola: a pesquisa científica gerando material para motivação ao ensino de Biologia Celular*. 2000. Dissertação (Mestrado) - IOC, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2000.

PALMERO, M.L.R. *Revisión bibliográfica relativa a la enseñanza/ aprendizaje de la estructura y del funcionamiento celular*. Disponível em: <<http://www.if.ufrgs.br/public/ensino/vol2/n2/palmero.htm>>. 1998.

Aulas 2

GAGLIARDI, R. GIORDAN, A. La historia e las ciencias: una herramienta para la enseñanza. *Enseñanza de las Ciencias*, v. 4, p. 253-258, 1986.

BAKER, J.R. The cell Theory: a restatement, history and critique. Part I. *Quarterly J. Microsc. Sc.*, v. 89, p. 103-125, 1948.

BAKER, J.R. The cell Theory: a restatement, history and critique. Part II. *Quarterly J. Microsc. Sc.*, v. 90, p. 87-108, 1949.

PALMERO, M.L.R. *Revisión bibliográfica relativa a la enseñanza/ aprendizaje de la estructura y del funcionamiento celular*. Disponível em: <<http://www.if.ufrgs.br/public/ensino/vol2/n2/palmero.htm>>. 1998.

Aulas 3

WOESE, C.R. Default taxonomy: Ernst Mayr's view of the microbial world. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 95, p. 11043-11046, 1998.

KOSTIANOVSKY, M. Evolutionary origin of eukaryotic cells. *Ultrastruct. Pathol.*, v. 24, p. 59-66, 2000.

GIORDAN, A. *Mon corps, la première merveille du monde*. Paris: Ed. J-C Lattès, 1999. 159p. Cap: 2: Je suis complexe!

GOULD S, L.; ELDREDGE, N. Punctuated equilibrium comes of age. *Nature*, v. 366, p. 223-227, 1993.

SAHTOURIS, E. *A dança da Vida: sistemas vivos em evolução: uma nova visão da biologia*. Rio de Janeiro: Rosa dos Tempos, 1998.

PENA, S.D.J. et al. Retrato molecular do Brasil. *Ciência Hoje*, v. 27, p. 16-25, 2000.

<http://www.comciencia.br/reportagens/framereport.htm>

Aulas 4

MARGULLIS, L. *O planeta simbiótico: uma nova perspectiva da evolução*. Rio de Janeiro: Rocco, 2001.

DE DUVE, C. *Poeira Vital*. Petrópolis: Campus, 1997.

SAHTOURIS, E. *A dança da vida: sistemas vivos em evolução: uma nova visão da biologia*. Rio de Janeiro: Rosa dos Tempos, 1998.

DE DUVE, C. The Birth of Complex Cells. *Scientific American*, v. 274, p. 38-45, 1996.

Serviço gráfico realizado em parceria com a Fundação Santa Cabrini por intermédio do gerenciamento laborativo e educacional da mão-de-obra de apenados do sistema prisional do Estado do Rio de Janeiro.



Maiores informações: www.santacabrini.rj.gov.br



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense



**GOVERNO DO
Rio de Janeiro**

SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério
da Educação

