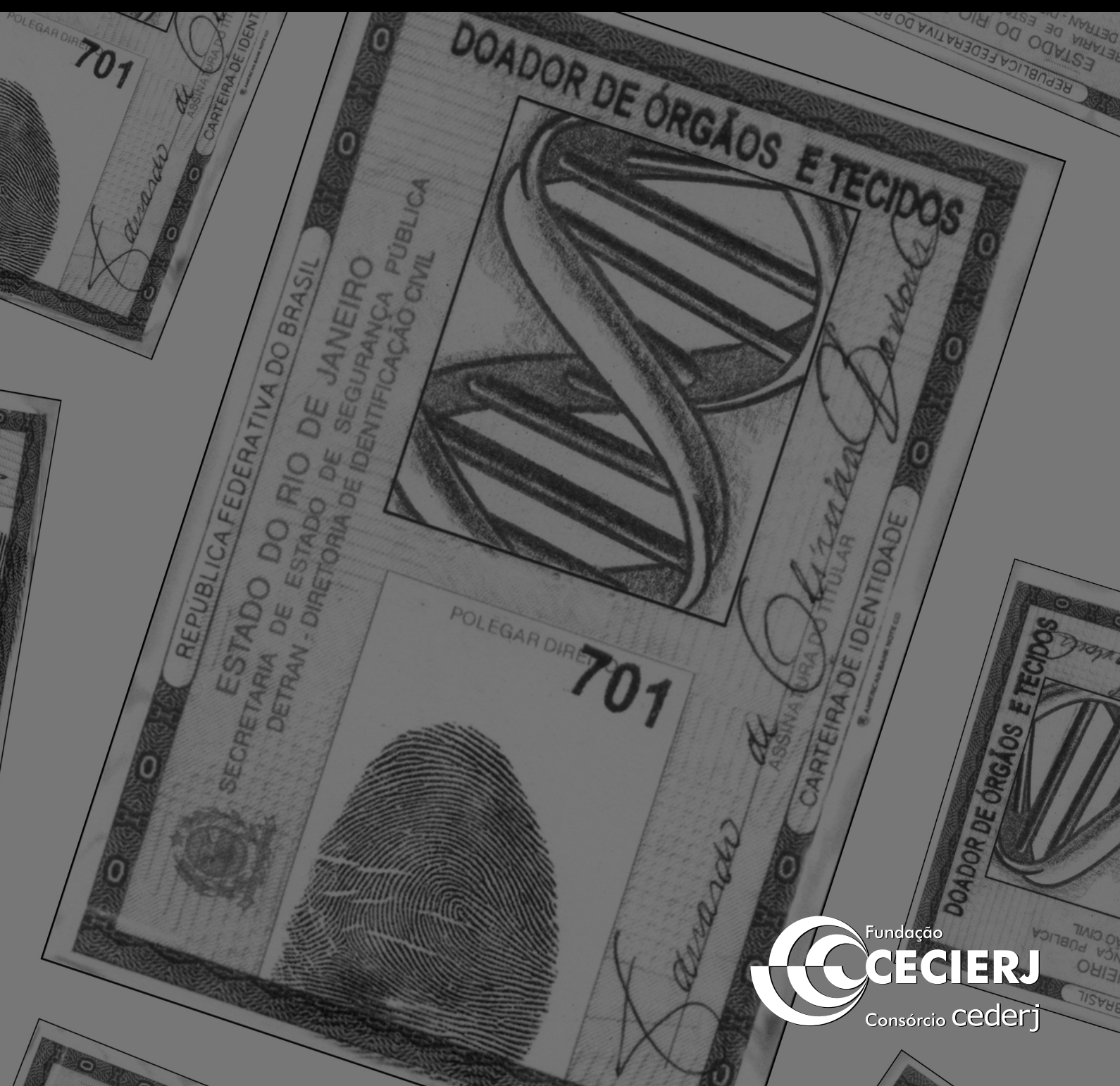


Francisco Esteves
Francisco Figueiredo
Franklin David Rumjanek
Ricardo Iglesias
Tânia C. de Araújo-Jorge
Wilmar Dias da Silva

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 2 - Módulos 2 e 3
2ª edição

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



GOVERNO DO
Rio de Janeiro

SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério
da Educação



Apoio:



FAPERJ

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo
à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

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

Tel.: (21) 2299-4565 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 - Cíbele Schwanke

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Francisco Esteves

Francisco Figueiredo

Franklin David Rumjanek

Ricardo Iglesias

Tânia C. de Araújo-Jorge

Wilmar Dias da Silva

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Anna Carolina da Matta Machado

Anna Maria Osborne

José Meyohas

COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Maria Angélica Alves

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

COORDENAÇÃO EDITORIAL

Jane Castellani

COPIDESQUE

Nilce Rangel Del Rio

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Patrícia Paula

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Equipe CEDERJ

ILUSTRAÇÃO

Eduardo Bordoni

Reinaldo Lee

Salmo Dansa de Alencar

CAPA

Eduardo Bordoni

Fabio Muniz de Moura

PRODUÇÃO GRÁFICA

Andréa Dias Fiães

Fábio Rapello Alencar

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. v.2. / Francisco Esteves. – 2.ed.

– Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2008.

252p.; 19 x 26, 5 cm

ISBN: 85-89200-48-5

1. Evolucionismo. 2. Seleção Natural. 3. Ecologia. 4. Ecossistemas aquáticos. 5. Degradação. 6. Anticorpos. I. Figueiredo, Francisco. II. Rumjanek, Franklin David. III. Iglesias, Ricardo. IV. Araújo-Jorge, Tânia C. V. Silva, Wilmar Dias da. VI. Título.

CDD: 570

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

Módulo 2

Aula 8 – Evolução: uma teoria criada há 150 anos ainda atual _____ **7**

Ricardo Iglesias

Glossário da Aula 8 _____ **35**

Aula 9 – Ação da seleção natural _____ **39**

Ricardo Iglesias

Aula 10 – Desenvolvimento histórico do evolucionismo _____ **67**

Francisco Figueiredo

Aula 11 – A árvore genealógica dos seres vivos _____ **79**

Francisco Figueiredo

Aula 12 – Breve histórico do evolucionismo _____ **87**

Francisco Figueiredo

Aula 13 – Impacto da sistemática filogenética _____ **99**

Francisco Figueiredo

Módulo 3

Aula 14 – Papel ecológico, econômico e social da água doce _____ **105**

Francisco Esteves

Aula 15 – Principais formas de degradação dos ecossistemas aquáticos continentais _____ **125**

Francisco Esteves

Aula 16 – A degradação dos ecossistemas aquáticos continentais por material inorgânico, por aumento da salinidade e por chuvas ácidas _____ **137**

Francisco Esteves

Aula 17 – Lançamento de esgotos: uma ameaça à integridade ecológica e sanitária de ecossistemas aquáticos continentais _____ **149**

Francisco Esteves

Aula 18 – Degradação sanitária e controle da degradação dos ecossistemas aquáticos continentais _____ **157**

Francisco Esteves

Aula 19 – Anticorpos como entidades	
Bloco: Anticorpos Humanizados	167
<i>Wilmar Dias da Silva</i>	
Aula 20 – Anticorpos ou Imunoglobulinas (Igs)	
Bloco: Anticorpos Humanizados	187
<i>Wilmar Dias da Silva</i>	
Aula 21 – Imunoglobulinas (Igs): proteínas	
Bloco: Anticorpos Humanizados	213
<i>Wilmar Dias da Silva</i>	
Aula 22 – Anticorpos monoclonais	
Bloco: Anticorpos Humanizados	237
<i>Wilmar Dias da Silva</i>	
Referências	247

Evolução: uma teoria criada há 150 anos ainda atual

AULA 8

objetivos

- Conhecer os agentes evolutivos, como funcionam e a importância relativa de cada um.
- Perceber a importância dessa teoria na interpretação dos dados da Biologia.
- Utilizar a teoria evolutiva para aumentar o conhecimento da origem das espécies, inclusive a nossa.
- Aprender a reconhecer a origem, nos seres vivos, das adaptações anatômicas, fisiológicas e comportamentais.

Específicos

- Aprender a separar as diferentes formas de ação da seleção natural.
- Aprender a calcular a frequência gênica em populações.

Pré-requisitos

Ter conhecimento da estrutura dos cromossomos.
Conhecer os tipos de divisão celular (mitose e meiose).
Conhecer as leis da hereditariedade (leis de Mendel).

A TEORIA EVOLUTIVA

“Nada em Biologia faz sentido a não ser sob a luz da teoria evolutiva.”

Essa frase de Theodosius Dobzhansky, um dos maiores geneticistas do século XX, resume de forma brilhante a importância da teoria da evolução por seleção natural. Essa teoria é também conhecida como neo-darwinismo, em homenagem ao seu principal criador, Charles Darwin, ou ainda como teoria sintética da evolução, quando a teoria de Darwin foi reunida (houve a síntese) com a teoria da hereditariedade de Gregor Mendel, na primeira metade do século passado.

Em 1º de julho de 1858, foram lidos os trabalhos de Alfred Russel Wallace e Charles Darwin na Linnaean Society de Londres. Os dois trabalhos apresentavam uma teoria da transformação das espécies por seleção natural, baseada em quatro proposições e três deduções.

Primeira proposição: todas as espécies, ao se reproduzirem, produzem um número muito maior de “filhotes” do que o número que chega à idade adulta. Se todos crescessem e se reproduzissem, as populações cresceriam exponencialmente (Figura 8.1).



Figura 8.1: Em treze gerações sem mortalidade, a população passa de 8 para 32.768 indivíduos. Note como a curva se inclina, mostrando aceleração na produção de novos indivíduos. Os números acima da linha indicam o número de indivíduos na primeira e na última geração.

Segunda proposição: nas populações naturais, o número de indivíduos mantém-se próximo a um valor médio ao longo das gerações (Figura 8.2).

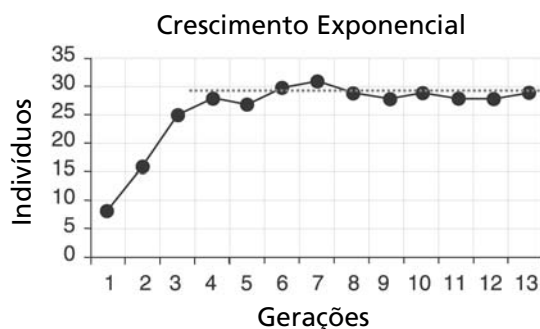


Figura 8.2: Nas três primeiras gerações ocorre crescimento do tipo exponencial, mas a partir da quarta geração o número de indivíduos da população se estabiliza, pois a taxa de natalidade se equipara à taxa de mortalidade.

As duas proposições apresentadas levam inevitavelmente à primeira dedução: há uma grande taxa de mortalidade nas populações naturais. Essa dedução, segundo o próprio Darwin, surgiu após a leitura do livro de Robert Malthus (*Um Ensaio sobre o Princípio da População*), cuja tese central era de que a fome, o vício e a miséria são um desígnio de Deus e sempre aparecerão para reduzir a população humana, pois o crescimento dela segue uma progressão geométrica, enquanto a produção de alimentos segue uma progressão aritmética. Malthus, que era um clérigo anglicano, argumentava que Deus criara essas dificuldades para estimular o homem a progredir, pois este é naturalmente indolente.

Terceira proposição: os indivíduos que formam uma espécie não são geneticamente iguais. Apresentam variações hereditárias em todas as características. Essa proposição leva à segunda dedução: alguns indivíduos estarão mais bem adaptados que outros na competição por espaço e alimento. Os mais aptos chegarão em maior número à idade da reprodução, e assim deixarão mais descendentes. A mortalidade é diferencial, e o agente que escolhe os mais bem adaptados é a seleção natural.

Quarta proposição: a hereditariedade é um fato bem estabelecido. Embora tanto Darwin como Wallace não tivessem o conhecimento dos mecanismos da hereditariedade, sabiam que existiam características hereditárias. Essa proposição leva à terceira dedução: as gerações subsequentes manterão as características adaptativas e sua frequência aumentará, se for selecionada favoravelmente.

Um ano depois da comunicação conjunta, que não teve a menor repercussão, Charles Darwin publica a primeira edição do seu mais famoso livro, *On the origin of species by means of natural selection or The preservation of favoured races in the struggle for life* (Sobre a origem das espécies por meio da seleção natural ou A preservação de raças favorecidas na luta pela vida), que revolucionou a forma de pensar do Ocidente, e no qual Charles Darwin explica detalhadamente o processo evolutivo por seleção natural. É uma obra escrita há mais de 140 anos e que permanece atual. Nela não só encontramos os fundamentos da teoria evolutiva como também a base da teoria ecológica moderna. Depois do lançamento do livro, esgotado em uma semana, o próprio Wallace reconheceu que Darwin tinha chegado primeiro e com mais profundidade à formulação de uma teoria evolutiva por seleção natural. Wallace e Darwin tornaram-se amigos, e essa amizade perdurou até o fim de suas vidas.

A resistência à teoria evolutiva foi muito grande, tanto no meio científico como no religioso. Essa resistência se explica facilmente, pois na teoria da evolução por seleção natural o Deus criador de todas as coisas, inclusive as espécies, foi substituído por um processo criativo puramente natural e mecanicista, a seleção natural. Por essa razão, a seleção natural passou a ser alvo das críticas, tanto de cientistas como de religiosos, e até hoje surgem sistematicamente artigos e livros que atacam a seleção natural; contudo, a grande maioria dos cientistas aceita o neodarwinismo como a teoria que melhor explica a criação de novas espécies.

A teoria de Darwin foi inicialmente mal recebida, pois se não foi Deus que criou as espécies, quem foi? A resposta de Darwin é: ninguém. Todas as espécies que existem hoje ou existiram no passado ou são descendentes de uma ou de poucas espécies.

Acredito que os animais descendem de no máximo uns quatro ou cinco ancestrais, e os vegetais de um número igual ou menor. Por conseguinte, deduzo por analogia que provavelmente todos os seres organizados algum dia existentes no mundo descendam de alguma forma primordial, na qual a vida tenha sido, num determinado instante, insuflada pela primeira vez.

(*A Origem das Espécies*, capítulo 14)

O que Darwin está dizendo é que a vida é **monofilética**. Essa hipótese foi amplamente confirmada quando se descobriu que todos os seres vivos eram constituídos por um conjunto de informações contidas no ADN.

Darwin afirmava que as espécies são criadas por pequenas ou mesmo insignificantes variações que surgem ao acaso, e se acumulam pela ação da seleção natural, num processo lento e gradual. A idéia de que o acaso supervisionado pela seleção natural poderia criar todas as maravilhas da natureza indignou muitas pessoas na época de Darwin, e mesmo no presente ainda causa certo desconforto.

A única concessão que Darwin fez é em relação ao primeiro ser vivo, quando diz que a vida num determinado instante foi insuflada pela primeira vez não para criar o homem, mas sim a primeira forma viva. Isso lembra a passagem do primeiro livro da Bíblia, o Gênesis: “Deus fez o homem do pó da terra e soprando-lhe pelo nariz insuflou-lhe a vida.”

A SELEÇÃO NATURAL

A idéia básica é muito simples, e a melhor definição é, sem dúvida, a do próprio Darwin:

Devemos ter em mente como são infinitamente complexas e estreitas as inter-relações entre todos os seres vivos, seja entre si, seja com relação às condições físicas de vida. Portanto, considerando-se as diversas variações úteis para o homem que efetivamente ocorreram, acaso seria possível julgar-se improvável que tenham ocorrido outros tipos de variações, de alguma forma úteis para que cada indivíduo possa enfrentar melhor a renhida e complexa batalha da vida, durante o curso de milhares de gerações? Se isso efetivamente ocorreu, acaso poderíamos duvidar (sem esquecer que nascem muito mais indivíduos do que o número dos que teriam condições de sobreviver) de que alguns indivíduos dotados de alguma vantagem sobre outros indivíduos, por mínima que seja, teriam maior probabilidade de sobreviver e deixar descendentes?

Por outro lado, podemos estar certos de que qualquer variação que se mostre nociva, por menor que seja, acarretaria inflexivelmente a destruição do indivíduo. É a essa preservação das variações favoráveis e eliminação das variações nocivas que dou o nome de seleção natural. Quanto às variações que não são nem vantajosas nem nocivas, essas não serão afetadas pela seleção natural, permanecendo como uma característica oscilante, tais como as que talvez se possa verificar nas espécies denominadas polimórficas.

(*A Origem das Espécies*, capítulo 4)

Esse parágrafo mostra claramente como Darwin tinha concepções muito avançadas para a sua época. O texto é uma tradução literal da primeira edição, e as notas foram acrescentadas para facilitar a explicação de algumas expressões: (1) A importância das interações entre os seres vivos e destes com o ambiente, esse é o cerne da definição moderna de ecossistema, embora o conceito de nicho ecológico se atribua a Charles Elton (1927) ou ainda a Hutchinson (1958), e o conceito de ecossistema (ou pelo menos o nome) foi criado por Arthur G. Tansley (1935). Deve-se ressaltar, contudo que as idéias básicas desses conceitos modernos já tinham sido criadas por Darwin, quando escreveu que “cada espécie ocupa um lugar único na economia da natureza”, ou que “uma espécie pode expulsar ou desalojar outra espécie do seu lugar na economia da natureza”, ou ainda que “uma espécie pode ocupar um lugar deixado vago por outra espécie”; temos aí claramente que: (a) lugar é o nicho ecológico, inclusive com a idéia considerada muito moderna de nicho vazio; (b) economia da natureza é o ecossistema, cuja idéia básica é de que o conjunto das espécies, através das interações entre elas e delas com o ambiente, funciona como um verdadeiro sistema: os conceitos básicos da ecologia moderna já estão bem desenvolvidos na *Origem das Espécies*, em 1859; (2) variações úteis para o homem. Darwin está se referindo à variabilidade que surge espontaneamente nos animais ou plantas cultivadas pelo homem, como por exemplo o coqueiro-anão, que surgiu por mutação no coqueiro-da-baía (cocos); (3) Darwin acreditava que a vida é uma luta perene, batalha, disputa, contenda, guerra, consequência da competição entre indivíduos da mesma espécie (competição intra-específica) e entre indivíduos de espécies diferentes (competição interespecífica), muito freqüente na natureza e até mesmo muito importante no processo evolutivo das espécies.

A importância da luta pela existência é destacada no próprio subtítulo do livro de Darwin; (4) a idéia de que as espécies são polimórficas e de que existem características neutras só reaparece em 1966, através dos trabalhos pioneiros de Lewontin & Hubby, com a descoberta de que os seres vivos têm centenas de genes neutros, isto é, genes que são indiferentes à seleção natural. Essas descobertas foram feitas com a utilização de modernas técnicas de detecção de enzimas pelo processo de separação em um campo elétrico (**ELETROFORESE**). Essas descobertas criaram debate e muita polêmica na comunidade científica, que se dividiu em dois grupos. Para uns (“adaptacionistas”), a maioria dos genes de um indivíduo era adaptativa; para outros (“neutralistas”), era justo o inverso, quer dizer, a maioria dos genes era neutra.

Essa polêmica ainda hoje não está resolvida, embora se possa dizer que os neutralistas estão levando a melhor.

Charles Darwin, assim como Gregor Mendel (o descobridor das leis da hereditariedade), foram cientistas à frente do seu tempo. Mendel morreu sem ter seu trabalho reconhecido; já Darwin, apesar das críticas recebidas, teve seus méritos valorizados ainda em vida, tanto na Inglaterra como na maioria dos países ocidentais. Quando de sua morte, em 1882, foi enterrado na Abadia de Westminster, e seu túmulo colocado próximo ao túmulo de Isaac Newton. Essa homenagem é ainda mais significativa se considerarmos que Darwin era um **AGNÓSTICO** reconhecido.

Existem ainda hoje cientistas que, embora neodarwinistas, fazem restrições ao poder quase absoluto de que é dotada a seleção natural na teoria evolutiva moderna, mas o próprio Darwin já reconhecia a existência de limitações à atuação da seleção natural. Já na introdução do seu livro, ele escrevia:

...depois de muitos estudos e do julgamento mais imparcial de que sou capaz, estou convencido de que o ponto de vista sustentado pela maioria dos naturalistas, e que eu mesmo outrora defendi – de que cada espécie teria sido criada independentemente – é errôneo. Estou completamente convencido de que as espécies não são imutáveis, e que aquelas pertencentes ao que chamamos de mesmo gênero são descendentes diretas de uma outra espécie, quase sempre extinta; da mesma forma que as variedades [subespécies] são descendentes de uma das suas variedades [subespécie]. Por fim, estou também convencido de que a seleção natural foi o principal meio de modificação, mas não o único.

(*A Origem das Espécies*, Introdução)

ELETROFORESE

Sistema de separação de proteínas baseado na existência de diferentes cargas elétricas em cada proteína. As proteínas são colocadas em uma solução e aplicadas em um gel (suporte) sobre o qual se estabelece um campo elétrico com pólos positivo e negativo. Nesse campo as proteínas se deslocam através do gel em função da sua própria carga.

AGNÓSTICO

Diz-se da pessoa que aceita o agnosticismo. Agnosticismo é uma palavra originária do inglês *agnosticism* que, para Thomas Henry Huxley (1825-1895), naturalista inglês e grande amigo de Charles Darwin, é uma posição metodológica que só admite os conhecimentos adquiridos pela razão e evita qualquer conclusão não demonstrada, atitude que considera inúteis as discussões sobre questões metafísicas.

Esse parágrafo é muito importante, pois autoriza os cientistas a procurar alternativas que complementem a atuação da seleção natural sem que sejam considerados antidarwinistas.

UM EXEMPLO DA AÇÃO DA SELEÇÃO NATURAL EM POPULAÇÕES NATURAIS

A nossa história se desenvolve na Inglaterra, onde o hábito de colecionar insetos, principalmente lepidópteros (borboletas e mariposas), era muito difundido. No século XIX uma mariposa da espécie *Biston betularia* da variedade escura (“melânica”) fazia o orgulho de seu proprietário, pois era extremamente rara na natureza, enquanto a variedade cinza (asas brancas com manchas negras) era muito abundante. A variedade melânica é determinada por um gene e a cinza por um **ALELO** diferente.

ALELO

Uma das diferentes formas de um gene que ocupa um único loco no cromossomo.

ESPÉCIE POLIMÓRFICA

(1) Diz-se da espécie que apresenta genes com vários alelos, sendo que o mais freqüente tem freqüência inferior a 99%. Praticamente todas as espécies são polimórficas.
(2) Diz-se da espécie que apresenta dois ou mais fenótipos distinguíveis. Uma espécie polimórfica é chamada de politípica quando tem duas ou mais subespécies.

O gene da forma melânica é incompletamente dominante sobre o cinza. *Biston betularia* é uma **ESPÉCIE POLIMÓRFICA**, pois apresenta mais de uma variedade fenotípica determinada por genes, com freqüência superior a 5%.

Nas áreas onde se estabeleceu uma indústria com emissões de gases poluentes, o que causou o enegrecimento dos troncos das árvores, foi verificado um aumento na freqüência da forma melânica, que passou de menos de 1% para mais de 90% em poucos anos. O fato chamou a atenção de Kettlewell, um pesquisador, que com seu grupo passou a estudar esse fenômeno. Descobriu que mariposas melânicas pousadas nos troncos das árvores enegrecidas pela poluição eram, a nossos olhos, menos visíveis que as mariposas da variedade cinza.

Foram feitos então vários experimentos com centenas de mariposas capturadas e contadas, sendo logo soltas em uma área com árvores. Os resultados comprovaram que os pássaros da região, que se alimentavam dessas mariposas, tinham uma percepção semelhante à nossa, e capturavam um número 50% maior de mariposas da variedade cinza do que das mariposas melânicas. A coloração escura da forma melânica, pousada em um tronco escurecido pela poluição, era menos visível aos pássaros.

No ambiente com árvores enegrecidas pela poluição o gene que determina a forma melânica é favorecido pela seleção natural, que atua através dos pássaros, pois estes se alimentam preferencialmente da variedade cinza. O gene da forma melânica aumenta sua frequência com o passar do tempo, enquanto seu alelo que determina a variedade cinza diminui. A reprodução é diferencial, com a variedade melânica contribuindo com um maior número de descendentes para as gerações subseqüentes.

Esse é um exemplo da ação da seleção natural em populações naturais, caracterizado pela mudança na frequência do gene que determina o fenótipo melânico. Por essa razão, também se define evolução como uma mudança na frequência gênica de uma população. Esse é um exemplo encontrado em praticamente todos os livros que falam sobre seleção natural, mas a nossa história não acaba aqui.

Em 1975 foi iniciado um programa de despoluição atmosférica nas áreas industriais da Inglaterra. As emissões de poluentes foram reduzidas em mais de 90%. Nos anos seguintes ao início do programa, foi observado um aumento na frequência do fenótipo cinza e uma redução proporcional do fenótipo melânico. Esses resultados comprovam a ação da seleção natural, que inverteu sua ação: agora ela atua contra o fenótipo melânico; contudo, surge um novo problema: no período em que o fenótipo melânico sofreu uma redução na sua frequência relativa, os troncos das árvores continuaram escuros. Além disso, alguns cientistas ingleses especializados em mariposas, depois de muitos anos de coleta, raramente viram a *Biston betularia* pousada no tronco de uma árvore.

O que aconteceu então? As mariposas foram capturadas em armadilhas de luz e foram soltas durante o dia nas proximidades das árvores. As mariposas são insetos de hábitos noturnos e durante o dia permanecem imóveis. Aparentemente, as mariposas compelidas a voar durante o dia no momento da soltura não foram capazes de procurar os locais de abrigo que normalmente usam, simplesmente pararam no lugar mais próximo, os troncos das árvores, e ali permaneceram imóveis.

Em resumo, pode-se afirmar que a seleção natural favorece o fenótipo melânico nas áreas poluídas, enquanto nas áreas não-poluídas favorece o fenótipo cinza. Todas as pesquisas mostram claramente a ação da seleção natural como função da poluição atmosférica; contudo, já não é claro qual o mecanismo de ação da seleção natural, pois os pássaros não podem ser os únicos agentes da mortalidade diferencial dos dois fenótipos, uma vez que as árvores permaneceram escuras e, além disso, *Biston betularia* não pousa durante o dia em troncos de árvores.

Esse caso mostra como funciona a Ciência. O início foi a verificação de um padrão de mudança na frequência gênica, depois os cientistas criaram uma hipótese explicativa – ação da seleção natural através dos pássaros. É uma hipótese científica, pois pode ser testada. A hipótese foi aprovada pelos testes, o que não significa que tenha sido provado que ela é verdadeira! Novos dados surgem, e a hipótese já não explica totalmente os novos dados. Os cientistas agora terão de criar uma nova hipótese passível de ser testada. Cada vez que uma hipótese é rejeitada se abre a possibilidade do avanço do conhecimento científico. As hipóteses aprovadas nos testes consolidam esse conhecimento, mas nada é definitivo, o aumento do conhecimento não tem fim.

FORMAS DE ATUAÇÃO DA SELEÇÃO NATURAL

Vamos considerar uma população de uma espécie de vertebrado que habite o ambiente A. Cada indivíduo tem uma constituição genética única, o que é uma característica das espécies que se reproduzem sexualmente. Vamos admitir, para simplificar, que exista uma correspondência total entre os diferentes fenótipos e os respectivos genes. Na **Figura 8.3** é mostrada a distribuição da frequência relativa dos fenótipos dessa população no seu ambiente. Os fenótipos mais frequentes são aqueles favorecidos pela seleção natural.

Imagine que temos três réplicas dessa população e que se deixe uma réplica no ambiente A e se coloquem as duas outras réplicas em dois ambientes novos. Na população que permaneceu no próprio ambiente A, os fenótipos mais favorecidos pela seleção natural são os mais frequentes, e marcados em cinza. A segunda população será colocada no ambiente B.

Nesse novo ambiente, os fenótipos mais favorecidos não são os mais freqüentes, e são também os fenótipos marcados em cinza, ao lado direito da curva. A terceira população é colocada no ambiente C, no qual dois grupos de fenótipos diferentes do grupo mais freqüente são agora favorecidos pela seleção natural, e estão marcados em cinza.

A seleção natural, atuando por várias gerações, modificará a freqüência gênica dessas populações. No ambiente A, a seleção manterá ou aumentará a freqüência dos fenótipos que já eram os mais freqüentes. Nesse caso, a seleção natural é chamada seleção natural estabilizadora.

No ambiente B, houve uma mudança de ambiente e um novo grupo de fenótipos passará a ser o mais favorecido, aumentando sua freqüência, como aconteceu no caso da mariposa *Biston betularia* mencionado anteriormente. No novo ambiente, os fenótipos mais freqüentes na situação anterior são eliminados pela seleção. Aqui falamos de seleção natural direcional.

No ambiente C o grupo de fenótipos mais freqüente no ambiente anterior é praticamente eliminado pela seleção natural no novo ambiente, surgindo dois grupos diferentes de fenótipos, que anteriormente eram raros e agora são os mais freqüentes. Nesse caso falamos de seleção natural disruptiva. Esse tipo de seleção, também conhecida como bidirecional, pode facilitar a criação de novas espécies.

Em todas as situações a seleção natural cumpre a sua dupla função, de favorecer os mais bem adaptados e eliminar as formas pouco ou mal adaptadas. São como as duas faces de uma única moeda. Quando queremos nos referir à ação de eliminar os menos aptos, falamos em seleção natural normalizadora. Essa forma de atuar da seleção natural é muito importante na eliminação da variabilidade genética nociva; nesse aspecto a seleção natural evita o estabelecimento de genes nocivos na estrutura genética das populações naturais (Figura 8.3).

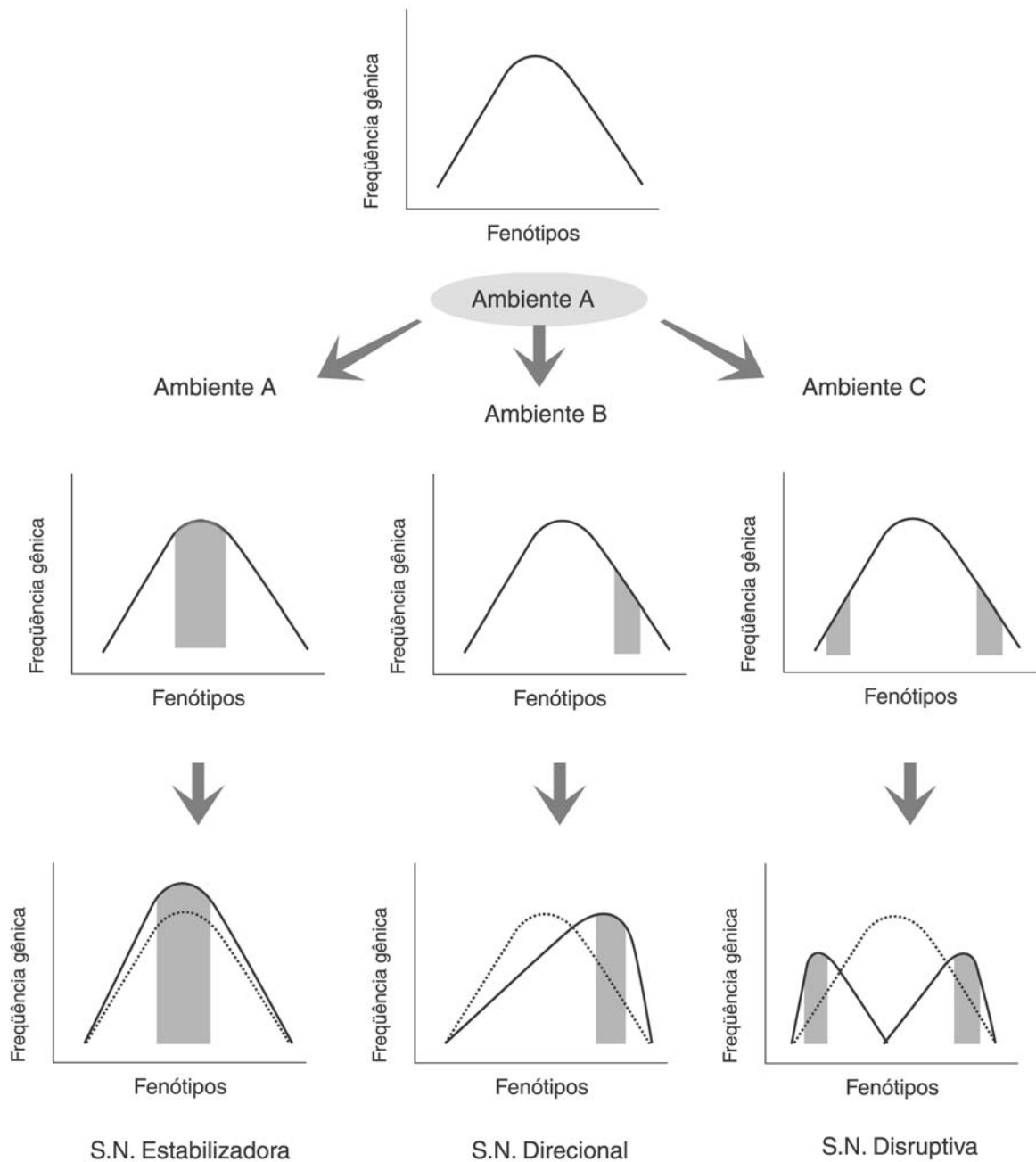


Figura 8.3: Demonstração esquemática das diferentes formas de atuar da seleção natural.

Todos esses nomes foram criados já no século XX; contudo, os conceitos de seleção natural normalizadora, direcional e disruptiva já se encontram no livro *A Origem das Espécies*, de Darwin. Um bom exercício pode ser feito durante a leitura do livro: cada vez que você encontrar a expressão seleção natural, verifique o contexto e classifique-a em um dos tipos acima. Você perceberá que Darwin já conhecia todos os tipos de seleção natural, apenas não lhes atribuiu nomes especiais.

A ação da seleção natural está, portanto, muito ligada às condições do ambiente. Se o ambiente fosse absolutamente constante, além da seleção natural normalizadora, que está sempre presente, atuaria a seleção natural estabilizadora; e, como consequência, seria reduzida a diversidade de espécies, o que não seria bom para o funcionamento dos ecossistemas. Se, por outro lado, o ambiente for muito instável, com grandes mudanças em pouco tempo, também haveria redução da biodiversidade, pois a cada momento a seleção natural estaria eliminando um grupo diferente de fenótipos. A história do nosso planeta mostra que na maior parte do tempo o ambiente vem mudando de forma constante, mas não catastrófica, com algumas exceções. O nosso planeta sempre mudou devagar, devagarinho, como canta o compositor e sambista Martinho da Villa.

A VARIABILIDADE GENÉTICA

Você já estudou que o ADN é o material que forma os genes. Quando os indivíduos se reproduzem, os seus genes são duplicados. Nesse processo de duplicação podem ocorrer erros, muitos dos quais são consertados pelo sistema de reparo das células; porém, alguns desses erros permanecem. Esses erros são chamados de mutações e podem ser induzidos por agentes externos, como a radiação ionizante (seja dos raios cósmicos ou de aparelhos feitos pelo homem, como os raios X), ou ainda por substâncias químicas. As mutações ocorrem ao acaso e, a rigor, são a única fonte de introdução de novos genes nos seres vivos.

LÓCUS

Essa palavra significa o local específico em um cromossomo onde se localiza um gene. Os genes alelos ocupam o mesmo loco em cromossomos homólogos. Por vezes se encontra em textos a palavra latina *locus*, cujo plural é *loci*, no lugar de loco e locos, respectivamente.

A taxa de mutação média aproximada de um **LÓCUS** é de 10^{-6} ($1/10^6 = 0,000001$) por indivíduo por geração. Embora esse número seja pequeno, se considerarmos apenas um locus, como por exemplo o que contém os genes que determinam o grupo sanguíneo ABO na espécie humana, com seus seis bilhões de indivíduos, a cada geração aparecerão centenas de novos alelos no locus ABO. Na nossa espécie cada indivíduo ao nascer tem em média três novos genes mutantes.

Por que a taxa de mutação média não é maior ou menor do que é? Se essa taxa fosse bem maior, haveria uma produção de muitos indivíduos mal adaptados, com um custo energético bastante alto, pois seriam eliminados. Se a taxa de mutação fosse muito menor, não haveria a variabilidade necessária para acompanhar as variações do ambiente. A taxa de mutação que existe foi determinada pela seleção natural, que eliminou e continua eliminando sistematicamente aqueles indivíduos cuja taxa de mutação é inadequada.

Uma alteração ao acaso em uma estrutura altamente organizada, como o ADN, tende a produzir um gene “defeituoso”, com maior probabilidade do que um gene que aumente o valor adaptativo do seu portador. Por essa razão a seleção natural normalizadora, que elimina genes nocivos ao indivíduo, evita o caos que adviria sem a sua atuação.

Existem duas outras fontes de criação de variabilidade genética: a segregação independente dos cromossomos na meiose e a permuta gênica que ocorre na interfase de praticamente todas as divisões por meiose. Esses mecanismos incrementam a variabilidade genética criada pela mutação de forma significativa. Como a meiose é uma característica dos organismos de reprodução sexuada, considera-se esse tipo de reprodução uma aquisição muito importante dos seres vivos, que acelerou o aparecimento de formas mais complexas e, conseqüentemente, aumentou a taxa de criação de novas espécies.

A DERIVA GÊNICA

A mosca *Drosophila melanogaster* (mosca-das-frutas) foi estudada em centenas de laboratórios e também na natureza, por essa razão são conhecidas muitas variantes fenotípicas do tipo selvagem, que é simplesmente o **FENÓTIPO** mais freqüente nas populações naturais. As variantes fenotípicas, como olhos de cor marrom ou de cor escarlate ou a presença de asas vestigiais, são fenótipos determinados por genes recessivos, que só se expressam quando em **HOMOZIGOSE**. Todos os indivíduos que apresentam um fenótipo diferente do tipo selvagem devido à presença de um gene são chamados mutantes. Não é uma boa definição, pois todos os genes que existem hoje são mutantes de genes ancestrais. Provavelmente o termo “mutante” foi usado por serem esses genes de baixa freqüência, raros, e alteram o fenótipo do tipo selvagem, que por ser o mais freqüente passa a idéia de ser a forma “normal”. Igualar raridade com anormalidade, infelizmente, é um erro conceitual muito freqüente.

Um caso particular da deriva gênica é o chamado efeito fundador, expressão criada em 1963 por Ernest Mayr, que considera que uma população poderá ser fundada por poucos indivíduos de uma dada espécie, ou mesmo por apenas uma fêmea grávida. Os novos fundadores, isolados geograficamente da população original em função do baixo número de indivíduos, constituirão uma nova população com variabilidade genética reduzida, pois uma boa parte dos genes da população original não está ali representada e, além disso, as freqüências gênicas dessa população seriam totalmente diferentes. Este é um caso que, em um primeiro momento, a freqüência gênica da população não é determinada pela seleção natural.

A deriva gênica, quando do seu lançamento por Sewall Wright, foi muito combatida, por ser um mecanismo de alteração da freqüência gênica, portanto evolutivo, independente da seleção natural. Com a descoberta de que muitos genes são neutros e de que em muitos momentos da história evolutiva das espécies suas populações passam por momentos em que há grande redução do número de seus indivíduos, a deriva gênica já é considerada um mecanismo importante no processo evolutivo.

FENÓTIPO

(1) Diz-se da forma assumida por alguma característica ou grupo de características (em geral morfológicas) de um indivíduo. (2) Diz-se das manifestações externas de um genótipo.

HOMOZIGOTO

Indivíduos nos quais um dado loco é ocupado por alelos iguais.

Sewall Wright, o fundador da genética de populações, nasceu em 1889 nos EUA, e viveu por noventa e nove anos. Foi um dos cientistas que desenvolveram as bases matemáticas da teoria evolutiva e criaram a teoria da evolução por deriva gênica, que em essência diz que em populações pequenas a frequência dos genes é determinada basicamente pelo acaso, tendo a seleção natural pouca ou nenhuma importância. Wright também criou uma teoria que permite orientar as técnicas de melhoramento animal, através do manejo dos cruzamentos endogâmicos (cruzamentos dentro do mesmo grupo). Uma parte do sucesso alcançado por Theodosius G. Dobzhansky se deve à colaboração entre ele e Wright no início da carreira do primeiro.

EXPERIMENTOS COM CAIXAS DE POPULAÇÕES

Dezenas de moscas podem ser criadas em uma caixa que contenha alimento e lugar para a desova das fêmeas. Essas caixas podem ser mantidas por várias gerações, renovando-se o alimento para as moscas.

Colocando-se em uma caixa duzentas moscas do tipo selvagem, cem machos e cem fêmeas, e igual número de moscas de asas vestigiais, portanto, com a frequência gênica de 50% tanto do alelo que determina asas normais (tipo selvagem) como do alelo que determina asas vestigiais, a cada geração a frequência do alelo para asas vestigiais é reduzida, e depois de muitas gerações esse alelo é muito pouco frequente e eventualmente é eliminado da caixa. Isso ocorre porque a seleção natural favorece os portadores do alelo selvagem, que deixarão mais descendentes. O tipo selvagem tem maior valor adaptativo (V).

A seleção natural não atua contra o fenótipo selvagem, que tem, portanto, coeficiente de seleção (S) igual a zero; note que $V + S = 1$. Nesse caso, o valor adaptativo do tipo selvagem é igual a um. O valor adaptativo é uma medida relativa. O fenótipo que deixa mais descendentes tem valor adaptativo igual a um.

Repetindo esse experimento com muitos outros genes mutantes que produzem um fenótipo diferente do tipo selvagem, o resultado é sempre o mesmo, o alelo mutante tem sua frequência reduzida e em alguns casos é eliminado da caixa, uma vez que esses mutantes têm coeficiente de seleção maior do que 0 e valor adaptativo menor do que 1, i.e., o tipo

selvagem deixa mais descendentes que os mutantes. A ação da seleção natural mantém esses genes mutantes com frequências muito baixas, tanto nas caixas de população como nas populações naturais.

Podemos agora realizar um experimento utilizando 20 garrafas de boca larga com um volume de $\frac{1}{4}$ de litro, contendo meio de cultura para *Drosophila*. Em cada garrafa são colocados três casais de asas normais e três casais de asas vestigiais; portanto, a frequência do gene selvagem e do mutante vestigial é de 50%. A cada geração seis casais escolhidos ao acaso são transferidos para novas garrafas. Depois de algumas gerações verifica-se a frequência dos genes para asas vestigiais e asas normais.

Em um experimento desse tipo o resultado foi o seguinte: doze garrafas só apresentaram o alelo selvagem para asas normais, em seis garrafas estavam presentes os dois alelos, nas duas garrafas restantes só existiam os alelos mutantes, asas vestigiais.

Como se explica o desaparecimento do alelo selvagem de duas garrafas, se a seleção natural sempre favorece esse alelo? O acaso é a resposta. Quando as populações são muito pequenas, desvios ao acaso podem resultar na extinção de um gene dessa população, independentemente de seu valor adaptativo. No experimento realizado, a cada geração um número muito pequeno de moscas escolhidas ao acaso torna-se pais da nova geração, permitindo assim a ação do acaso. Esse fenômeno se chama deriva gênica. Note que o gene selvagem eliminou o mutante em 60% das garrafas, permaneceu em outras 30% e foi eliminado em apenas 10% das garrafas. Essa é uma indicação de que o gene selvagem confere um valor adaptativo a seus portadores; contudo, em duas garrafas a deriva gênica (o acaso) foi capaz de eliminar o gene favorecido pela seleção natural, i.e., a deriva gênica suplantou a ação da seleção natural.

Um outro exemplo da influência dos pequenos números é o caso do lançamento de uma moeda, o tradicional cara ou coroa. As moedas antigas em geral tinham a “cara” do imperador ou rei de um lado e do outro o símbolo da coroa desse rei ou imperador. Uma moeda lançada cem vezes seguidas deve apresentar um resultado muito próximo de 50% cara e 50% coroa, e a probabilidade de aparecerem 100 caras é praticamente zero. Se você lançar essa moeda cinco vezes, a probabilidade de obter cinco caras é igual a $(1/2)^5$ ou 3,1%. A deriva gênica somente ocorre em populações pequenas.

Se as populações naturais passarem por momentos de grande redução do número de seus indivíduos, pode-se pensar que a frequência gênica de seus locos pode estar determinada pela deriva gênica e não pela seleção natural. Existem muitos locos com vários alelos, indiferentes à seleção natural (genes neutros); nesse caso o efeito da deriva gênica é ainda maior.

Quais são, portanto, os agentes evolutivos? A resposta é: (1) a mutação, que cria variabilidade genética ao acaso. A variabilidade genética é incrementada pela permuta gênica e pela segregação independente dos cromossomos durante a meiose; (2) a seleção natural, que altera a frequência gênica das populações, aumentando a frequência dos genes que conferem maior valor adaptativo a seus portadores e elimina os genes nocivos; (3) a deriva gênica, que altera ao acaso a frequência gênica das populações. Logo, a seleção natural é o único dos agentes evolutivos que não é regido pelo acaso.

A seleção atua no sentido de aumentar a adaptação dos indivíduos aos seus respectivos ambientes no presente e não em relação ao ambiente futuro. Por essa razão, não há sentido em falar que a seleção natural tem como objetivo o aperfeiçoamento ou o progresso dos seres vivos. A seleção natural não é **TELEOLÓGICA**, não tem um objetivo final predeterminado, ela atua apenas no tempo presente, favorecendo as melhores adaptações.

As espécies que ocupam um dado lugar na natureza estão bem adaptadas a esse lugar. O ambiente está sempre mudando e, como consequência, as espécies também alteram sua estrutura gênica para acompanhar essas mudanças e se manter adaptadas ao ambiente. Esse processo gera um movimento de mudança nas populações, a evolução, que por vezes é confundido com um movimento para um fim determinado. Essa percepção errada deve-se em parte ao fato de que em nossas mentes as coisas são criadas para um fim, como as máquinas, por exemplo, e nesse caso suas características são criadas para cumprir a finalidade para que foram projetadas. Por vezes dizemos que um organismo vivo é como uma máquina; isso é apenas uma analogia, os seres vivos não são verdadeiras máquinas criadas por um demiurgo, são criados por mutações ao acaso e por seleção natural. Os seres vivos não foram criados para um fim específico, apenas existem.

TELEOLOGIA

Estudo da finalidade. Doutrina que considera o mundo um conjunto de relações entre os meios que levarão a determinados fins. Finalismo. Na época de Darwin, alguns autores aceitavam a idéia de seleção natural como uma lei da natureza criada por Deus, mas, a evolução levaria inevitavelmente a um fim, predeterminado por Deus.

O TEOREMA DE HARDY-WEINBERG

Em populações muito grandes, a reprodução dos seus indivíduos ao acaso forma uma nova população cuja distribuição de genótipos atinge o equilíbrio em uma única geração, nele permanecendo a menos que os agentes evolutivos (mutação, seleção natural, deriva gênica) interfiram.

Vamos considerar um loco com dois alelos **A** e **a** como sendo genes autossômicos. A frequência relativa do primeiro é **p** e do segundo é **q**, de forma que **p + q = 1**. De acordo com o teorema de Hardy-Weinberg, a distribuição dos genótipos na situação de equilíbrio será: $AA = p^2$, $Aa = 2pq$, $aa = q^2$. Vamos a um exemplo com três populações com composições de frequências genotípicas diferentes:

Frequências relativas			Cálculo da frequência relativa do alelo $A = p$
AA	Aa	aa	
1) 0,3	0,2	0,5	1) $p = AA + 1/2Aa = 0,3 + 0,1 = 0,4$
2) 0	0,8	0,2	2) $p = AA + 1/2Aa = 0 + 0,4 = 0,4$
3) 0,4	0	0,6	3) $p = AA + 1/2Aa = 0,4 + 0 = 0,4$

Para o cálculo da frequência gênica de **A** soma-se a frequência dos indivíduos **AA**, pois todos os gametas desse indivíduo possuem o alelo **A**, com a frequência dos indivíduos **Aa** dividida por dois, pois apenas metade dos gametas desses indivíduos tem **A**. Como pode ser verificado, embora as três populações tivessem frequências genotípicas diferentes, apresentavam a mesma frequência gênica. Se os cruzamentos em cada uma dessas populações ocorrem ao acaso, espera-se que as três atinjam a situação de equilíbrio já na próxima geração.

Para calcular a frequência de equilíbrio podemos imaginar que todos os genes **A** e **a** de cada população são colocados em uma urna, onde teremos 40% (0,4) de **A** e 60% (0,6) de **a**. A probabilidade de retirar da urna dois genes **A** (um de cada vez) para formar um indivíduo $AA = p \times p = p^2 = 0,4^2 = 0,16$. A probabilidade de retirar um gene **A** e um **a** para formar um indivíduo $Aa = 2(p \times q) = 2 \times 0,4 \times 0,6 = 0,48$.

O dois se explicam porque se pode retirar da urna na primeira retirada o alelo **A** ou o alelo **a**. A probabilidade de retirar dois alelos **a** para formar o indivíduo **aa** = $q \times q = q^2 = 0,6 \times 0,6 = 0,36$. As frequências de equilíbrio das três populações são iguais, o que era esperado, pois as frequências gênicas dessas populações eram também iguais.

Esses resultados mostram que a reprodução sexuada não reduz nem aumenta a frequência dos genes nas populações, i.e., a variabilidade genética permaneceria constante através das gerações se os agentes evolutivos não interferissem.

Vamos voltar para os genes mutantes de *Drosophila*. Como foi visto, esses genes são recessivos e reduzem o valor adaptativo dos portadores, e como consequência suas respectivas frequências relativas são muito baixas, pois ao se expressarem são eliminados pela seleção natural. Vamos supor que um desses genes **a**) tenha frequência relativa de 0,1% (0,001). Se a população estiver em equilíbrio de Hardy-Weinberg, quantos indivíduos homozigotos e heterozigotos desse gene existirão? Os heterozigotos **Aa** = $2 \times 0,999 \times 0,001 = 0,002$ ou 0,2% ou 20 heterozigotos em 10.000 indivíduos. Os homozigotos **aa** = $0,001 \times 0,001 = 0,000001$ ou 0,0001%, ou um homozigoto em 10.000 indivíduos. Isso significa que a quase totalidade dos genes está em heterozigose, e como são recessivos não são percebidos pela seleção natural. Se sua frequência aumenta, aumenta a frequência de homozigotos e aumenta a ação da seleção natural contra esses genes. A cada geração surgem novos genes **a** por mutação, mas a cada geração um número correspondente é eliminado pela seleção natural. É por essa razão que, apesar da ação desses agentes evolutivos, as populações se mantêm em equilíbrio.

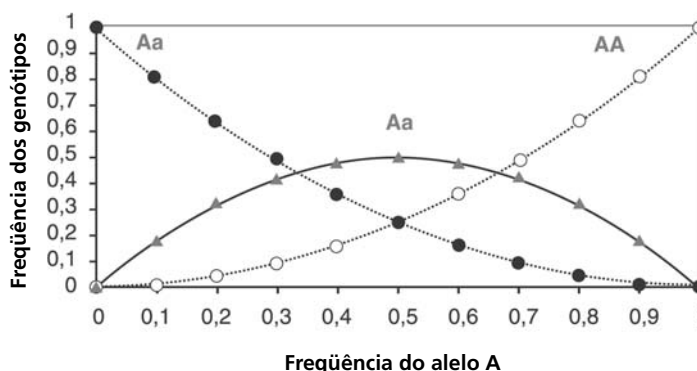


Figura 8.4: Frequência relativa esperada dos genótipos **AA**, **Aa** e **aa**, em populações com diferentes frequências gênicas, se essas populações estiverem em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A população humana segue o equilíbrio de Hardy-Weinberg? Se assim fosse, qualquer população amostrada teria a mesma frequência gênica. Vamos tomar como exemplo a frequência gênica do loco do grupo sanguíneo MN, que contém os alelos **M** e **N**, que são genes autossômicos co-dominantes, em três populações. A escolha desse loco é proposital, pois na hora de escolher o cônjuge ninguém se preocupa com seu grupo sanguíneo MN.

Tabela 8.1: Frequências relativas observadas em três populações da espécie humana, com as respectivas frequências gênicas

Populações	Frequência dos genótipos obtida			Frequência dos genes		Total
	MM	MM	NN	M(p)	N(p)	p q
Egípcios	0,28	0,49	0,23	0,52	0,48	1,00
Chineses	0,33	0,49	0,18	0,58	0,43	1,00
Esquimós	0,84	0,15	0,01	0,91	0,09	1,00

A Tabela 8.1 mostra claramente que a população humana no seu todo não está em equilíbrio de Hardy-Weinberg, como pode ser verificado pelas grandes diferenças na frequência dos genes **M** e **N**. Tendo como base a frequência dos genes da Tabela 8.1, pode-se calcular as respectivas frequências genotípicas esperadas no equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada população (Tabela 8.2).

Tabela 8.2: Frequências relativas esperadas no equilíbrio de Hardy-Weinberg nas três populações da espécie humana da Tabela 8.1

Populações	Frequência dos genótipos esperada em equilíbrio		
	MM	MN	NN
Egípcios	0,27	0,50	0,23
Chineses	0,33	0,49	0,18
Esquimós	0,84	0,15	0,01

Os resultados da Tabela 8.2 mostram claramente que nas três populações as frequências dos genótipos esperados na situação de equilíbrio não diferem significativamente dos valores observados. Isso indica que os indivíduos dentro de cada população analisada estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Logo, são populações que se cruzam ao acaso no que se refere ao grupo sanguíneo MN; contudo, na espécie humana como um todo, os casamentos são preferenciais, ocorrem dentro de subgrupos étnicos, religiosos ou mesmo econômicos, e mesmo num mundo globalizado existem populações isoladas, como os esquimós, cujas pessoas se casam dentro do próprio grupo.

CONHECENDO MAIS

Theodosius Grigorevich Dobzhansky

Nascido na Ucrânia em 1900, filho de um professor de Matemática, estudou na Universidade de Kiev (Rússia). Em 1927 foi para a Universidade de Colúmbia (Nova York/EUA). Em 1937 naturalizou-se americano e publicou um importante livro, *Genética e a Origem das Espécies*, criando um novo campo de pesquisa, a Genética Evolutiva, contribuindo de forma significativa para a síntese entre a teoria evolutiva de Darwin e as leis da genética de Gregor Mendel. A principal contribuição de Dobzhansky foi demonstrar que os indivíduos, em populações naturais, apresentavam grande variabilidade genética, e que a frequência dos genes mudava de uma geração para outra, em resposta à ação da seleção natural. Ao estudar moscas do gênero *Drosophila*, que completam uma geração em cerca de 20 dias, abriu a possibilidade de estudar o processo evolutivo nas condições de laboratório. Isso revolucionou as atividades de pesquisa na área da evolução. Dobzhansky publicou mais de 400 trabalhos científicos e vários livros, que influenciaram diferentes áreas da Biologia e Paleontologia. Dobzhansky recebeu dezenas de estudantes de várias partes do mundo, inclusive alguns brasileiros como Brito da Cunha, Antonio R. Cordeiro, Crodowaldo Pavan e outros que, ao voltarem para o Brasil, criaram importantes linhas de pesquisa nas principais universidades brasileiras. Dobzhansky morreu em 1975, reverenciado pelo mundo científico como um dos melhores – se não o melhor – cientistas do século XX na área da Biologia Evolutiva. Seu testamento científico foi o livro *A Genética do Processo Evolutivo*, publicado em 1970, onde são reunidos os trabalhos que atestam o progresso do conhecimento científico nos 30 anos anteriores, uma maravilhosa síntese de trabalhos, boa parte dos quais produzida pelo próprio Dobzhansky, por seus alunos (filhos científicos) ou por alunos dos seus alunos (netos científicos).

CONHECENDO MAIS

Robert Thomas Malthus

Nasceu na Inglaterra em 1766; filho de família abastada, estudou em Cambridge. Em 1793 foi ordenado clérigo da Igreja Anglicana. Malthus foi o primeiro economista inglês, escrevendo seu primeiro livro – *Um Ensaio sobre o Princípio da População e como Ela Afeta o Desenvolvimento Futuro da Sociedade* –, no qual mostra que a população humana tende a crescer em progressão geométrica, enquanto os recursos, como os alimentos, tendem a crescer de forma mais lenta. Malthus considera que é inevitável o surgimento da fome, do vício e da miséria, pois as populações sempre crescerão mais rapidamente que os recursos para alimentá-las. O surpreendente é a explicação de Malthus: para ele, o homem é por natureza indolente; para motivar esse homem preguiçoso Deus então criou a fome, o vício e a miséria, obrigando-o a lutar para melhorar suas condições de vida.

Malthus estava errado, a população humana cresce na mesma proporção em que crescem os alimentos. A quantidade de alimentos produzidos hoje no mundo é suficiente para alimentar oito bilhões de seres humanos. A população mundial é de seis bilhões; mas, apesar disso, há milhões de pessoas subnutridas, e não é por inexistência de comida, as razões são outras.

RESUMO

Os seres vivos são um produto da evolução biológica. Existem características nos seres vivos que são hereditárias, pois dependem em parte ou totalmente da informação genética dos genes. Variações nos genes e genótipos através das mutações, a segregação independente na meiose e a permuta gênica criam essa variabilidade genética sobre a qual trabalha a seleção natural.

A seleção natural favorece os indivíduos que deixam mais descendentes, os mais aptos relativamente a outros indivíduos que deixam menos descendentes, os menos aptos, os quais acabam por ser eliminados das populações ao longo das gerações. Por essa razão se diz que a evolução ocorre por reprodução diferencial. A mutação e a seleção natural são os principais agentes evolutivos, mas não os únicos, pois a deriva gênica, a segregação independente dos cromossomos, a permuta gênica e os cruzamentos ao acaso também são importantes agentes evolutivos. Uma forma de constatar a evolução é verificar a mudança da frequência dos genes nas populações através das gerações.

ATIVIDADES



AUTOSSOMOS

Diz-se dos cromossomos que não são ligados ao sexo. Os cromossomos sexuais seriam aqueles ligados à determinação do sexo.

Procure responder às questões abaixo consultando o texto da aula, mas não as respostas.

1. No homem o grupo sanguíneo **MN** é determinado por dois alelos codominantes localizados nos **AUTOSSOMOS**. Em uma população foram encontrados 120 indivíduos de fenótipo **M** – logo, de genótipo **MM** – 80 do fenótipo **MN** – logo, do genótipo **MN** – e 20 do fenótipo **N**, logo, do genótipo **NN**.

Calcule a frequência dos alelos **M** e **N**.

2. No homem o grupo sanguíneo **RH** é determinado por um par de genes. O gene **R**, que é dominante e determina que seu portador seja do grupo sanguíneo **Rh⁺**; o gene **r**, que não produz antígeno, sendo seus portadores do grupo sanguíneo **Rh⁻**. Nesse caso, quem for **Rh⁺** poderá ser homozigoto **RR** ou heterozigoto **Rr**, e quem for **Rh⁻** só poderá ser homozigoto **rr**. Em uma população foram encontrados 750 indivíduos **Rh⁺** e 250 indivíduos **Rh⁻**.

2.a. Supondo que a população está em equilíbrio, qual é o número esperado de indivíduos **Rh⁺**?

2.b. Se a população não estivesse em equilíbrio, seria possível responder à pergunta anterior? Explique.

3. O DDT é uma substância produzida pelo homem que foi criada para combater insetos, na metade do século passado. Inicialmente, o DDT eliminava praticamente todos os insetos que atacavam as plantas de importância econômica; depois de poucos anos algumas espécies de insetos tornaram-se totalmente resistentes ao DDT. A resistência era hereditária. O homem então aumentou a quantidade de DDT aplicado nos campos agrícolas. Depois de alguns anos muitas espécies de insetos já eram totalmente resistentes ao DDT.

3.a. Como aparece a resistência ao DDT nos insetos?

3.b. De que forma **todos** os indivíduos de uma espécie se tornam resistentes ao DDT?

4. Quando os antibióticos começaram a ser utilizados (há cerca de 50 anos) eram muito eficientes, eliminando praticamente todas as bactérias causadoras de doenças. Depois de algum tempo começaram a surgir bactérias resistentes aos antibióticos. O homem então produziu novos tipos de antibióticos; alguns anos mais tarde, surgiram bactérias resistentes aos novos antibióticos, e mais recentemente ainda apareceram bactérias resistentes a praticamente todos os antibióticos. Sabe-se que a resistência das bactérias aos antibióticos é devida à presença de genes.

4.a. Explique o processo de aparecimento da resistência aos antibióticos nas bactérias e caracterize os tipos de seleção natural envolvidos no processo.

4.b. Os hospitais são lugares onde podem ser encontradas bactérias extremamente resistentes aos antibióticos. Você poderia explicar esse fato?

5. Complete os cálculos das freqüências do alelo **a = q**. Complete os cálculos das freqüências dos três genótipos da tabela. Depois de preenchida, faça um gráfico em que no eixo das ordenadas serão colocados os valores dos genótipos e no eixo das abscissas os valores de freqüência do gene **a**. O gráfico terá três linhas, uma para cada genótipo.

Gene A = p	Gene a = q	AA = p ²	Aa = 2pq	aa = q ²
1,0	0	1,0	0	0
0,8				
0,6				
0,4				
0,2				
0,1				
0	1,0	0	0	1,0

RESPOSTA

Verifique as respostas comparando-as com as suas.

1. Como todos os fenótipos e genótipos são conhecidos, basta aplicar o teorema de Hardy-Weinberg. Em primeiro lugar calculamos a freqüência relativa dos três genótipos: **MM** = 120/200 = 0,60; **MN** = 60/200 = 0,30 e **NN** = 20/200 = 0,10. Vamos designar a freqüência de **M** por **p**, e a do alelo **N** por **q**. Logo, **p** = **MM** + 1/2**MN** = 0,60 + (0,30/2) = 0,75. Sabe-se que **p+q** = 1,0; logo, **q** = 1,0 – **p** = 1,0 – 0,75 = 0,25. Para treinar mais um pouco, pode-se calcular diretamente a freqüência de **N** = **q** = **NN** + 1/2**MN** = 0,10 + (0,30/2) = 0,10 + 0,15 = 0,25.

2.a. Os indivíduos de fenótipo **Rh⁺** podem ter o genótipo **RR** ou **Rr**, pois se trata de um gene dominante autossômico. Vamos designar a frequência do gene **R** por **p** e do gene **r** por **q**. Os indivíduos **Rh⁺** têm uma frequência relativa de $250/100 = 0,25$ (25%). Considerando que a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg, temos que **RR** + **Rr** = 0,75. Nesse caso temos uma equação e duas incógnitas, logo, não é possível resolvê-la, mas **rr** = **q²** = 0,25 ou **q** = $\sqrt{0,25} = 0,50$, ou 50%. Como **p** + **q** = 1,0, logo, temos que **p** = 1,0 – **q**, e substituindo **q** pelo seu valor, teremos **p** = 1,0 – 0,50 = 0,50, ou 50%.

2.b. Não. Se a população não está em equilíbrio temos que **RR** + **Rr** = 0,75, mas **RR** diferente de **p²** e **Rr** é diferente de **2pq**, assim como **rr** é diferente de **q²**. Logo, não podemos utilizar a solução do item 2a e não podemos resolver a equação **RR** + **Rr** = 0,75, pois só há uma equação e duas incógnitas.

3.a. A resistência ao DDT é uma característica hereditária; se alguns insetos tornaram-se resistentes foi porque apareceu nesses insetos uma **mutação** que criou um gene que passou a conferir **resistência** aos seus portadores.

3.b. Os indivíduos que tinham o gene para resistência podiam sobreviver até a idade reprodutiva e ter filhos, parte dos quais também são resistentes ao DDT. A **seleção natural direcional** favorece os indivíduos resistentes, os **mais aptos**, fazendo com que a frequência do gene para resistência aumente a cada geração, até que todos os indivíduos da população sejam resistentes. Os indivíduos que não têm o gene, menos aptos, são impiedosamente eliminados pela **seleção natural normalizadora**.

4.a. A resistência a antibióticos é também uma característica hereditária das bactérias, adquirida por **mutação em um gene**, que ao se transformar passa a conferir resistência à bactéria. Na ausência de antibióticos a grande maioria de bactérias não tem o gene para resistência, e são as mais aptas. Na presença de antibióticos, as bactérias sensíveis são eliminadas pela **seleção natural normalizadora**, pois no novo ambiente essas bactérias passaram a ser **menos aptas**. Algumas poucas bactérias que têm o gene para resistência são as únicas a sobreviver – mais aptas –, sendo favorecidas pela seleção natural. Uma geração de bactérias pode ser de 20 minutos; logo, em pouco tempo milhares de bactérias serão totalmente resistentes aos antibióticos (**seleção natural direcional**).

4.b. Nos hospitais se utiliza uma grande variedade de antibióticos e em grande quantidade. Logo, os antibióticos estão em todas as partes do hospital e por mais cuidados que existam é difícil evitar essa situação. A cada geração **novos genes mutantes aparecem**. As bactérias existem em praticamente todos os lugares, estarão em contacto com esses antibióticos, que funcionarão como **agentes da seleção natural**, eliminando as bactérias sensíveis e favorecendo aquelas resistentes. Depois de algum tempo, só existirão bactérias resistentes não a um, mas **a muitos antibióticos ao mesmo tempo**.

5. Para calcular as frequências do gene **a**, sabendo que $p + q = 1,0$, logo $q = 1,0 - p$, basta aplicar as fórmulas.

Gene A = p	Gene a = q	AA = p ²	Aa = 2pq	aa = q ²
1,0	0	1,0	0	0
0,8	0,2	0,64	0,32	0,04
0,6	0,4	0,36	0,48	0,16
0,4	0,6	0,16	0,48	0,36
0,2	0,8	0,04	0,32	0,64
0	1,0	0	0	1,0

O gráfico obtido depois dos cálculos é igual ao gráfico mostrado na **Figura 8.4**.

AUTO-AVALIAÇÃO

Compare as suas respostas com as respostas mostradas. No caso das questões 1 e 2, caso suas respostas sejam diferentes verifique o desenvolvimento das respostas, encontre o lugar onde foi cometido algum erro, refaça a questão. Depois disso responda à questão 5. Confira seu gráfico com o gráfico da **Figura 8.4**. Se o seu gráfico for igual, você de fato aprendeu a calcular frequências gênicas e genotípicas em situações que envolvem genes autossômicos.

No caso das questões 3 e 4, observe nas suas respostas se você usou as palavras-chave que estão em negrito nas respostas. Caso essas palavras estejam presentes, na totalidade ou em grande parte, suas respostas devem estar corretas. Consulte o glossário e procure entender todas as definições nele contidas, mas também procure memorizá-las; isso ajudará muito no futuro.

GLOSSÁRIO

Adaptação:

No sentido evolutivo da palavra, diz-se de uma característica fenotípica hereditária que aumenta, em termos relativos, a sobrevivência e a reprodução de um indivíduo em um determinado ambiente.

Agnóstico:

Diz-se da pessoa que aceita o agnosticismo. Agnosticismo é uma palavra originária do inglês agnosticism que, para Thomas Henry Huxley (1825-1895), naturalista inglês e grande amigo de Charles Darwin, é uma posição metodológica que só admite os conhecimentos adquiridos pela razão e evita qualquer conclusão não demonstrada, atitude que considera inúteis as discussões sobre questões metafísicas.

Alelo:

Uma das diferentes formas de um gene que ocupa um único loco no cromossomo.

Alelo recessivo:

Um gene em que a expressão fenotípica não ocorre em heterozigose, como no caso do albinismo na espécie humana, no qual o indivíduo heterozigoto Aa é normal, e o homozigoto aa é albino.

Autossomos:

São os cromossomos que não são ligados ao sexo. Os cromossomos sexuais seriam aqueles ligados à determinação do sexo.

Deísta:

Aquele que professa o deísmo. O deísmo é o sistema de idéias ou atitudes dos que, rejeitando toda espécie de revelação divina e, portanto, a autoridade de qualquer Igreja, aceitam a existência de um Deus, destituído de atributos morais e intelectuais, e que poderá ou não haver influído na criação do Universo. Os deístas se diferenciam dos teístas, que admitem a existência de um Deus pessoal que criou o Universo.

Eletroforese:

Sistema de separação de proteínas baseado na existência de diferentes cargas elétricas em cada proteína. As proteínas são colocadas em uma solução e aplicadas em um gel (suporte) sobre o qual se estabelece um campo elétrico com pólos

positivo e negativo. Nesse campo as proteínas se deslocam através do gel em função da sua própria carga.

Espécie polimórfica:

(1) Diz-se da espécie que apresenta genes com vários alelos, sendo que o mais freqüente tem freqüência inferior a 99%. Praticamente todas as espécies são polimórficas. (2) Diz-se da espécie que apresenta dois ou mais fenótipos distinguíveis. Uma espécie polimórfica é chamada de politípica quando tem duas ou mais subespécies.

Espécies crípticas:

Diz-se das espécies muito semelhantes morfológicamente, mas boas espécies, pois são grupos de indivíduos isolados reprodutivamente.

Fenótipo:

(1) Diz-se da forma assumida por alguma característica ou grupo de características (em geral morfológicas) de um indivíduo. (2) Diz-se das manifestações externas de um genótipo.

Genoma:

O complemento total do material genético contido em um conjunto de cromossomos.

Genótipo:

A composição de alelos de uma célula, de certos genes ou ainda de conjuntos de genes.

Heterozigoto:

Indivíduos onde um dado loco é ocupado por genes alelos diferentes.

Homozigoto:

Indivíduos onde um dado loco é ocupado por alelos iguais.

Loco:

Essa palavra significa o local específico em um cromossomo onde se localiza um gene. Plural locos. Os genes alelos ocupam o mesmo loco em cromossomos homólogos. Por vezes se encontra em textos a palavra latina locus, cujo plural é loci, no lugar de loco e locos respectivamente.

Metazoário:

Espécie de animal formado por várias células (por oposição a protozoários que são unicelulares).

Monofilética:

A filogenia é a evolução das unidades taxonômicas ou a história evolutiva das espécies. Mono é um elemento de composição que vem do grego e significa único. Monofilético no texto significa que todas as espécies se originaram de uma única forma viva.

Poligamia:

União conjugal de um indivíduo com vários outros. A poliandria é a união conjugal de uma fêmea com vários machos.

Teleologia:

Estudo da finalidade. Doutrina que considera o mundo como um conjunto de relações entre os meios que levarão a determinados fins. Finalismo. Na época de Darwin, alguns autores aceitavam a idéia de seleção natural como uma lei da natureza criada por Deus, mas, a evolução levaria inevitavelmente a um fim, pré-determinado por Deus.

Teorema de Hardy-Weinberg:

Em 1908, G. H. Hardy e W. Weinberg, de forma independente, mostraram que o fato de um alelo ser muito freqüente não determinava, que por essa única razão, sua freqüência aumentaria cada vez mais. Foi demonstrado que a abundância relativa dos alelos é determinante na distribuição dos genótipos e suas freqüências permanecerão as mesmas nas gerações subseqüentes. O teorema de Hardy-Weinberg é fundamental para a compreensão do aspecto genético da teoria evolutiva.

Ação da seleção natural

objetivos

- Compreender a forma de atuar da seleção natural e da seleção sexual que você estudará a seguir.
- Aprender como os agentes evolutivos atuam no processo de formação de novas espécies e raças.
- Desenvolver uma visão crítica da teoria evolutiva moderna.

Pré-requisito

O mesmo da aula anterior.

AÇÃO DA SELEÇÃO NATURAL

Um gene letal recessivo é aquele que, quando em homozigose, mata o seu portador. Vamos supor uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg e a frequência do gene a igual a 50%. Vamos admitir agora que esse gene recessivo se tornou letal: alelo dominante $A = p = 0,50$, o alelo recessivo $a = q = 0,50$. O valor adaptativo (V) do gene a é zero.

Tabela 9.1

1ª geração	AA	Aa	Aa = 2pq	Total	Freq. a
Frequência dos genótipos esperada	p^2	$2pq$	q^2	1	q
Frequências dos genótipos obtidas ⁽¹⁾	0,25	0,50	0,25	1	0,50
Valor aplicativos dos indivíduos (V) ⁽²⁾	1	1	0		
Coeficiente de seleção (s) ⁽³⁾	0	0	1		
Frequência genotípica depois da seleção ⁽⁴⁾	0,25	0,50	0	0,75	
Frequência genotípica normalizada ⁽⁵⁾	0,335	0,675	0	1,0	0,335
2ª geração (cruzamentos ao acaso) ⁽⁶⁾	0,444	0,444	0,111	1,0	
Frequência genotípica depois da seleção ⁽⁷⁾	0,444	0,444	0	0,89	
Frequência genotípica normalizada ⁽⁸⁾	0,50	0,50	0	1	0,25

(1) Na frequência de $A = 0,50$, nos cruzamentos ao acaso, sem a interferência dos agentes evolutivos, os valores esperados seguem o teorema de Hardy-Weinberg.

(2) O valor adaptativo V é complementar ao coeficiente de seleção. Os genótipos aa têm $V = 0$. Multiplicando o valor adaptativo pela frequência do genótipo temos o número de genótipos que a seleção natural permite que sobrevivam. Neste exemplo nenhum sobrevive, pois o gene é letal em dose dupla.

(3) O coeficiente de seleção é a intensidade com que a seleção natural atua contra um indivíduo, seu valor é igual a 1 para os genes letais.

(4) Como 25% dos indivíduos morrem antes de se reproduzirem, o total da população é reduzido. Os indivíduos que morrem representam uma carga para a população, i.e., a eliminação dos genes letais tem um custo para a população.

(5) É necessário recalcular a frequência relativa dos genótipos sobreviventes normalizando a população para 100%. Para normalizar a frequência dos genótipos sobreviventes, deve-se considerar que 25% dos indivíduos eram aa e morreram. Logo, a frequência de $AA = 0,25 / 0,75 = 0,33$; a frequência de $aa = 0,50 / 0,75 = 0,67$. A nova frequência gênica

de $a = \frac{1}{2} 2pq + q^2 = (0,67 / 2) + 0 = 0,335$. Como $p + q = 1$, temos que a nova frequência de $A = 0,665$. Com a população normalizada, calcula-se a nova frequência dos genes. Neste caso, $A = 0,665$ e $a = 0,335$.

(6) Com as novas frequências dos genes aplica-se o teorema de Hardy-Weinberg, onde $AA = p^2 = 0,335^2 = 0,11$; $Aa = 2pq = 2 \times 0,665 \times 0,335 = 0,44$; $aa = q^2 = 0,335^2 = 0,11$.

(7) O processo de seleção se repete com a eliminação dos genes letais em homozigose.

(8) Com os genótipos sobreviventes procede-se a uma nova normalização e calcula-se a nova frequência gênica, que no caso foi $A = 0,75$ e $a = 0,25$. E o processo continua indefinidamente.

Observe que nos descendentes da segunda geração a frequência do alelo a caiu para 25%, o que representa uma redução de 50%. Em dez gerações, a frequência do alelo a passa de 50% para 9,1%. Essa grande redução se explica pela forte ação da seleção natural eliminando todos os indivíduos aa .

Na figura a seguir é mostrado o comportamento da frequência dos alelos A e a em dez gerações, onde pode ser verificado que a seleção natural é cada vez menos efetiva na eliminação do gene letal da população, pois a cada geração aparecem menos indivíduos com o genótipo aa .

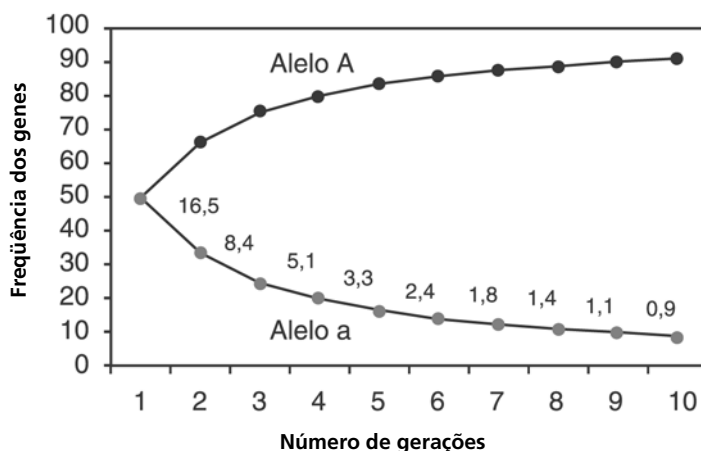


Figura 9.1: Variação da frequência dos alelos A e a ao longo de 10 gerações de seleção. Os valores acima da linha do alelo letal a são as perdas percentuais desse alelo a cada geração.

Pelo exposto anteriormente, podemos concluir que os genes letais recessivos são muito raros em populações naturais, sendo mantido nos heterozigotos. A cada frequência de genes a aumenta a possibilidade de aparecimento de genótipos aa . A atuação da seleção natural eliminando esses indivíduos se faz presente, mantendo a população em equilíbrio.

AÇÃO DA SELEÇÃO NATURAL CONTRA GENES RECESSIVOS DELETÉRIOS

Um gene recessivo deletério é aquele que, quando em homozigose, mata 10% ou menos de seus portadores. Vamos supor uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg e a frequência do gene deletério a igual a 50%. Alelo dominante $A = p = 0,50$, e o alelo recessivo $a = q = 0,50$. O valor adaptativo (V) do gene a é igual a 0,90.

Tabela 9.2

1ª geração - genótipos	AA	Aa	Aa = 2pq	Total	Freq. a
Frequência dos genótipos esperada	p^2	$2pq$	q^2	1	q
Frequências dos genótipos obtidas	0,25	0,50	0,25	1	0,50
Valor aplicativos dos indivíduos (V)	1	1	0,90		
Coeficiente de seleção (s)	0	0	0,10		
Frequência genotípica depois da seleção	0,25	0,50	0,225	0,975	
Frequência genotípica normalizada	0,256	0,512	0,231	1	0,487
2ª geração (cruzamentos ao acaso)	0,263	0,500	0,237	1	
Frequência genotípica depois da seleção	0,263	0,500	0,213	0,976	
Frequência genotípica normalizada	0,269	0,512	0,219	1	0,475

Observe que nos indivíduos resultantes da segunda geração a frequência do alelo a era de 47,5%; isso representa uma redução de apenas 2,5% em relação à primeira geração. Na **Figura 9.1** é mostrada a variação da frequência dos alelos A e a em dez gerações. A frequência do alelo a depois de dez gerações atinge o valor de 39,8%, o que significa uma perda de apenas 10,2%. O declínio da frequência do gene a é muito lento, pois a intensidade com que a seleção natural atua contra os homozigotos desse gene é relativamente fraca.

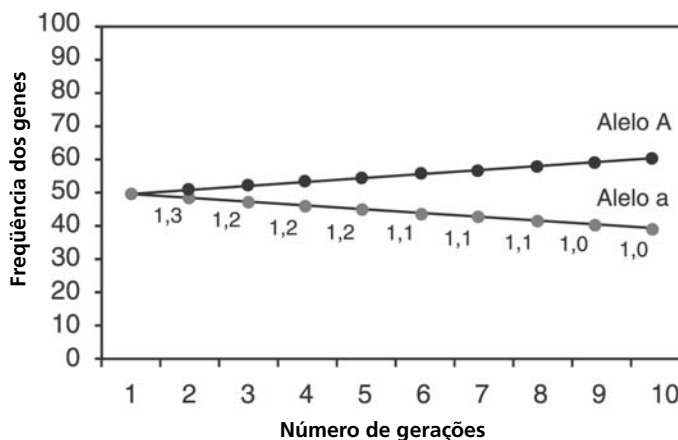


Figura 9.2: Variação da frequência dos alelos A e a ao longo de 10 gerações de seleção. Os valores abaixo da linha do alelo letal a são as perdas percentuais desse alelo a cada geração.

O procedimento mostrado em dois casos pode ser repetido agora para genes dominantes letais. Nesse caso, a seleção natural atuará com maior intensidade, pois os genes dominantes se expressam nos heterozigotos e a seleção natural é muito mais eficiente na eliminação desse tipo de variabilidade nociva para um determinado ambiente. Essa maior eficácia da seleção natural contra genes dominantes explica o fato de encontrarmos, nas populações naturais, maior número de mutantes nocivos recessivos do que dominantes.

O teorema de Hardy-Weinberg, ligeiramente modificado, pode ser aplicado para locos com mais de dois alelos, assim como para genes ligados ao sexo.

SELEÇÃO SEXUAL

Existem muitas características morfológicas, em geral nos machos, que os tornam mais conspícuos. Para Darwin essa era uma característica intrigante, pois indivíduos muito visíveis podem ser mais facilmente atacados por seus predadores.

Para Darwin, quanto maiores os chifres dos veados machos maiores as chances que seus portadores tinham de acasalamento e, portanto, de deixar mais descendentes. O mesmo se pode dizer para o pavão em relação a sua suntuosa cauda, ou para a ave-do-paraíso, com suas cores e danças deslumbrantes.

O curioso desse dimorfismo sexual é que quase sempre são os machos os que desenvolvem características conspícuas ou “armamento”, como a cauda do pavão, os esporões do galo ou os chifres em diversos mamíferos. Os machos fazem suas exhibições para atrair as fêmeas, mas são elas que escolhem ou permitem o acasalamento. As fêmeas são bem mais seletivas que os machos.

A evolução de uma maior seletividade nas fêmeas está provavelmente ligada à quantidade de energia investida por cada sexo nos respectivos gametas. Nos machos o espermatozóide contém basicamente um núcleo com um conjunto haplóide de cromossomos, e pouco mais que isso; já as fêmeas produzem um óvulo que é muito maior que o espermatozóide, contendo, além do núcleo, as mitocôndrias e muitos nutrientes. Isso significa que a escolha de um parceiro errado, de outra espécie, por exemplo, representa uma grande perda energética para a fêmea.

O dimorfismo sexual é mais freqüentemente encontrado em espécies poligâmicas. Nesses grupos é comum que os machos disputem entre si o acesso à fêmea. Em todas as situações a seleção natural (neste caso chamada seleção sexual) atuará favorecendo os machos que desenvolverem características adaptativas que aumentem suas chances de acasalar.

A escolha da fêmea é facilmente explicada nas situações em que o macho ajuda a criar a prole, como é o caso de muitas aves e alguns peixes, como os cascudos do gênero *Hypostomus* ou os ciclídeos, como o tucunaré (*Cichla ocellaris*). Nessas espécies os machos maiores e mais fortes quase sempre conseguem trazer mais alimento para sua prole, ou protegem de forma mais eficiente os ninhos, aumentando a chance de essa prole chegar à idade reprodutiva; em geral são esses os machos escolhidos pelas fêmeas.

Nos casos em que a fêmea sozinha cuida da prole, e ainda assim há uma escolha, não é tão claro como funciona o mecanismo de escolha. Aparentemente, nesses casos as fêmeas escolhem os machos com características exageradas; como essa escolha é uma característica com base genética, suas filhas procederão da mesma forma. Essa é uma questão ainda não completamente entendida, pois esse cenário pode levar ao desenvolvimento de características tão exageradas nos machos que passem a ser não-adaptativas, aumentando a chance de predação dos seus portadores. Essa é uma possibilidade do aparecimento de características morfológicas, promovidas pela seleção natural, que acabam sendo prejudiciais à espécie.

Na visão de Darwin, a seleção sexual não depende apenas da luta pela existência, mas sim da luta travada pelos machos visando à posse das fêmeas.

O PROCESSO DE ESPECIAÇÃO

Biodiversidade, que é uma palavra recente e está na moda, é formada pela contração das palavras da expressão “diversidade biológica”, cujo significado básico é o número de espécies de uma área, e nesse caso se fala em índice de riqueza de espécies. Existem vários índices para medir a biodiversidade; o mais simples é o número de espécies (E) de um lugar. Todos os índices para medir a diversidade biológica estão baseados na premissa de que existem espécies, o que parece óbvio, mas não é. Seria óbvio se fosse fácil ou simples separar uma espécie de outra, mas não é assim.

Charles Darwin foi um dos primeiros cientistas a perceber a complexidade e a dificuldade para separar os seres vivos em espécies diferentes. Na época de Darwin, os taxonomistas (em geral biólogos que se dedicam a classificar cientificamente os seres vivos), partindo da premissa de que um Deus havia criado no passado todas as espécies individualmente, não tinham muitos problemas conceituais, pois as espécies eram grupos de seres vivos diferentes uns dos outros já na sua criação. Quando Darwin desenvolveu a sua teoria evolutiva, segundo a qual as espécies se originam da transformação lenta e gradual de outras espécies, é que aparece o problema.

A transformação gradual é um processo contínuo, no qual dois grupos de indivíduos da mesma espécie vão lentamente se diferenciando. Em que momento esses grupos de indivíduos da mesma espécie se transformam em duas espécies diferentes? Na prática, é muito difícil estabelecer esse momento.

A dificuldade não é no plano teórico, mas sim na prática. A definição ou o conceito biológico de espécie é simples e sem controvérsias: dois grupos de seres vivos pertencem a espécies diferentes desde que não exista fluxo gênico entre esses grupos, quer dizer, se existir isolamento reprodutivo (MAYR, 1963). Com essa definição, como se pode saber se dois grupos isolados geograficamente estariam isolados reprodutivamente? Na vida prática, é muito difícil resolver essa questão.

Darwin, depois de vários anos de trabalho classificando as espécies atuais e fósseis das cracas (crustáceos sésseis) colecionadas em todos os continentes, cria uma curiosa forma de definir uma espécie: espécie é um grupo de indivíduos que um taxonomista competente diz ser uma espécie. Apesar do aspecto pouco científico, essa é a forma ainda hoje utilizada, mesmo com os avanços trazidos pela Biologia Molecular, desvendando o genoma de várias espécies.

A ESPECIAÇÃO ALOPÁTRICA

Começamos com uma espécie, que se divide em dois grupos. Esses grupos se isolam geograficamente, passando a viver em ambientes diferentes. Nas novas áreas, a temperatura do ar, a umidade, a quantidade de chuvas e a altitude são diferentes. Também é diferente o conjunto de espécies de cada área. Para uma dada espécie as outras espécies simpátricas (que vivem na mesma área) são ambientes. Nessas condições, as mutações ao acaso vão introduzindo novos genes, e a seleção natural vai *escolhendo* aqueles genes que aumentam o valor adaptativo dos seus portadores. Como as mutações que ocorrem em um lugar não ocorrem necessariamente no outro, e como os ambientes são diferentes, a diferenciação entre os grupos é inevitável.

A seleção natural sempre favorece os genes em função do momento e das circunstâncias locais. Com o passar do tempo, as duas populações tendem a se diferenciar na constituição genética e, conseqüentemente, na morfologia dos indivíduos.

Depois de várias gerações, essas populações podem expandir seu território ocupado, e nessa expansão podem entrar em contato em um determinado local. Poderão ocorrer então os cruzamentos, na área de contato, entre indivíduos das duas populações? São várias as possibilidades.

Se o cruzamento ocorrer e nascerem filhos férteis e bem adaptados ao ambiente, significa que não se desenvolveu nenhum mecanismo de isolamento reprodutivo. As duas populações têm diferenças na estrutura de seus genes e seus indivíduos têm diferenças morfológicas, contudo continuam sendo da mesma espécie. O fluxo gênico se restabelecerá, com enriquecimento da variabilidade genética da nova população. A probabilidade de que esse cenário se realize é tão maior quanto menor for o tempo de separação das populações.

Se os cruzamentos entre indivíduos das duas populações não se realizarem, ou se houver cruzamento e os filhos forem estéreis, essas populações agora são duas espécies diferentes, pois não há fluxo gênico entre elas. A probabilidade de que isso ocorra aumenta com o aumento do tempo de separação entre as populações. Esse processo é chamado especiação alopátrica, que Mayr (1963) considera o tipo de especiação mais freqüente na natureza, embora Endler (1975) e outros biólogos não pensem da mesma forma.

Existe uma terceira possibilidade: os cruzamentos ocorrem, os filhos não são estéreis, mas têm baixo valor adaptativo. Nesse caso, tenderão a ser eliminados pela seleção natural, com um custo energético muito elevado. Nessas condições, caso apareça uma ou mais mutações cujo efeito seja impedir o cruzamento do seu portador com indivíduos da outra população, esse gene será beneficiado pela seleção natural. Dessa forma, a seleção natural evita o aparecimento de indivíduos mal adaptados. Como consequência, as duas populações se estabelecerão agora isoladas reprodutivamente: portanto, duas espécies. Essas espécies poderão conviver no mesmo local, desde que consigam alimento e locais adequados para reproduzir, isto é, desde que explorem nichos diferentes. Esse processo é chamado especiação parapátrica, que difere da alopátrica porque nesta a especiação só se completa quando as populações se encontram (parapátria).

A partir da interrupção do fluxo gênico, as duas espécies passarão a acumular diferenças genéticas mais rapidamente. Isso quer dizer que, no momento da separação, as espécies são muito semelhantes geneticamente. A diferença genética entre duas espécies é grosseiramente correlacionada com o tempo decorrido a partir do isolamento reprodutivo; essa característica pode ser usada como um relógio biológico, que marcaria o tempo decorrido desde o momento de criação das duas espécies.

ESPECIAÇÃO SIMPÁTRICA

Dentro de uma mesma área, indivíduos da mesma espécie podem ficar segregados de outros durante algum tempo, em circunstâncias especiais. Na área habitada por um inseto que se alimente de plantas, tanto o adulto como as larvas, existe uma planta que não é atacada pelos indivíduos dessa espécie, pois produz substâncias tóxicas. Suponha

que um único indivíduo dessa espécie de inseto sofra uma mutação que o capacite a comer a planta tóxica. Essa mutação será vantajosa para o indivíduo, pois ele terá à disposição um recurso alimentar abundante, já que a planta não é atacada por outros insetos; logo, a seleção natural irá favorecer o aumento da frequência desse gene. Vamos admitir ainda que essa mutação é dominante. Isso significa que metade da prole desse indivíduo nascerá com o gene mutado, e por isso poderá comer a planta tóxica.

Nesse cenário, é possível que durante várias gerações a planta tóxica seja um “ponto de encontro” entre os indivíduos mutantes, que cruzarão entre eles e ficarão segregados dos indivíduos não-mutantes. Vamos admitir também que, depois de algumas gerações, esses mutantes fiquem dependentes da planta tóxica, isto é, não conseguem se alimentar de outras plantas. Essa nova situação vai reforçar a segregação (segregação ecológica) entre os grupos, e mesmo que ocorram cruzamentos entre mutantes e não-mutantes, os ovos serão depositados em uma planta tóxica ou em uma planta não-tóxica, o que determinará que em qualquer caso metade da prole morrerá de fome.

Nessas circunstâncias, qualquer mutação que evite o cruzamento entre indivíduos desses grupos será também beneficiada pela seleção natural, fazendo com que os grupos se isolem reprodutivamente, o que por definição caracteriza os dois grupos como duas espécies.

Como é fácil ver, são necessárias de fato muitas condições especiais para que dois indivíduos da mesma espécie se mantenham isolados. Essa é uma das razões pelas quais se considera que esse tipo de especiação raramente ocorre na natureza. A outra razão é que, como diz Darwin, as mudanças ocorrem muito lentamente – *natura non facit saltum* (a natureza não dá saltos). Essas questões nos levam a uma pergunta importante: qual é a quantidade de variabilidade genética suficiente para criar uma nova espécie? A resposta exata não era conhecida na época de Darwin e tampouco hoje; contudo, sabe-se que duas espécies recém-separadas são pouco diferenciadas geneticamente. Logo, se o acúmulo de variabilidade genética é proporcional ao tempo, pode-se concluir que a especiação pode ocorrer em pouco tempo. Essa é a principal razão que leva alguns biólogos a postular que a especiação simpátrica não só é possível como também importante.

Uma forma de especiação simpátrica que não é controversa é a formação de uma espécie por poliploidia. A poliploidia é o aumento do número de conjuntos haplóides de cromossomos. A maioria dos organismos eucariotos apresenta dois conjuntos de cromossomos haplóides, portanto $2n$. Pode acontecer que esses cromossomos se dupliquem mas não haja divisão celular; nesse caso, essa célula terá quatro conjuntos haplóides ($4n$). Esse indivíduo, um autotetraplóide, não poderá cruzar com um indivíduo originalmente da mesma espécie, que é $2n$, pois os gametas teriam conjuntos de cromossomos não-balanceados. Nesse caso, o isolamento reprodutivo seria atingido instantaneamente.

Em plantas, não é incomum o cruzamento entre indivíduos de espécies diferentes que geralmente, mas não sempre, formam híbridos estéreis. Esses híbridos são estéreis não porque são $2n$, mas sim $n+n$, sendo cada n um conjunto haplóide diferente. Algumas vezes um desses híbridos duplica seus cromossomos, mas não divide a célula, formando uma célula $2n + 2n$, um heteropoliploide (que não é $4n$). Esses novos indivíduos podem agora cruzar entre si e ter prole fértil.

A poliploidia é relativamente comum em plantas. As orquídeas, por exemplo, que são um grupo de plantas com muitas espécies, têm na poliploidia um mecanismo freqüente na criação de suas espécies. A poliploidia é também importante na formação de espécies de arroz e de trigo.

ESPÉCIES E RAÇAS

Imagine que chegue ao planeta Terra um taxonomista marciano que é chamado para classificar dois espécimes, um homem e uma mulher. Depois de avaliar semelhanças e diferenças, chegará à conclusão de que se trata de duas espécies diferentes, aliás, completamente diferentes. O nosso marciano poderia reconsiderar sua classificação se soubesse que se tratava de um macho e uma fêmea. Existem vários casos na literatura biológica em que taxonomistas humanos classificaram organismos em espécies diferentes até que descobriram que se tratava de machos e fêmeas da mesma espécie. Esse tipo de erro se deve ao acentuado dimorfismo sexual apresentado por muitas espécies, principalmente mas não exclusivamente nos animais.

Qual a diferença genética entre mulheres e homens? Provavelmente não mais do que uma dúzia de genes localizados no menor dos nossos cromossomos, o Y, que é exclusivo do sexo masculino; portanto, uma diferença genética de aproximadamente 0,00012 ou 0,012%, se considerarmos que o homem tem 100.000 genes, ou de 0,00024 ou 0,023%, se considerarmos que o homem tem 50.000 genes.

Uma subespécie ou raça é um grupo de indivíduos com alguma diferenciação genética de outro grupo da mesma espécie, que não estão isolados reprodutivamente. Em geral as subespécies estão separadas por alguma barreira geográfica; se assim não fosse desapareceria a diferenciação genética entre elas por fluxo gênico. As subespécies, portanto, podem ter muitas ou poucas diferenças genéticas; a condição para que sejam mantidas como subespécies é que não estejam isoladas reprodutivamente das outras subespécies da espécie à qual pertencem. A definição é boa, contudo as subespécies são alopátricas, o que significa que, se quisermos saber se estão isoladas ou não, devemos reuni-las em uma área, o que não é eticamente correto. A solução é reuni-las em um laboratório e ali verificar se estão isoladas reprodutivamente. Nas condições de laboratório, qualquer que seja o resultado, sempre existirá a dúvida: elas se comportariam da mesma maneira em condições naturais?

As espécies que têm duas ou mais subespécies são chamadas politípicas. Dobzhansky, ao estudar uma dessas espécies, chamada *Drosophila paulistorum*, oriunda da Amazônia brasileira, encontrou uma situação no mínimo curiosa. Ao cruzar algumas subespécies desse grupo, verificou que cruzando machos de uma subespécie A com fêmeas da subespécie B, a prole era numerosa e fértil, indicando ausência de isolamento reprodutivo; quando os machos eram da subespécie B e as fêmeas da subespécie A, não havia prole, indicando isolamento reprodutivo, isto é, as subespécies eram parcialmente isoladas. A situação é curiosa porque por definição não eram subespécies, já que havia um certo isolamento reprodutivo, mas por outro lado também não eram espécies, pois não havia isolamento reprodutivo total.

A solução encontrada por Dobzhansky foi chamar as subespécies de semiespécies e o conjunto de semiespécies de superespécie. As semiespécies foram chamadas por Darwin de espécies incipientes, quer dizer, são grupos de indivíduos que estão já perto da condição de espécie mas ainda não são verdadeiras espécies.

A teoria evolutiva prevê que os grupos isolados de uma espécie estão em constante transformação e lenta e gradualmente acumulam diferenças genéticas; portanto, não é de surpreender que existam muitos desses grupos que estão no limiar de transformarem-se em verdadeiras espécies.

As dificuldades que existem para classificação dos seres vivos em espécies levaram alguns cientistas a afirmar que a espécie não existe. Essa atitude radical não ajuda a resolver o problema. Nesse aspecto, seria importante lembrar o que Darwin escreveu há 147 anos:

Quando as idéias analisadas neste livro a respeito da origem das espécies, ou então idéias análogas a estas, forem admitidas consensualmente, podemos até prever a revolução que isso irá acarretar na História Natural. Os sistematas [taxonomistas] serão capazes de prosseguir suas tarefas como atualmente, só que não serão mais assaltados sem cessar pela sombria dúvida acerca da essência específica desta ou daquela forma... Os sistematas terão apenas que decidir (e não que isto seja fácil) se tal ou qual forma seria suficientemente constante e distinta das outras para merecer a definição e, se for o caso, se tais diferenças serão suficientemente importantes para que a forma mereça uma denominação específica... A partir dessa época, seremos obrigados a reconhecer que a única distinção existente entre espécies e variedades [subespécies] pronunciadas é que estas últimas são interligadas por gradações intermediárias, enquanto as espécies o eram outrora. Portanto, sem deixar de lado a consideração da existência atual dessas gradações entre duas formas quaisquer, deveremos ser levados a atribuir maior peso e valor à extensão real das diferenças entre elas. É perfeitamente possível que certas formas atualmente consideradas como meras variedades possam no futuro ser merecedoras de denominação específica... Em resumo: teremos de encarar as espécies do mesmo modo que aqueles naturalistas encaram os gêneros, admitindo que não passem de combinações artificiais, arranjadas em função da conveniência. Pode não ser uma perspectiva das mais animadoras, mas há de servir pelos menos para nos libertar da ingloria pesquisa relativa à não decifrada e indecifrável essência da palavra espécie.

(*A Origem das Espécies*, capítulo 14)

A teoria evolutiva hoje é consensual, pelo menos entre a maioria dos cientistas, mas a tarefa de classificar as espécies ainda é inglória. Na última metade do século passado, avanços nas técnicas de identificação de enzimas criaram grande expectativa, pois dezenas de locos e seus alelos de um único indivíduo podiam ser verificados. Foram criados índices de similaridade genética (I) com os quais se podia verificar as diferenças genéticas entre subespécies, semiespécies ou espécies.

Valores de $I = 1,0$ indicam semelhança total entre dois indivíduos.

A Tabela 9.3 mostra os resultados desse tipo de análise realizada por pesquisadores da Universidade da Califórnia, nos EUA.

Tabela 9.3: Similaridade genética entre grupos taxonômicos diferentes do complexo *Drosophila willistoni* (AYALA et al.)

Grupos	Índice de similaridade
Populações geográficas	0,970
Subespécies	0,795
Semiespécies	0,873
Espécies crípticas	0,517
Espécies não-crípticas	0,352

A maior semelhança foi verificada entre grupos de indivíduos da mesma espécie localizados em áreas diferentes. Esses grupos não apresentavam diferenças morfológicas perceptíveis. As subespécies eram grupos de indivíduos também isolados geograficamente, que já apresentavam alguma diferenciação morfológica. Como não eram isolados reprodutivamente entre eles, eram considerados da mesma espécie. Nesses grupos a similaridade genética esperada deveria ser menor que no grupo anterior, e de fato isso ocorreu. No terceiro grupo, das semiespécies, já surge um certo nível de isolamento genético, portanto seriam grupos mais próximos de completar a separação, tornando-se novas espécies. A similaridade genética deveria ser menor que a das subespécies, contudo isso não ocorreu... Frustração!

Nos demais grupos o índice se comporta bem. As espécies crípticas, que são grupos de indivíduos isolados reprodutivamente, sem apresentar diferenças morfológicas facilmente perceptíveis, têm maior similaridade do que as espécies não-crípticas, o que é esperado.

Trabalhos posteriores mostraram que o isolamento reprodutivo pode ser atingido com poucas diferenças genéticas entre as populações, assim como se mostrou a existência de subespécies com índices de similaridade genética relativamente baixos; em resumo, a diferenciação genética guarda uma relação muito grosseira com o isolamento reprodutivo. Esse fato deve servir de alerta sobre a utilização da divergência genética para datar o tempo de separação das espécies.

Com o desenvolvimento das novas técnicas da Biologia Molecular que permitem o estabelecimento das seqüências de nucleotídeos do ADN, novamente se abrem perspectivas para solucionar o velho problema de classificar as espécies. Até o momento essa técnica tem aumentado nosso conhecimento sobre as relações filogenéticas de alguns grupos, porém até hoje ainda é apenas uma técnica auxiliar.

Uma coisa é certa: se fosse um demiurgo que tivesse criado todas as espécies, esses problemas não existiriam, qualquer pessoa poderia classificar facilmente todas as espécies.

RAÇAS

Uma raça é simplesmente uma subespécie que não passou por uma descrição formal de um taxonomista, mas nos fundamentos são coisas iguais, isto é, grupos de uma única espécie separados por alguma barreira, com algumas diferenças genéticas, mas não isolados reprodutivamente. Os botânicos costumam utilizar a palavra *variedade* quando falam das subespécies, e raramente utilizam a palavra *raça*.

Quando alguém classifica uma espécie de gafanhoto em duas ou mais raças, esse fato aumenta nosso conhecimento, pois agora sabemos que a espécie de gafanhoto é politípica, formada por populações isoladas geograficamente.

Quantas são as raças da espécie *Homo sapiens*? Aqui a questão se complica, pois existem respostas para todos os gostos. Podem ser três: caucasóide, negróide e mongolóide, classificação muito usada por antropólogos antigos e bem primária, pois era baseada em uma única característica hereditária, a cor da pele, e dessa forma a humanidade era dividida em brancos, negros e amarelos. Existem classificações baseadas na distribuição geográfica, como europeus, africanos, asiáticos e polinésios; existem ainda classificações com mais de oitenta raças, baseadas na cor da pele, configuração do crânio e cultura (incluindo a língua falada), e muitas outras.

Nenhuma dessas classificações tem base realmente científica, pois as raças são grupos isolados geograficamente, com características genéticas próprias. Em geral, as classificações das raças na nossa espécie obedecem a critérios religiosos, políticos ou econômicos, nunca científicos.

Nossa espécie, que já ultrapassou os seis bilhões de indivíduos, está espalhada por praticamente todo o planeta, e apresenta variabilidade genética elevada. Imagine uma grande catástrofe, que elimine todos os povos e preserve apenas o grupo dos quicuios, cujas aldeias estão no Leste da África. Se agora o planeta fosse recolonizado a partir desses sobreviventes, estaria preservada nada mais nada menos que 85% da variabilidade genética que existe em nossa espécie (LEWONTIN *et al.*, 1984).

Um dado mais interessante ainda é a análise de 150 locos de proteínas, separadas por eletroforese. Não se conhece a expressão fenotípica para a grande maioria desses locos, como acontece com os genes que determinam a cor da pele (embora ainda não se saiba exatamente quantos são esses genes). Desses 150 locos, 75% são monomórficos, i.e., apresentam apenas um alelo; logo, todas as populações são iguais. No Brasil, recentemente foi demonstrado que cerca de 60% dos marcadores genéticos maternos, via ADN mitocondrial, são de origem ameríndia ou africana (PENA *et. al.*, 2000).

Considerando essas informações o melhor seria não dividir a nossa espécie em raças. Não é negar que existam diferenças genéticas entre populações, as diferenças existem, mas não existe forma de quantificar essa variabilidade, pois as variações existem em um contínuo; logo, qualquer separação será arbitrária. Um dos aspectos negativos em qualquer classificação arbitrária está na impossibilidade de evitar o preconceito daquele que realiza a classificação.

Classificar uma espécie em raças aumenta nosso conhecimento de como funciona a natureza. Não se conhece nenhum caso de um taxonomista que tenha classificado as raças de um gafanhoto ou de uma planta por razões políticas, econômicas ou religiosas, mas no caso da nossa espécie desconhece-se uma classificação sem essas motivações; em algumas classificações elas estão bem camufladas, mas estão lá.

EVOLUÇÃO DO HOMEM

A taxonomia clássica era realizada com base em diferenças morfológicas entre os indivíduos. As características morfológicas têm uma base genética, logo se pode inferir que, quanto maior a diferença entre a morfologia, maior a diferença genética. Infelizmente essa inferência lógica não corresponde totalmente à verdade.

Várias espécies crípticas (espécies diferentes, mas morfolologicamente muito semelhantes) de insetos ou de roedores, que logicamente são classificadas no mesmo gênero, têm similaridade genética muito menor que a similaridade genética encontrada entre *Pan troglodytes* e *Homo sapiens*. O primeiro é o chimpanzé comum, que pertence ao gênero *Pan* e à família *Pongidae*, enquanto a segunda espécie é aquela à qual pertencemos, do gênero *Homo* e da família *hominidae*.

Em termos percentuais, a diferença genética entre os humanos e os chimpanzés é inferior a 1%; apesar disso, as diferenças morfológicas são muito grandes, a tal ponto que essas espécies são colocadas em famílias diferentes.

A família *hominidae* no presente só tem um gênero e uma espécie, *Homo sapiens*. No passado existiram outras espécies do gênero, como o *Homo erectus* e o *Homo habilis*, e mais recentemente o *Homo neanderthalensis*, muito semelhante à nossa espécie e com uma capacidade craniana igual ou superior à nossa. O *Homo neanderthalensis* foi nosso contemporâneo há cerca de 60.000 anos. Seu desaparecimento é ainda um mistério, e tudo indica que se tratava de uma subespécie; por essa razão a nossa espécie é tratada como uma subespécie e recebe o nome de *Homo sapiens sapiens*. Mas essa situação ou classificação não é definitiva, pois existem alguns cientistas que consideram mais correto classificar o chimpanzé na família *hominidae*.

É na evolução do homem que encontramos a única divergência ocorrida entre Darwin e Wallace. A discórdia se estabeleceu a respeito a evolução do cérebro humano. Wallace era um selecionista mais radical que Darwin, e não admitia que uma característica pudesse ser favorecida pela seleção natural se não representasse vantagens imediatas para seu portador. Segundo esse raciocínio, Wallace considerava que o homem primitivo (ele se referia aos aborígenes com culturas bastante primitivas)

não necessitava de um cérebro tão grande para sobreviver; portanto, o crescimento do cérebro não ocorreu pela ação da seleção natural.

Darwin lamentou muito essa postura de Wallace, e tentou mostrar que muitas vezes uma característica é favorecida pela seleção natural por uma dada razão, mas essa mesma característica acaba servindo para outras coisas, dentro do princípio que Darwin chamou Lei das Correlações. O aumento do tamanho do corpo de um animal foi ajudado pela seleção natural, uma vez que existem várias vantagens, como aumentar a velocidade para a fuga ou ataque, evitar o ataque de predadores pequenos, menor gasto de energia por unidade de peso etc. Uma consequência do aumento do tamanho do corpo nos vertebrados é o aumento, entre outras coisas, do tamanho do crânio, isto é, existe uma correlação positiva entre o tamanho do corpo e o tamanho do crânio. A seleção natural, ao favorecer uma característica, como o aumento do tamanho do corpo, indiretamente promove o aparecimento de outras características. Darwin sabia disso, Wallace não. *A Origem das Espécies* continua um livro muito atual!

CRÍTICAS AO NEODARWINISMO

Os vitalistas defendem a idéia de que existe um princípio criador que não pode ser reduzido aos princípios físicos e químicos. A forma mais freqüente do vitalismo é atribuir a um Deus a criação de todas as coisas, inclusive os seres vivos. Essas idéias estão no campo da religião ou da Teologia, não da ciência; portanto, não há como estabelecer uma discussão.

Existem cientistas que são deístas e com certeza nem todo conhecimento é o conhecimento científico.

Como as disputas entre vitalistas e cientistas têm sido muito acirradas, sempre que alguém critica o neodarwinismo é imediatamente acusado de vitalista. Pode-se e deve-se criticar o neodarwinismo, pois isso faz parte do método científico. A teoria evolutiva explica muitas coisas, mas não explica tudo. Ela é incompleta; isso significa que devemos trabalhar para aperfeiçoá-la.

Charles Darwin foi um dos maiores cientistas de todos os tempos, mas também um homem do seu tempo, influenciado por sua cultura e limitado pelo conhecimento da época. Assim como Lamarck, Darwin também desconhecia os mecanismos da hereditariedade, e em seu livro

atribuiu muita importância ao uso-desuso – uma idéia original de Lamarck. Darwin chegou aos fundamentos da teoria evolutiva entre 1837 e 1840, alguns anos depois de sua viagem de cinco anos ao redor do mundo, e teve medo de publicar os resultados, que só saíram em 1858 quando recebeu um trabalho de Wallace que continha em essência uma teoria de evolução por seleção natural.

Darwin substituiu Deus pela seleção natural e pelo acaso; é lógico que a seleção natural tenha tanto poder na teoria darwinista. O grande problema para Darwin era compatibilizar o tempo de existência da Terra com o tempo necessário para que a seleção natural, a partir de um ser vivo primordial, necessariamente muito simples, pudesse criar todas as espécies existentes e fósseis, através do acúmulo de pequenas, ligeiras, leves ou quase imperceptíveis diferenças. Para que tudo isso ocorresse era necessário muito, muito tempo!

Para os geólogos da época de Darwin, a Terra teria entre duzentos e quatrocentos milhões de anos de existência; isso era pouco, e Darwin postulou que a Terra deveria ser mais velha, se não fosse assim a sua teoria não funcionaria. Nesse episódio enfrentou um dos mais renomados engenheiros da sua época, um especialista em termodinâmica, Lorde Kelvin, que chegou a declarar publicamente que Darwin devia se curvar às evidências fornecidas pela Matemática. As evidências de Kelvin eram cálculos sobre a temperatura da Terra, segundo os quais em eras remotas a temperatura do nosso planeta seria muito alta para permitir a existência da vida. Darwin, um neófito em Matemática, que não foi agraciado com o título de *sir* pela rainha da Inglaterra, não se curvou e estava certo; hoje se sabe que a Terra tem cerca de cinco bilhões de anos, e os cálculos de lorde Kelvin estavam errados.

A COMPETIÇÃO: LUTA OU GUERRA ENTRE AS ESPÉCIES

Para Darwin o processo de evolução e criação de novas espécies dependia muito das interações entre os indivíduos das diferentes espécies. Tinha uma perfeita avaliação tanto da importância quanto da complexidade dessas interações. Entre elas, a competição era a mais destacada, a tal ponto que considerava que a seleção natural atuava através da competição.

Como a seleção natural age por meio da competição, ela adapta os habitantes de cada região apenas em função do grau de perfeição de seus contrêrrâneos, de maneira que não necessitamos sentir-nos surpresos se os elementos de determinada fauna ou flora, apesar da voz corrente que afirma terem sido criados e adaptados especialmente para a região que habitam, forem derrotados e suplantados por produções importadas de outras terras, e ali aclimatados.

(*A Origem das Espécies*, capítulo 14).

A importância dada por Darwin à competição entre espécies pode ser explicada por ser esse processo um acelerador da diferenciação morfológica entre grupos de indivíduos que vivem na mesma área (simpatria). Se dois grupos geneticamente diferentes estão competindo pelo mesmo alimento, por exemplo, um deles será mais eficiente que o outro. Para o grupo menos eficiente restam duas possibilidades de continuar existindo: ou muda de local ou muda o tipo de alimento, reduzindo ou eliminando a competição; caso contrário, será eliminado (exclusão competitiva). Se esse grupo mudar a forma de se alimentar, a seleção natural passará a atuar no sentido de tornar esse grupo mais eficiente na nova situação, fazendo aumentar a diferença genética entre os grupos e conseqüentemente aumentando as diferenças morfológicas entre eles (separação de caracteres).

Darwin considerava as espécies que estavam confinadas a ambientes isolados e que não tinham sofrido modificações durante milhares de anos como fósseis vivos.

Essas formas anômalas quase poderiam ser chamadas fósseis vivos, tendo perdurado até os dias de hoje pelo fato de habitarem áreas confinadas, e assim terem sido expostas a uma competição menos severa.

(*A Origem das Espécies*, capítulo 4)

A competição, portanto, acelera a ação da seleção natural ao diferenciar morfológicamente os indivíduos que vivem no mesmo lugar. Fazer com que a seleção natural atue de forma mais rápida era tudo o que Darwin necessitava.

Darwin não inventou a idéia de competição, ela já existia no livro de Robert Malthus (1798), o primeiro economista inglês, como algo necessário para aperfeiçoar o homem. A competição também já existia no livro de Adam Smith publicado em 1776 (*A Riqueza das Nações*). Adam Smith, um escocês considerado o pai da Economia moderna, achava que a competição garantia produtos mais baratos e de melhor qualidade, salários mais altos e, como consequência, nações mais ricas. Para que isso acontecesse, o Estado teria que vigiar os capitalistas, pois estes tentariam evitar a competição criando monopólios ou oligopólios. Smith não acreditava que o Estado pudesse fazer isso, pois era dominado pelos próprios capitalistas.

Como fica evidente, a competição era um conceito fundamental na economia das nações do século XVIII. Essas idéias foram incorporadas por Darwin à Biologia do século XIX. No século XX muito trabalho científico foi realizado para comprovar as idéias de Darwin com total sucesso. Hoje o neodarwinismo goza de excelente prestígio entre os cientistas; portanto, não se deve estranhar a importância da idéia de competição na teoria ecológica moderna.

Alguns poucos cientistas, no final do século passado, começaram a questionar a supremacia da competição na teoria ecológica. A predação deveria ser considerada de importância primária na determinação da composição de espécies (de uma comunidade ou ecossistema), pois evita a competição (CONNEL, 1975). Essa tendência foi ganhando força e surgiram trabalhos que, além da predação, mostravam a importância do parasitismo como mecanismo para reduzir a competição.

Não deixa de ser paradoxal que os principais agentes responsáveis pelo aumento da biodiversidade sejam interações entre seres vivos do tipo negativo. Na competição, as espécies envolvidas perdem energia no processo, e como uma perde menos, acaba vencendo a luta. A exclusão de um dos competidores (uma perda) acaba com a competição. A competição é um tipo de interação (-/-), em que os dois participantes perdem algo. Na predação, a espécie predada perde, o predador ganha (-/+); contudo, como praticamente não existe um predador que não seja também predado, no conjunto de espécies essa interação é mais do tipo (-/-). Na interação do tipo parasitismo a relação é do tipo (-/+), e também nesse caso é comum um parasita ser também parasitado.

As outras interações entre indivíduos, como a simbiose, em que os dois indivíduos se beneficiam (+/+), ou o comensalismo, onde um ganha e o outro não perde (+/0), são consideradas menos importantes ou menos universais (HUTCHINSON, 1978). Também eram ignorados os processos de facilitação, em que uma espécie altera o ambiente para seu próprio benefício, mas indiretamente facilita o aparecimento de outras espécies com as quais não interage diretamente.

Até o final do século passado, as interações positivas eram praticamente ignoradas, os cientistas estavam muito ocupados estudando as interações negativas, capitaneadas pela competição, pois a crença geral era de que esse tipo de interação era o mais importante. Essa postura dos cientistas é uma herança de Darwin; contudo, deve-se lembrar que o trabalho de Darwin foi publicado há 147 anos, quando não existiam informações corretas sobre a idade da Terra.

Um exemplo interessante é a teoria sobre o aparecimento dos eucariotos, de Lyn Margulis. Em resumo, essa teoria postula que a célula eucariótica foi formada evolutivamente pela simbiose entre procariotos de vida livre; dessa forma as mitocôndrias atuais das células eucarióticas teriam sido células procarióticas de vida livre que entraram em simbiose com outros procariotos, resultando na formação de um novo tipo de célula, a partir da qual surgem os metazoários. Hoje essa hipótese tem aceitação geral, mas quando surgiu em 1970 sofreu grande rejeição. O porquê dessa rejeição? Por ser Lyn Margulis uma microbiologista desconhecida? Por colocar a simbiose na origem da criação dos organismos ditos superiores? Essas são perguntas que cabem à Sociologia e à História pesquisar.

Hoje a tendência é considerar todo tipo de interações igualmente importante, e por essa razão começam a aparecer muitos trabalhos sobre as interações positivas. É uma nova fase cujo início coincide, talvez por acaso, com a queda do Muro de Berlim e o desaparecimento da União Soviética (um competidor do capitalismo), como grande potência econômica e militar.

A crítica mais forte ao neodarwinismo é a de que essa teoria explicaria adequadamente a formação de novas espécies através da seleção natural, mas não a formação de novos gêneros, famílias, ordens e reinos.

Por vezes se encontra o termo microevolução para referir-se à origem de novas espécies, e macroevolução para referir-se à origem de táxons superiores, como famílias, ordens etc.; o neodarwinismo explicaria o primeiro mas não o segundo desses termos.

A teoria evolutiva de hoje é em grande parte a teoria evolutiva postulada por Charles Darwin, embora progressos notáveis tenham sido feitos. Hoje, um século e meio depois do lançamento do livro *A Origem das Espécies*, Darwin continua a provocar polêmica no mundo científico. A cada publicação de um artigo ou livro com críticas ao neodarwinismo, surgem dezenas de artigos e livros respondendo a essas críticas. Criou-se uma verdadeira indústria do darwinismo. O curioso de tudo isso é que em todas as polêmicas uns dizem que Darwin disse, e outros dizem que Darwin não disse. Creio que só nos resta a alternativa de nós mesmos lermos o livro de Darwin e tirarmos nossas conclusões. Nada mais adequado que terminar este trabalho com o último parágrafo do livro *A Origem das Espécies*, um verdadeiro poema!

É interessante contemplar uma vertente verdejante revestida de diferentes tipos de plantas, com pássaros cantando nos ramos das árvores, uma variedade de insetos voando pelo ar, além dos pequenos seres vivos rastejando naquela terra úmida, e então refletir que essas formas construídas de maneira tão elaborada, cada qual tão diferente da outra e, contudo, de uma interdependência tão complexa, e todas sendo produzidas por leis que prosseguem atuando neste nosso mundo. Essas leis, de maneira geral, são as seguintes: a do Crescimento, que caminha ao lado da lei da Reprodução; a lei da Hereditariedade, quase sempre englobada na precedente; a lei da Variabilidade, decorrente da ação direta e indireta das condições externas de vida e do uso e desuso; a lei da Multiplicação dos indivíduos, tão acelerada que acaba por acarretar a lei da luta pela existência. E, conseqüentemente, da seleção natural, atrás da qual seguem a lei da Divergência dos Caracteres e a lei da Extinção das Formas menos aptas. Assim, é da batalha natural, é da fome e da morte que advém o mais elevado objetivo que somos capazes de conceber: a produção dos animais superiores. Existe efetiva grandiosidade neste modo de encarar a vida que, juntamente com todas as suas diversas capacidades, teria sido insuflada em umas poucas formas, ou talvez em uma única, e que, enquanto este planeta continua a girar, obedecendo à imutável lei da Gravidade, as formas mais belas, mais maravilhosas, evoluíram a partir de um início tão simples, e ainda prosseguem hoje em dia nesse desenvolvimento.

ATIVIDADES

1. Complete a tabela abaixo seguindo as recomendações da Tabela 9.1. Observe que o maior valor adaptativo é dos heterozigotos (Aa) e que os dois homozigotos têm valor adaptativo inferior a 1,0. Isso significa que os genes **A** e **a** em homozigose são deletérios. Verifique a variação da frequência do gene **a**. Compare o seu resultado com os obtidos nas Tabelas 9.1 e 9.2. Como se explica a diferença?

1ª geração - genótipos	AA	Aa	aa	Total	Freq. a
Frequência dos genótipos esperada	p^2	$2pq$	q^2	1	q
Frequências dos genótipos obtidas	0,25	0,50	0,25	1	0,50
Valor aplicativos dos indivíduos (V)	0,5	1,0	0,5		
Coeficiente de seleção (s)					
Frequência genotípica depois da seleção					
Frequência genotípica normalizada					
2ª geração (cruzamento ao acaso)					
Frequência genotípica depois da seleção					
Frequência genotípica normalizada					

2. Leia o capítulo 4 do livro *A Origem das Espécies* e, com base nele, responda às seguintes questões:

2.a. Darwin fornece alguns exemplos da ação da seleção natural. São exemplos de fatos reais ou inventados para facilitar o entendimento do funcionamento da seleção natural?

2.b. Nesse capítulo aparece a palavra luta ou algum sinônimo? Quais são os sinônimos? A palavra luta é usada por Darwin apenas no sentido metafórico? Justifique sua resposta.

2.c. Para Darwin, as alterações importantes sofridas pelos indivíduos são as grandes ou as pequenas?

3. É mais provável que dois grupos de uma mesma espécie que estejam separados por uma barreira geográfica acabem por formar duas espécies diferentes do que dentro de um grupo que vive na mesma área surjam duas espécies diferentes. Justifique essas afirmações.

4. A variabilidade genética de uma população é uma adaptação? Justifique sua resposta.

RESPOSTA COMENTADA

1. A tabela completa é mostrada a seguir:

1ª geração - genótipos	AA	Aa	aa	Total	Freq. a
Frequência dos genótipos esperada	p^2	$2pq$	q^2	1	q
Frequências dos genótipos obtidas ⁽¹⁾	0,25	0,50	0,25	1	0,50
Valor aplicativos dos indivíduos (V) ⁽²⁾	0,5	1,0	0,5		
Coeficiente de seleção (s) ⁽³⁾	0,5	0	0,5		
Frequência genotípica depois da seleção ⁽⁴⁾	0,125	0,50	0,125	0,75	
Frequência genotípica normalizada ⁽⁵⁾	0,167	0,666	0,167	1,0	0,50
2ª geração (cruzamento ao acaso) ⁽⁶⁾	0,25	0,50	0,25		
Frequência genotípica depois da seleção ⁽⁷⁾	0,125	0,50	0,125	0,75	
Frequência genotípica normalizada ⁽⁸⁾	0,167	0,666	0,167	1	0,50

A frequência do gene *a* não varia de uma geração para outra, pois a seleção natural normalizadora elimina indivíduos **AA** e **aa** em igual número; dessa forma, a seleção atua com a mesma intensidade, contra os dois homozigotos.

2.a. No capítulo 4 do livro há um tópico com o título “Exemplos da Ação da Seleção Natural”. Nesse trecho Darwin só fornece exemplos imaginários ou teóricos da ação da seleção natural.

2.b. A palavra *luta* aparece pelo menos 25 vezes no capítulo 4; os sinônimos encontrados são: *competição, disputa, batalha, peleja, guerra*. Há trechos em que a palavra *luta* é usada em sentido metafórico, como na *luta contra as condições climáticas*, mas há muitos trechos em que a *luta* não é uma metáfora, como no trecho: “Talvez a **guerra** seja mais sem **quartel** entre os machos das espécies poligâmicas, donde serem estes dotados freqüentemente de **armas especiais**. Os animais carnívoros machos já são naturalmente **bem armados**, embora a seleção sexual lhes possa propiciar meios especiais de defesa, como a juba do leão, as ‘ombreiras’ do javali e o maxilar recurvado do salmão macho. De fato, o **escudo** pode ser tão importante para **a vitória** quanto **a espada** ou **a lança**.”

2.c. Para Darwin as variações importantes são as pequenas variações, as muito pequenas, as quase imperceptíveis variações. As grandes variações, em geral, são associadas a defeitos, originando espécies de monstros. As grandes variações, na visão de Darwin, não contribuíam para o processo evolutivo. Essa visão ainda hoje é defendida pela maioria dos biólogos.

3. Dois grupos isolados, vivendo em áreas diferentes, são selecionados para aumentar as adaptações para seus respectivos locais. Além disso, como estão **isolados geograficamente, não havendo fluxo gênico** entre esses grupos, podem surgir determinadas mutações em uma das populações, enquanto na outra podem surgir mutações diferentes (**acúmulo diferencial de mutações**). Com o passar do tempo, essas populações tendem a se diferenciar geneticamente, sendo esse o primeiro passo para a especiação.

Em uma população que viva em uma mesma área, há maior chance de troca de genes (**fluxo gênico**) entre os indivíduos, o que **dificulta a formação de grupos geneticamente diferenciados**. Apesar disso, a especiação simpátrica ocorre na natureza.

4. No sentido evolutivo, adaptação se refere a uma característica fenotípica que aumenta o valor adaptativo de um indivíduo. É também uma característica **moldada pela seleção natural** durante o processo evolutivo. A variabilidade genética que surge pelo processo de **mutação** surge em uma **taxa controlada pela seleção natural**. Essa variabilidade genética é, portanto, adaptativa.

AUTO-AVALIAÇÃO

Confira as suas respostas considerando principalmente a presença de palavras e expressões em **negrito** como critério de correção.

Desenvolvimento histórico do evolucionismo

AULA

10

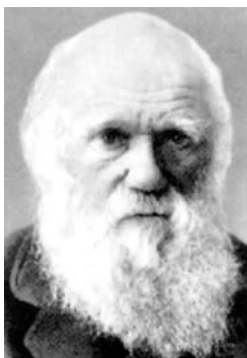
objetivo

- Apresentar e discutir os principais fundamentos da teoria da evolução por seleção natural, de Charles Darwin, dentro de uma perspectiva histórica e sob a ótica da filosofia da ciência contemporânea.

FILOSOFIA DA CIÊNCIA E DARWINISMO

Nada em Biologia faz sentido a não ser à luz da Evolução.

Theodosius Dobzhansky



**CHARLES ROBERT
DARWIN** (1809-1882)

Foi um dos maiores naturalistas britânicos de todos os tempos.

Em 1859, foi publicado o revolucionário livro do naturalista britânico **CHARLES ROBERT DARWIN** (1809-1882). *On the origin of species by means of natural selection or The preservation of favoured races in the struggle for life* (Sobre a origem das espécies por meio da seleção natural ou A preservação de raças favorecidas na luta pela vida). Trata-se de uma reunião de argumentos consistentes favoráveis à idéia de que todos os organismos extintos e vivos compartilham ancestrais em comum e que sofreram modificações ao longo do tempo geológico. Esse autor propôs um mecanismo para explicar essa mudança: a seleção natural das variações favoráveis, que levaria ao aparecimento das adaptações que, por sua vez, confeririam vantagens a determinados organismos em detrimento de outros na chamada luta pela sobrevivência. Os contemplados pela seleção natural produziram mais descendentes, contribuindo assim para a perpetuação da espécie.

Desde então, diversas críticas foram feitas a vários aspectos da teoria, mas ainda hoje sua influência como um todo é marcante. A princípio, os principais problemas para sua aceitação pela comunidade científica estavam relacionados à herança e à idade da Terra. No primeiro caso, Darwin tinha invocado o mecanismo de **pangênese**, de raízes na tradição judaico-cristã e na Grécia Antiga, para explicar a origem do material hereditário.

Segundo essa concepção, partículas (“gêmulas”) provenientes de várias partes do corpo se reuniam em um material germinativo que seria passado para a fêmea no momento da cópula. A hereditariedade propriamente dita era vista como uma mistura de traços dos pais. Mas dessa forma a prole tenderia a ser, em média, intermediária na aparência entre os pais. Sendo assim, haveria uma tendência para o desaparecimento das diferenças individuais e conseqüentemente a predominância de indivíduos intermediários. Logo, isso seria um impedimento para a atuação da seleção natural. Para contornar esse problema, Darwin aceitou a herança de caracteres adquiridos, uma explicação muito comum na sua época e sustentada por vários de seus precursores, como Lamarck.

A hipótese de pangênese foi descartada pelo naturalista alemão August Weismann (1834-1914), ao concluir que há uma separação funcional entre células somáticas (“plasma somático”) e sexuais (“plasma germinativo”). Desde então, ficou evidente que a produção do material hereditário fica a cargo de células especializadas (reprodutivas) produzidas e localizadas em sítio determinado no organismo, e não de material deslocado de várias partes do corpo desse mesmo organismo. Mas só com a redescoberta das leis de **GREGOR JOHANN MENDEL** (1822-1884), particularmente no que diz respeito à herança particulada, no início do século XX, é que a questão da herança de caracteres pôde ser solucionada. Posteriormente, com contribuições de ilustres geneticistas evolucionistas como Ronald Aylmer Fisher (1890-1962), John Burdon Sanderson Haldane (1892-1964), Sewall Wright (1889-1988), Theodosius Dobzhansky (1900-1975), entre outros, a seleção natural foi matematicamente formalizada e adquiriu *status* científico, prevalecendo sobre propostas alternativas para explicar o processo (mecanismo) da evolução.

A IDADE DA TERRA

No que diz respeito à idade da Terra, curiosamente, Darwin recebeu as mais duras críticas de lorde William Thomson Kelvin (1824-1907), famoso físico britânico, que demonstrou erroneamente, através de taxa de deposição de sedimentos, que a Terra não poderia ter tido a imensa extensão de tempo defendida por Darwin. Hoje em dia sabemos, por acurados **métodos radiométricos**, que a idade da Terra gira em torno de 4,5 bilhões de anos, tempo mais do que suficiente para a evolução que Darwin postulava.

A idade da Terra pôde ser aferida com precisão com o auxílio de isótopos radioativos. Certos átomos instáveis sofrem decaimento radioativo, dando origem a outros átomos mais estáveis. O tempo necessário para que numa amostra de átomos metade seja constituída de átomos estáveis é chamado de meia-vida. Por exemplo, o urânio (U_{235}) sofre decaimento radioativo até produzir chumbo (Pb_{207}). Quando o magma resfria, há a formação de cristais de zircônio que capturam somente urânio radioativo e não o chumbo. Analisando a proporção de chumbo em relação à associação zircônio-urânio numa amostra de rocha magmática, tem-se uma estimativa da idade dessa rocha. O tempo necessário para que tenhamos metade de átomos de chumbo (Pb_{207}) numa amostra é de 704.000.000 anos.



GREGOR MENDEL

Com sua experiência com cruzamentos de ervilhas, contribuiu decisivamente para o esclarecimento de questões hereditárias.

Mas os fatores responsáveis pela herança só seriam conhecidos mais tarde. Walter Sutton, em 1903, sugeriu que os cromossomos conteriam o material responsável pela herança. Esses estudos foram corroborados pelas observações do famoso geneticista

Thomas Hunt Morgan (1866-1945), que produziu o primeiro mapeamento de um cromossomo.

Em 1953, Francis Crick (1916-2004) e James Dewey Watson (1928-) apresentaram um modelo para a estrutura do DNA, válido até hoje, e foram contemplados com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina, em 1962.

A IMPORTÂNCIA DA TEORIA DA EVOLUÇÃO

Mas, afinal, qual a relevância da teoria da evolução de Darwin? Dentro da cultura ocidental, a origem da diversidade dos organismos vivos e extintos pode ser explicada de duas maneiras: criação divina ou evolução. No primeiro caso, segundo a tradição judaico-cristã, todos os seres vivos teriam sido criados por Deus independentemente, no Jardim do Éden (jardim do deleite), e para servir ao homem. A Terra, centro do universo e morada do homem, teria história curta (no máximo 6.000 anos, segundo certos estudiosos das Sagradas Escrituras). O homem teria sido criado do barro e de sua costela teria sido criada a primeira mulher. Houve um pecado original e o casal primordial foi expulso do Jardim do Éden. Os descendentes do primeiro homem constituíram a humanidade, redimida posteriormente pela vinda do Cristo (segundo a tradição cristã). Depois de um dilúvio universal, um período de 40 dias e 40 noites em que teria havido recorde mundial em termos de índice pluviométrico (uma coluna d'água de mais de 7 quilômetros!), pares de animais teriam dispersado do local de atracação de uma privilegiada arca em busca de condições ecológicas favoráveis em outras regiões da superfície terrestre. Superando barreiras geográficas preexistentes, como braços de mar, cadeias de montanhas e grandes rios, eles chegaram aos locais onde são hoje encontrados. Dentro dessa linha de raciocínio, os fósseis seriam restos de plantas e animais depositados e petrificados em lugares que as águas do dilúvio alcançaram.

O argumento crucial utilizado na sustentação literal dessas narrativas é a fé. Portanto, fora da alçada da ciência, uma vez que não admite evidência contrária. Fé, em última instância, implica acreditar em milagres, intervenção sobrenatural. Significa explicar o que ainda não compreendemos pela intervenção de entidades ou causas transcendentais que supomos existir (deuses, Deus, anjos, espíritos, orixás etc.). Sendo assim, não há forma de demonstrar a veracidade da existência dessas entidades e conseqüentemente atribuímos as causas a elas. As provas apresentadas são sempre ambíguas e quase sempre suspeitas. Independem de qualquer evidência empírica. Acreditamos e pronto.

Muitos religiosos encaram as narrativas da Bíblia como metáforas, salientando que os ensinamentos lá contidos devem ser interpretados dentro de um contexto de moral e ética. Mas, hoje em dia, existem grupos fundamentalistas centrados na sustentação literal da narrativa bíblica, que visam a travar uma batalha ideológica sem tréguas contra o **humanismo secular** e o racionalismo científico. A Creation Research Society, com sede em Michigan, por exemplo, conta com diversos profissionais que buscam argumentos favoráveis a uma interpretação literal da Bíblia.

Um de seus mais ilustres representantes é Henry Morris, diretor do Centro de Pesquisas Científicas acerca da Criação, localizado em San Diego, Califórnia, que afirma que “o relato bíblico da criação do homem não foi desacreditado de modo nenhum. Foi simplesmente rejeitado! A evolução não foi comprovada. Foi simplesmente aceita. A ciência legítima só pode lidar com processos atuais e, assim, nada pode dizer acerca das origens”. Alguns defensores mais exaltados chegaram a postular, inclusive, que a evolução é uma idéia inspirada pelo demônio e que visa a corromper a formação de um bom cristão. Já alguns cientistas humanistas contra-atacam, afirmando que as idéias fundamentalistas estão casadas com a intolerância, com a falta da liberdade de pensamento e expressão, com o preconceito, com a discriminação racial e sexual, com a imutabilidade social, com o antiintelectualismo, depondo contra o próprio bem-estar do homem. Seria o culto à uniformidade de pensamento.

A proposta alternativa para a explicação da origem da diversidade dos seres vivos é a de evolução, que se baseia em causas naturais acessíveis a investigação e questionamento dentro do racionalismo científico. Não há necessidade de se invocar qualquer participação divina nesse processo. A natureza explica a própria natureza.

A idéia básica de evolução, de mudança ao longo do tempo, conta com inúmeras evidências favoráveis vindas das mais diferentes áreas do conhecimento: Astronomia, Geologia, Lingüística, Psicologia etc. No caso da Biologia, evolução trata-se de descendência com modificação, como argumentado por Darwin.

As idéias de Darwin tiveram repercussão bombástica na história da cultura ocidental, colocando em cheque a inabalável questão da origem divina do homem. O homem, a partir de então, passou a ser tratado por grande parte dos cientistas como apenas mais uma espécie na natureza, e não como uma criação especial e privilegiada de um Deus

antropomórfico. O homem deixou de estar à parte para ser parte da natureza, da mesma forma que a Terra foi excluída do centro do universo e colocada no seu devido lugar, de mais um planeta obedecendo a uma órbita em torno do Sol, como nos revelou o astrônomo polonês Nicolaus Copernicus (1473-1543).

No caso da evolução dos seres vivos, dois aspectos devem ser salientados: um é o *fato* de que evolução ocorreu. Para isso, temos diversas provas: a sucessão de faunas e floras no tempo geológico, eventos de extinção em massa, semelhança de estruturas ao longo do desenvolvimento embrionário de organismos bem diferentes quando adultos, alterações na distribuição geográfica de grupos taxonômicos, existência de estruturas vestigiais etc.

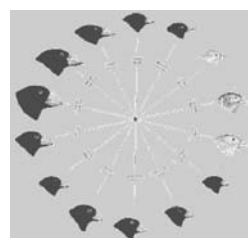
Outro aspecto, mais complicado de ser explicado, diz respeito ao *processo* (mecanismo) pelo qual a evolução ocorreu. Para Darwin, como dito anteriormente, o principal mecanismo seria a seleção natural, uma idéia extraída das bases filosóficas predominantes de uma Inglaterra em plena Revolução Industrial, onde mudar buscando alternativas rendosas significava sobreviver dentro de um mercado extremamente competitivo. Darwin também buscou inspiração nos criadores de pombos. Notou que uma triagem tal qual aquela verificada entre os criadores de raças de pombos ocorria também na natureza. Mas foi depois de ler sobre as idéias do clérigo e economista inglês Thomas Robert Malthus (1766-1834), acerca da relação entre crescimento populacional e recursos alimentares, que ele teve a inspiração que faltava para construir sua teoria. Segundo Malthus, a população cresce em escala geométrica, enquanto os recursos crescem aritmeticamente. Os recursos ambientais tendem a se esgotar rapidamente, de forma a não acompanhar o crescimento populacional. No caso da espécie humana isso levaria à miséria e à morte. Essas colocações de Malthus foram imprescindíveis para a exposição de sua teoria de evolução.

Apesar da aceitação do fato da evolução por quase todos os cientistas contemporâneos, alguns autores atacaram a teoria da evolução por seleção natural afirmando que se tratava de uma argumentação tautológica. Vejamos: seleção natural implica sobrevivência diferencial. Alguns indivíduos sobrevivem e, portanto, deixam mais descendentes do que outros que não conseguem se acasalar ou cujos descendentes morrem nas fases iniciais da vida. O mais apto é

aquele que sobrevive. Se seleção natural for definida como a sobrevivência do mais apto, ela pode ser transcrita sob a forma de circunlóquio. Quem é o mais apto? Alguém poderia responder: é aquele que sobrevive. Logo, seleção natural seria a sobrevivência daqueles que sobrevivem. Em outras palavras, seria uma tautologia, ou seja, uma forma de dizer a mesma coisa com outras palavras. Somente através da sobrevivência e conseqüente produção de descendentes teríamos condições de dizer se um organismo é mais adaptado que outro. Sendo assim, a seleção natural seria desprovida de conteúdo empírico. Alguns seguidores de Darwin, como o sociólogo e filósofo Herbert Spencer (1820-1903), utilizaram a argumentação tautológica – sobrevivência do mais apto em muitos livros.

No entanto, a teoria não é tautológica da forma como Darwin a apresentou:

Devido à luta pela vida, qualquer variação, seja leve ou de qualquer procedência, se for de qualquer forma favorável a um indivíduo de qualquer espécie, em suas relações infinitamente complexas com outros seres orgânicos e com a natureza externa, levarão (*sic*) à preservação daquele indivíduo, e serão herdadas por seus descendentes. A prole, dessa forma, terá uma melhor chance de sobrevivência, uma vez que, dos muitos indivíduos de qualquer espécie que periodicamente nascem, somente um reduzido número sobrevive. Eu chamei este princípio, pelo qual cada leve variação, se útil, é preservada, pelo termo seleção natural (...).



Segundo Darwin, os diferentes formatos de bicos dos tentilhões das ilhas Galápagos foram moldados pela seleção natural e mostram adaptações a dietas e modos de vida diferentes.

O assunto é controverso, mas uma maneira de escaparmos da circularidade sugerida por certos autores é apontar o *porquê* de determinados organismos funcionarem melhor do que outros. Por exemplo, se compararmos duas lebres, uma com pelagem branca e outra escura, que vivem em um determinado ambiente do Ártico. A pelagem branca possibilita às lebres escapar dos predadores. Por isso elas têm mais chances de sobreviver e deixar um maior número de descendentes que as lebres escuras, que são facilmente localizadas nesse tipo de ambiente. A *adaptação* (pelagem branca) deve então conferir *vantagem*.



KARL POPPER

É considerado um dos mais importantes filósofos da ciência de todos os tempos. No endereço www.freethought-web.org/ctrl/gardner_popper.html há informações sobre a sua obra.

Outra crítica à teoria da evolução diz que ciência “legítima” trabalha somente com processos atuais passíveis de observação direta e experimentação. Essa argumentação tem raízes no método científico indutivo advogado por Francis Bacon (1561-1626), que no seu *Novum Organon* dizia que o conhecimento seguro a respeito da natureza vinha da observação e da experimentação, e que generalizações podem ser obtidas de fatos particulares. A observação direta seria fundamental para o empreendimento científico. Filósofos e cientistas positivistas adotaram essa maneira de encarar ciência, até que o filósofo da ciência **KARL POPPER** (1902-1994) demonstrou que o critério defendido pelos indutivistas, o da verificabilidade, não serviria para separar ciência de não-ciência (metafísica). Para ele, é impossível demonstrar que uma teoria é verdadeira, por maior que seja o número de evidências favoráveis. Ela, no entanto, pode ser demonstrada falsa desde que reunamos alguma evidência contrária. Por exemplo, alguém poderia propor que os cisnes são brancos. Vários naturalistas poderiam corroborar essa hipótese reunindo novos exemplares de cisnes. Mas, para que a proposição – todos os cisnes são brancos – seja verdadeira, seria necessário termos em mãos todos os cisnes de que se tem notícia. Precisariamos de todos os cisnes que já existiram e os que estão por nascer. Resumindo: seria impossível. Por outro lado, se encontrarmos um cisne que não seja branco, isso seria o suficiente para rejeitarmos a proposta de que todos os cisnes são brancos. O critério que permite a separação de ciência e não-ciência seria então o da refutabilidade (ou falsificabilidade), e não o da verificabilidade.

A EVOLUÇÃO E A CIÊNCIA

Alguns críticos falam de evolução usando indevidamente os termos teoria e fato. Para o leigo, a palavra teoria indica algo que não vai além de uma grande especulação, algo não baseado em evidências “seguras”, “sólidas”. No entanto, os cientistas sempre trabalham com hipóteses e teorias que nada mais são do que conjecturas construídas de modo a possibilitar teste empírico, podendo com isso ser corroboradas ou demonstradas falsas. Verdade existe somente para o religioso, através do dogma, mas não para o cientista. Toda “verdade” científica é circunstancial. Através da interminável tentativa de propor novas

conjecturas e tentar de todas as maneiras demonstrá-las falsas por meio de experimentos, observações e inferências coerentes é que avançamos nosso conhecimento em relação ao mundo. Essa é a posição de Karl Popper. Se esse critério de demarcação (falsificabilidade ou refutabilidade) é obedecido, então estamos diante de uma hipótese científica. Já uma hipótese no mais alto grau de corroboração passa a ser um fato (a Terra gira em torno do Sol). Pronto e bom. No entanto, deve-se ter cuidado, pois os instrumentos de teste podem não ser sempre confiáveis. Podemos observar erroneamente, experimentar usando técnica inadequada, utilizar aparelho de mensuração defeituoso etc.

Alguns autores têm argumentado ainda que o estudo dos processos evolutivos cairia no “limbo” da metafísica, já que são utilizados conceitos (nicho ecológico, zona adaptativa) difíceis ou impossíveis de serem testados integralmente. Ora, conceitos metafísicos constituem estimulante empreendimento para o cientista e o filósofo da ciência. Suas **ONTOLOGIAS** podem nos levar ao refinamento de conjecturas, de modo que possam vir a se tornar, algum dia, boas hipóteses científicas. Dessa forma, podem vir a fazer parte de **programas de investigação científica**, segundo concepção do filósofo Imre Lakatos, em que, assumindo determinada teoria como “verdadeira” (núcleo sólido), verificaríamos se o nosso conhecimento aumenta a respeito de um determinado assunto em função do poder de explicação formado a partir de hipóteses auxiliares interligadas. Se o programa consegue responder mais e mais perguntas e gerar novas situações passíveis de teste, dizemos que o programa é progressivo (com heurística positiva). Caso contrário, ele é dito regressivo (heurística negativa) e está fadado a ser abandonado ou substituído por outro melhor.

Outra crítica interessante à teoria da evolução é a de que a história evolutiva dos organismos é um fenômeno histórico, ou seja, constituída de uma coleção de fatos particulares. Cada evento evolutivo, como, por exemplo, o aparecimento de membro pentadáctilo (com cinco dedos), seria um fato histórico pontual, isolado, na história dos vertebrados, tal qual o nascimento de Napoleão Bonaparte na história da humanidade.

ONTOLOGIA

Estudo da origem e da realidade dos conceitos.

Esses fatos, por não serem reproduzíveis, não fariam parte da ciência. Se não podemos verificar repetição ou replicação (de um fato, de um experimento, de uma observação), a preditividade (uma característica fundamental da ciência) fica comprometida. Um contra-argumento é o de que fatos particulares podem ser gerados por padrões replicados. Por exemplo, não há como repetir o fato histórico da queda da Bastilha, mas as situações que levaram a esse processo podem se repetir em outro tempo com diferentes personagens, o que possibilitaria a proibição de determinadas situações ocorrerem, garantindo assim a preditividade.

Com todas as críticas, a idéia de evolução dos seres vivos permanece simplesmente porque a explicação alternativa (criacionismo) não apresenta qualquer evidência favorável. Temos ainda uma corroborada teoria a respeito da herança (genética) e homologias (correspondências entre atributos intrínsecos dos seres vivos) como ferramentas para recuperarmos as relações de parentesco (evolutivas).

Depois de tudo que foi exposto, cabe salientar que a ciência deve ser encarada “humildemente” como mais uma forma de obtenção de conhecimento. Magia, expressão artística e religião são formas alternativas de obtenção de conhecimento, e suas legitimidades são julgadas segundo critérios próprios. No caso da ciência, o método científico é invocado na avaliação do que está ou não dentro do escopo científico. Ciência, portanto, não deve ser considerada como a *única* forma de obtenção de conhecimento ou a melhor. Devemos ter em mente que seria uma postura radical do cientista pregar supremacia do conhecimento sobre outras áreas (mesmo tendo evidências disso a cada dia). Se assim fosse, estaríamos incorrendo no mesmo erro dos escolásticos medievos, que achavam que as Sagradas Escrituras eram inquestionáveis e que as diferentes áreas do conhecimento deveriam ter informações sempre compatíveis (nunca contraditórias) com elas.

**ATIVIDADES**

1. Qual o critério apontado por Popper para separar ciência de não-ciência (pseudociência ou metafísica)?

2. O que se entende por tautologia?

3. Quais as idéias básicas do darwinismo?

4. Aponte pelo menos três situações que, se fossem demonstradas verdadeiras, derrubariam a teoria da evolução.

5. Por que a “ciência da criação” não corresponde a um programa científico?

A árvore genealógica dos seres vivos

AULA

11

objetivo

- Apresentar os principais conceitos utilizados na descrição da árvore genealógica dos seres vivos.

A ÁRVORE GENEALÓGICA DOS SERES VIVOS

O presente é a chave do passado.

J. Hutton

Evolução é um metafenômeno. Compreende padrões e processos em diferentes níveis de complexidade. Por isso, falamos de evolução molecular, seleção de espécies, variação em populações mendelianas, irradiação adaptativa de grupos taxonômicos etc. De uma forma geral, ela pode ser encarada como o aparecimento de alternativas novas (novidades evolutivas) para a solução de velhos problemas impostos pelo ambiente. Não há uma finalidade embutida, como muitos leigos e até mesmo vários pesquisadores pensavam (ou ainda pensam). Ninguém pode apontar o que vai acontecer com uma determinada espécie daqui a milhões de anos, mesmo com todas as tendências analisadas. O estudo evolutivo é retrospectivo. O naturalista tenta, através de evidências atuais, reconstituir fatos históricos e explicá-los da mesma forma que um investigador policial tenta reconstituir um crime. A primeira etapa do estudo evolutivo é recuperar o que aconteceu em termos de evolução, ou seja, as relações entre os organismos. Isso corresponde ao padrão (estrutura) genealógico de descendência com modificação. Depois, tentamos explicar como essa estrutura surgiu, ou seja, o processo evolutivo.

FILOGENÉTICA

Palavra formada a partir do grego, *phyle* = tribo, raça; e *genesis* = origem.

Podemos traçar uma relação entre a estrutura de uma árvore qualquer e a história das espécies ao longo do tempo geológico através da metáfora da árvore genealógica. A árvore genealógica corresponde ao produto (estrutura) do processo de descendência com modificação entre grupos de organismos. Mostra a genealogia entre espécies, sendo, portanto, chamada de **ÁRVORE FILOGENÉTICA**. Cada ramo dessa árvore corresponde a uma espécie, tendo sua própria história e tendência ao longo do tempo geológico. Mudanças são introduzidas através de mutação e recombinação gênica em indivíduos, e essas novidades são selecionadas nas diferentes populações que compõem as espécies sexuadas. Devido ao fluxo gênico (troca de fatores genéticos intra e interpopulacionais por migração e intercruzamento), as novidades vantajosas são seletivamente espalhadas e fixadas nas populações. Algumas novidades podem ser fixadas em todas as populações, passando a ser características diagnósticas daquela

espécie. Sendo assim, um táxon superior (por exemplo, Angiospermae; Muscidae, Culex) nada mais é do que uma coleção de espécies originadas de uma espécie ancestral comum. Cabe ressaltar que espécies dão origem a outras espécies e a táxons superiores, mas nenhum táxon superior dá origem a uma espécie ou a outro táxon superior. Quando falamos que os peixes sarcopterígeos deram origem aos tetrápodes, a história evolutiva foi contada de forma simplificada. Na verdade, o que queremos dizer é que uma espécie de peixe sarcopterígio passou a apresentar novidades evolutivas que justificariam sua inclusão em um subgrupo dentro do grupo. No caso, deixou de ser peixe e passou a apresentar aspectos basais (por exemplo, membros com dedos nas extremidades, estribo no ouvido médio, vértebra sacral) de um novo grupo de vertebrados, dentro de Sarcopterygii, chamado Tetrapoda.

E o que dizer das espécies? Podemos conceituar uma espécie como a menor amostra de organismos autoperpetuantes, diagnosticada por um conjunto exclusivo (único) de caracteres. Sabemos hoje que a compatibilidade reprodutiva, utilizada no passado como critério mais relevante no reconhecimento de uma espécie, é um importante fator de coesão para os seus membros, mas não deve ser invocada como suficiente para separarmos duas espécies. Algumas espécies podem formar híbridos, até mesmo apresentar descendentes férteis, e mesmo assim manter sua individualidade. Além disso, o que dizer daquelas espécies que não apresentam reprodução sexuada? Como testar a hipótese de que duas espécies que não vivem no mesmo horizonte de tempo poderiam cruzar e produzir descendentes férteis?

Uma constatação interessante em relação às espécies é que estas se comportam como indivíduos ao longo de sua história: nascem (por algum tipo de especiação), “crescem” (devido a flutuações de diversos atributos em nível populacional, por várias gerações) e morrem (quando dão origem a outras espécies ou quando se extinguem inteiramente, sem deixar descendentes).

As espécies sexuadas correspondem a linhagens evolutivas, ou seja, a um conjunto de populações que evoluem como um todo ao longo do tempo. As folhas da árvore genealógica representariam as espécies que estão no horizonte de tempo atual. As ramificações (cladogêneses) correspondem a rompimentos de linhagens evolutivas em decorrência de dispersão ou vicariância (aparecimento de espécies filhas isoladas

O isolamento geográfico é considerado o principal mecanismo para a formação de novas espécies a partir de uma espécie ancestral; esse tipo de especiação é denominado alopátrico. Mas outros tipos de especiação (simpátrica, parapatrica etc.) foram propostos e investigados na natureza.

geograficamente pela fragmentação da área de distribuição da espécie ancestral). Normalmente, cladogênese está associada com o aparecimento de novas espécies (especiação).

PROCESSOS EVOLUTIVOS

A correspondência estrutural, a posição topográfica e o desenvolvimento embrionário permitem-nos reconhecer estruturas morfológicas homólogas. As **HOMOLOGIAS** são as ferramentas que possibilitam a reconstrução das relações de parentesco entre as espécies. No caso, comparando-se a mão da toupeira, do morcego e do dugongo, verificamos critérios básicos para o reconhecimento de estruturas morfológicas homólogas: composição, posição em relação ao corpo e desenvolvimento embrionário.

Dizemos que uma espécie está em processo de anagênese quando todos os seus demes (populações com potencial interação reprodutiva) seguem como um todo ao longo do tempo geológico. É o nome dado para o “crescimento” da espécie. Nessa etapa, mutação, seleção natural, recombinação gênica e deriva genética predominam como processos evolutivos em nível populacional.

A “seiva” da árvore filogenética corresponderia a atributos passados com ou sem modificação de espécie ancestral para espécie descendente.

Os sistematas (biólogos voltados para a reconstrução das relações evolutivas entre grupos taxonômicos) utilizam as similaridades entre os seres vivos como evidências de relação de parentesco entre eles. Essas similaridades podem ser de diferentes tipos (morfológicas, bioquímicas, etológicas, fisiológicas, biomoleculares etc.). Mas nem todas as similaridades se prestam a esse tipo de trabalho. Algumas são indicadoras de ancestralidade comum, outras não. As similaridades que indicam parentesco são chamadas **HOMOLOGIAS**. Aquelas que surgiram independentemente de um ancestral comum, seja por aquisição ou perda, são chamadas homoplasias e tendem a mascarar relações de parentesco. Por exemplo, observando a estrutura, a posição e o desenvolvimento embrionário da pata de um cavalo e a da pata de um elefante, chegaríamos à conclusão de que são estruturas homólogas. Comparando a asa de um inseto com a de um morcego concluiríamos que são estruturas homoplásticas (ou seja, não-homólogas).

Um aumento de complexidade estrutural, em geral, é verificado entre os grupos de espécies (táxons) ao longo do tempo geológico, mas simplificações adaptativas podem ocorrer também (por exemplo, espécies adaptadas ao modo de vida parasitário podem apresentar redução ou perda de estruturas do trato digestivo).

EVOLUÇÃO DOS GRUPOS TAXONÔMICOS

Por vezes, caímos no erro de dizer que um grupo taxonômico (ou espécie) é mais evoluído do que outro. Essa afirmação não faz sentido. Cada espécie apresenta um mosaico de atributos herdados e mantidos de formas ancestrais remotas (caracteres primitivos) e novidades evolutivas (caracteres derivados) herdadas de ancestral imediato. Ao compararmos uma espécie com outra, podemos notar que um atributo pode ser mais avançado (derivado) em uma espécie do que em outra, por mais complexo ou primitivo o grupo ao qual elas pertencem. Por exemplo, a presença de pêlos é uma condição compartilhada pelo homem com outros mamíferos. A presença de garras é um aspecto comum à grande maioria dos mamíferos, mas a presença de unhas está restrita a um grupo menor dentro deste, ou seja, o dos primatas. A presença de unhas, nesse nível de generalidade, é uma condição derivada, já que surgiu como uma modificação da condição precedente, ou seja, garra. Entre os primatas, o raciocínio lógico é uma condição derivada e exclusiva do *Homo sapiens*. Alguém poderia advogar supremacia do *Homo sapiens* (“mais evoluído”) em relação a outros animais dando ênfase a esse atributo. Mas a capacidade de ecolocação (percepção de objetos usando vibrações sonoras de alta frequência) dos morcegos é outra condição derivada que os faz “mais derivados” que nós (*Homo sapiens*), já que nós apresentamos a condição primitiva (ausência de ecolocação). Então, alguém poderia eleger esse atributo e dizer que os morcegos são “mais evoluídos” que o *Homo sapiens*. Concluindo, se todos os organismos (simples ou complexos) são constituídos de um mosaico de caracteres primitivos e derivados de um processo evolutivo, não faz sentido dizermos que este ou aquele organismo como um todo é mais evoluído. Isso se aplicaria somente aos casos em que um organismo não alcança o mesmo horizonte de tempo em que o outro viveu. Ex.: *Psittacosaurus* (Cretáceo Inferior), “menos evoluído”, e *Triceratops* (Cretáceo Superior), “mais evoluído”.



ERNST HAECKEL
(1834-1919)

Foi um dos grandes seguidores de Darwin. Era defensor de uma postura extremamente materialista em relação à vida.

A “anatomia” da árvore genealógica foi inicialmente estudada pelo naturalista alemão **ERNST HAECKEL**, que utilizou, principalmente, informações da embriologia e morfologia de grupos taxonômicos recentes para desvendar relações evolutivas. Ele introduziu os conceitos de grupos taxonômicos monofiléticos e polifiléticos. Considerava que a maior parte das linhagens de seres vivos surgiu de um tronco ancestral comum (grupos monofiléticos), enquanto outros, mais primitivos, teriam surgido por geração espontânea – idéia comum entre os pesquisadores de sua época, derrubada posteriormente pelo famoso microbiologista francês Louis Pasteur (1822-1895) – e independentemente na base da árvore genealógica (grupos polifiléticos). Atualmente, grupo monofilético é sinônimo de táxon natural, ou seja, aquele formado por uma espécie ancestral e todos os seus descendentes. É decorrente da evolução e reconhecido por homologias. Grupo polifilético é um tipo de grupo artificial, produzido em função de atributos não-homólogos (homoplasias) compartilhados pelos táxons. Só existe em função do erro do taxonomista ao agrupar organismos. Por exemplo, imaginemos que um cientista tenha proposto um táxon denominado Alifera para incluir insetos alados e morcegos. Imaginemos também que ele justificou o grupo pela presença de asas em morcegos e insetos alados. Analisando criticamente essas estruturas que atendem à função de vôo, constatamos que surgiram independentemente nesses grupos e não satisfazem critérios básicos de reconhecimento de estruturas homólogas.

**ATIVIDADES**

1. Diferencie cladogênese de anagênese.

2. O que você entende por homologia?

3. Qual a relação entre vicariância e especiação alopátrica?

4. O que você entende por espécie?

Breve histórico do evolucionismo

AULA

12

objetivo

- Apresentar os principais conceitos utilizados na descrição da árvore genealógica dos seres vivos.

O EVOLUCIONISMO TEM SUA HISTÓRIA

Todos se sucedem, todos se lembram uns dos outros.

Todos estão ali à espera dos que chegam.

Cecília Meireles

A teoria da evolução sempre despertou o interesse de leigos e pesquisadores. Muitos acham que a compreendem perfeitamente e se julgam capazes de oferecer explicações lógicas para outras áreas do conhecimento baseadas em extrapolações e interpretações, nem sempre corretas, de conceitos centrais do darwinismo. Por exemplo, curiosamente, algumas pessoas ainda acreditam que a evolução produziu a diversidade dos seres vivos, mas em linha reta, através de um aumento crescente de complexidade, da base para a “copa” da árvore, seguindo um propósito. Essa maneira de ver a evolução nada mais é do que uma adaptação de uma conjectura formalizada ao longo da história da humanidade e muito em voga na Idade Média, chamada de grande cadeia dos seres. Nesse contexto, o homem, suprema criação divina, estaria logo abaixo dos anjos celestiais, que por sua vez estariam abaixo do Criador. Cada elemento da cadeia dos seres, da matéria inanimada ao homem, teria sido criado isoladamente, portanto sem continuidade com aqueles em nível acima ou abaixo. Isso refletiria um aprimoramento divino do plano de criação até a chegada do homem e era o ensinamento da Teologia natural. Se formos analisar outras correntes de pensamento associadas veremos que, dentro de uma visão teísta, Deus apresenta-se o tempo todo intervindo no processo desde a sua criação. Já na corrente deísta, Ele apenas contribui com o pontapé inicial do jogo da vida. Ele criou tudo, mas deixou que a natureza seguisse o seu caminho.

Em várias religiões, é comum falar-se de evolução espiritual no sentido de um aprimoramento do espírito através de sucessivas reencarnações (metempsicose), com o propósito de se atingir a iluminação (nirvana, avatar). Mais uma vez as idéias de linha reta e propósito estão implícitas.

No hinduísmo, o homem pode reencarnar sob a forma de qualquer ser vivo. A morte é encarada como um fenômeno cíclico de mudanças de estado, em plena sintonia com a natureza. Já no budismo, Siddarta Gautama (o Buda = iluminado) teria ensinado o atalho para conseguirmos atingir a iluminação através da meditação, sem precisarmos passar por estágios sucessivos de reencarnação. No espiritismo kardecista, em essência, a evolução espiritual dar-se-ia através de sucessivos episódios de reencarnações para saldarmos dívidas que desconhecemos, mas herdamos de vidas pregressas até alcançarmos a plenitude espiritual. Essa maneira de ver a evolução reflete a crença na realidade ontológica do bem e do mal aceita dentro do fundamentalismo cristão. Mas bem e mal são valores éticos e morais que variam dentro de um contexto de época. O que é do bem em uma época pode não ser em outra. Queimar pessoas na fogueira por apresentarem idéias discordantes podia ser um bom programa dominical, na Idade Média.

A árvore da vida (Sephiroth) do judaísmo, por outro lado, é uma rede das dez virtudes de Deus, portanto atemporal. Está em pleno acordo com a visão estática e imutável de mundo das sagradas escrituras.

A idéia de que os organismos sofrem transformações ao longo do tempo produzindo novos organismos não é nova. No transformismo, o embrião conceitual do evolucionismo, admite-se a transformação linear de uma espécie em outra. A princípio, independe da escala de tempo geológica e do conceito de ancestralidade em comum. Extinção não é cogitada. Já na teoria da evolução de Darwin o conteúdo é bem diferente. As semelhanças entre as espécies nesse caso são decorrentes de ancestralidade em comum.

O transformismo, no seu sentido mais amplo, remonta à Antigüidade clássica, com conjecturas elaboradas por diversos filósofos pré-socráticos. Anaximandro de Mileto (611-547 a.C.), um discípulo de Tales de Mileto, estabeleceu que o princípio fundamental de todas as coisas seria o *apeiron* (substância indefinida e indestrutível que assumiria qualquer forma); foi o primeiro a propor uma explicação transformista: “os primeiros animais nasceram da umidade e estavam enfiados numa carapaça espinhosa; com o tempo, abandonaram a cobertura espinhosa e se aventuraram terra adentro”. Uma seqüência de transformações está implícita na sua conjectura, ou seja, do lodo surgiram as plantas que deram origem a animais, desses temos os peixes, e de um tubarão

teria surgido o homem. Apesar dos absurdos, nota-se uma tentativa de explicar a natureza pela própria natureza, sem recorrer à intervenção de divindades, semideuses ou outras criaturas fantásticas.

Alguns atribuem a Empédocles (cerca de 490-430 a.C.), de Agrigento, a primeira referência à seleção natural. Esse filósofo postulou que através de uma combinação seletiva de partes dos animais surgiria a forma perfeita; caso contrário, surgiriam criaturas aberrantes, incapazes de sobreviver e procriar. O amor seria o motor “anabólico” desse processo, enquanto o ódio levaria à separação ou combinação desarmoniosa das partes. Sua conjectura foi muito provavelmente baseada na verificação de anomalias congênitas em animais sinantrópicos e ossadas fósseis.

Aristóteles (384-322 a.C.), preceptor de Alexandre Magno, reconheceu uma relação de ordem na natureza quando estudou a diversidade morfológica dos seres vivos. Constatou que há uma verdadeira hierarquia de similaridades na natureza: grupos de organismos contidos dentro de outros grupos em ordem crescente de complexidade, cada grupo sendo reconhecido por essências para as quais utilizou o termo “analogias” (hoje, utilizamos “homologias” nesse sentido). Muitos autores consideraram Aristóteles um evolucionista. Interpretaram essa relação de ordem traduzida em um esquema de classificação como sintoma de pensamento evolucionista. No entanto, Aristóteles não formalizou nenhum mecanismo natural para explicar essa ordem.

As concepções filosóficas de Aristóteles eram a favor de um mundo eterno onde para cada evento de destruição haveria um de construção compensador. Várias esferas concêntricas, em ordem decrescente de densidade, de dentro para fora, acionadas por um motor imóvel, mais tarde identificado com Deus pelos escolásticos, eram a sua concepção de universo. Nenhuma evidência de transformismo é reconhecida na sua obra.

O significado dos fósseis também foi mal compreendido pelos filósofos gregos. Alguns achavam que eram restos de organismos depositados em lugares onde o nível do mar teria alcançado ou por evento natural extraordinário, tal como um maremoto. Durante a Idade Média era comum achar que teriam caído do céu, seriam jóias da natureza ou objetos criados por forças do mal para confundir a cabeça de um bom cristão.

No entanto, a crença mais aceita era de que seriam restos de organismos depositados em lugares distantes pela ação do mar durante o dilúvio universal. Coube a Leonardo da Vinci (1452-1519), já em pleno Renascimento, chamar a atenção para o fato de que, ao observarmos uma sequência de rochas sedimentares, o conteúdo fossilífero destas mudava de camada para camada e que não correspondia simplesmente a uma estratificação no ambiente marinho. Para Da Vinci, se acreditarmos na proposta de dilúvio, teríamos que invocar a hipótese de que outros dilúvios teriam ocorrido. Da Vinci defendia a idéia de que os fósseis eram restos de seres vivos e não produto da ação dos astros, como se acreditava nessa época.

Nicolaus Steno (1638-1686) voltaria a lidar com esse assunto, lançando as bases da estratigrafia ao propor a sua lei da sobreposição de camadas. Ele mostrou como os fósseis podem ser utilizados no reconhecimento de diferentes tipos de ambientes antigos de deposição, contribuindo para o desenvolvimento do conceito de fácies. Distinguiu bacias sedimentares marinhas e continentais. Steno atribuiu ao dilúvio universal a origem de todos os sedimentos fossilíferos. No final da vida, por verificar tantas contradições entre as sagradas escrituras e as evidências da natureza, ingressou no monastério. O assunto é retomado posteriormente por William Smith (1769-1839), já no século XIX, ao desenvolver o princípio da correspondência de camadas sedimentares com base no conteúdo fossilífero, lançando as bases da estratigrafia moderna.

Albert de Bollstadt (1206-1280), um monge dominicano e professor da Universidade de Paris, foi um dos primeiros naturalistas a compreender a natureza dos fósseis. Em um período no qual a Igreja usava a universidade como meio de impor o dogma cristão, excomungando todos que discordavam de seus fundamentos, propôs uma explicação do mecanismo de formação dos fósseis, afirmando que os animais ao serem petrificados têm os elementos corporais modificados. A terra se mistura com a água e a virtude mineral se converte em pedra, conservando a forma.

Gottfried W. Leibniz (1646-1716) abordou, segundo as leis da continuidade e da ordem, a gradação natural dos seres inanimados aos animados, dos mais simples aos mais complexos. Todos os seres formariam uma cadeia, na qual as diferentes classes se estreitariam como anéis uma em relação às outras e cujos limites seriam indeterminados.

Era a grande cadeia dos seres, com forte influência teológica. Mostrava o aprimoramento crescente do Criador. O final da grande cadeia seria o próprio Criador. No entanto, Leibniz já começava a especular sobre a mudança das espécies ao longo do tempo e chega a defini-las conforme a geração, do tipo que se parece. Se vem da mesma semente pertence à mesma espécie. Robert Hooke (1635-1703) vai mais além e aponta que as mudanças na composição do solo, clima, temperatura, recursos ambientais estão relacionadas com a transformação das espécies.

No entanto, foi Pierre-Louis Moreau de Maupertuis (1698-1759) quem precocemente abordou questões polêmicas, como a origem de espécies novas pela intervenção de mutações fortuitas, seleção natural e ação do meio sobre os seres vivos.



GEORGES-LOUIS LECLERC DE BUFFON (1707-1788) foi um daqueles naturalistas privilegiados pelo destino. Sem problemas financeiros, pôde se dedicar ao estudo das Ciências Naturais com tranquilidade. Era extraordinário orador e estilista. Suas palestras atraíam a atenção de vários nobres na corte de Luís XV. Não obstante, era invejado por muitos e tinha sérios problemas com docentes da Faculdade de Teologia da Universidade de Paris.

Para ele, eventos miraculosos não teriam sido relevantes para a história da Terra. Utilizava causas atuais para explicar fenômenos passados (atualismo). Tentava disfarçar suas idéias, que se confrontavam com as sagradas escrituras. Aos poucos, seu ponto de vista sobre mudanças dos organismos no decorrer do tempo foi se tornando mais claro. A transformação dos organismos ao longo do tempo e no espaço geográfico em consequência de alterações do clima e recursos alimentares fica subentendida na sua obra. Ele foi revolucionário ao propor uma idade para a Terra muito além do que se conhecia com base na interpretação da Bíblia, com base na genealogia dos patriarcas (algo em torno de 6.000 anos), ou seja, cerca de 75.000 anos. Em sua *Époques de la Nature* propõe uma história da Terra dividida em sete períodos:

- a) Formação da Terra e de outros planetas através da colisão de um cometa com o Sol;
- b) Aparecimento das grandes cordilheiras;
- c) Água cobrindo os continentes (defende a idéia de que as montanhas mais antigas são provenientes de rochas ígneas);

- d) Regressão marinha e vulcanismos;
- e) Grandes quadrúpedes e animais tropicais habitando o hemisfério norte;
- f) Separação dos continentes;
- g) Aparecimento do homem.

Buffon discordava das propostas do rival **CARL VON LINNÉ** (1707-1778) em termos de classificação e também do sistema binominal. Liné objetivava recuperar o padrão divino da criação através de um sistema hierárquico de classificação, ao mesmo tempo que deveria servir de auxílio à memória (“aidés-memoire”). Ao assumir uma postura nominalista (descrença em essências universais no reconhecimento de grupos, só acreditando na existência de indivíduos), Buffon deu mais ênfase à transformação gradual de organismos, contrapondo-se ao esquema classificatório essencialista de Linné. Curiosamente, hoje em dia, alguns sistematas têm demonstrado essa falta de integração da classificação essencialista linneana com a formalização evolutiva (sistemática filogenética).

JEAN-BAPTISTE DE MONET DE LAMARCK (1744-1829) foi importante para o desenvolvimento histórico do evolucionismo, principalmente porque chamou a atenção para a interdependência entre organismo e meio ambiente. Acreditava que a transformação das formas orgânicas baseava-se nas “emoções” que as necessidades criam no “sentimento interior” dos seres vivos. Segundo ele, mudando o ambiente, mudam as necessidades (*besoins*) do organismo, que sofre mudanças no sentido de melhor se adequar às novas situações.

As estruturas sofrem alterações, e essas variações adquiridas são transmitidas à descendência. A primeira “árvore genealógica” de que se tem notícia é a de Lamarck.

Infelizmente, Lamarck é lembrado como um naturalista equivocado, que afirmou que haveria transmissão de caracteres adquiridos e pela “lei” do uso e desuso. Até hoje, a história das girafas espichando os pescoços em busca dos ramos mais altos das árvores é lembrada. Com o passar do tempo, em função do uso demasiado do pescoço, este teria aumentado de tamanho. Esse tipo de idéia era corrente entre certos naturalistas contemporâneos, entre eles, o avô de Darwin, **ERASMUS DARWIN** (1731-1802), que contribuiu com seus versos para o desenvolvimento do pensamento evolucionista. A necessidade,



CARL VON LINNÉ

JEAN-BAPTISTE DE
MONET DE LAMARCK

ERASMUS DARWIN

o desejo e a nutrição seriam os fatores responsáveis pela transformação dos seres vivos ao longo do tempo. Lamarck adotou essas idéias de Erasmus Darwin.

Curiosamente, Lamarck acreditava numa transformação sucessiva dos organismos ao longo do tempo, sem haver extinção. Além do mais, propôs que na natureza somente indivíduos teriam existência real (nominalismo). Classes de organismos seriam abstrações. Com relação à extinção, quem contribuiu imensamente para a compreensão do processo evolutivo foi Georges Cuvier, fixista e seu grande rival. Cuvier demonstrou que extinção era uma realidade e que a obra de Lamarck carecia de base empírica. O fato de não encontrarmos tal organismo na fauna hodierna e acharmos um correspondente fóssil significava que uma catástrofe fez com que aquele organismo perecesse naquele lugar. Mas ele deveria ser encontrado em outro lugar do mundo no mesmo horizonte de tempo. Ficou famoso como catastrofista ao postular que vários dilúvios ocorreram na história da Terra, sendo o de Noé o último. Etienne Geoffroy Saint-Hilaire, um naturalista rival, já acreditava na extinção natural dos grupos ao longo do tempo geológico e de suas restrições geográficas. Foi um dos primeiros naturalistas a propor transformação das espécies com base no registro fóssil.

Uma idéia corrente entre filósofos naturalistas alemães que precederam a revolução darwiniana foi a de uma morfologia idealista baseada em arquétipos. Estes corresponderiam a padrões básicos (*Bauplan*) a partir dos quais os grandes grupos taxonômicos teriam sido construídos.

Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832), filósofo, naturalista e literato, é um dos grandes nomes desse período. Suas idéias influenciaram morfologistas famosos como Lorenz Oken (1779-1851), Carl Gustav Carus (1789-1869), Etienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844), Richard Owen (1804-1892), Carl Gegenbaur (1826-1903), Robert Wiedersheim (1848-1923), entre outros. Um dos exemplos clássicos da fase dos filósofos naturalistas é a proposta de construção do crânio a partir de partes das vértebras e da formação das nadadeiras a partir da modificação dos arcos branquiais mais posteriores.

Com Darwin, os arquétipos passaram a ser substituídos por ancestrais. As semelhanças entre estruturas homólogas são explicadas por ancestralidade comum. Ele propõe ainda que as classificações devem ser genealogias. Mas isso só viria a ser realmente entendido e colocado em prática a partir da década de 60 do século XX, com o advento da sistemática hennigiana.

As principais conclusões tiradas por Darwin de observações do registro fóssil foram: 1) a extinção ocorreu, ou seja, há espécies que não mais são encontradas atualmente; 2) há aspectos em comum entre organismos vivos e extintos; 3) há um aumento de complexidade ao longo do tempo geológico; 4) fósseis estão relacionados com organismos recentes por descendência; 5) mudanças morfológicas foram lentas e graduais; 6) espécies descendentes são mais bem adaptadas que as ancestrais.

Curiosamente, a Biogeografia darwiniana foi conservadora. Os padrões de distribuição eram explicados sempre da mesma forma: dispersão a partir de um centro de origem. O espaço era considerado elemento estático (conceito de espaço absoluto) e os organismos, elementos dinâmicos da paisagem. Somente com a introdução da ideia de espaço relativo na Biogeografia, por Léon Croizat (1894-1982), em conjunção com a aceitação da teoria da deriva continental por tectônica de placas, já na década de 60 do século XX, é que a evolução pôde ser estudada na sua plenitude. Desde então, a história geológica e a biológica passam a ter uma única história; os organismos mudam ao longo do tempo, e o espaço (área geográfica) onde eles vivem também.

ERNST HAECKEL (1834-1919) foi um darwinista que se encarregou de estudar as genealogias entre seres vivos através de observações do desenvolvimento embrionário e anatomia comparada de formas recentes. Foi o primeiro a estudar a estrutura da árvore genealógica da vida.

Acreditava que, no decorrer do desenvolvimento embrionário, etapas adultas de organismos mais primitivos da árvore da vida eram recapituladas. Daí, sua proposta: a ontogenia (história do indivíduo) recapitula a filogenia (história das espécies).

A única evidência direta de que a evolução de seres vivos ocorreu é dada pelos fósseis. Os paleontólogos darwinianos passaram a ser porta-vozes em questões sobre evolução de grandes grupos taxonômicos. Cada fóssil passa a ser um ancestral em potencial, e as relações evolutivas passam a ser apontadas diretamente entre ancestral e descendente.



ERNST HAECKEL

Um problema levantado pelos críticos do darwinismo foi a ausência de formas intermediárias nesse processo gradual de transformação de espécies no decorrer do tempo geológico. Darwin rebateu a crítica apontando que o processo de fossilização é seletivo e raro. Muitos organismos morreram sem ter condições satisfatórias para ingressar no processo de fossilização. As lacunas eram esperadas. Formas intermediárias foram aos poucos sendo encontradas e rotuladas de elos perdidos (por exemplo, *Archaeopteryx*, *Eustenopteron*).

A mudança adaptativa gradual ao longo do vasto tempo geológico (gradualismo) era o padrão detectado por Darwin no registro fóssilífero e aceito por quase todos os evolucionistas desde então. Porém, na década de 70 do século XX, dois paleontólogos do Museu Americano de História Natural, Stephen J. Gould (1941-) e Niles Eldredge, propuseram uma interpretação alternativa para o registro fóssilífero afirmando que as espécies são mais conservadoras do que imaginávamos. Uma vez originadas, elas se mantêm praticamente inalteradas ao longo do tempo (estasisigênese) até que alterações ambientais contribuam para nova especiação. O tempo de divergência e diferenciação na especiação seria muito curto em termos geológicos (alguns poucos milhões de anos). A especiação por isolados periféricos (especiação peripátrica) seria mais comum que o isolamento geográfico decorrente do aparecimento de barreira (especiação alopátrica), como defendido por evolucionistas gradualistas. Segundo esse modelo, as populações situadas na periferia da área de distribuição de uma espécie tenderiam a se diferenciar mais facilmente do que aquelas populações no centro da área de distribuição. Além disso, o fluxo gênico teria participação menos efetiva do que se pensava na coesão da espécie. Outros fatores, como por exemplo a homeostase epigenética (manutenção do programa de desenvolvimento embrionário em interação com fatores genéticos), teriam papel mais importante.

A discussão entre pontuístas e gradualistas permanece até hoje, de modo que o estudo da evolução dos seres vivos não é fato consumado e que muitas das idéias originais de Darwin foram modificadas em decorrência de novas evidências. O processo histórico continua e a “evolução da evolução” também.

**ATIVIDADES**

1. Que se entende por pontuismo?

2. Quais os pressupostos básicos da Biogeografia de Darwin?

3. Qual a importância do criacionista Cuvier para o desenvolvimento do evolucionismo?

Impacto da sistemática filogenética

AULA

13

objetivos

- Apresentar os principais conceitos utilizados em sistemática filogenética (cladística) e discutir sua importância no esclarecimento de processos evolutivos.

A SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA

A classificação por descendência não pode ser inventada por biólogos, ela pode apenas ser descoberta.

Theodosius Dobzhansky



Figura 13.1: Willi Hennig.

Willi Hennig (1913-1976) foi um entomólogo alemão que, na década de 1950, formalizou uma sistemática filogenética, fornecendo elementos metodológicos para pôr em prática o aforismo de Darwin de que “as classificações devem ser genealogias”. O resultado foi a integração das diferentes áreas das ciências biológicas em torno do estudo da diversidade dos seres vivos. O neodarwinismo tinha falhado ao tentar usar a teoria sintética da evolução como fator de conexão entre as diferentes áreas das ciências biológicas desde o seu surgimento, no início dos anos 30. Essa conexão foi sempre mais aparente do que real. A postura da maioria dos partidários da teoria sintética da evolução era reducionista. Fenômenos em nível populacional poderiam ser extrapolados (indução) para explicar processos acima do nível específico como irradiação adaptativa de grupos taxonômicos, tendências evolutivas etc. A sistemática biológica nesse período era caracterizada pela falta de metodologia explícita para lidar com relações entre espécies e formalização de grupos taxonômicos. Devido a isso, a maioria dos biólogos descambou para áreas “mais científicas”, como a genética e a ecologia de populações.

Na prática, os sistematistas neodarwinistas selecionavam intuitivamente atributos que consideravam chaves na recuperação de relações evolutivas entre as espécies. E alegavam que era preciso ter um certo dom para fazer isso. Hennig criticou essa atitude de sistematistas contemporâneos, que defendiam o procedimento intuitivo de dar peso a certos caracteres no reconhecimento de grupos taxonômicos e de postular histórias evolutivas. Forneceu uma metodologia rigorosa e consistente, e a Biologia desde então passou a ter um enfoque comparativo e temporal. A classificação biológica passa a proporcionar um sistema geral de referência para a atividade do biólogo, ou seja, a sistemática passa a ser a disciplina unificadora das diferentes áreas das ciências biológicas.

As tarefas básicas de um sistemata (que assume a evolução como um fato) são: a) apontar semelhanças e diferenças entre as espécies; b) reconhecer espécies já descritas e descrever novas espécies; c) classificar hierarquicamente as espécies segundo relação de parentesco; d) propor explicações quanto a processos evolutivos.

As principais contribuições introduzidas por Hennig foram:

a) **Definição de parentesco em termos de antigüidade do ancestral comum.** Até então, a prática em sistemática consistia em postular relações de parentesco do tipo ancestral-descendente entre espécies. Os fósseis eram considerados ancestrais em potencial e seu uso imprescindível para todo aquele que quisesse reconstruir relações evolutivas. Hoje sabemos que eles podem nos ajudar a desvendar questões paleoambientais, geocronológicas, climatológicas, biogeográficas etc., mas torna-se difícil afirmar que este ou aquele fóssil pode ser ancestral de outro fóssil ou de uma determinada espécie recente.

Para Hennig, duas espécies são mais aparentadas entre si se e somente se elas compartilham um ancestral comum imediato, não compartilhado por uma terceira espécie, mais próxima. Espécies ou grupos de espécies que compartilham ancestrais são chamados de grupos irmãos. A tarefa do sistemata passa a ser então descobrir grupos irmãos, de forma que as relações que interessam a ele são do tipo ancestral comum e não ancestral-descendente, como para os neodarwinistas.

b) Criou um método para a recuperação das relações de parentesco – uso de **sinapomorfias**. Uma vez que a determinação da espécie ancestral é, na maioria das vezes, impossível para o sistemata, Hennig postulou que poderíamos recuperar informações sobre o grau de parentesco através do uso de caracteres que teriam aparecido no ancestral imediato e passado para seus descendentes. Para entendermos isso, temos que discutir brevemente o significado das homologias.

Vejamos: os sistematas utilizam caracteres homólogos no reconhecimento de relações evolutivas entre táxons naturais. Estas são correspondências herdadas de um ancestral em comum. Podem ser passadas com ou sem modificação.

Hennig desmembrou homologia em dois tipos: ancestral (primitiva) e derivada. Dado um par de estruturas homólogas, aquela que surgiu como uma modificação da condição precedente (ancestral) é dita derivada. Por exemplo, a presença de garras entre os primatas é uma condição

primitiva, pois já era verificada em mamíferos não-primatas. No entanto, a presença de unhas já é uma novidade evolutiva (condição derivada) dentro desse grupo e serve para reconhecermos um grupo menor formado por macacos antropomórficos e o homem. Somente através de estruturas homólogas em estado derivado compartilhadas por táxons, ou seja, sinapomorfias, é que recuperamos relações de parentesco. Estruturas não-homólogas (homoplásticas) são fruto de processos como convergência e paralelismo ou reversões. Elas mascaram relações de parentesco, pois surgem independentemente do ancestral comum.

c) criou uma forma gráfica de representar estas relações de parentesco – o **CLADOGRAMA**. Deve-se ter em mente que um cladograma não corresponde a uma árvore filogenética. Nesta última, os nós representam espécies ancestrais. Mas os cladogramas são fundamentais na recuperação da estrutura da árvore genealógica para investigação de processos evolutivos (anagênese, especiação, irradiação adaptativa, seleção de espécies etc.).

d) Apontou que somente grupos com genealogia completa (**grupos monofiléticos**) devem ser admitidos em classificações formais. Esses grupos são reconhecidos por sinapomorfias. Outros grupos, parafiléticos (ou grados, reconhecidos por caracteres homólogos primitivos compartilhados e que não incluem todos os descendentes de uma espécie ancestral) ou polifiléticos (reconhecidos por homoplasias, ou seja, estruturas não-homólogas cujo ancestral comum mais recente não faz parte do grupo), não se prestam a propósitos de classificação biológica.

e) A classificação deve respeitar uma relação de subordinação (**hierarquia completa**), mostrando as relações evolutivas. Estas devem ser preditivas, ou seja, devem oferecer informações sobre propriedades dos organismos servindo como sistema geral de referência para o trabalho do biólogo.

f) Para a determinação de condições primitivas e derivadas, alguns critérios passam a ser observados. O desenvolvimento paleontológico (história da espécie) e ontogenético (história do indivíduo) é utilizado de forma que a condição que primeiro aparece no processo histórico é considerada primitiva. Por exemplo, no desenvolvimento embrionário dos cordados a notocorda aparece antes dos rudimentos de vértebras. A presença somente de uma notocorda é primitiva em relação à substituição desta pelas vértebras (condição derivada). Uma classificação filogenética

Um **CLADOGRAMA** é um diagrama ramificado que mostra distribuição hierárquica de caracteres homólogos. É constituído de ramos e nós. Nas extremidades dos ramos encontramos os táxons terminais e na região dos nós estão assinaladas as sinapomorfias. Os táxons terminais podem apresentar caracteres derivados que servem para o seu pronto reconhecimento, mas não para sabermos de suas relações, uma vez que esses caracteres derivados não são compartilhados. São as autapomorfias, fundamentais na diagnose das espécies. No caso, a tabela nos mostra caracteres exibidos pelos táxons.

já feita pode fornecer elementos para a polarização desses caracteres. Por exemplo, se queremos resolver as relações entre um tubarão, um salmão e um sapo. Um ou mais representantes de grupos bem próximos podem ser escolhidos para comparação.

Escolhemos uma lampréia. Notamos que todos os animais escolhidos apresentam apêndices pares, exceto a lampréia. A ausência de apêndices pares é uma condição primitiva, pois é a condição verificada na lampréia. A alternativa é uma condição derivada. Esse é o critério do grupo externo.

A metodologia hennigiana sofreu reformas consideráveis a partir da década de 1980, o que resultou na formalização do cladismo numérico. Desde então, vários programas de computador foram criados para a reconstrução de relações de parentesco seguindo ou o critério de parcimônia ou o de inferência estatística. Isso determinou o aparecimento de escolas divergentes. De forma geral, o sistemata que utiliza análise de parcimônia tendeu a desvincular classificação da teoria da evolução, alegando que o estudo do padrão de relacionamento entre os seres vivos deve seguir independentemente de qualquer teoria referente ao processo evolutivo. Os estudos de padrão e processo devem ser feitos em regime de iluminação recíproca. No segundo caso, o sistemata que utiliza inferência estatística advoga que é impossível separar classificação do processo evolutivo. O estudo deve ser dependente da teoria vigente de evolução por seleção natural.



ATIVIDADES

1. Que você entende por sinapomorfia?

2. O que é um cladograma?

3. Quais os critérios utilizados na polarização de caracteres para reconstrução filogenética?

**Papel ecológico,
econômico e social
da água doce**

AULA

14

objetivo

- Esclarecer o aluno quanto à origem, disponibilidade e importância da água doce na sociedade moderna, alertando para as consequências que a escassez desse recurso traz à humanidade.

INTRODUÇÃO

Já na Antigüidade, filósofos gregos, como Anaxágoras (cerca de 500-428 a.C.), tinham conhecimento de que as chuvas eram importantes para a manutenção do equilíbrio hídrico da Terra. Por outro lado, detalhes sobre etapas do ciclo da água, como a condensação e a infiltração, eram mencionados em escritos de Heródoto alguns séculos antes de Cristo (485-424 a.C.). Especialmente no século XX, com o avanço dos recursos tecnológicos, foi possível o estudo, em detalhe, das diferentes etapas do ciclo hidrológico. Esses estudos contribuíram decisivamente para a determinação do volume de água envolvido em cada etapa, assim como na quantificação da água estocada no subsolo, nos oceanos, rios, lagos e na atmosfera.

O CICLO DA ÁGUA NA TERRA

O ciclo da água na Terra, também denominado ciclo hidrológico, é constituído, basicamente, por um processo contínuo de transporte de massas d'água. Estas, por evaporação, passam do oceano para a atmosfera, e desta, através das precipitações, escoamento superficial e subterrâneo, novamente para o oceano (**Figura 14.1**).

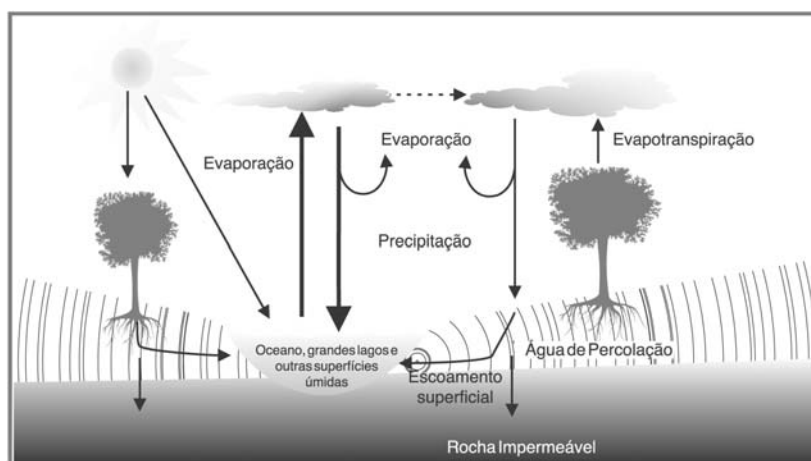


Figura 14.1: Principais etapas do ciclo da água na Terra.

A contínua circulação da água na Terra pode ser atribuída a dois fenômenos: a evaporação e a precipitação, as quais constituem duas das principais etapas do ciclo hidrológico. A energia necessária para a manutenção desses fenômenos é proveniente do Sol.

A evaporação, dentre as várias etapas do ciclo hidrológico, é aquela que apresenta maior consumo de energia solar. A maior parte da água que evapora, na Terra, provém dos oceanos, sendo que 75% retornam aos oceanos sob a forma de chuva, e 25% precipitam-se sobre os continentes. Destes 25%, a maior parte evapora-se e pode retornar aos oceanos sob a forma de vapor e chuva.

Além da evaporação e da precipitação, devemos considerar outras importantes etapas do ciclo hidrológico, como **EVAPOTRANSPIRAÇÃO**, infiltração, escoamento superficial e subterrâneo. A importância de cada etapa pode variar de região para região e pode ser controlada principalmente pelo clima e pela geografia da região. Nas últimas décadas o homem, através de várias atividades, tem provocado alterações nas diferentes etapas do ciclo hidrológico.

Em alguns casos, essas alterações atingem níveis tão elevados que chegam a comprometer a sobrevivência da espécie humana. Pode ser citado, por exemplo, o caso da substituição de florestas por pastos ou por edificações, que tem provocado a redução drástica do volume de água na atmosfera proveniente da evapotranspiração. Como resultado observam-se nessas áreas alterações do sistema de chuvas (redução da frequência e da intensidade), contribuindo para a formação de paisagens típicas de regiões áridas e semi-áridas.

EVAPOTRANSPIRAÇÃO

Perda de água sob a forma de vapor que ocorre nos vegetais. Facilmente você pode comprovar a evapotranspiração colocando um ramo de árvore dentro de um saco plástico transparente. Após alguns minutos, você pode observar o vapor d'água condensado na parede interna do saco plástico, com a formação de gotículas de água.

O EFEITO ESTUFA COMO FATOR DE ALTERAÇÃO DO CICLO HIDROLÓGICO

O homem, há muito tempo, vem alterando o ciclo do carbono, através da queima de combustíveis fósseis e de diferentes formas de devastação das florestas. Esses processos geraram o aumento da concentração de vários gases na atmosfera além do gás carbônico, como por exemplo o gás metano, os gases nitrogenados e os chamados CFCs (clorofluocarbonos). Uma das principais características desses gases é a sua capacidade de reter calor, ou seja, a energia infravermelha que é refletida pela superfície da Terra a partir da luz solar incidente.

Desde o início da Revolução Industrial, a concentração de gás carbônico na atmosfera aumentou em cerca de 25%, consequência da queima do carbono fóssil (petróleo) e do carbono da biomassa vegetal (originado principalmente nos desmatamentos). Várias organizações

EFEITO ESTUFA

Agindo como uma barreira, impede a saída do calor refletido pela superfície da Terra. É como uma estufa de plantas, coberta com plástico transparente, que deixa a luz passar mas retém o calor em seu interior.

internacionais têm chamado a atenção para o fenômeno, que resultou em um acréscimo médio da temperatura de meio grau centígrado. Esse fenômeno ficou conhecido como **EFEITO ESTUFA**.

A contribuição de cada país para o efeito estufa tem sido motivo de muitas discussões em reuniões internacionais. Um desdobramento da Convenção das Nações Unidas sobre Mudança do Clima é o chamado Protocolo de Kyoto, firmado em 1992. Nesse protocolo, os 38 países mais desenvolvidos do mundo, responsáveis por 55% das descargas de gases responsáveis pelo efeito estufa, comprometeram-se a reduzir sua carga na atmosfera a partir de 2002. O Brasil, com uma descarga anual de gás carbônico de cerca de 60 milhões de toneladas, não pode ser apontado com um dos principais causadores do efeito estufa, ao contrário dos Estados Unidos, responsáveis por 25% do total mundial.

Conseqüências do efeito estufa sobre o ciclo hidrológico

As conseqüências do efeito estufa sobre o planeta são ainda pouco conhecidas, e aquelas já identificadas demonstram enorme complexidade. Como exemplo, podem ser citadas as conseqüências sobre o ciclo hidrológico.

Das diferentes etapas do ciclo hidrológico que podem ser alteradas pelo efeito estufa, recebe especial atenção o descongelamento da enorme quantidade de água acumulada, sob a forma de gelo, nas calotas polares e nas altas montanhas. De acordo com a previsão de estudiosos sobre o assunto, esse processo acarretará uma elevação do nível do mar que, segundo cálculos feitos por especialistas, já sofreu um aumento que variou entre 10 e 25 centímetros no último século.

Segundo esses mesmos estudos, é possível prever que no século XXI ocorrerá uma elevação do nível do mar que poderá variar entre 25 e 90 centímetros, com um valor médio de 50 centímetros (MEYBECK *et al.*, 1990).

Existem várias previsões a respeito das conseqüências da elevação do nível do mar sobre o ciclo hidrológico. A mais discutida é o provável aumento da taxa de evaporação de água dos oceanos, por estes passarem a apresentar maior superfície de evaporação e por estarem submetidos a temperaturas mais elevadas. A presença de maior quantidade de vapor d'água na atmosfera pode ter como uma das conseqüências principais o aumento da precipitação

em várias regiões da Terra. Nesse caso, o planeta passaria a apresentar profundas alterações em suas paisagens, como por exemplo aumento das áreas de brejos, alterações das espécies de vegetais e animais, especialmente nas regiões semidesérticas ou desérticas, entre outras.

Assim, como numa reação em cadeia, a elevação do nível do mar aumentaria a taxa de evaporação dos oceanos, aumentando a quantidade de vapor d'água na atmosfera, que por sua vez aumenta a intensidade e a frequência das chuvas, que têm como consequência alterações na distribuição da flora e da fauna na Terra.

TERRA: UM PLANETA REPLETO DE ÁGUA, MAS SALGADA

É famosa a expressão atribuída aos primeiros astronautas que observaram o planeta de altitudes até então nunca alcançadas pelo homem: “A Terra é azul!” A razão de o planeta Terra ser azul deve-se ao fato de que grande parte de sua área é ocupada por água e, como podemos extrair dos conhecimentos da Física, o comprimento de onda do espectro solar que apresenta maiores taxas de reflexão pela molécula de água é justamente o que corresponde ao azul (**Figura 14.2**).

Ao contrário das águas continentais (águas de rios, lagos, lagoas, lagoas e lençol freático), que apresentam muito material em suspensão (argilas, algas etc.) e dissolvidos (moléculas de carbono, gorduras e proteínas), os oceanos, notadamente nas regiões distantes da costa, apresentam baixas concentrações de material em suspensão, o que lhes confere grande transparência. Nesse caso, a reflexão da radiação é resultado principalmente da ação da molécula de água e, portanto, azul.

Os materiais em suspensão e dissolvidos têm grande capacidade de absorver a luz solar, fenômeno que contribui fortemente para a redução da transparência da água. Em outras palavras: quanto maior é a quantidade de material em suspensão e em dissolução, menor é a transparência da água, ou maior a turbidez.

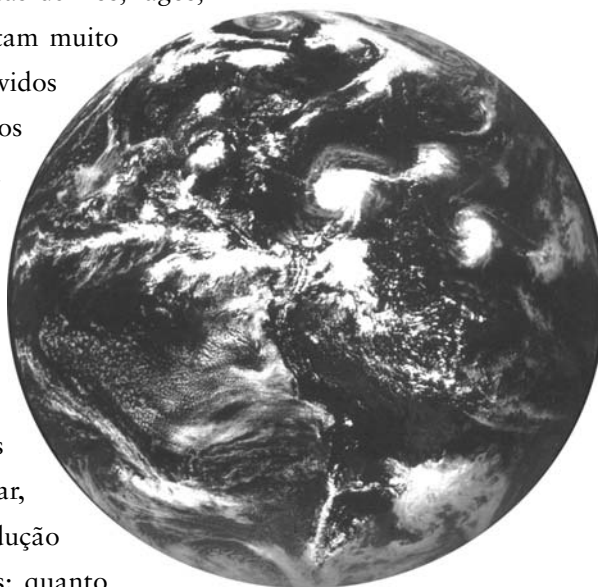


Figura 14.2: Visão do planeta Terra a partir das naves espaciais evidenciando a sua principal característica, que é a grande quantidade de água.

Embora o planeta Terra seja considerado o Planeta Água, somente 2,6% correspondem a água doce, que é a forma de água utilizada pelo homem para atender suas demandas. Os demais 97,4% correspondem à água acumulada nos oceanos e nos mares interiores e, portanto, salgada (Figura 14.3.a).

Deve ser destacado, ainda, que do total de água doce da Terra, 76,6% encontram-se em estado sólido (gelo), acumulado nas calotas polares e nas altas montanhas; conseqüentemente, não estão disponíveis diretamente ao homem. Apenas cerca de 23,1% do total de água doce da Terra encontra-se sob a forma líquida, potencialmente disponível ao homem, nos rios (0,005 %), lagos (0,28%) e no lençol freático (22,81%) (Figura 14.3.b) (REBOUÇAS, 1999).

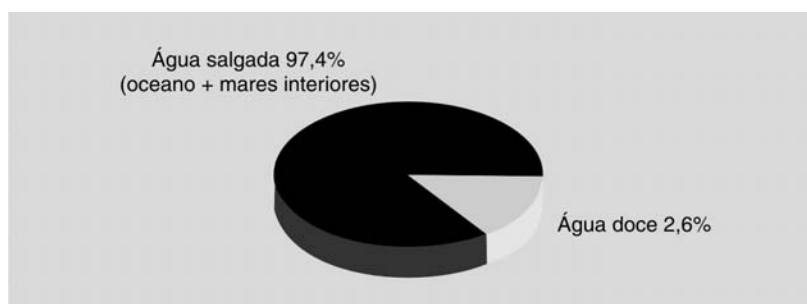


Figura 14.3.a: Percentual de água doce e salgada na Terra.

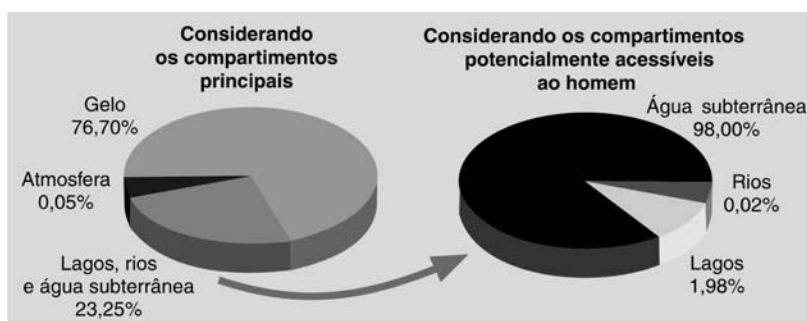


Figura 14.3.b: Percentual de água doce nos diferentes compartimentos da Terra.

ÁGUA DOCE: UM RECURSO ESCASSO NA TERRA

Além de a água doce ser um recurso natural quantitativamente escasso, se comparado à água salgada, sua distribuição na Terra é muito heterogênea. A água é um recurso natural que, como tal, apresenta algumas peculiaridades, como o fato de que muitas vezes está disponível no lugar errado, no período errado e em qualidade errada.

Vejamos como e por que essa afirmação. A Europa e a Ásia, que juntas detêm 72% da população mundial, dispõem somente de 27% dos recursos de água doce da Terra. Outro exemplo é o continente africano, onde 50% dos recursos de água doce estão nas bacias dos rios Zaire e Congo, região que concentra apenas 10% da população desse continente. O Brasil, por sua vez, possui cerca de 20% de toda a água disponível no planeta, especialmente na Região Amazônica, habitada por apenas 0,1% da população mundial.

Em outras regiões da Terra ocorre escassez, muitas vezes aguda, de água doce. Em muitos casos, essa carência pode limitar seriamente o desenvolvimento social e econômico das populações que ali vivem. O exemplo mais conhecido é o caso dos países do Oriente Médio, nações localizadas em uma região caracterizada por grande escassez de água doce. De acordo com a ONU, nesses países, a taxa de consumo de água pela população é maior do que a taxa de renovação.

Outros fatores agravam ainda mais a escassez de água doce nos países do Oriente Médio. Entre eles, destaca-se o fato de que mais de 80% da produção agrícola depende da irrigação, enquanto as taxas de crescimento populacional estão entre as maiores do mundo.

A escassez de água doce, nesses países, atinge níveis tão elevados que as autoridades têm que lançar mão da reciclagem da água para abastecer a população. Um desses países é a Jordânia, cujo governo fornece água à população somente duas vezes por semana, e declarou que, a partir do ano 2000, 70% do total de água doce recebida pela população será de água reciclada, obtida a partir de esgotos domésticos.

O uso de água reciclada (também conhecido como reuso da água) é uma prática cada vez mais freqüente no Oriente Médio, onde é comum a população ser abastecida com dois tipos de água: água reciclada para uso nos sanitários e jardins, e água de boa qualidade para uso na cozinha e para beber.

REGIÕES SEMI-ÁRIDAS

São aquelas caracterizadas por médias anuais de temperatura superiores a 25°C, em alguns lugares maior até que 32°C, e com índices pluviométricos inferiores a 1.000mm por ano. Nessas regiões, a vegetação é adaptada a longos períodos de seca. No Brasil, esse tipo de vegetação é conhecida como caatinga.

No Brasil, o caso de escassez de água mais conhecido está na Região Nordeste. Nessa região, localizada em grande parte na chamada **REGIÃO DO SEMI-ÁRIDO**, ocorrem, com frequência, períodos prolongados de seca, acarretando consequências sociais e econômicas negativas para a população.

No Nordeste brasileiro, a água doce pode ser considerada, em função de sua pouca disponibilidade, um produto comercial de grande valor. Dessa forma, por meio de sua posse, pode-se conseguir prestígio e, muitas vezes, poder político e econômico. Talvez esse fato possa explicar a razão de a disputa por recursos de água doce ser a principal causa de delito policial na região, motivando, inclusive, o roubo de água (**Figura 14.4**).

Quadro típico das consequências de crise de água doce no Nordeste brasileiro

1 carro-pipa (8 mil litros de água doce)	▲ U\$ 206
Consumo médio mensal de água doce de uma família de 5 membros	▲ U\$ 824
50% da população ativa ganha até um salário mínimo	▲ U\$ 82
1 carro-pipa é equivalente a	▲ 2,5 salários mínimos
1 piscina de 150 mil litros em residências de "coronéis"	▲ U\$ 3.863
Delito mais comum: roubo de água doce	
Maior parte do lençol freático com água salgada	
Principal fator limitante à vida na região: escassez de água	

Figura 14.4: Exemplo do Nordeste brasileiro, onde a água já é um bem de elevado valor comercial.

Outras regiões brasileiras também podem apresentar grande escassez natural de água doce. Por exemplo, a porção do Planalto Central onde se localiza Brasília é caracterizada pela ausência de rios e lagos. Isso torna os recursos insuficientes para suprir a grande demanda atual de água doce em Brasília. Segundo alguns órgãos do Governo, os recursos de água doce disponíveis no final da década de 1990 já não eram suficientes para atender toda a população do Distrito Federal.

Para isso, será necessário lançar mão de água subterrânea, ou seja, do lençol freático. A implementação de medidas de preservação da qualidade desse recurso é de fundamental importância para garantir a possibilidade de desenvolvimento econômico e social futuro na região.

Essa situação crítica já não é mais apenas do conhecimento acadêmico, tornando-se também de domínio público, como pode ser observado na matéria de um jornal de grande circulação (Figura 14.5.a).

Casos semelhantes aos relatados nos parágrafos anteriores podem ser também encontrados por você na sua cidade ou em cidades próximas, principalmente se você mora na Região dos Lagos do estado do Rio de Janeiro. Nessa região, podemos encontrar várias cidades que já apresentam sérios problemas decorrentes da escassez de água doce. Essa escassez é uma decorrência natural, como no caso de Brasília, que atinge as cidades de Cabo Frio, Arraial do Cabo, Araruama, Saquarema e Maricá, entre outras. Nessas cidades, durante o verão, uma das principais fontes de conflitos é a disputa por água doce, gerando roubos da água acumulada nas cisternas e a cobrança de preços elevados pelo seu transporte em caminhões-pipa.



Figura 14.5: (a) Balanço da disponibilidade de água doce na cidade de Brasília; (b) Exemplo de manchete da imprensa de Brasília advertindo sobre a falta de água no ano 2000.

Por outro lado, em outras cidades a escassez de água é motivada pela poluição por esgoto doméstico ou industrial e/ou pelo assoreamento dos rios e córregos. Este último caso tem se tornado muito comum mesmo em regiões desprovidas de qualquer fonte de poluição industrial,

mas onde a devastação das florestas tenha sido uma prática freqüente. Nesses casos o solo fica exposto, submetido à erosão, que na Região Sudeste pode ser muito intensa no período de chuvas fortes (geralmente de novembro a março). Durante esse período, grande parte do material erodido é transportado pelas enxurradas e permanece depositado no leito dos rios, reduzindo drasticamente sua profundidade e chegando, muitas vezes, a promover seu total desaparecimento.

A CRISE DA ÁGUA DOCE: UMA AMEAÇA REAL PARA A HUMANIDADE NO SÉCULO XXI

Alguns fatores tornam a água doce um recurso estratégico para a manutenção e o desenvolvimento da sociedade moderna, tais como a distribuição fortemente heterogênea dos recursos de água doce na Terra, associada à grande degradação ambiental e ao aumento crescente da população.

De acordo com estudos de organizações internacionais como a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimento e Agricultura), neste século os recursos de água doce passarão a ter papel crescente nas negociações de acordos e tratados nacionais e internacionais.

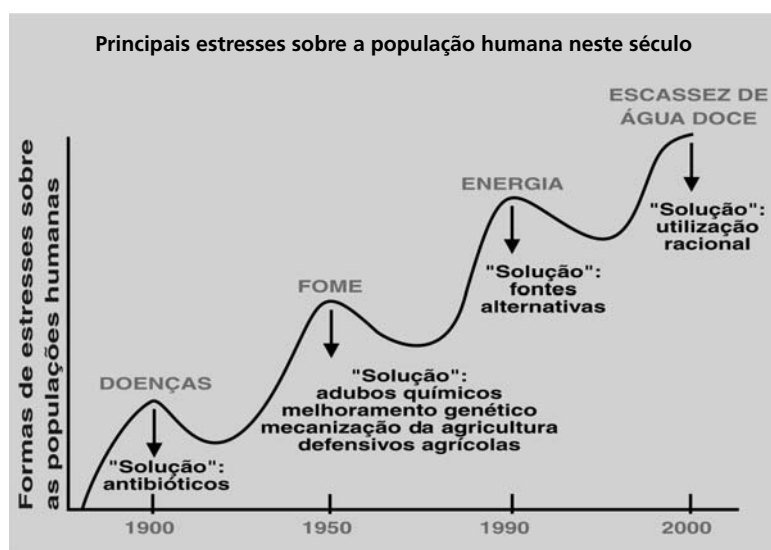


Figura 14.6: Principais crises a que a humanidade esteve submetida ao longo do século XXI.

de origem bacteriana, que não podiam ser devidamente combatidas em razão da ausência, até então, de remédios antibióticos. Entre as doenças que mais provocaram mortes, podemos citar a tuberculose, a pneumonia e as diarreias. Com o surgimento dos antibióticos, o poder mortal dessas doenças foi fortemente atenuado (Figura 14.6).

Segundo esses estudos, a disputa pelo domínio desses recursos será um dos principais fatores desencadeadores de conflitos e guerras.

A humanidade atravessou, ao longo do século XX, várias crises que resultaram em grandes impactos negativos sobre a população. A primeira crise teve seu apogeu no final do século XIX, quando a população sofreu grandes perdas com as doenças

Posteriormente, na década de 1950, a fome representou outra forma de impacto negativo sobre a humanidade. Com o advento dos defensivos agrícolas, dos adubos químicos e do melhoramento genético, foi possível melhorar e aumentar consideravelmente a produção agrícola. A solução do problema da fome pode ser considerada, atualmente, um problema mais político do que técnico-científico.

Mais tarde, na década de 1970, inicia-se a crise da energia, motivada pela escassez de petróleo, com consequências econômicas e políticas. Projetos para o desenvolvimento de fontes alternativas de energia diversificaram a oferta desse recurso, diminuindo o impacto dessa crise (Figura 14.6).

Nas últimas décadas do século XX e, em especial, no início do século XXI, teve início de maneira mais acentuada e mais globalizada a chamada crise da água doce. Ela é resultado, principalmente, do aumento considerável do nível de consumo e degradação dos recursos de água doce em todo o mundo. Um bom exemplo é o caso da América Latina, região na qual são detectadas as maiores taxas de degradação da qualidade da água e também onde se tem observado as maiores taxas de aumento no consumo desse recurso (Figura 14.7.a e b). Pode-se citar, por exemplo, o caso do consumo industrial, que apresentou, de 1975 a 2000, um aumento de 350%.

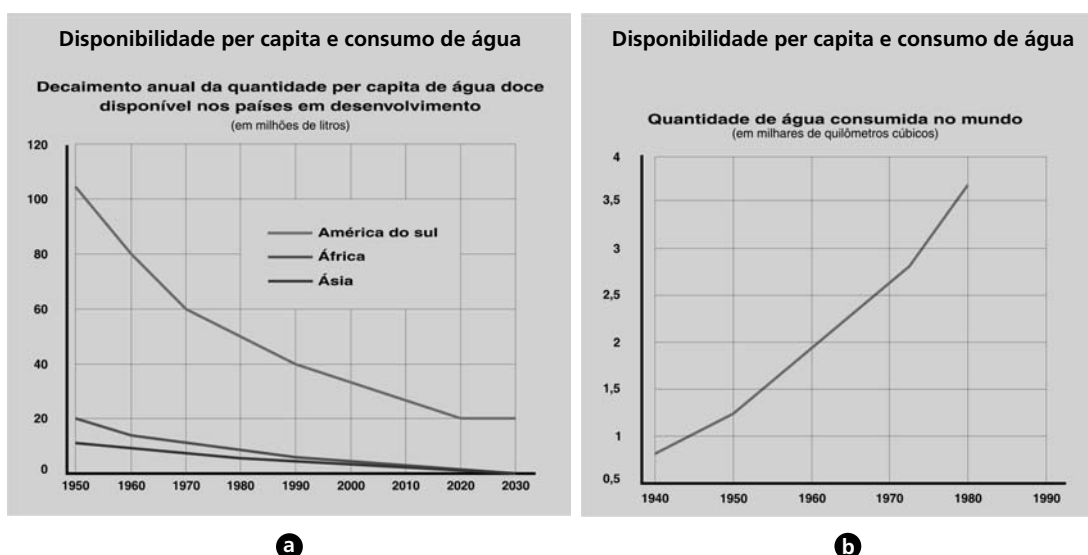


Figura 14.7: (a) Redução da disponibilidade de água doce nos continentes sul-americano, africano e asiático; (b) consumo de água doce no mundo.

Segundo a ONU, em 1995 a população mundial era de 5,7 bilhões de habitantes, sendo que 8% estavam submetidos à escassez de água doce. Previsões para o ano 2050 estimam uma população de 9,4 bilhões de pessoas, das quais 42% devem sofrer com a escassez de água.

Há mais de uma década, a chamada crise da água tem sido objeto de discussões de organizações nacionais e internacionais, passando no início deste século a ser tópico de inúmeros meios de comunicação, mesmo aqueles dirigidos às populações dos mais longínquos municípios brasileiros. A massiva inserção de discussões sobre a disponibilidade e uso racional dos recursos de água doce fez com que o tema ultrapassasse os meios técnico-científicos e ganhasse a opinião pública.

Ao contrário das crises anteriores que se abateram sobre a humanidade, a crise da água doce não dispõe, ainda, de nenhuma alternativa. Em outras palavras, desconhece-se, até agora, qualquer substância que possa substituir, pelo menos parcialmente, a água em suas múltiplas funções na vida do homem. A única alternativa viável economicamente que garanta a disponibilidade desse recurso natural em longo prazo é a sua conservação e o seu uso racional.

São duas as tecnologias disponíveis no momento para obtenção de água doce: a reciclagem de esgotos domésticos e industriais (reuso da água), e a dessalinização da água do mar. Ambas são tecnologias de alto custo financeiro e por isso pouco disponíveis para a maioria dos países do mundo.

O caso do ganho de água doce através da dessalinização da água do mar tem sido, há décadas, idealizado como alternativa viável. No entanto, os elevadíssimos custos envolvidos nesse processo impedem que mesmo os países ricos do Oriente Médio, como a Arábia Saudita, consigam cobrir toda a sua demanda de água doce a partir da dessalinização da água do mar. Nesses países a prática mais utilizada para obter água é a sua reciclagem a partir de esgotos, que, ao contrário do processo de dessalinização, tem custos mais reduzidos devido ao menor gasto com energia elétrica.

Então, pode-se dizer que, assim como o petróleo teve papel preponderante no século passado para o desencadeamento de conflitos, a água doce, neste século, passará a assumir esse papel. Essa situação já

se faz sentir de maneira muito clara em várias regiões do mundo. Como exemplo, pode ser citado que, nas negociações de paz entre israelenses e palestinos, um dos pontos mais relevantes é a disputa pelo domínio dos recursos de água doce.

IMPORTÂNCIA DA ÁGUA DOCE NA SOCIEDADE MODERNA

Diz o ditado popular: “O homem somente se lembra da água em dois momentos: quando está em falta (seca), ou quando está em excesso (enchentes).” Atualmente, esse provérbio não é adequado, já que a água é, na vida moderna, um recurso de que o homem necessita a cada minuto. Além da importância da água como substância essencial às necessidades fisiológicas e à higiene pessoal, seu papel na sociedade moderna assume grande relevância na produção de alimentos, de energia elétrica e de bens de consumo (Figura 14.8).

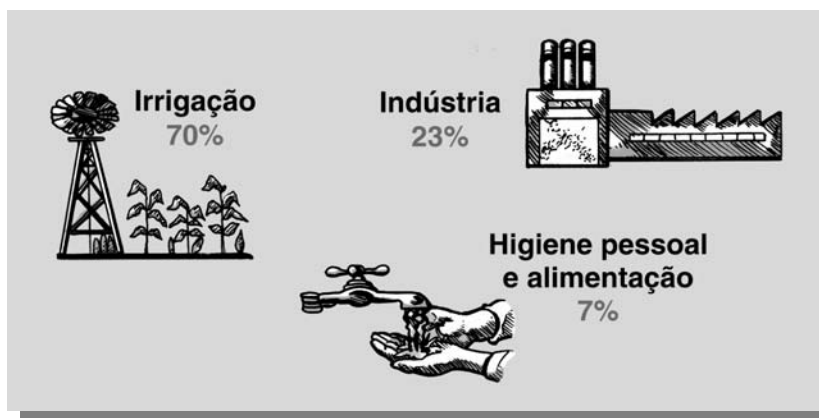


Figura 14.8: Consumo médio de água da sociedade moderna.

Para garantir alimentos para os seis bilhões de habitantes da Terra, tem-se lançado mão da tecnologia da irrigação. Essa tecnologia tornou possível a produção agrícola em grande escala, mesmo em locais com grandes deficiências de água, como regiões semi-áridas ou desérticas. Calcula-se que, neste início de século, um terço da produção mundial de alimentos é proveniente de apenas 17% das áreas cultiváveis do planeta, que são irrigadas (POSTEL, 1988).

Fontes governamentais indicam que a quase totalidade dos legumes, frutas e verduras comercializados no Brasil na atualidade provém de cultivos irrigados. No nosso território, em regiões castigadas

Muitos rios brasileiros tiveram suas águas represadas por meio de barragens, feitas de concreto, com o objetivo de formar um lago (represa), que fica mais elevado do que a parte inferior do rio represado. Essa diferença de altura gera uma queda-d'água na qual são colocadas turbinas que são acionadas pela passagem da água. A movimentação das turbinas pela água gera eletricidade pelo processo chamado de hidreletricidade.

Pela primeira vez no mundo foi realizada uma conferência internacional com a participação de vários países, com o objetivo de discutir questões ambientais do planeta Terra. A cidade escolhida para o encontro foi a capital da Suécia, Estocolmo, ficando conhecida como **Conferência de Estocolmo**. A segunda conferência internacional foi realizada em 1992 na cidade do Rio de Janeiro e ficou conhecida como RIO-92.

há muitas décadas por secas e miséria, podem ser encontrados exemplos fantásticos de recuperação econômica baseados na irrigação de extensas regiões. Esse é o caso de várias cidades localizadas no vale do rio São Francisco que, a partir de projetos de irrigação, tornou-se uma região de grande produção de frutas para consumo interno e para exportação.

Na agricultura, a demanda por água com qualidade adequada é enorme, notadamente quando visa à produção em grande escala para atender uma população crescente, como é o caso do Brasil.

Para se ter uma visão mais concreta da importância da água na produção de alimentos consumidos no dia-a-dia da sociedade moderna, basta citar o consumo exigido pela produção de alguns alimentos: uma espiga de milho consome 190 litros; um litro de leite, cerca de 4.200 litros; um quilo de arroz, 1.700 litros e um quilo de carne, 4.200 litros (Figura 14.9).

Quanto à etimologia, Meso-potâmia quer dizer "região situada entre rios". Aqui se refere a uma região localizada na Ásia, entre os rios Eufrates e Tigre, onde se desenvolveu a civilização mesopotâmica, uma das mais importantes da Antiguidade.



Figura 14.9: Consumo de água doce na produção de alguns alimentos importantes para o homem.

Na atividade industrial, o papel da água é de absoluta importância, participando em vários momentos da produção de bens. Em alguns casos, a água é ainda matéria-prima para a indústria. Algumas atividades industriais retiram grande quantidade de água da natureza, e o seu posterior descarte é feito muitas vezes em volume maior do que o retirado, sob forma de efluentes altamente contaminados, que são lançados nos córregos e rios, comprometendo – muitas vezes em caráter irreversível – a qualidade ambiental desses ecossistemas.

Para exemplificar o consumo de água em alguns ramos industriais, pode ser citado o caso das olarias, que consomem cerca de 2.200 litros de água para a produção de um milheiro de tijolos. No caso da indústria de plásticos, é necessário um volume de 1.320.000 litros para cada tonelada de plástico produzido! (Figura 14.10) - (ESTEVES, 1998).

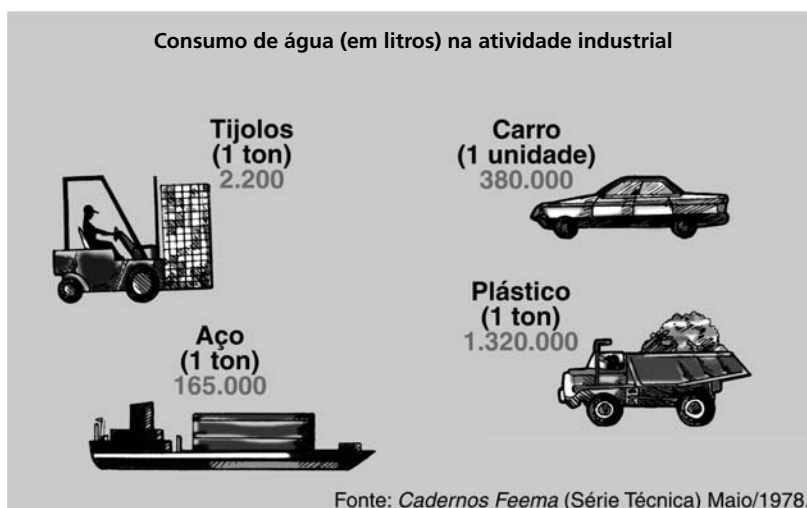


Figura 14.10: Em algumas atividades industriais.

No Brasil, a produção de energia elétrica é baseada, em grande parte, na hidreletricidade. Dados do governo brasileiro demonstram que, atualmente, 97% da energia produzida no país provém das turbinas acionadas pelas águas acumuladas nas represas. A hidreletricidade é de extrema importância para acionar os motores que bombeiam a água para irrigar os solos. Assim sendo, a água tem papel central em dois momentos de fundamental importância para a vida do homem neste século: a produção de energia e a produção de alimentos.

A disponibilidade de água doce de um município pode ser considerada, na atualidade, um dos seus maiores patrimônios, capaz de promover seu desenvolvimento social e econômico, sendo portanto um recurso estratégico.

A comprovação desse fato pode ser extraída diariamente da imprensa. O exemplo na Figura 14.11 mostra a exigência de uma montadora de veículos para instalar uma de suas unidades em um município brasileiro. Nesse caso, além das exigências costumeiras, a montadora exigiu a disponibilidade de no mínimo 1,1 milhão de litros de água doce. Sintetizando, pode-se afirmar que os maiores percentuais de consumo de água doce são:

- 1º lugar: agricultura, com 70%;
- 2º lugar: indústria, com 23%;
- 3º lugar: consumo doméstico, com apenas 7%.

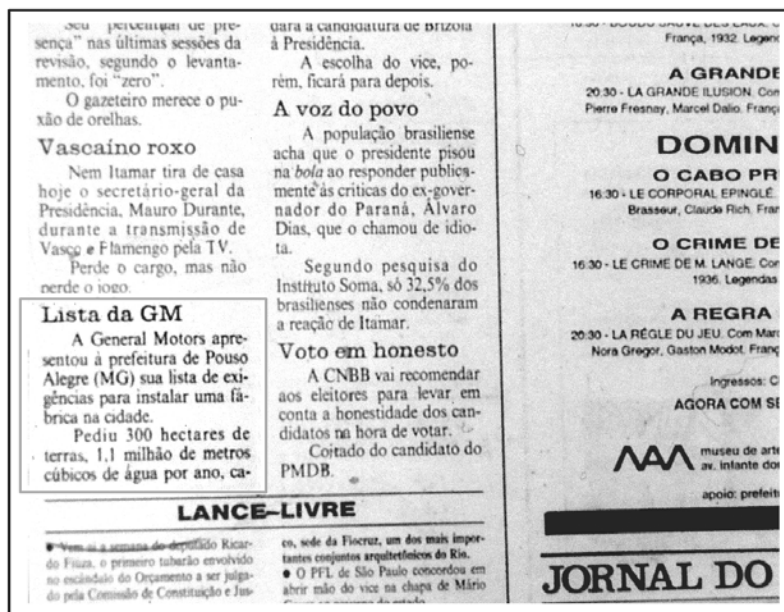


Figura 14.11: Exemplo da importância da água no desenvolvimento econômico de um município: montadora exige para se instalar no município a disponibilidade de 1,1 milhão de metros cúbicos de água doce.

A DEGRADAÇÃO DOS RECURSOS DE ÁGUA DOCE

Até a década de 1950, quando a população da Terra era de cerca de 2,5 bilhões de habitantes, não eram usuais as discussões a respeito da escassez de recursos naturais como a água, tampouco sobre extinção de espécies vegetais e animais. Quando ocorriam, eram no âmbito da comunidade acadêmica e, portanto, restrita aos cientistas.

Somente na década de 1970, com a famosa Conferência de Estocolmo, iniciou-se, de maneira ainda tímida, a discussão sobre a possibilidade de extinção de alguns recursos naturais, como a água, os minérios e as espécies vegetais e animais.

No entanto, o conhecimento das consequências do uso indevido dos recursos naturais, ou sua exaustão, pelas populações e mesmo civilizações é muito antigo. Na Antigüidade, algumas civilizações, como a mesopotâmica, foram extintas em grande parte devido ao uso não-racional dos recursos naturais.

Há relatos sobre a degradação da qualidade da água de rios europeus que remontam à Idade Média, dando conta da impossibilidade do uso desse recurso nas cidades mais populosas, devido ao elevado grau de degradação.

Um dos primeiros casos relatados foi realizado pelo pesquisador inglês John Snow. Em 1854, ele demonstrou que a epidemia de cólera, que ceifou muitas vidas em Londres, tinha sua origem na degradação da qualidade da água do rio Tâmesa atribuída ao lançamento de esgotos nele.

Até a metade do século XIX, a principal fonte de degradação das águas era o lançamento de esgotos sem nenhuma forma de tratamento. No entanto, com o advento da Revolução Industrial surgiram vários compostos que passaram a fazer parte dos chamados esgotos industriais, que acarretaram graves formas de degradação dos ecossistemas aquáticos. Entre os compostos mais comuns, podem ser citados os metais pesados (cádmio, zinco, mercúrio e ouro, entre outros).

Na segunda metade do século XX, surgem novas formas de degradação dos recursos hídricos. Nesse período foram criados os adubos químicos com elevadas concentrações de fosfato e de compostos de nitrogênio, como o nitrato e o nitrito, que se tornaram a grande ameaça à água do lençol freático, dos rios, lagos e lagoas.

A degradação dos recursos hídricos pode ocorrer a partir de fontes pontuais, como esgoto doméstico e industrial, e de fontes não-pontuais, por exemplo o nitrato e as chuvas ácidas. Estas últimas, por sua vez, são de caráter global, isto é, são produzidas em determinado país e produzem seu impacto em outro.

O aumento crescente do uso da água doce nos diferentes processos industriais, hoje indispensáveis ao homem, assim como na irrigação para a produção de alimentos, têm sido associado à degradação de sua qualidade, tornando a água doce um recurso finito. Em virtude desse fato, várias ações da sociedade moderna voltaram-se à preservação dos ecossistemas aquáticos continentais.

RESUMO

A água circula na Terra, a partir da energia solar, por evaporação e transpiração, dos oceanos e continentes para a atmosfera. As massas de ar úmido são levadas com os ventos para locais onde se precipitam em forma de chuva, sobretudo nas regiões equatoriais e encostas montanhosas, que recebem ventos quentes e úmidos vindos do mar.

A água das chuvas pode escoar superficialmente sobre o solo ou infiltrar-se, por escoamento subterrâneo, de acordo com o tipo e a cobertura do solo. Quanto maior a infiltração, menor a perda por evaporação e enxurradas e maior a recarga dos mananciais hídricos.

O efeito estufa ocorre devido a uma camada de gases que impede que o calor refletido pela superfície da Terra se dissipe para a atmosfera externa, gerando um aumento da temperatura global.

Esse aumento pode elevar a quantidade de água circulante na Terra, pela redução das geleiras e calotas polares, fazendo com que o nível do mar suba alguns metros. Isso pode resultar no alagamento de extensas áreas costeiras e alterar o regime de chuvas, com impacto sobre a paisagem e a distribuição da fauna e da flora.

Comparado ao volume de água salgada da Terra, o volume de água doce é muito reduzido (2,7%). Além disso, é distribuído de forma muito heterogênea: há muita água doce em regiões pouco habitadas e pouca água doce onde ocorrem grandes adensamentos populacionais.

A escassez natural de água doce, associada a grandes adensamentos populacionais, como ocorre no Oriente Médio, faz com que muitos países dessa região cubram grande parte de sua demanda de água doce a partir de água reciclada de esgotos.

Estudos apontam para o fato de que, ao contrário do que ocorria no século XX, quando as guerras eram devidas à disputa por reservas de petróleo, no século XXI, as guerras serão resultantes de disputas por reservas de água doce. Assim sendo, o século XXI será caracterizado pela chamada crise de água doce.

O maior volume de água doce é consumido na agricultura, através da irrigação, para produzir alimento. Atualmente grande parte de nossa alimentação vem de áreas de cultivo irrigado. O homem moderno necessita de água doce em quantidade e qualidade adequadas para produzir alimento. Em segundo lugar vem a atividade industrial, com 23%; e, em terceiro lugar, as residências, com 7%.

A degradação da qualidade da água doce através da contaminação com produtos químicos como compostos de fosfato e de nitrogênio, metais pesados, e especialmente esgotos domésticos e industriais, representa uma grande ameaça à disponibilidade desse recurso natural. No Brasil, a degradação da qualidade da água doce atingiu níveis tão elevados que já compromete, em larga escala, a qualidade de vida em muitas cidades brasileiras.



ATIVIDADES

1. De que forma o aumento de gases que promovem o chamado efeito estufa altera o ciclo hidrológico?

2. Como a cobertura florestal pode influenciar a disponibilidade dos recursos hídricos de uma região?

3. Quais são as principais tecnologias de obtenção de água doce disponíveis para o homem e quais são as restrições à sua utilização em larga escala?

4. De que formas a agricultura de grandes extensões de culturas que requerem alta insolação com irrigação abundante e forte adição de fertilizantes e defensivos agrícolas pode ser prejudicial aos mananciais hídricos dessa área?

5. Em que a constatação da crise de água doce pode influenciar no cenário político-econômico mundial?

Principais formas de degradação dos ecossistemas aquáticos continentais

AULA

15

objetivo

- Esclarecer a origem das principais formas de degradação dos ecossistemas aquáticos continentais bem como os seus efeitos na saúde humana.

INTRODUÇÃO

A degradação dos ecossistemas aquáticos continentais (rios, lagos, lagoas etc.) representa uma grande ameaça à humanidade, visto que compromete um dos recursos naturais mais importantes para o homem. Além de eliminar espécies animais e vegetais, a degradação dos ecossistemas aquáticos, com frequência, inviabiliza o uso da água para fins de irrigação, industriais e domésticos. Nesta aula iremos estudar a contaminação dos ecossistemas aquáticos continentais por nitrato, metais pesados e micropoluentes orgânicos, que são algumas das formas mais frequentes de degradação.

A DEGRADAÇÃO DOS ECOSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS POR NITRITO

No início da década de 1980, constatou-se que as elevações nas concentrações de alguns compostos de nitrogênio, como o nitrato e o nitrito, existentes na água representavam um importante fator de degradação. O nitrato é uma das várias formas de nitrogênio que ocorrem na natureza, sendo geralmente encontrado em concentrações baixas, variando entre 0,1 e 1mg/L nas águas não-poluídas.

Alguns países do continente europeu foram os primeiros a detectar que as crianças e os idosos que consumiam água obtida do lençol freático de certas localidades passavam a apresentar sérios problemas de saúde. Estudos mostraram que os problemas de saúde eram apresentados por habitantes de regiões onde os agricultores utilizavam, com muita frequência, adubos químicos à base de nitrato, com o objetivo de aumentar a produção agrícola no curto período do cultivo europeu, que se estende geralmente de março a outubro.

Parte considerável do nitrato do adubo químico adicionado ao solo não era absorvida pelas plantas, mas sim levada pelas águas das chuvas para as partes inferiores do solo e acumulada no lençol freático. Esse fenômeno é facilitado pela alta solubilidade do nitrato em água.

Quando o homem utiliza a água do lençol freático com elevadas concentrações de nitrato (maiores do que 10mg/L, valor proposto pela Organização Mundial de Saúde), ocorrem danos à saúde.

No organismo humano, parte do nitrato é transformada (reduzida) em nitrito, que atinge a corrente sanguínea e posteriormente oxida o ferro da hemoglobina, formando um composto denominado metahemoglobina, gerando uma anomalia chamada doença azul, que se caracteriza pela incapacidade da hemoglobina em combinar-se

com o oxigênio. No caso de oxidação de 30 a 40% das moléculas de hemoglobinas, o paciente passa a apresentar insuficiência respiratória. Se mais de 50% das hemoglobinas forem oxidadas, ocorre o óbito do paciente (valor fatal).

Nos Estados Unidos e na Europa, vários casos desse tipo já foram registrados. Na fronteira da Alemanha com a França, a concentração de nitrato pode ser superior a 50mg/L. Atualmente, em várias regiões da Terra, imensos reservatórios de água subterrânea estão inviabilizados pela alta concentração de nitrato, elevando os custos financeiros para tratar a água doce que serve à população. Em alguns casos, os custos são tão elevados que o uso desses reservatórios de água doce torna-se impossível, comprometendo ou até mesmo inviabilizando o desenvolvimento social e econômico das regiões em que se encontram.

As maiores incidências da doença azul em crianças recém-nascidas devem-se ao uso de leite em pó diluído em água com elevadas concentrações de nitrato, que, sob ação de uma enzima específica denominada nitrato-redutase, é reduzido a nitrito. No caso de pessoas idosas, a presença dessa doença deve-se a maiores taxas de produção da enzima nitrato-redutase. Casos de câncer de estômago também têm sido atribuídos ao consumo de água com elevadas concentrações de nitrato.

Em nosso país, estudos sobre a qualidade da água do lençol freático são ainda escassos, embora muito necessários, tendo em vista que em inúmeros municípios brasileiros a principal fonte de água para a população provém do subsolo. No Brasil, as maiores causas da contaminação do lençol freático por nitrato são a agricultura e os efluentes domésticos. Os esgotos domésticos são, em grande parte do território nacional, descartados no subsolo, nas chamadas fossas assépticas, que geralmente se comunicam diretamente com o lençol freático.

Nas cidades brasileiras localizadas sobre solos cuja drenagem é muito facilitada (solos arenosos, por exemplo), a contaminação da água do lençol freático por nitrato de efluentes domésticos é ainda mais comum.

É provável que, com o incremento de pesquisas sobre a qualidade da água do lençol freático, fonte de água para abastecimento doméstico, possam ser identificados casos de poços artesianos nos quais as concentrações de nitrato sejam superiores àsquelas permitidas pela Organização Mundial de Saúde (10 mg/L).

DEGRADAÇÃO DOS ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS POR METAIS PESADOS

METAL PESADO

O termo designa elementos de transição (metais) e outros com características metálicas do 4º, 5º e 6º períodos da tabela periódica com grande massa atômica. Entre estes estão o cobre, o níquel, o cobalto, o cromo, a prata, o mercúrio e o chumbo. Alguns deles, no entanto, sequer são metais no senso estrito, como o arsênio (semimetal) e o selênio (ametal).

METAIS PESADOS são elementos químicos que ocorrem na natureza, de um modo geral em pequenas concentrações, da ordem de partes por bilhão (ppb) a partes por milhão (ppm).

Alguns metais pesados, como mercúrio (Hg), chumbo (Pb), cádmio (Cd), prata (Ag), cromo (Cr), níquel (Ni) e selênio (Se), não têm função biológica conhecida e são geralmente tóxicos, afetando um grande número de organismos. Mesmo os metais pesados com função biológica conhecida podem, quando em grandes concentrações, apresentar alta toxicidade para os organismos vegetais e animais.

A partir principalmente da Revolução Industrial, com a crescente demanda por recursos minerais cada vez mais diversificada, tem sido possível observar o aumento da concentração de vários metais pesados em determinados ecossistemas. Na maioria dos casos, essas concentrações de metais pesados têm resultado em graves danos às espécies e ao funcionamento dos ecossistemas. Nos ecossistemas aquáticos, os metais pesados podem estar sob a forma iônica, como componentes de moléculas de restos vegetais e animais, ou como constituintes dos seres vivos.

Principais fontes de metais pesados para os ecossistemas aquáticos continentais

As fontes de metais pesados, para os ecossistemas aquáticos continentais, podem ser naturais ou artificiais. Entre as fontes naturais, temos as rochas e a erosão dos solos ricos em metais pesados. Como fontes artificiais, temos principalmente as atividades industriais (indústria de cromagem, de inseticidas e pesticidas), que lançam efluentes líquidos contendo metais pesados diretamente nos ecossistemas aquáticos ou na atmosfera. Neste último caso, os metais pesados retornam ao solo e/ou diretamente à água dos rios e lagos através das chuvas.

No Brasil, algumas atividades constituem importantes fontes de metais pesados. Entre elas destacam-se a agricultura e a mineração. O uso, muitas vezes indiscriminado, de pesticidas e inseticidas ricos em metais pesados, como cádmio, mercúrio, chumbo e cobre, entre outros, transformou a agricultura em uma das principais fontes desses poluentes, contaminando águas subterrâneas e superficiais (lagos, lagoas e rios).

A mineração de ouro, principalmente, utiliza consideráveis quantidades de mercúrio no processo de separação e extração. No Brasil, especialmente na Amazônia e no Pantanal Matogrossense, as atividades de garimpo têm provocado sérios danos ambientais. Não somente pela destruição total ou parcial dos ecossistemas terrestres e aquáticos, como também pelo lançamento de grandes quantidades de mercúrio no ambiente.

Esse metal pesado chega ao ambiente através de sua manipulação pelo garimpeiro, quando este coloca uma chama, elevando a temperatura do complexo amalgamado de ouro e mercúrio. Durante esse procedimento, parte do mercúrio é sublimada e vai para a atmosfera. Estimativa feita por pesquisadores brasileiros (LACERDA *et al.*, 1987) para os garimpos do rio Madeira indicam que, para cada quilograma de ouro extraído, pelo menos 1,32 quilo de mercúrio é lançado no ambiente. Deste, de 55 a 60% são lançados na atmosfera durante a sublimação do complexo amalgamado ouro-mercúrio, e 40 a 45% nos rios, sob a forma de mercúrio metálico (Figura 15.1).

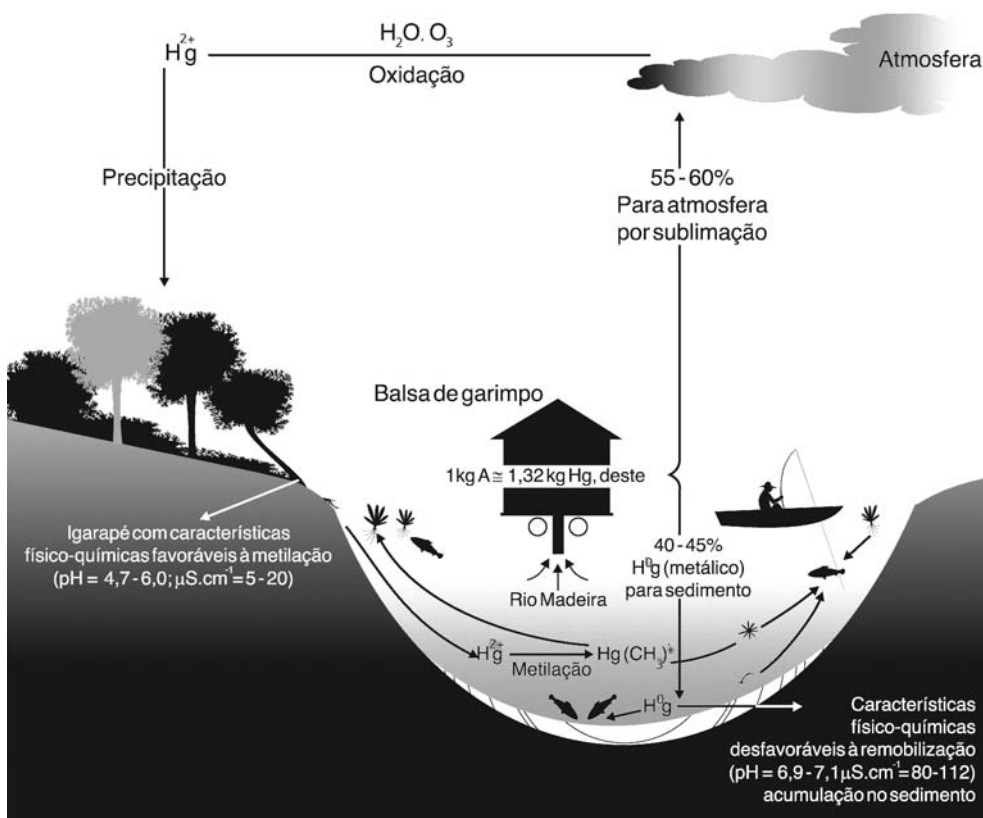


Figura 15.1: Exemplo da distribuição de um metal pesado (mercúrio) em um ecossistema aquático e terrestre tropical.

Para os pesquisadores, o maior problema ambiental decorrente da utilização do mercúrio, nestas condições, é a formação de metil-mercúrio. Essa é a forma pela qual o mercúrio é absorvido pelas plantas e, através da cadeia alimentar, chega ao homem. Outra via de absorção é pela pele, visto que o metil-mercúrio é lipossolúvel. No Brasil, a forma mais freqüente de contaminação do homem por mercúrio e por outros metais pesados é por meio da ingestão de peixe e de outros organismos aquáticos (ostras e mexilhões, entre outros).

A toxicidade dos metais pesados

A toxidez dos metais pesados deve-se principalmente a sua capacidade em interferir em processos enzimáticos e a sua pouca mobilidade no organismo. Essa baixa mobilidade faz com que os metais pesados se acumulem nos organismos, provocando grandes alterações metabólicas que podem resultar na morte dos indivíduos afetados.

Nos ecossistemas aquáticos, a circulação dos metais pesados ocorre de maneira mais rápida do que nos ecossistemas terrestres, através principalmente das cadeias alimentares. Por exemplo, as algas e as demais plantas aquáticas absorvem e acumulam metais pesados, que são transferidos para os vários elos da cadeia alimentar, inicialmente os herbívoros (peixes herbívoros). Estes, por sua vez, quando predados pelos carnívoros (geralmente peixes, tartarugas, jacarés etc.) acumulam os metais pesados na biomassa do seu predador.

Esse acúmulo é muito facilitado pelo fato de os metais pesados serem muito solúveis em lipídios. Esse fenômeno de acúmulo de metais pesados ao longo da cadeia alimentar é denominado biomagnificação. Assim sendo, o metal pesado pode chegar ao homem através da ingestão de peixe, ou seja, através da cadeia alimentar.

Existem relatos de verdadeiras tragédias ecológicas devidas ao acúmulo de metais pesados em determinados ecossistemas que posteriormente atingiram populações humanas.

Um dos desastres ecológicos mais documentados ocorreu em 1950, no Japão. Pescadores das cidades de Minamata e Niigata, que se alimentavam de peixes, foram contaminados por mercúrio. Em razão de problemas neurológicos, morreram 52 pessoas vítimas da doença que ficou conhecida como doença de Minamata.

A literatura cita também que, de 1953 a 1970, morreram no Japão mais de 600 pessoas envenenadas com arsênio, cádmio e mercúrio, que chegaram até as vítimas através da água, do ar e da alimentação (peixes e arroz). Foram registrados outros casos de contaminação humana na Argentina, no Chile e no Brasil (MEYBECK *et al.*, 1989).

A contaminação dos ecossistemas aquáticos pode ocorrer também de maneira natural. Isso ocorre principalmente em zonas vulcânicas, onde através de erupções são lançados vários metais pesados nos ecossistemas.

A DEGRADAÇÃO DOS ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS POR MICROPOLUENTES ORGÂNICOS

Caracterização dos micropoluentes orgânicos

No século passado, foram sintetizadas inúmeras substâncias orgânicas com finalidades específicas, como para o controle de pragas, notadamente insetos (inseticidas), e de ervas daninhas (herbicidas) na agricultura.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, das 129 substâncias orgânicas sintetizadas pelo homem, pelos menos 114 são passíveis de provocar danos à saúde humana. Entre estas se encontram as substâncias denominadas poluentes orgânicos persistentes, também conhecidos como POPs, ou “sujos”.

Os POPs se destacam das demais substâncias orgânicas sintetizadas pelo homem pela alta resistência à decomposição microbiológica, pelos grandes danos ao homem e ao meio ambiente e, sobretudo, pela ampla utilização, especialmente nos países do Terceiro Mundo.

Embora química e biologicamente diferenciadas, as substâncias orgânicas sintetizadas pelo homem são genericamente chamadas micropoluentes orgânicos, denominação que leva em consideração o caráter poluidor desses compostos.

No Brasil, a comercialização dos micropoluentes orgânicos, inclusive os POPs, já se encontra regulamentada, sendo a maior parte proibida. Apenas o heptacloro, usado na preservação de madeira, é comercializado.

De todos os micropoluentes, os herbicidas – e sobretudo os pesticidas – estão entre aqueles que têm provocado maior preocupação em relação ao meio ambiente. Esse fato é atribuído ao grande uso desses compostos na agricultura, à capacidade de serem absorvidos pelos seres vivos e, conseqüentemente, circularem através da cadeia alimentar.

Na prática, os inseticidas pertencem a duas famílias:

- a família dos inseticidas organoclorados (DDT, aldrina, clodarno, dieldrina, mierex hexaclorobenzeno etc.), e
- a família dos inseticidas organofosfatados (triazinas, entre outros).

Grande parte desses inseticidas, especialmente o organoclorado mais conhecido, o DDT, já foi proibido em vários países, inclusive no Brasil, devido a sua elevada toxicidade e permanência no ambiente.

Em muitos países tropicais existe a permissão para o uso do DDT por sua importância no controle da larva do mosquito transmissor da malária. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, 25 países tropicais têm autorização para usar DDT no controle da malária.

Formas de contaminação do homem por micropoluentes orgânicos

Como vimos anteriormente, os micropoluentes podem atingir o homem através da ingestão da água ou de alimentos contaminados. Estudos ecotoxicológicos, que avaliam o nível de toxicidade de um determinado composto, identificaram dois tipos de efeitos dos inseticidas: efeitos tóxicos de curta duração (em que os seres vivos são geralmente submetidos a elevadas concentrações de micropoluentes orgânicos); e efeitos de longa duração (em que as concentrações a que os seres vivos estão submetidos são muito reduzidas).

As fontes de micropoluentes para os ecossistemas aquáticos podem ser pontuais ou difusas. As fontes pontuais são aquelas bem identificadas e localizadas, geralmente indústrias, como as metalúrgicas, têxteis, de beneficiamento de madeiras e as produtoras dos próprios pesticidas. As fontes difusas são aquelas de difícil identificação, principalmente áreas agrícolas e as chuvas. Estas últimas são mais comuns em regiões de intensa poluição atmosférica.

O aporte dos micropoluentes para os ecossistemas aquáticos continentais ocorre através de canais que transportam esgotos, de fontes pontuais, assim como por fontes não-pontuais, como as águas que drenam os solos (escoamento superficial). As chuvas têm papel muito importante no carregamento de micropoluentes para rios, lagoas, lagos e, sobretudo, para o lençol freático.

Pesquisas recentes têm demonstrado a grande capacidade de circulação dos micropoluentes pelo planeta. De acordo com esses estudos, ela ocorre devido às elevadas temperaturas das regiões tropicais que promovem a evaporação desses compostos. Ao atingir as camadas superiores da atmosfera, eles são transportados até as regiões polares. Nelas, uma parte permanece congelada; a outra é novamente transportada no verão (quando ocorre o degelo) através de rios, para outras regiões, inclusive as tropicais, reiniciando assim o ciclo.

Esse padrão de circulação é a explicação para a presença de inseticidas no tecido de animais que vivem nos pólos, sem nenhuma possibilidade de atividade agrícola, portanto, sem uso desses compostos.

Micropoluentes orgânicos: uma ameaça ao homem

Como os micropoluentes orgânicos são compostos que se caracterizam pela difícil decomposição, visto que as bactérias não produzem enzimas capazes de metabolizá-los, eles persistem nos ecossistemas, inclusive nos tecidos de plantas e de animais. Como no caso dos metais pesados, os micropoluentes orgânicos também sofrem a biomagnificação ao longo da cadeia alimentar, ou seja, a sua concentração aumenta à medida que avança na cadeia alimentar.

A circulação desses compostos nos ecossistemas ocorre principalmente através da cadeia alimentar. Como você pode observar, é o mesmo que acontecia com os metais pesados. Assim sendo, no caso dos ecossistemas aquáticos, as algas e as demais plantas aquáticas – como aguapé, taboa e juncos – absorvem os micropoluentes orgânicos. A predação desses organismos na cadeia alimentar também vai proporcionar a transferência desses compostos tóxicos ao próximo nível trófico, ou seja, aos carnívoros. Desse modo, organismos de níveis tróficos elevados, os chamados topos de cadeia alimentar, são os mais prejudicados, pois são aqueles que têm maiores chances de apresentar elevadas concentrações de micropoluentes.

Estudos mostram que o acúmulo de micropoluentes orgânicos no homem, um organismo tipicamente de topo de cadeia alimentar, ocorre notadamente nos tecidos gordurosos. Esse acúmulo pode trazer consideráveis prejuízos a sua saúde. Entre as doenças associadas a esse processo estão vários tipos de câncer e diabetes. No caso de mulheres, pode haver a transmissão de micropoluentes orgânicos ao feto através da placenta, e ao recém-nascido através da amamentação.

Contaminação dos ecossistemas aquáticos brasileiros por micropoluentes orgânicos

No Brasil, o uso indiscriminado de micropoluentes orgânicos na indústria e na agricultura proporcionou a sua ampla distribuição e seu acúmulo nos ecossistemas aquáticos, especialmente até a década de 1980, quando a legislação vigente não era direcionada à coibição do uso desses compostos. A preocupação maior é com a água para uso doméstico ou para irrigação – portanto produção de alimentos – quando ela é proveniente de áreas muito industrializadas ou de áreas cultivadas. Essas águas devem ser submetidas a análise para detectar a presença de micropoluentes orgânicos, pois se estiverem contaminadas podem trazer sérios danos à população.

Alguns cuidados também devem ser tomados no uso de água dos poços artesianos – especialmente os localizados em terrenos arenosos – ou dos córregos e rios cuja água provenha de localidades com lavoura na qual se utilizem pesticidas e inseticidas. No caso de utilização dessa água pelo homem, há sérios riscos de absorção de doses contínuas de poluição por micropoluentes orgânicos.

RESUMO

Embora o nitrato seja um composto comumente encontrado em pequeníssimas concentrações na natureza, quando em concentrações elevadas (mais de 10 miligramas por litro) pode causar sérios danos à saúde humana. No organismo humano ele é transformado em nitrito, que tem a propriedade de se combinar com a hemoglobina. Quando isso ocorre, a hemoglobina torna-se inviável para transportar oxigênio dos pulmões para todas as partes do corpo. Quando o percentual de hemoglobina combinada com nitrito é superior a 50%, pode ocorrer a morte do paciente.

Os metais pesados também representam uma grande ameaça à saúde do homem, visto que eles podem se acumular nos tecidos gordurosos e interferir no sistema nervoso e em vários outros órgãos. A principal via de contaminação do homem é através de sua alimentação; portanto, através da cadeia alimentar. Devido à propriedade que os metais pesados apresentam de se acumular nos tecidos, a concentração dos mesmos aumenta ao longo da cadeia alimentar, processo conhecido como biomagnificação. Desse modo, os herbívoros apresentam menores concentrações de metais pesados do que os carnívoros.

Os micropoluentes orgânicos, representados pelos inseticidas e pesticidas, têm várias semelhanças com os metais pesados, especialmente no que diz respeito à toxicidade nos organismos animais e quanto à maneira com que circulam entre os seres vivos (através da cadeia alimentar). Outras características desses compostos são a grande persistência na natureza, devido à quase ausência de bactérias capazes de decompô-los, e sua grande distribuição por todas as regiões do planeta.

ATIVIDADES



1. Qual a origem e as conseqüências para a saúde da contaminação das águas por nitrato?

2. Diga quais são e como duas atividades econômicas podem estar associadas à contaminação por metais pesados.

3. Explique o que é biomagnificação.

4. Quais as características dos chamados micropoluentes orgânicos que promovem sua acumulação nos tecidos vivos?

**A degradação dos ecossistemas
aquáticos continentais
por material inorgânico,
por aumento da salinidade
e por chuvas ácidas**

AULA 16

objetivo

- Mostrar ao aluno a importância da preservação dos ambientes vizinhos aos ecossistemas aquáticos continentais, como forma de evitar a sua degradação.

INTRODUÇÃO

Esta aula é uma continuação da apresentação das diferentes formas de degradação dos ecossistemas aquáticos continentais. Os agentes de degradação aqui apresentados têm recebido pouca atenção; entretanto, podem com frequência representar a principal forma de degradação dos ecossistemas aquáticos em muitas regiões.

DEGRADAÇÃO DOS ECOSISTEMAS AQUÁTICOS PELO APORTE DE MATERIAL INORGÂNICO

ARGILAS

Partículas de sedimento constituídas principalmente por silicatos de alumínio, cujo tamanho é inferior a dois microns (um micron = um milésimo de milímetro) de diâmetro. Por outro lado, siltes são partículas de vários minerais cujo tamanho oscila entre 0,05mm e 0,005mm de diâmetro.

Nas últimas décadas houve um grande avanço das pesquisas sobre as consequências da entrada de materiais inorgânicos (são compreendidas como tal as **ARGILAS** e os siltes) na ecologia de rios, lagos e lagoas.

Esses estudos demonstram que a presença desses materiais em concentração acima daquelas características para cada ecossistema aquático continental tem consequências negativas sobre os meios abiótico e biótico.

Como consequência, temos o comprometimento, por completo, da qualidade da água e da própria integridade do ecossistema. Não raramente, a degradação dos ecossistemas aquáticos pelo aporte de materiais inorgânicos leva à extinção completa do ecossistema.

A qualidade do material inorgânico que chega aos ecossistemas aquáticos continentais é muito variável e depende das características geológicas da região onde ele se localiza.

No Brasil, os casos mais frequentes de degradação de ecossistemas aquáticos ocorrem pelo aporte de silte, argilas e areias (partículas de tamanho superior a 0,06mm). Podem ser duas as origens desses materiais: a própria **BACIA DE DRENAGEM** e os aterros do próprio ecossistema com materiais inorgânicos provenientes de outros locais.

Na maioria dos casos detectados no Brasil, o desmatamento, as atividades de mineração, a instalação de parques industriais e residenciais, associados às chuvas, são os maiores responsáveis pela degradação dos ecossistemas aquáticos continentais por materiais inorgânicos. Assim sendo, o uso não-racional da bacia de drenagem tem reflexos diretos sobre a qualidade dos ecossistemas aquáticos que a compõem.

O desmatamento da bacia de drenagem e a consequente exposição do solo facilitam os processos de erosão que, no Brasil, são ainda acelerados pelas fortes chuvas, típicas na maior parte do nosso território.

BACIA DE DRENAGEM

Área da superfície terrestre que drena água, sedimentos e materiais dissolvidos para um determinado curso de rio. O limite de uma bacia de drenagem é conhecido como divisor de drenagem ou divisor de águas. Uma determinada paisagem pode conter um certo número de bacias drenando para um reservatório terminal comum, como o oceano ou mesmo um lago. A bacia de drenagem pode ter vários tamanhos, que variam desde a Bacia Amazônica até poucos metros quadrados que drenam para um pequeno canal erosivo.

Parte considerável das argilas e do silte erodido é transportada para rios e lagos, depositando-se no leito ou na bacia, respectivamente. Com o decorrer do tempo, esses ecossistemas tornam-se cada vez mais assoreados, portanto mais rasos. Em outras palavras, vão sendo transformados em um brejo e, posteriormente, num ecossistema terrestre.

Conseqüências da degradação dos ecossistemas aquáticos por material inorgânico

A análise das conseqüências do aumento da concentração do material inorgânico nos ecossistemas aquáticos depende principalmente do estágio de degradação do ecossistema aquático. Assim, podem ser detectadas desde pequenas alterações nos níveis de turbidez da água até a total destruição do ecossistema aquático.

A degradação desse ecossistema, em decorrência da presença de elevadas concentrações de materiais inorgânicos, faz-se refletir tanto na água como no sedimento lacustre. Na água, os efeitos negativos se fazem facilmente perceptíveis pelo aumento da turbidez, indicando o aumento da quantidade de material inorgânico em suspensão na água.

O aumento da turbidez tem efeito direto sobre a redução da penetração da radiação solar na água, que por sua vez interfere diretamente na redução da fotossíntese dos produtores aquáticos (algas e plantas aquáticas), o que representa menor disponibilidade de alimento no nível trófico dos produtores primários, gerando como conseqüência reflexos negativos em toda a cadeia alimentar.

O aumento da quantidade de partículas em suspensão prejudica os animais planctônicos (a maioria microscópica), pois os sistemas respiratórios e alimentares desses animais são constituídos por um conjunto de microcerdas que são danificadas e/ou imobilizadas. Os peixes, por exemplo, podem ser prejudicados de duas maneiras: através do entupimento das brânquias, que são os órgãos respiratórios. Nesse caso, a argila e o silte presentes na água são retidos nas brânquias no momento em que a água é forçada pelo peixe (no seu processo de respiração normal) a atravessar o sistema respiratório; e pelos prejuízos causados à cadeia alimentar, já que grande parte dos peixes se alimenta, em alguma fase da vida, de organismos planctônicos (algas e animais microscópicos que vivem flutuando na água).

Os organismos que vivem no fundo (organismos bentônicos) dos ecossistemas aquáticos são fortemente prejudicados pela deposição de grande parte do material erodido sobre a lama natural, alterando drasticamente o seu habitat. Estudos feitos em vários ecossistemas aquáticos brasileiros mostram que, já no início da degradação, pode ocorrer o desaparecimento total dos organismos bentônicos, seres vivos de extrema importância para alimentação de peixes carnívoros e para reciclagem de nutrientes desses ecossistemas.

As plantas aquáticas, que além de fonte de alimento para vários organismos aquáticos são locais de desova de peixes, sofrem grandes alterações na sua composição de espécies. Com a redução da profundidade do ecossistema aquático em decorrência do assoreamento, as plantas enraizadas na lama, mas que mantêm as folhas fora da água, chamadas plantas emersas (como por exemplo as taboas), têm a sua área de ocupação aumentada.

Além disso, o aumento do material inorgânico em suspensão na água aumenta a absorção da luz, impedindo que esta alcance maiores profundidades. Esse fenômeno leva, geralmente, ao desaparecimento total das plantas aquáticas que crescem totalmente submersas na água. Você deve se lembrar de que a luz é fundamental para que as plantas realizem a fotossíntese. Nesses ambientes ocorre o aumento de plantas que flutuam na superfície d'água, como os aguapés e alfaces-d'água.

A aceleração do crescimento das taboas, aguapés e alfaces-d'água gera mais matéria orgânica, o que contribui ainda mais para a redução da profundidade do ecossistema. Esse fenômeno é comum em muitas cidades do estado do Rio de Janeiro. Você pode, a partir de agora, observar na sua cidade onde as taboas estão crescendo. Pergunte a antigos moradores sobre o que eles viam no passado no mesmo lugar. Não estranhe o fato de eles dizerem que tomaram banho em uma lagoa que existia no local.

O desmatamento da região na qual o ecossistema aquático se encontra, além de não promover a recarga do lençol freático devido ao rápido escoamento da água da chuva, causa também a eliminação de ecossistemas aquáticos, na medida em que estes se tornam cada vez mais assoreados.

A redução da profundidade do corpo d'água é uma das primeiras consequências do excessivo aporte de material inorgânico, sendo condição fundamental para que enchentes no entorno do ecossistema passem a ocorrer com maior frequência e intensidade.

Os prejuízos causados pelas enchentes de um ecossistema aquático assoreado podem ser de grandes proporções na lavoura, no patrimônio histórico, público e particular. Em muitas regiões do Brasil, a falta de conhecimento, associada à falta de vontade política, resulta em desmatamento, erosão, assoreamento dos corpos d'água e enchentes. Esse modelo de uso não-sustentável do ambiente tem levado a prejuízos financeiros significativos e reduzido consideravelmente a qualidade de vida em muitos municípios.

A eliminação de ecossistemas aquáticos, que representavam a principal ou a única fonte de água potável para uma determinada população, tem se tornado cada vez mais freqüente no Brasil. Inúmeros são os exemplos em que pequenos cursos d'água tiveram sua bacia de drenagem desmatada, resultando em assoreamento total ou parcial.

No estado do Rio de Janeiro, na cidade, em Maricá, na Região dos Lagos, pode-se encontrar um exemplo típico. A quase totalidade das residências e do comércio obtinha sua água a partir do rio Ubatiba, o qual tinha uma vazão de 50 litros por segundo. Já no final da década de 1990, a vazão não ultrapassava 22 litros por segundo. O assoreamento do leito do rio Ubatiba é a principal causa da escassez de água no município e do fato de que, hoje, quase a metade da população depende dos carros-pipa.

Esse fenômeno tem sido observado até em cidades como as estâncias hidrominerais, cujos recursos de água doce representam a principal fonte de receita, além de serem indispensáveis para uso doméstico.

DEGRADAÇÃO DOS ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS PELO AUMENTO DA SALINIDADE (SALINIZAÇÃO)

Salinidade é a medida da quantidade de sais minerais dissolvidos na água. Na prática, corresponde ao peso em gramas de sais presentes em 1.000 gramas de água. Entre os principais íons formadores de sais que podem permanecer dissolvidos na água destacam-se cálcio, potássio, sódio, magnésio, bicarbonato, cloreto e sulfato.

A água, para ser considerada doce, deve ter concentração de cerca de 0,5 grama de sais por 1.000 gramas de água. A água do mar, por sua vez, tem concentração de cerca de 35 gramas de sais por 1.000 gramas de água.

Na natureza, encontramos ecossistemas aquáticos com valores de salinidade que variam de 0,5 grama por 1.000 gramas de água (água doce) até valores de 45 gramas de sais por 1.000 de água (água hipersalina).

No entanto, através da intervenção do homem, tem sido possível alterar de maneira acentuada os valores de salinidade de muitos corpos d'água, em especial do lençol freático. Em alguns casos, alterações dos valores de salinidade acarretaram grandes prejuízos econômicos às populações humanas, conforme você vai estudar a seguir.

Exemplos da degradação do recurso de água doce, decorrente do aumento dos valores de salinidade, remontam a cerca de seis mil anos atrás, quando na planície de inundação dos rios Tigre e Eufrates (Mesopotâmia) a irrigação feita erroneamente causou inicialmente a salinização do solo e, posteriormente, do lençol freático. Como consequência, houve uma redução drástica da produção agrícola, um dos fatores a que é atribuído o declínio da cultura sumeriana, civilização que habitava a região da baixa Mesopotâmia. Um fenômeno semelhante também foi observado no Sudeste dos Estados Unidos, onde ocorreu, há séculos, o declínio de civilizações indígenas.

Origem da salinização dos ecossistemas aquáticos

As falhas nos projetos de irrigação geralmente levam ao excesso de água no solo. Como grande parte das áreas irrigadas do planeta (80%) está situada em regiões áridas e semi-áridas, pode ocorrer a precipitação de sais no solo, ocasionando a sua salinização, que em muitos casos pode atingir também a água do lençol freático.

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas publicados em 1990 (MEYBECK *et alii*, 1990), na Terra a área total de agricultura irrigada é de cerca de 270 milhões de hectares, sendo que 50% já apresentam problemas de salinização.

A salinização de rios e lagos é um fenômeno muito comum em áreas onde ocorrem processos de salinização do solo. Um dos exemplos mais conhecidos é o caso do rio Colorado, nos Estados Unidos, onde o processo contínuo de salinização das águas acarretou grandes alterações de sua qualidade, tornando-as impróprias à irrigação. Nesse rio, foi detectado que os valores de salinidade variaram de 50mg/L a 900mg/L.

Um exemplo dos efeitos indiretos provocados pela agricultura irrigada na salinização da água de ecossistemas aquáticos é o fenômeno em curso no mar de Aral e no mar Cáspio, que são na realidade dois grandes lagos localizados na Ásia. Nesses imensos lagos tem sido observada uma forte redução de nível d'água, com conseqüente redução de suas áreas e aumento dos valores de salinidade da água.

No caso do mar de Aral, o valor de salinidade aumentou nas últimas décadas de 1 grama/L para 3,5 gramas/L. Isto se deve ao fato de que a água dos rios que neles deságuam foi em grande parte retirada para irrigação de grandes áreas de diferentes culturas. Com isso, ocorreu uma redução drástica do volume de água que o mar de Aral e o mar Cáspio recebiam anualmente. A esse fato associam-se as condições climáticas da região na qual estes lagos estão localizados: deserto e semideserto, onde o balanço hídrico é negativo (há mais perdas de água por evaporação do que a reposição pelas chuvas).

No Brasil, poucos são os estudos sobre a salinização das águas subterrâneas e superficiais (rios e lagos). Temos alguns exemplos no Nordeste brasileiro. Em partes dessa região, foi constatado que a água da chuva após o escoamento superficial tem a sua salinidade aumentada em quatro vezes e, após atingir o lençol freático, em 50 vezes. Também no Sul do Brasil há relatos da ocorrência de salinização do lençol freático em áreas onde ocorre a irrigação de cultivo de arroz.

A salinização das águas subterrâneas e das águas superficiais representa, em muitas regiões no nosso país, uma importante ameaça à integridade ecológica desse recurso natural. A degradação desses recursos torna inviável o desenvolvimento agrícola, visto que a água salinizada é imprópria à irrigação, pois representa um estresse à vegetação, da mesma maneira que se torna imprópria para uso industrial e doméstico.

Somente o uso racional dos recursos hídricos na irrigação pode reduzir a degradação dos ecossistemas aquáticos pela salinização. Todos os esforços devem ser realizados, pois a dessalinização, que é praticamente a única possibilidade de recuperação desses recursos, é uma tecnologia ainda inviável economicamente.

DEGRADAÇÃO DOS ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS PELAS CHUVAS ÁCIDAS

Em 1872, o químico inglês Robert August Smith, pela primeira vez, na área industrial de Manchester (Inglaterra), estabeleceu a estreita relação entre a queima de carvão e os danos à vegetação e a prédios devido à presença de chuvas ácidas. No entanto, somente a partir da década de 1950, e em especial na década de 1960, foi demonstrada a ligação entre as emissões de óxido de enxofre (SO_2) e de óxido de nitrogênio (NO_x) dos principais parques industriais da Inglaterra, com danos às florestas da Escandinávia, especialmente as da Suécia. A partir dessa constatação, ficou comprovado que as chamadas chuvas ácidas não eram restritas apenas à Inglaterra, mas a vários países europeus e norte-americanos.

A matéria-prima para a formação das chuvas ácidas são os óxidos de enxofre e de nitrogênio, gerados a partir da queima de combustíveis fósseis (80%), bem como de vulcões e fontes biológicas (20%). Em regiões industrializadas, a queima de combustíveis fósseis pode constituir a única fonte de óxidos de enxofre e de nitrogênio para a atmosfera.

A formação de chuvas ácidas ocorre devido às reações químicas que ocorrem na atmosfera, nas quais os óxidos de enxofre e de nitrogênio reagem com a água, formando ácido sulfúrico e ácido nítrico. Esses ácidos são formados em pequenas concentrações, no entanto suficientes para baixar os valores de pH da chuva. Geralmente de 5,7 ela passa para 4,5-5,5, formando então as chamadas chuvas ácidas. Casos extremos de redução dos valores do pH da chuva foram relatados na Escócia, onde foi detectado um valor de 2,5, equivalente ao do vinagre.

Consequências das chuvas ácidas sobre os ecossistemas aquáticos

Os primeiros estudos acerca dos efeitos das chuvas ácidas sobre os ecossistemas foram realizados no ambiente terrestre, especialmente em florestas. Nesses ecossistemas, os danos se tornavam, inicialmente, evidentes por meio da queda de folhas e, numa fase posterior, da morte do vegetal atingido. As paisagens que se formam em áreas fortemente atingidas por chuvas ácidas são caracterizadas por árvores desfolhadas e secas, formando os denominados “paliteiros”.

Os efeitos negativos das chuvas ácidas nos ecossistemas aquáticos foram detectados muito tempo após. Esse fato se deve à maior capacidade dos ecossistemas aquáticos em neutralizar os efeitos das chuvas ácidas. Em outras palavras, quanto maior for a concentração de compostos tamponadores dissolvidos na água, como cálcio, carbonato e bicarbonato, tanto maior é a sua capacidade de neutralizar as chuvas ácidas que chegam ao ecossistema. Fazendo uma analogia com o organismo humano no qual os anticorpos neutralizam os agentes externos que causam doenças, os compostos tamponadores neutralizam os agentes externos que causam a acidificação das águas.

Os efeitos da chuva ácida sobre ecossistemas aquáticos são detectados quando começa a redução da concentração de compostos tamponadores dissolvidos na água. Assim, aqueles ecossistemas aquáticos localizados em regiões que, geologicamente, não favorecem a disponibilização de compostos tamponadores são aqueles mais fragilizados frente aos impactos causados por chuvas ácidas.

Uma das evidências mais contundentes do início do processo de acidificação da água de um ecossistema é o aumento da concentração de alumínio presente em suas águas. Pesquisa realizada em vários lagos canadenses submetidos à acidificação artificial demonstrou que os valores de concentração do alumínio alteraram-se de 20ppm (partes por milhão) para valores que variaram entre 50 e 1.000ppm (MEYBECK *et alii*, 1990).

Como consequência, ocorreu a formação de compostos, como o sulfato de alumínio, que têm a propriedade de arrastar para o fundo (precipitar) o material que está dissolvido e em suspensão na água. Você se lembra? Esse fenômeno é o mesmo que ocorre quando se deseja limpar a piscina. Nesse caso, os produtos mais utilizados são aqueles que têm alumínio em sua composição.

Como consequência da precipitação de material dissolvido e em suspensão após o processo de acidificação, observa-se o contínuo aumento da transparência da água. Esse fenômeno é inicialmente comemorado por banhistas e pescadores.

No entanto, com o desenvolvimento das pesquisas constatou-se que a transparência da coluna d'água indicava, na prática, uma séria forma de degradação, com implicações sobre todos os níveis tróficos e na eliminação de espécies, além da redução do valor econômico e social do ecossistema.

O aumento da acidez da água acelera também a liberação de metais pesados do sedimento aquático, incrementando significativamente sua concentração na água e sua acumulação nas algas, nos herbívoros e até o topo das cadeias alimentares aquáticas, que são, geralmente, os peixes. É comum observar que peixes de ambientes acidificados artificialmente apresentam elevadas concentrações de mercúrio e outros metais pesados.

Devido aos problemas de saúde causados pelos metais pesados, conforme você já teve oportunidade de estudar, a acidificação dos ecossistemas aquáticos pode ter consequências negativas diretas sobre a saúde da população que se alimenta de peixes e outros organismos extraídos desses ecossistemas. Em consequência do aumento da concentração de alumínio e de outros elementos, ocorre a redução drástica da qualidade da água para fins de uso doméstico, de irrigação ou industrial. Esse fato tem enormes consequências negativas sobre a economia de muitas regiões.

À medida que as pesquisas avançaram, pôde ser identificado que a acidificação resulta também em profundas alterações na variedade e na densidade das espécies de animais e plantas aquáticas.

Entre as algas, observa-se a eliminação quase completa de espécies unicelulares, passando a predominar algas do tipo filamentosa (formas de fios de cabelos) que permanecem presas a substratos. Entre essas algas

estão, principalmente, as chamadas algas azuis (cianofíceas). Essas algas têm algumas características muito típicas, como sabor desagradável e substâncias tóxicas na sua composição química. Outra característica que pode torná-las um fator complicador para a qualidade da água é quando elas passam a liberar para a água as substâncias tóxicas. A liberação dessas substâncias pode ocorrer quando elas ainda estão vivas, mas também após a sua morte. Mais detalhes sobre essas substâncias você vai estudar no capítulo sobre as consequências do lançamento de esgotos nos ecossistemas aquáticos.

Entre os animais, notadamente os invertebrados, é também observada drástica redução do número de espécies: as espécies remanescentes são aquelas resistentes à acidez. Entre os peixes, a redução pode chegar à totalidade das espécies. Dados obtidos por pesquisadores noruegueses mostraram que, dos 1.500 lagos estudados, em 1.050 (70%) não foi encontrada nenhuma espécie de peixe. Nesses lagos, o pH era 4,3, valor que os incluía entre os lagos mais acidificados artificialmente. Dados semelhantes também foram encontrados no Canadá e nos Estados Unidos (Nova York).

RESUMO

O desmatamento e os aterros são as principais fontes de materiais inorgânicos, argilas e siltes, para os ecossistemas aquáticos continentais. Várias são as consequências negativas para os ecossistemas decorrentes da presença desses materiais em níveis superiores aos considerados normais. A água aumenta a sua turbidez, que tem efeito direto sobre a intensidade de luz. Com a redução da luminosidade, as algas e outras plantas aquáticas são afetadas pela redução das taxas de fotossíntese.

Também os organismos, tanto plantas como animais, que vivem no fundo dos ecossistemas aquáticos sofrem grandes perdas, chegando, muitas vezes, à eliminação total, com prejuízos para os peixes e para a ciclagem de nutrientes do ecossistema.

A redução da profundidade é outra consequência da deposição de materiais inorgânicos nos ecossistemas aquáticos. Em várias cidades brasileiras encontram-se rios, lagos e lagoas que foram totalmente assoreados e transformados em brejos ou mesmo em área de edificações.

Alterações dos valores de salinidade da água devido ao uso não adequado da bacia de drenagem representam uma importante forma de degradação dos ecossistemas aquáticos continentais. Além de promover alterações na composição da flora e da fauna aquáticas, reduz e/ou inviabiliza a qualidade da água para fins de uso doméstico e para irrigação (produção de alimentos).

As chuvas ácidas ocorrem, principalmente, em regiões industrializadas, devido à liberação de óxidos de enxofre e de nitrogênio a partir da queima de combustíveis fósseis (petróleo). Esses óxidos reagem com a água da atmosfera formando ácidos sulfúrico e nítrico, reduzindo o pH da água da chuva, originando as chamadas chuvas ácidas.

Os efeitos das chuvas ácidas sobre os ecossistemas aquáticos continentais são: aumento da concentração de metais pesados na água, tornando-a imprópria para consumo doméstico, industrial e para irrigação; alteração na composição das espécies: muitas desaparecem em detrimento do surgimento de outras, muitas vezes produtoras de substâncias tóxicas, como é o caso das algas.



ATIVIDADES

1. Por que o desmatamento está relacionado ao assoreamento dos corpos d'água, enchentes e inundações?

2. Quais os impactos sobre a fauna e a flora de um ecossistema aquático que recebe grande aporte de materiais inorgânicos?

3. De que forma a emissão de gases como óxidos de enxofre e nitrogênio pode influenciar a poluição por metais pesados?

4. Cite um dos problemas que podem ser gerados pela irrigação indiscriminada de uma região e quais as consequências mais graves relacionadas aos estoques de águas subterrâneos?

5. Cite algumas consequências da acidificação nos ecossistemas terrestres em comparação com os ecossistemas aquáticos.

**Lançamento de esgotos:
uma ameaça à integridade
ecológica e sanitária de
ecossistemas aquáticos
continentais**

AULA 17

objetivo

- Esclarecer o aluno sobre os efeitos do lançamento de esgotos no metabolismo dos ecossistemas aquáticos continentais, mostrando suas implicações sobre a biota bem como seus efeitos na sociedade.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a degradação dos ecossistemas aquáticos continentais por esgotos é a forma de impacto mais freqüente. Os esgotos podem ter duas origens principais: as residências (esgoto doméstico) e as indústrias (esgoto industrial). Além da origem, o esgoto doméstico e o industrial se diferenciam também pela composição química.

Considerando as fontes domésticas e industriais, calcula-se que são lançados, diariamente, cerca de 10 bilhões de litros de esgotos nos rios, lagoas e represas brasileiras. Desse total, 92% não sofrem nenhum tipo de tratamento. O restante (8%) sofre apenas tratamento primário (tratamento mecânico), responsável apenas pela retirada de materiais grosseiros. Poucos são os casos em que ocorre o tratamento secundário (tratamento biológico), no qual ocorre a redução da concentração de matéria orgânica.

No caso dos esgotos industriais, sua composição é fortemente influenciada pelo tipo de atividade que os gerou. Em uma indústria de cromagem, por exemplo, a principal característica será a presença de elevadas concentrações de metais pesados. Já em uma indústria de beneficiamento de carnes, a elevada concentração de matéria orgânica ditará a característica do esgoto.

Os esgotos domésticos caracterizam-se pela elevada concentração de matéria orgânica, composta principalmente por proteínas, carboidratos e gorduras, entre outros compostos orgânicos. Tanto os esgotos domésticos como os industriais podem causar dois tipos principais de degradação nos ecossistemas aquáticos: a degradação sanitária e a degradação ecológica.

DEGRADAÇÃO ECOLÓGICA (EUTROFIZAÇÃO ARTIFICIAL) DOS ECOSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS POR ESGOTOS

Os ecossistemas aquáticos passam por um processo lento e contínuo de enriquecimento por sais minerais, principalmente nutrientes compostos de fósforo e nitrogênio. Esse processo pode se estender por milhões de anos. Tal fenômeno é denominado eutrofização natural.

Assim, ao longo de sua evolução, os ecossistemas aquáticos podem passar da condição de pobres em nutrientes (oligotróficos) para a condição de concentrações mais elevadas de nutrientes (eutróficos). Ao longo desse processo, os componentes abióticos (pH, transparência da água, concentração de oxigênio e sais minerais) dos ecossistemas sofrem lentas e contínuas alterações, que são acompanhadas por variações dos componentes bióticos (fitoplâncton, zooplâncton, **BENTOS**, peixes etc.).

BENTOS

Todos os organismos, tanto vegetais quanto animais, que vivem associados ao sedimento de ecossistemas aquáticos.

Quando, no entanto, o ecossistema aquático passa a receber nutrientes de fontes artificiais, suas águas começam a apresentar um processo de degradação ecológica conhecido por eutrofização artificial.

Essa terminologia é empregada para descrever um amplo e complexo conjunto de alterações químicas, físicas e biológicas, a que os ecossistemas aquáticos estão submetidos quando passam a receber um aporte adicional de nutrientes produzidos pelo homem. Esse processo é, na prática, uma adubação artificial.

Na eutrofização artificial, o fósforo e o nitrogênio deixam de atuar como fatores controladores do crescimento dos produtores primários (algas e plantas aquáticas superiores); esse nível trófico é alterado na composição, contribuindo para o desaparecimento de algumas espécies e o surgimento de outras, bem como de alterações na densidade de espécies. Como numa reação em cadeia, os demais níveis tróficos (herbívoros e carnívoros) também são alterados qualitativa e quantitativamente.

Praticada com controle, com o objetivo de aumentar a produção pesqueira, a eutrofização artificial é desejável. Dela resulta a multiplicação das algas que servem de alimento para os microcrustáceos, que, por sua vez, constituem o alimento da maioria dos peixes.

As principais causas de eutrofização artificial no Brasil são os esgotos domésticos e industriais, além das águas oriundas de áreas agrícolas que recebem adubos químicos. Em ambos os casos, compostos de fósforo e nitrogênio em quantidade suficiente podem ser aportados para os ecossistemas aquáticos, iniciando o processo de eutrofização artificial. Como você já deve ter percebido, o que estamos fazendo na prática é a adubação das águas, mencionada no início desta aula.

Principais características da eutrofização artificial

A eutrofização artificial transforma o ecossistema aquático em um grande vaso de ações químicas e biológicas, cuja característica principal é a quebra do **EQUILÍBRIO ECOLÓGICO**. Com o estabelecimento da eutrofização artificial, o ecossistema passa a produzir mais carbono do que é capaz de decompor. A fase de eutrofização artificial (desequilíbrio ecológico) é caracterizada por profundas alterações no equilíbrio ecológico do ecossistema (**Figura 17.1**).

EQUILÍBRIO ECOLÓGICO

Em um ecossistema pode ser entendido pelo equilíbrio entre a produção e o consumo de carbono.

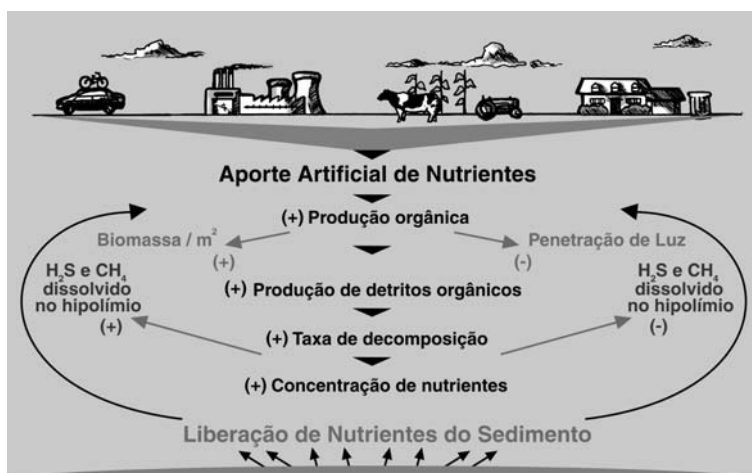


Figura 17.1: Principais fontes de nutrientes e consequências do processo de eutrofização artificial em ecossistemas aquáticos.

Um dos primeiros sinais do início da eutrofização artificial é o aumento da concentração de compostos de fosfato e de nitrogênio. A consequência direta disso é o aumento da taxa de crescimento e reprodução das algas, denominada produção primária do fitoplâncton. A consequência do aumento da produção primária é o aumento da concentração de matéria orgânica no ecossistema. Essa matéria orgânica é decomposta pelas bactérias, resultando, portanto, no aumento da taxa de decomposição, cujo resultado é o aumento da concentração de compostos de fósforo e nitrogênio. E estes são reutilizados pelo fitoplâncton.

A elevação das taxas de decomposição promove também o aumento do consumo de oxigênio dissolvido na água. Essa dinâmica resulta, com frequência, no estabelecimento de condições anaeróbias, cenário propício à produção de gases tóxicos para a maioria dos organismos aquáticos, tais como o gás sulfídrico e o metano. A mortandade de peixes em ambientes eutrofizados artificialmente pode ser atribuída, frequentemente, à presença desses gases na água (**Figura 17.2**).



Figura 17.2: Presença de gases na água.

As modificações do meio resultam em alterações na composição das espécies vegetais e animais. Como no caso do fitoplâncton, as espécies mais sensíveis às grandes transformações na concentração de oxigênio tendem a desaparecer nessas condições; são substituídas por espécies mais tolerantes, como aquelas do grupo das algas azuis (cianobactérias), que se tornam as algas predominantes nos ecossistemas que apresentam estágios adiantados do processo de eutrofização artificial.

Durante o processo de eutrofização artificial observa-se, entre as plantas aquáticas superiores, uma drástica redução do número de espécies de plantas que crescem totalmente submersas na água e das plantas que crescem com as folhas fora da água. Tal processo favorece o crescimento de plantas, como o aguapé, que crescem totalmente na superfície da água.

As profundas alterações no nível trófico dos produtores resultam em mudanças nos demais níveis tróficos. Em decorrência desse fato, o fluxo de energia do ecossistema submetido à eutrofização artificial é também alterado (Figura 17.3).

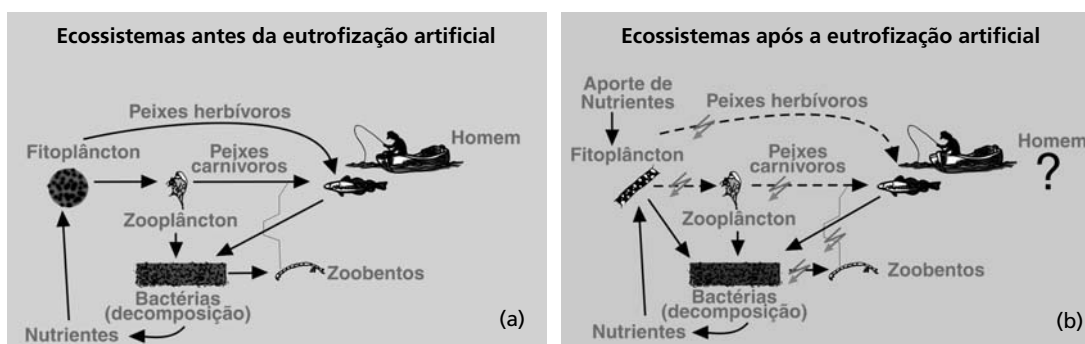


Figura 17.3: Comparação entre um ecossistema antes (a) e depois (b) da eutrofização artificial. Observa-se mudanças na composição das espécies, especialmente de algas e no fluxo de energia.

Especialmente nos estágios finais do processo de eutrofização, apenas uma pequena quantidade de algas é consumida pelos herbívoros. O restante entra na cadeia de detritos em que é decomposta. O sabor desagradável, o grande tamanho, que dificulta a ingestão, e muitas vezes a presença de substâncias tóxicas tornam as algas presentes nesses estágios pouco predadas pelos herbívoros.

Essa fase pode ser facilmente reconhecida pela ocorrência de grande densidade de algas (especialmente filamentosas), escassez de oxigênio na água e mortandade freqüente de peixes. Considera-se geralmente que o ecossistema aquático está em processo de eutrofização

artificial quando surgem as primeiras mortandades de peixes. No entanto, deve ser ressaltado que essa fase representa o estágio final do processo de degradação ecológica. A reversão desse quadro somente é possível com o emprego de muita tecnologia e capital. Assim sendo, torna-se imperiosa a prática de medidas que visem ao controle da eutrofização artificial ainda no início do processo. A intervenção nesse momento tem duas vantagens fundamentais: baixo custo financeiro e enormes possibilidades de sucesso.

Implicações socioeconômicas da eutrofização artificial

A eutrofização artificial pode levar um corpo d'água a se tornar inaproveitável como fonte para abastecimento doméstico, irrigação, geração de energia hidrelétrica, produção de pescado ou área de lazer.

A redução do potencial de uso de um ecossistema devido ao processo de eutrofização artificial tem, entre outros, reflexos diretos sobre a desvalorização imobiliária e turística da região na qual esse ecossistema está inserido. Um dos motivos principais é a redução da qualidade da água, que é consequência principalmente da presença de grande quantidade de partículas em suspensão e de substâncias tóxicas, e da profundidade da coluna d'água, devido ao acúmulo de matéria orgânica sobre o sedimento natural.

Pesquisas recentes, realizadas em ecossistemas aquáticos brasileiros submetidos à eutrofização artificial, têm demonstrado a presença de algas do grupo das cianobactérias, que são capazes de produzir substâncias altamente tóxicas (neurotoxinas e hepatotoxinas) para os animais, inclusive ao homem. De acordo com essas pesquisas, o homem pode ser afetado diretamente por essas substâncias através da ingestão de água ou pela inalação. Indiretamente, as toxinas podem atingir o homem por meio do alimento, especialmente peixes.

No homem, as neurotoxinas afetam diretamente o sistema nervoso central, paralisando em pouco tempo (dependendo da dose, em minutos) vários órgãos vitais. Por outro lado, as hepatotoxinas atingem o sistema hepático, inclusive o fígado.

É atribuída à presença dessas substâncias na água a mortandade de peixes em vários ecossistemas aquáticos eutrofizados artificialmente.

Como você pode observar, as freqüentes mortandades de peixes registradas em muitas lagoas do estado do Rio de Janeiro são consequência da presença de gases tóxicos na água, como vimos anteriormente, e da presença de substâncias tóxicas liberadas por algumas espécies de algas. Muitos cientistas consideram que a presença desses gases e dessas substâncias é mais importante para causar as mortandades de peixes do que a própria ausência do oxigênio.

Entre os casos fatais de contaminação por toxinas produzidas por cianobactérias, destaca-se o chamado “caso de Caruaru”. Em 1996, em uma clínica da cidade de Caruaru, Pernambuco, vários pacientes de hemodiálise (limpeza do sangue com a ajuda de aparelhos) morreram e 116 tiveram sérios problemas de saúde relacionados a náuseas e vômitos. Investigações mostraram que a causa das mortes foi a utilização, nesse processo, de água de uma represa eutrofizada artificialmente (Açude das Tabocas), que apresentava elevadas concentrações de hepatotoxinas produzidas por cianobactérias.

RESUMO

No Brasil, o lançamento de esgotos representa a principal forma de degradação dos ecossistemas aquáticos continentais, responsável pela degradação sanitária e ecológica (eutrofização artificial). Ambas reduzem drasticamente a qualidade da água e eliminam as espécies, além de inviabilizarem, com freqüência, a possibilidade de uso desses ecossistemas como área de lazer.

A eutrofização artificial representa o aumento da concentração de nutrientes, especialmente de compostos de fósforo e de nitrogênio, que resulta em profundas alterações sobre o ambiente e sobre as espécies de plantas e animais aquáticos. As evidências mais claras da eutrofização artificial são a presença de algas filamentosas, que reduzem a qualidade da água pela produção de substâncias tóxicas ou pela grande quantidade, que dificulta o uso do ecossistema para banho, pesca e a prática de esportes náuticos. Os estágios finais do processo de eutrofização artificial são caracterizados pelas freqüentes mortandades de peixes devido à presença de gases tóxicos como o sulfídrico e o metano, pela presença de substâncias tóxicas produzidas por algas e pela ausência de oxigênio na água.



ATIVIDADES

1. O que é eutrofização e quais suas implicações ecológicas para os ecossistemas aquáticos?

2. Cite uma das consequências nefastas do aumento das taxas de decomposição devido às maiores quantidades de matéria orgânica geradas pela eutrofização.

3. Quais são os efeitos, para a saúde, das substâncias tóxicas que podem ser geradas no ambiente eutrofizado?

4. Na sua opinião, qual deve ser a utilização de um corpo d'água: o despejo de esgoto ou para lazer, esportes ou produção de peixes?

Degradação sanitária e controle da degradação dos ecossistemas aquáticos continentais

objetivo

- Esclarecer sobre os efeitos do despejo de esgotos domésticos não tratados em ecossistemas aquáticos continentais bem como mostrar as principais formas de mitigação desse impacto.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o lançamento de esgotos domésticos e/ou industriais sem nenhum tratamento é a principal forma de degradação sanitária dos ecossistemas aquáticos continentais. Essa forma de degradação tem sérias consequências para o homem, na medida em que o uso do ecossistema como área de lazer e a ingestão de pescado originado de ecossistemas aquáticos degradados do ponto de vista sanitário podem comprometer a saúde da população. Nesta aula iremos estudar as principais consequências da degradação sanitária e as possibilidades disponíveis para minimizar ou evitar a degradação dos ecossistemas aquáticos continentais.

Degradação sanitária dos ecossistemas aquáticos continentais por esgotos domésticos

A degradação sanitária dos rios, lagoas e do lençol freático constitui um dos problemas mais graves a serem enfrentados pelos países do terceiro mundo.

Quando algum corpo d'água, inclusive o lençol freático, recebe esgotos não tratados ou tratados não adequadamente, passa a ser uma fonte importante de doenças. No Brasil, as doenças transmitidas pela água mais comuns são: hepatite, diarreia, gastroenterite, febre, vômitos, tifo, cólera, leptospirose (bactérias), disenteria (protozoários), verminoses (vários tipos de vermes) (MASON, 1981).

Dados da ONU apontam para a existência de 1,5 bilhão de pessoas expostas a doenças transmitidas pela água contaminada. Essas mesmas fontes estimam que, diariamente, 35.000 crianças morrem em todo o mundo por causa desses fatores.

Em muitos casos, o simples contato do corpo com a água através do banho em um ecossistema utilizado como receptor de esgotos é suficiente para provocar diferentes tipos de doenças causadas por fungos (dermatoses) e irritação nos olhos.

O lançamento de esgotos em ecossistemas aquáticos resulta também na degradação estética, que em muito contribui para a redução de sua importância como área de valorização turística, além, é claro, da redução da qualidade da água para uso doméstico e para irrigação de algumas culturas.

Como evitar a degradação dos ecossistemas aquáticos continentais

A degradação dos ecossistemas aquáticos pode ser totalmente evitada e, em muitos casos em que já se encontra estabelecida, pode ser totalmente revertida.

A experiência tem demonstrado que as intervenções que objetivam minimizar o estado de degradação possuem mais chance de sucesso, com menor custo financeiro, quando ocorrem no início do processo. Dentre os países da América Latina, o Brasil pode ser considerado, devido ao grande número de especialistas de que dispõe e a experiência acumulada, como um dos países que tem maiores chances de recuperar e preservar seus ecossistemas aquáticos continentais.

A prática do dia-a-dia no trato das ações relacionadas às questões ambientais demonstra que, com frequência, o componente político se sobrepõe aos interesses na recuperação e na preservação ambiental.

No caso da recuperação e da preservação dos ecossistemas aquáticos continentais, essa questão é ainda mais evidente. Um ecossistema, como por exemplo um rio, pode ter sua área abrangendo vários municípios cujos interesses de uso dos ecossistemas aquáticos, e de seus recursos, podem ser diversificados e muitas vezes conflitantes, para atender apenas interesses pessoais, de entidades ou corporações.

Assim sendo, na abordagem para recuperar e preservar um ecossistema aquático continental deve prevalecer o conceito de bacia de drenagem. Esse conceito considera o ecossistema aquático de maneira integrada, com os demais ecossistemas terrestres limítrofes, e não como um elemento isolado da paisagem.

No caso específico dos ecossistemas aquáticos continentais, há necessidade da integração entre os diferentes segmentos da sociedade responsáveis pela sua recuperação e sua preservação. Essa integração torna-se indispensável para a obtenção de resultados consistentes e de longa duração.

Existem várias intervenções que podem promover a recuperação e a preservação dos ecossistemas aquáticos continentais; entre elas, destacam-se:

- tratamento de esgotos;
- recuperação; e
- controle da degradação da bacia de drenagem.

Tratamento de esgotos

O ideal seria que os ecossistemas aquáticos continentais não fossem utilizados como local para o lançamento de esgotos, mesmo que tratados. No entanto, se o ecossistema aquático for utilizado como corpo receptor de esgotos, estes devem ser lançados somente após o seu tratamento de maneira adequada. No Brasil, ainda é muito comum considerar (mesmo por especialistas) como tratamento adequado somente a redução da carga de matéria orgânica. Nesse caso, os resultados são mais satisfatórios com relação às concentrações de oxigênio da água e das condições sanitárias.

Para minimizar de maneira mais eficiente o surgimento do processo de eutrofização artificial, deve ser considerada também no tratamento dos esgotos a eliminação da carga de nitrogênio e de fósforo. Somente assim será possível evitar a degradação do ecossistema aquático e garantir a qualidade ambiental.

O tratamento de esgotos pode ser realizado através do emprego de diferentes tecnologias. A maioria delas compreende três etapas (veja na Figura 18.1):

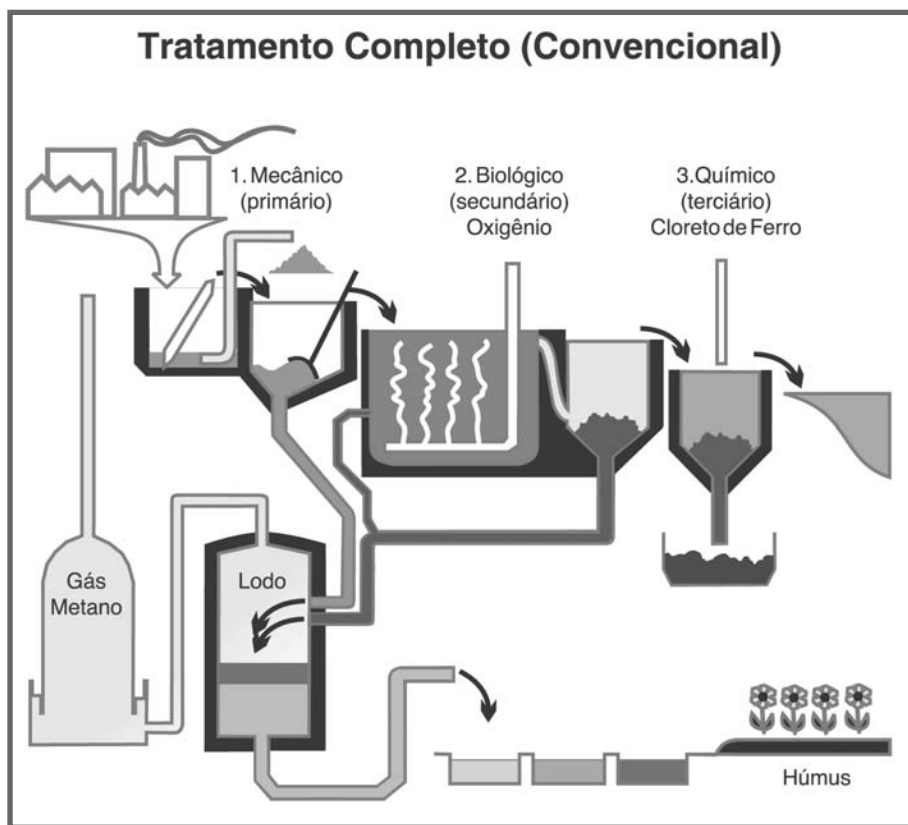


Figura 18.1: Uma das possibilidades de tratamento de esgotos em três estágios.

- tratamento primário, em que a sedimentação do material mais grosseiro (material em suspensão de maior tamanho) forma uma camada de lodo;

- tratamento secundário, também chamado tratamento biológico, no qual ocorre a redução da concentração de matéria orgânica; e

- tratamento terciário ou tratamento químico, no qual, além da redução da concentração de matéria orgânica, ocorre a eliminação de fósforo e nitrogênio.

Outra técnica de tratamento de esgotos domésticos e industriais de grande eficiência e de baixíssimo custo financeiro é aquela que utiliza **MACRÓFITAS AQUÁTICAS** (plantas verdadeiramente aquáticas e anfíbias). Essa técnica consiste em fazer o esgoto fluir, lentamente, através de um banco de macrófitas aquáticas que, juntamente com as algas e, sobretudo com as bactérias a elas consorciadas, depuram o esgoto (veja na Figura 18.2).

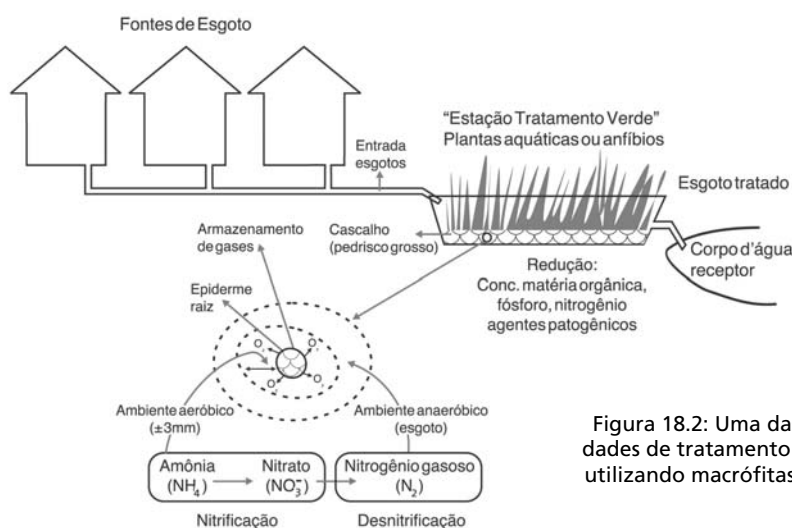


Figura 18.2: Uma das possibilidades de tratamento de esgotos utilizando macrófitas aquáticas.

Existem relatos de que já na Idade Média as macrófitas aquáticas eram utilizadas no tratamento de esgotos. No entanto, relatos mais consistentes a respeito da eficiência desse método surgiram em 1912 no Estado de Wisconsin, Estados Unidos.

Na década de 1950, pesquisadores alemães propuseram a construção de estações de tratamento de esgotos nas quais as macrófitas aquáticas eram os principais agentes de depuração. Atualmente, países em todos os continentes utilizam essa técnica com muito sucesso. Somente nos Estados Unidos, centenas de cidades tratam os seus esgotos com plantas aquáticas.

MACRÓFITA AQUÁTICA

Designa um grupo de plantas que possui alguma fase do seu ciclo de vida diretamente ligada a ambientes aquáticos ou encharcados. Esse grupo abrange desde algas macroscópicas até plantas superiores, como por exemplo, a taboa, o aguapé, a alface d'água e o pinheirinho d'água.

O princípio dessa técnica consiste na utilização do esgoto como adubo em tanques artificiais (brejos artificiais) ou em brejos naturais densamente colonizados com macrófitas aquáticas. Durante o contato do esgoto com as raízes, com as folhas e com as demais estruturas das macrófitas aquáticas e com o solo aquático, ocorrem quatro processos de fundamental importância para a depuração do esgoto:

- A matéria orgânica, composta principalmente por carbono orgânico, é transformada, por ação de bactérias, em carbono inorgânico, ou seja, gás carbônico, que pode ser utilizado na fotossíntese de algas e das próprias macrófitas aquáticas. Em alguns casos o oxigênio pode se esgotar, ficando o ambiente anaeróbio. Neste caso o carbono orgânico não é transformado em gás carbônico, mas sim em metano, que pode se difundir para a atmosfera.

- O fósforo presente em elevadas concentrações no esgoto é absorvido pelas macrófitas aquáticas, algas microscópicas, e bactérias, além de ser depositado no fundo, após sua aderência (adsorção) às partículas orgânicas e às argilas presentes no esgoto.

- O nitrogênio, que no esgoto está principalmente sob a forma de nitrato e amônia, tanto pode ser absorvido diretamente pelos produtores primários como pode ser eliminado sob a forma de gás (N_2) na atmosfera. Essa eliminação ocorre na região próxima às raízes, onde o oxigênio é liberado pela atividade fotossintética das macrófitas. Na presença de oxigênio (ambiente aeróbio), algumas bactérias transformam a amônia em nitrato (nitrificação). Este, no esgoto sem oxigênio (ambiente anaeróbio), é transformado por outro tipo de bactérias em nitrogênio gasoso (desnitrificação), que se difunde para a atmosfera.

- Os agentes causadores de doenças no homem, muito comuns no esgoto, como vírus, bactérias, fungos e vermes, são eliminados por predação por outros organismos ou morrem pelo fato de não suportarem as condições ecológicas do meio. Vários cientistas atribuem o poder antibiótico de algumas substâncias excretas pelas raízes de macrófitas aquáticas como o principal fator responsável pela grande eficiência na eliminação de bactérias no sistema de tratamento de esgoto que utiliza esses vegetais.

No Brasil, experiências com tratamento de esgotos utilizando macrófitas aquáticas têm sido realizadas nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Rio de Janeiro.

Experiência feita no município de Macaé, norte do Rio de Janeiro, demonstra a eficácia da técnica, desenvolvida por pesquisadores do Departamento de Ecologia da UFRJ. A lagoa Imboassica recebe esgoto doméstico por meio de canais. Um deles é densamente colonizado por macrófitas aquáticas (taboa, aguapé e várias espécies de gramíneas anfibias), as quais têm importante papel na depuração dos esgotos que são lançados na lagoa pelos canais.

Neste canal, o esgoto é amostrado e analisado quanto às concentrações de fósforo, nitrogênio e quanto à densidade de bactérias e coliformes fecais (indicadores de contaminação por fezes).

Os resultados demonstram a grande eficiência desses vegetais na redução da densidade de coliformes fecais, que chega a 99%; de fósforo, 97%; e nitrogênio, 94%. Esse resultado é obtido numa “estação” na qual não foi aplicado nenhum recurso financeiro nem é aplicado nenhum produto químico, muito menos é gasta energia para movimentar o sistema de tratamento de esgoto. Todo o sistema é mantido pela energia solar, que ativa o sistema de fotossíntese dos vegetais (ESTEVES, 1998).

Além dos baixos custos financeiros, esse sistema tem a vantagem de reunir numa única estação os três estágios de tratamento, especialmente o terceiro, que é responsável pela eliminação quase total do fósforo e do nitrogênio, principais causas da eutrofização artificial.

O uso de macrófitas aquáticas no tratamento de esgotos é ainda pequeno no Brasil, país que trata apenas 8% de seus esgotos, mesmo assim precariamente, em estações de tratamento convencional, de elevado custo financeiro. Programas bem concebidos e direcionados notadamente para pequenas comunidades (cerca de 20.000 pessoas) poderão conduzir à construção de estações de tratamento de esgotos com base em macrófitas aquáticas. Dessa maneira, se viabilizaria o tratamento de esgotos e se evitaria o potencial de destruição ecológica e sanitária dos ecossistemas aquáticos.

No Brasil, as poucas estações de tratamento de esgotos existentes dispõem do primeiro e, raramente, do segundo estágio de tratamento. A ausência do terceiro estágio de tratamento é justificada por alguns especialistas da área de saneamento pelo elevado custo financeiro. No entanto, quando se considera a importância ecológica, social e econômica de um rio, de um lago ou de uma lagoa e que países sabidamente mais

pobres do que o Brasil já tratam seus esgotos até o terceiro estágio antes de lançá-lo nesses ecossistemas, conclui-se pela necessidade de se buscar outras explicações mais plausíveis.

Deve ser considerado, nessa análise de custos, que os benefícios trazidos para a sociedade como consequência da tomada dessa decisão devem estar em primeiro plano. Um exemplo da não-observância desse fato pode ser extraído da cidade de São Paulo, mas certamente você conhece outro exemplo bem próximo, no seu próprio município. O lançamento de esgotos ricos em fósforo e nitrogênio nos principais mananciais de abastecimento de água da cidade de São Paulo resultou em processo de eutrofização artificial que é, segundo os técnicos, um dos principais motivos para a grave escassez de água doce que assola aquela cidade. Portanto, os custos que a população está pagando pelo não-tratamento adequado do esgoto são elevadíssimos, a ponto de comprometer não só a qualidade de vida na cidade, mas a própria economia.

Controle da degradação da bacia de drenagem

O controle dos processos de degradação da bacia de drenagem é de fundamental importância para a recuperação e a preservação dos ecossistemas aquáticos. Entre as ações nesse sentido, merecem especial destaque a recuperação e a preservação da vegetação nativa local, que é responsável pelo controle dos processos de erosão e pela manutenção do lençol freático.

A redução da degradação e a preservação da bacia de drenagem passam obrigatoriamente pela mudança de postura da sociedade, notadamente de suas lideranças, frente às questões relacionadas à preservação ambiental. O poder público deve tomar consciência da relevância do gerenciamento da água doce.

Uma das primeiras medidas no sentido da gestão adequada é a administração racional dos recursos de água doce, evitando que tenha sua gestão compartilhada com empresas (geralmente de energia elétrica), administradoras dos reservatórios, órgãos governamentais (responsáveis pela distribuição), autarquias municipais, estaduais e federais, secretarias de governo municipais, estaduais e federais e departamentos de vários ministérios.

Para tanto, a educação ambiental em todas as faixas etárias deve fazer parte do dia-a-dia do cidadão deste século. As crianças de hoje, ou seja, os cidadãos que estarão conduzindo o destino de nossos municípios, inclusive o ambiental, daqui a três décadas, devem ter a oportunidade de compreender que o crescimento econômico somente é válido se for acompanhado da manutenção da qualidade do meio ambiente. Portanto, ao homem de hoje torna-se imperativa a incorporação dos conceitos de crescimento sustentável, pois somente dessa maneira será possível garantir a existência de um meio ambiente, que seja capaz de garantir a sobrevivência desta e especialmente das futuras gerações.

Em outras palavras, a incorporação do modelo de crescimentos sustentável neste início de século XXI é tão importante quanto a erradicação do analfabetismo no século XX.

RESUMO

A degradação sanitária dos ecossistemas aquáticos continentais é resultante principalmente do lançamento de esgoto sem qualquer forma de tratamento. O resultado é que esses ecossistemas passam a ser importantes fontes de contaminação da população com vírus, bactérias, protozoários e vermes, entre outros causadores de graves doenças.

A redução ou a eliminação da degradação dos ecossistemas aquáticos continentais pode ser realizada de várias maneiras, principalmente o tratamento do esgoto que neles é lançado e o rígido controle da degradação da bacia de drenagem.

O tratamento de esgoto é realizado em estações de tratamento, que são estruturas compostas de até três estágios, nos quais os esgotos são tratados a ponto de tornar possível seu lançamento em um ecossistema aquático. No primeiro estágio, o mecânico, são eliminadas as partes sólidas do esgoto; no segundo estágio, o biológico, ocorre a redução da concentração de matéria orgânica; e no terceiro estágio, o químico, ocorre a retirada de fósforo e de nitrogênio, os principais responsáveis pela degradação ecológica dos ecossistemas aquáticos, a eutrofização artificial.

No Brasil, as poucas estações existentes dispõem apenas do segundo estágio. Em consequência, grande parte dos ecossistemas aquáticos continentais está submetida ao processo de eutrofização artificial, por receber esgotos com elevadas concentrações de fósforo e de nitrogênio.

Existem algumas possibilidades eficientes e de baixo custo financeiro para tratar os esgotos até o terceiro estágio. Uma delas é a utilização de plantas aquáticas. O emprego desses vegetais possibilita resumir os três estágios em uma única estação, tendo a vantagem de eliminar do esgoto os compostos de fósforo e de nitrogênio.

O controle eficiente da degradação da bacia de drenagem será possível com programas de Educação Ambiental para a população. Esse procedimento é de fundamental importância como forma de incorporar o conceito de crescimento econômico em bases sustentáveis.



ATIVIDADE

1. Em que a poluição, através de fossas sanitárias, pode influenciar na questão da saúde pública e da mortalidade infantil?

2. Cite as medidas que podem ser tomadas para evitar a degradação dos ecossistemas aquáticos continentais.

3. Diga quais são as três etapas para o tratamento de esgotos e o que cada etapa realiza.

4. Explique como é o funcionamento de uma estação de tratamento de esgotos baseada no modelo com banco de macrófitas aquáticas e quais suas vantagens sobre o modelo tradicional.

5. Lembrando do conceito de bacia de drenagem, por que é importante a vegetação do entorno dos corpos d'água e dos mananciais hídricos?

Anticorpos como entidades

Bloco: Anticorpos Humanizados

objetivos

- Apresentar aos estudantes a história resumida dos anticorpos.
- A primeira aula cobre os períodos em que os anticorpos eram apenas “entidades virtuais” até sua caracterização definitiva como proteínas — fins do século XIX — início do século XX até início dos anos cinquenta.

PREOCUPAÇÃO ESPECIAL

Deixar claro para os estudantes que o conhecimento científico, nas áreas das ciências experimentais, é obtido por meio de observações e experimentações feitas com rigor e interpretadas com elevado espírito crítico.

ANTICORPOS COMO ENTIDADES

As células se comunicam com o meio ambiente e entre si através de moléculas que produzem e expõem, estrategicamente, na sua superfície. As moléculas que levam mensagens são chamadas mensageiras ou ligantes, e as que recebem mensagens são receptoras. As moléculas fazem parte de grandes grupos ou famílias, como hormônios, mediadores, fatores de crescimento, citocinas, enzimas, anticorpos etc. Para cada tipo de mensagem há pares específicos de moléculas mensageiras e de moléculas receptoras. Como o número de mensagens que exercem essas atividades é imenso, o número de moléculas que transmitem e recebem mensagens é proporcionalmente enorme.

As células se reproduzem, crescem, diferenciam-se, locomovem-se, destroem outras células ou suicidam-se sob o comando de mensagens específicas para cada uma dessas atividades.

As células, no ato da comunicação, reconhecem formas. A linguagem usada é a configuração embutida nas moléculas que transmitem e recebem a mensagem. A configuração tridimensional mais grosseira de moléculas como ácidos nucleicos, proteínas, carboidratos e lipídeos complexos é determinada pela sequência dos blocos que as constituem: nucleotídeos, aminoácidos, monossacarídeos, dissacarídeos e trissacarídeos, lipídeos. Esses blocos fornecem o substrato maior onde repousam os átomos que dão a configuração mais delicada final. Para configurações extensas, imprecisas, há receptores panorâmicos; para pormenores, precisos, há receptores de ajuste fino.

As mensagens recebidas pelos receptores são transmitidas, também, por moléculas especiais de proteínas, para o interior da célula. No citoplasma, entram numa rede de difusão, própria para cada tipo de mensagem, de onde são orientadas para as organelas encarregadas de dar a resposta.

Há mensagens que permitem que as células distingam material produzido na sua própria comunidade de material importado do meio externo. Ambas são iniciadas por três famílias de moléculas: receptores de linfócitos T (RCR), anticorpos e proteínas do complexo principal de histocompatibilidade (pCPH), dispostas, respectivamente, na superfície de linfócitos T, linfócitos B e de quase todas as células.

Anticorpos são singulares: funcionam tanto como mensageiros, como receptores e executores de mensagens. Quando sua existência era apenas hipótese, eram referidos pelo termo vago de entidades; depois que uma de suas funções, talvez a que lhe confere identidade, foi descoberta, foram denominados anticorpos e, finalmente, quando a anatomia funcional de sua molécula foi conhecida, foram denominados imunoglobulinas (Igs). A evolução dos conhecimentos sobre essa fascinante molécula é o motivo das aulas “Anticorpos Humanizados”.

A história da evolução do conhecimento, na Antigüidade, está entremeadada de mito e realidade. Observações isoladas já indicavam que certas doenças passavam de pessoa a pessoa. Eram contagiosas. Certas pessoas, talvez a maior parte, que tiveram uma doença raramente adquiriam a mesma doença. Tornavam-se imunes. As ordenhadeiras, por exemplo, eram resistentes à varíola bovina. No início de suas atividades profissionais, em geral adquiriam uma forma branda da varíola bovina restrita às mãos. Depois de curadas, não adquiriam mais essa doença, apesar de continuarem ordenhando vacas com varíola. Além disso, as manchas cutâneas típicas que caracterizavam pessoas sobreviventes de epidemias de varíola raramente eram encontradas em ordenhadeiras, que eram resistentes tanto à varíola bovina como à humana.

A humanidade estava ansiosa por medidas que prevenissem ou curassem a varíola. O índice de mortalidade era da ordem de 20 a 30%! Os circassianos, para impedir que suas jovens tivessem manchas de varíola e para proteger seu comércio de escravas com os reis da Turquia e da Pérsia, inoculavam seus filhos com pus obtido de pústulas de varíolas brandas.

Com base nessas observações, Edward Jenner, em 1796, realizou sua famosa, heróica e antiética experiência em seres humanos: injetou pus obtido de pústulas da varíola bovina em crianças. As crianças inoculadas com o pus, da mesma forma que as ordenhadeiras, durante as epidemias de varíola não contraíam a doença. Tornavam-se imunes.

Estava descoberta oficialmente a primeira vacina, termo originado do latim *vacca*. Curiosamente, essa vacina grosseira, testada sem obedecer a princípios rigorosos da ética médica, foi a primeira a erradicar uma doença. O último relato oficial de um caso de varíola aconteceu na Somália em 1970!

Essa descoberta esperou 150 anos para ser estendida a outras doenças: Robert Koch, von Bhering, Paul Eherlich e Louis Pasteur, no século XIX, foram os responsáveis.

Supunha-se, com base apenas em observações cientificamente frágeis, que as pessoas que se recuperavam de uma doença infecciosa e se tornavam resistentes àquela doença produziam entidades de resistência que circulavam em seu sangue. Essa suposição foi cientificamente comprovada, no século XIX, com a realização de experimentos bastante simples. A adição de quantidades seriadas de amostras desses soros a uma série de tubos contendo igual volume de uma suspensão da bactéria causadora da infecção para a qual o doador do sangue estava resistente produzia aglutinação das bactérias.

Esse fenômeno, observado com lentes de aumento, mostrava que as bactérias, isto é, pequenos “corpúsculos”, juntavam-se uns aos outros em presença daquele soro. O soro continha entidades contra aqueles corpúsculos, isto é, anticorpos. Quando, em lugar de bactérias íntegras, vivas, extrato solúvel da bactéria era adicionado a uma série de tubos contendo igual volume do soro, observava-se a formação de flóculos mais grossos ou de precipitados mais finos. As entidades que aglutinavam as bactérias foram denominadas *anticorpos aglutinantes*, e as que precipitavam, *anticorpos precipitantes* ou *precipitinas*. As entidades presentes na superfície da bactéria e nos extratos bacterianos foram denominadas *antígenos*.

Se, em lugar de soro obtido de pessoa convalescente, usava-se soro de pessoa que ainda não tinha tido a doença, não havia nem aglutinação nem floculação ou precipitação. Estava descoberta a característica distintiva dos anticorpos: a especificidade.

Arrhenius e Madsen repetiram os experimentos acima usando soro de convalescentes de difteria como fonte de anticorpos, toxina diftérica como antígeno, testando, porém, a toxicidade residual da toxina em animais; verificaram que os anticorpos neutralizavam a toxina. Estava descoberta a atividade antitóxica dos anticorpos. Esses anticorpos foram denominados *anticorpos neutralizantes*.

Conquanto a estrutura das proteínas como cadeias de polipeptídeos já havia sido, naquela época, demonstrada por Emil Fischer, a natureza dos *anticorpos*, dos *antígenos* e dos fenômenos da *aglutinação*, *precipitação* e *neutralização* ainda não podia ser estudada. Os conhecimentos de Física e Química ainda eram insuficientes. Surgiram, todavia, algumas sugestões curiosas. Arrhenius e Madsen, por exemplo, propuseram que, na neutralização de toxinas, anticorpos e antígenos se combinariam à maneira da neutralização de ácidos fracos por bases fracas; Kraus interpretou a reação de precipitinas como modificações induzidas pelo antígeno no estado coloidal do soro, de modo a desnaturar suas proteínas; e que os anticorpos estavam associados à fração do soro denominada globulinas. Apenas esta última sugestão sobreviveu.

Apesar das dificuldades operacionais com os métodos disponíveis na época, a importante questão de saber se o antígeno incorpora-se de fato nos precipitados durante a reação de precipitinas foi elegantemente resolvida por von Dungern, em 1902. Este arguto pesquisador escolheu como antígeno sangue de caranguejo. Injetou em coelhos esse soro. Depois de algumas semanas, tempo suficiente para a formação de anticorpos anti-soro de caranguejo, colheu sangue dos coelhos e usou o soro na reação de precipitação com sangue de caranguejo como antígeno. Os precipitados resultantes quando agitados com ar tornavam-se azuis.

Radicais de cobre associados à hemocianina do sangue de caranguejo adquirem cor azul ao serem oxidados. Demonstrou, de maneira elegante, que o antígeno, de fato, incorpora-se nos imunoprecipitados. Resumindo: na virada do século XX estava cientificamente demonstrado que o organismo produz substâncias que o protegem contra infecções; que essas substâncias interagem tanto com bactérias vivas como com seus extratos solúveis; que induzir produção de anticorpos não é privilégio de bactérias, pois substâncias de origem não-bacteriana também induzem produção de anticorpos; e que tanto a indução como a interação dos anticorpos com os antígenos são fenômenos específicos.

Duas décadas depois foram feitas três importantes descobertas:

- a) Avery e Dochez observaram que formas virulentas de pneumococos excretam substâncias no meio de cultura. As substâncias excretadas formam precipitados com anticorpos específicos para o tipo de pneumococo do qual a substância foi derivada;

- b) a descoberta das “agressinas” por Bial, substâncias excretadas no meio de cultura que tornam a bactéria mais virulenta quando adicionada à suspensão bacteriana; e,
- c) a observação de Ascoli, que o *Bacillus anthracis* pode ser reconhecido por reações de precipitação.

Coube, todavia, a Oswald T. Avery entender a enorme importância dessas descobertas. Ele antecipou que nos polissacarídeos grupo-específicos, geralmente livres de nitrogênio e resistentes à ação de enzimas do organismo do hospedeiro, presentes nas suas culturas de pneumococos (*Streptococcus pneumoniae*), encontrava-se o segredo da especificidade bacteriana.

Admitindo a enorme possibilidade de configurações distintas que os polissacarídeos podem originar, estava aberta a possibilidade de se usar, pela primeira vez, uma substância diferente de proteínas nas reações imunológicas.

Naquela época eram conhecidas três formas “fixas” de pneumococos, tipo I, tipo II e tipo III, e uma quarta, tipo IV, na qual eram colocadas as demais que não se enquadravam entre as três primeiras. Essas formas excretavam no meio de cultura polissacarídeos absolutamente específicos nas reações de precipitação frente a soros contendo os correspondentes anticorpos.

Demonstrou-se, a seguir, que nos microrganismos encapsulados, via de regra, sua especificidade se deve a carboidratos aí presentes. A exceção foi encontrada no *Bacillus anthracis*, cuja cápsula, ao contrário, é um polipeptídeo que consiste exclusivamente de D(-) ácido glutâmico. D(-) ácido glutâmico é o enantiomórfico, o oposto espacial L(+) ácido glutâmico, sendo o que existe na maioria das proteínas. Os polissacarídeos de pneumococos, de outros microrganismos encapsulados e a proteína da cápsula de *Bacillus anthracis* injetados em cavalos induziam a produção de anticorpos específicos.

Com tais descobertas, estava aberto o caminho para estudos mais seguros da especificidade das reações de precipitação. Uma adição importante foi feita por Felton: misturando-se soro de cavalo contendo anticorpos antipneumococos com água acidulada, 90% dos anticorpos são precipitados sem desnaturação, enquanto 90% das demais proteínas permanecem na fração solúvel; foi a primeira tentativa, com sucesso, de isolar anticorpos de outras proteínas do soro.

Os caminhos para conhecer a natureza dos anticorpos e das reações de precipitação e aglutinação estavam abertos:

- polissacarídeos de pneumococo solúveis tipo III, S-III, constituídos de ácido polieloburônico, isto é, ácido glucurônico-4-β-glucose, injetados em cavalo, coelho, seres humanos, produzem grandes quantidades de anticorpos;
- o método descrito por Felton para isolar anticorpos;
- um método rigorosamente preciso para dosar nitrogênio com um mínimo de erro experimental: método de micro-Kjeldahl;
- método altamente sensível para dosar polissacarídeos de pneumococos.

Michael Heidelberger e seus colaboradores, entre os anos 30 e 40, dedicaram-se a percorrer aqueles caminhos. A série de tubos contendo igual volume de soro de cavalo (Ac), que havia sido injetado com polissacarídeo S-III (S), adicionou 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 ou 0,25mg de S. Controles contendo apenas S ou Ac foram incluídos. Uma série de tubos foi incubada a 37°C e outra similar a 0°C por algumas horas. Após centrifugação, dosava-se nitrogênio total nos precipitados e polissacarídeos residuais nos sobrenadantes. Estes eram submetidos, novamente, à reação de precipitação para titular anticorpos residuais.

Professor, M. Heidelberger, Emeritus Professor of Immunochemistry. College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York, USA. Professor, M. Heidelberger, químico orgânico, ocupação de que se orgulhava, e Oswald Avery descobriram que os principais antígenos de pneumococos são polissacarídeos. A consequência dessa descoberta foi a demonstração de que anticorpos são proteínas. As duas demonstrações, fundamentais para o desenvolvimento da Imunologia e, por extensão, da Medicina, permitiram estudos refinados das reações de interações entre moléculas de anticorpos e de antígenos. Os aspectos quantitativos da reação de precipitinas foram firmemente determinados. A consequência foi a possibilidade de se quantificar, em bases ponderais, o conteúdo de anticorpos nos soros. Estava encerrada a época da sorologia. Nascia, formalmente, a Imunologia.

O gráfico da **Figura 19.1** mostra o tipo de curva que se obteve grafando-se os valores de S (mg) na abscissa, de precipitados totais (mg) na ordenada à esquerda e da relação precipitado /S na ordenada à direita. Como o antígeno é polissacarídeo, o nitrogênio presente nos precipitados corresponde exclusivamente a anticorpos.

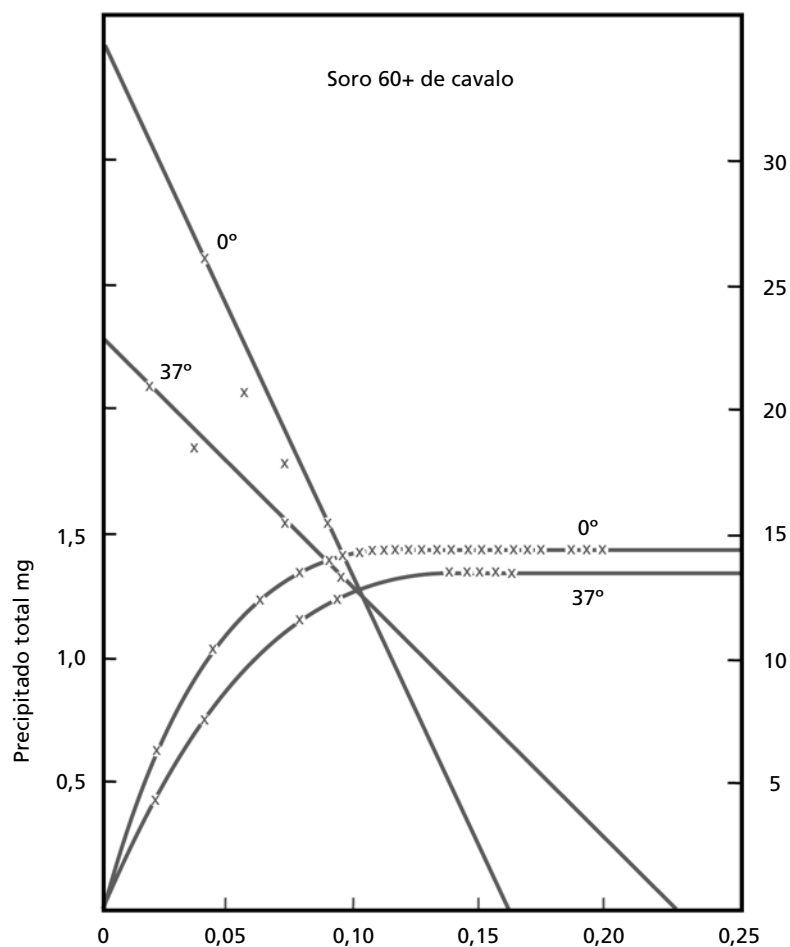


Figura 19.1: Reação de precipitinas entre soro de cavalo antipneumococos tipo III e pneumococos tipo III.

Observa-se que:

- a quantidade de precipitado aumenta progressivamente à medida que se adiciona mais S ao soro;
- S residual não é detectado no sobrenadante dos tubos em que se adicionou pequenas quantidades de antígeno, porém aparece e aumenta progressivamente com quantidades mais elevadas;
- Ac, ao contrário, é mais elevado no sobrenadante dos tubos com menor quantidade de S, porém decresce à medida que se adiciona mais S;
- um pouco acima do topo da curva, os sobrenadantes são livres de Ac e de S;

Pode-se, portanto, dividir a reação em três zonas: zona de excesso de **Ac**, em que **S** estava ausente nos sobrenadantes e foi todo precipitado; zona de equivalência, onde **Ac** e **S** foram quantitativamente incluídos no precipitado; e, zona de excesso de antígeno, em que o **Ac** foi inteiramente consumido.

Os precipitados na região de excesso de **Ac** incluíram todo **S** adicionado. Determinando-se os coeficientes de **Ac** sobre **S**, nas diferentes concentrações de **S** representados no eixo das ordenadas à direita do gráfico da **Figura 19.1**, obteve-se uma relação linear simples entre as duas quantidades. Essa relação está representada pelas retas da mesma figura. Estava aí a oportunidade para calcular, diretamente, quanto de nitrogênio anticorpo seria precipitado por outras quantidades de polissacarídeo **S-III**. Basta erigir perpendiculares partindo de pontos da abscissa correspondentes às quantidades de **S** até coincidir com a reta e construir perpendiculares desses pontos até o eixo das ordenadas; os pontos de encontro correspondem às quantidades de anticorpo desejadas.

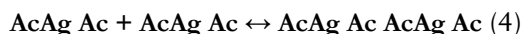
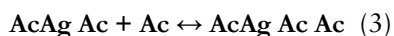
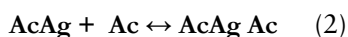
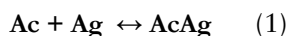
O método para determinar em miligramas a quantidade de anticorpos estava estabelecido. Conhecendo-se, com antecedência, a quantidade, também em miligramas, de polissacarídeo que era incorporada nos precipitados nas zonas de excesso de anticorpo e de equivalência, podia-se inferir a composição relativa de anticorpo e antígeno nos diferentes precipitados, a partir de agora denominados imunocomplexos. (**ICs**)

A composição em **Ac S** nos **ICs** variou em torno de 40 vezes da região de excesso de **Ac** até a região de excesso de **S**, quando os **ICs** começam a dissolver-se. Para explicar a composição relativa dos **ICs** admitiu-se, por hipótese, que as reações **Ac** e **S** ocorreriam em proporções múltiplas, sendo condição essencial que as moléculas de ambos os reagentes contivessem múltiplos sítios combinatórios. **S** tipo **III**, peso molecular estimado de 100 kDa, foi hidrolisado em fragmentos sucessivamente menores até 1,2-1,7 kDa. Repetindo-se a reação de precipitação com os diferentes fragmentos de **S**, verificou-se formação de precipitados mesmo com os menores fragmentos de **S**. Os resultados mostram que esses fragmentos contêm muitos grupos reativos para **Ac**.

Com respeito ao **Ac**, evidências de sua multivalência só vieram no início da década de 1950, com as observações independentes de O.G. Plescia, E.L. Becker, J.H. Williams, S.J. Singer e D.H. Campbell,

comparando a mobilidade de ICs na região de excesso de S, descobriram que pelo menos duas moléculas de S se combinariam com uma de Ac. A prova definitiva de que a molécula de Ac contém pelo menos dois sítios combinatórios para o S, ou antígeno Ag, só veio mais tarde, com a descrição da estrutura da molécula dos Acs, como se verá na aula seguinte.

A hipótese de que Ag e Ac reagem através de grupos multirreativos fornecendo uma curva contínua quando a concentração de um dos reagentes oferecidos, no caso Ag, aumenta progressivamente foi reanalisada por F.E. Kendal e M. Heidelberger em 1934. Não haveria descontinuidade quando pequenos incrementos de Ag fossem adicionados separadamente à mesma quantidade de soro contendo Acs. Isso poderia ser ilustrado pelas equações de equilíbrio:



Ac combina com Ag formando precipitado pequeno (1). Na região de excesso de Ac, por haver mais moléculas de Ac, toda essa reação inicial se completa e, como todas as moléculas de Ag são usadas, o complexo AcAg se combinaria com mais Ac, formando AcAg Ac cada vez maiores até envolver todos os sítios combinatórios da molécula de Ag (reações 2, 3, 4, 5). Na medida em que mais moléculas de Ag são oferecidas para o número agora limitante de moléculas de Ac, mais moléculas de ambos os reagentes participam de um mesmo imunoprecipitado.

O problema seguinte seria saber se com Ag protéicos o mesmo tipo de fenômeno seria observado. Como, porém, distinguir N de Ac de N de Ag titulados pelo método de micro-Kjeldahl? M. Heidelberger resolveu esse problema introduzindo um corante nas moléculas de uma proteína, albumina de ovo. Produziu uma reação entre a albumina de ovo cristalizada e um dos grupos diazo da molécula de benzidina tetra azotizada usando,

como corante, sal R, que apresenta cor vermelha. Coelhos injetados com essa proteína produziram anticorpos que a precipitavam. Repetindo a reação de precipitação descrita anteriormente, usando como **Ag** a albumina de ovo com corante, observou que os imunoprecipitados na zona de excesso de **Ac** eram de cor rosa, tornando-se progressivamente vermelhos à medida que se aproximavam da zona de equivalência.

A **Figura 19.2** mostra que o perfil da curva é semelhante ao da **Figura 19.1**. Assim, independentemente de **Ag** ser proteína ou polissacarídeo, o fenômeno da imunoprecipitação obedece às mesmas leis físico-químicas.

As relações quantitativas na reação de precipitação podem ser retiradas da curva da **Figura 19.2**.

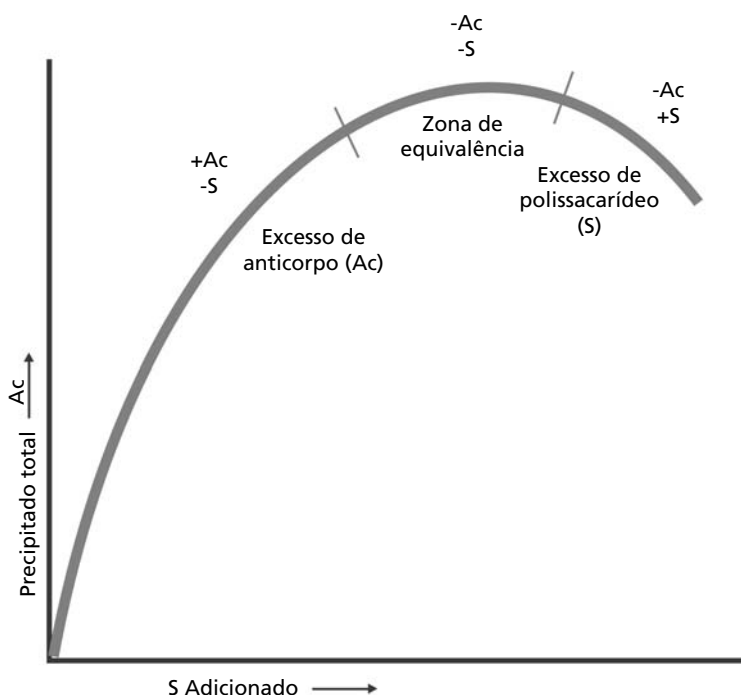


Figura 19.2: Separação da curva de precipitinas em zonas.

Essa figura mostra, ainda, que a relação ponderal **Ac/Ag** nos precipitados específicos é uma função linear de **Ag** expressa pela equação

$$\text{Ac}/\text{Ag} = a - b \text{ Ag} \quad (1),$$

em que **a** (interseção com o eixo das ordenadas) e **b** (coeficiente angular da reta) são constantes próprias para cada anti-soro.

Da equação (1) deriva:

$$\text{Ac} = a \text{ Ag} - b \text{ Ag}^2 \quad (2),$$

que permite calcular o valor de A_c para cada dose de A_g ao longo da curva de precipitação. No exemplo, a Tabela 1, calculada graficamente, a equação do soro é: $A_c = 15,8 - 0,083 A_g^2$, quando A_g é expresso por mg N, ou $A_c = 15,8 - 83 A_g^2$, se A_g for expresso em mg N.

A quantidade absoluta de anticorpo num soro corresponde ao valor de A_c para a dose maximamente precipitante de A_g , dose esta que se pode calcular facilmente pela fórmula $A_{g_{max}} = a/2b$, para cuja dedução deve-se tomar em consideração o fato experimental que a é proximamente igual ao dobro de R , valor da relação A_c/A_g na equivalência:

$$A = 2 R, \text{ donde } R = a/2.$$

Por outro lado, o *slope* b pode ser calculado dividindo-se R pelo valor de A_g na equivalência ($A_{g_{max}}$):

$$B = R/A_{g_{max}}, \text{ donde } A_{g_{max}} = R/b = a/2b.$$

Quanto a $A_{c_{max}}$, pode ser calculado a partir da equação:

$$A_{c_{max}} = a \cdot A_{g_{max}} - b \cdot A_{g_{max}}^2.$$

Substituindo-se $A_{g_{max}}$ por $a/2b$:

$$A_{c_{max}} = a \cdot a/2b - b \cdot a^2/4b^2 = a^2/4b \quad (3).$$

Aplicando-se a fórmula (3) ao anti-soro em exemplo, obtém-se $A_{c_{max}} = 4 \times 0,083 = 752 \mu\text{gN}$, em boa concordância com o valor experimental $748 \mu\text{gN}$, correspondente a um ligeiro excesso de antígeno.

Na equação (1), a constante $a (= 2R)$ denota o grau de reatividade do anticorpo, pois, evidentemente, quanto maior for R , tanto maior será a quantidade de A_c que se combina à mesma quantidade de A_g . Quanto a b , seu valor depende não somente da qualidade, como também da quantidade de A_c : $b = R^2/A_{c_{max}}$. Esta última relação se calcula a partir de $b = R/A_{g_{max}}$, substituindo $A_{g_{max}}$ por $A_{c_{max}}/R$ (por definição, $R = A_{c_{max}}/A_{g_{max}}$, donde $A_{g_{max}} = A_{c_{max}}/R$).

Para compararmos as equações de vários soros, relacionando-as apenas à qualidade do anticorpo, é necessário eliminar o fator quantidade, multiplicando b por $A_{c_{max}}$, de maneira a cancelar o denominador e tornar $b = R^2/1$.

Consideraremos, por exemplo, dois anti-soros cujas equações sejam:

$$\text{I } \text{Ac} = 21,4 \text{ Ag} - 101 \text{ Ag}^2$$

$$\text{II } \text{Ac} = 21,4 \text{ Ag} - 167 \text{ Ag}^2.$$

Aparentemente, os dois soros são diferentes, uma vez que, para um deles, $b = 101$ e, para o outro, $b = 167$. Se, porém, reduzirmos as equações I e II ao nível de 1 mg de anticorpo, multiplicando cada valor pelo respectivo Ac_{max} (1,136 para I e 0,685 para II), resultará uma equação única, que denota a identidade dos dois anti-soros:

$$\text{Ac} = 21,4 \text{ Ag} - 114 \text{ Ag}^2.$$

O estudo quantitativo da reação de precipitação específica permite, ainda, calcular a composição molecular dos precipitados nas diferentes zonas da curva de precipitação. Assim, por exemplo, no sistema ovalbumina-antiovalbumina, a relação Ac/Ag , na zona de extremo excesso de Ag , é próxima de 5, ao passo que, em extremo excesso de Ac , aproxima-se de 20. Sendo 40.000 e 160.000 os pesos moleculares dos reagentes em causa, a relação molar do complexo na zona de extremo excesso de anticorpo será $5 \times 160.000 / 40.000 = 20$ (complexo $\text{Ag}_5 \text{Ac}$). Na equivalência, a fórmula do complexo será $\text{Ag}_2 \text{Ac}$ e, na zona de excesso de antígeno, $\text{Ag}_2 \text{Ac}$ ou $\text{Ag}_2 \text{Ac}$.

A Tabela 19.2 reproduz, para diferentes sistemas, os pesos moleculares dos antígenos, os valores médios de a ($= 2R$) e as respectivas relações molares nas zonas de equivalência e de extremo excesso de anticorpo.

A relação molar Ac/Ag em extremo excesso de Ag é freqüentemente adotada como estimativa do número mínimo de determinantes da superfície da molécula antigênica, ou seja, como uma medida da “valência” de Ag . Trata-se, porém, de uma estimativa mínima, pois, obviamente, poderá haver determinantes incapazes de se unirem ao anticorpo, em virtude de impedimento espacial e, por outro lado, sendo Ac bivalente, uma mesma molécula do anticorpo poderá unir-se a dois determinantes da mesma molécula antigênica.

Tabela 19.1: Dados quantitativos da precipitação específica no sistema ovalbumina-antiovalbumina de coelho. Adição de doses crescentes de ovalbumina a 1ml de soro. Valores expressos em µg N

Ag	Precipitado (Ag + Ac)	Ac	Relação Ac/Ag ponderal	Relação Ac/Ag molar	Teste dos sobrenadantes
9	156	147	16.2	4	Excesso de Ac
40	526	486	12.2	3	Excesso de Ac
50	632	582	11.6	2.9	Excesso de Ac
74	794	720	9.7	2.4	Nem Ag, nem Ac
82	830	748	9.1	2.3	Traços de Ag
90 (87)	826	739	8.5	2.1	Excesso de Ag
98 (89)	820	731	8.2	2	Excesso de Ag
124 (87)	730	643	7.4	1.8	Excesso de Ag
307	106				Excesso de Ag
490					Excesso de Ag

Os valores entre parênteses correspondem às quantidades de **Ag** nos precipitados, calculadas subtraindo do **Ag** total adicionado à quantidade dosada no sobrenadante, em presença de um anti-soro calibrado. A relação molar **Ac/Ag** foi obtida dividindo-se a relação ponderal pelo quociente dos pesos moleculares do anticorpo e do antígeno ($160.000/40.000 = 4$).

Tabela 19.2: Composição molecular dos precipitados para diferentes imunossistemas (anticorpo de coelho)

Antígeno	Peso molecular	A = 2R	Relação Molar	
			Equivalência	Extremo excesso de Ag
Ribonuclease	14.000	33	1,5	3
Ovalbumina	40.000	20	2,5	5
Soralbumina	60.000	15	3	6
Gamaglobulina	160.000	7	3,7	7

Em que proteínas do soro estariam os anticorpos?

Essa pergunta foi respondida, como veremos um pouco mais adiante, usando a técnica da eletroforese.

Na sua versão original, a usada para responder à pergunta, amostras de soluções de proteínas, no caso soro de coelho, eram colocadas em um tubo em forma de U, conectado a uma corrente elétrica, um dos braços do U ao ânodo carregado positivamente e o outro ao cátodo, carregado negativamente. Como as proteínas possuem cargas elétricas que lhes são conferidas pelas cadeias laterais dos aminoácidos que as compõem, elas migram ou para o ânodo ou para o cátodo, dependendo de sua carga elétrica diferencial. Migram para o ânodo proteínas negativamente carregadas, e para o cátodo proteínas positivamente carregadas. Além disso, como diferentes proteínas carregam cargas diferentes determinadas por sua composição em aminoácidos, elas migram também com diferentes velocidades; proteínas com mais carga elétrica migram mais rapidamente do que proteínas com menos carga. Durante a migração, as proteínas individuais vão se separando umas das outras com limites bem definidos entre elas. Uma vez que o índice de refração da solução modifica-se nos limites entre moléculas de proteínas, essas modificações informam sobre a direção e concentração de cada espécie de proteína. Nos registros do processo de migração, os limites entre as várias proteínas da mistura em solução aparecem como picos separados entre si por vales. Na eletroforese de amostras de soros, separam-se globulinas da albumina; além disso, as globulinas subseparam-se em globulinas α , β e γ . Modernamente, a técnica sofisticou-se de tal ordem que cada uma dessas frações pode ser subfracionada, quantificada e removida para análises químicas e funcionais.

M. Heidelberger submeteu a este método de eletroforese amostras de soro de coelho colhidas antes e depois da imunização dos coelhos com o antígeno ovoalbumina. Verificou que, nas amostras de soro colhidas depois da imunização, o pico correspondente às proteínas γ globulinas estava substancialmente elevado. Repetindo, porém, essa experiência, introduzindo agora uma terceira amostra de soro em que os anticorpos haviam sido previamente precipitados e removidos pela adição de uma quantidade do antígeno ovoalbumina correspondente àquela da zona de equivalência, observou que o pico das γ globulinas nivelava-se ao da amostra de soro colhida antes da imunização (**Figura 19.3**).

Demonstrou, com essa experiência elegante, que os anticorpos são globulinas γ .

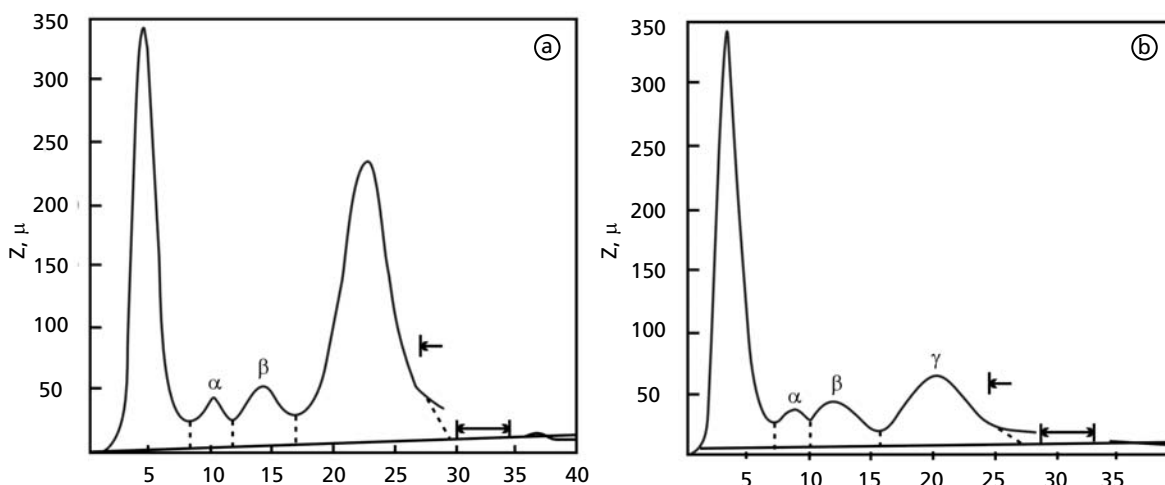


Figura 19.3: Perfil eletroforético de soro de coelho: (a) soro de coelho imunizado; (b) soro de coelho imunizado e tratado com ovoalbumina para remover o anticorpo específico. Alb. albumina; α , β e γ : α , β e γ globulinas.

Quais as dimensões dos grupos reativos, sítios combinatórios e determinantes antigênicos respectivamente presentes nas moléculas de **Ac** e **Ag**? O pesquisador E.A. Kabat investigou esse problema usando dextranas como antígenos (**Ag**) e soro antidextranas como fonte de anticorpos (**Ac**). As dextranas são polirriboses produzidas por bactérias do gênero *Leuconostoc*. A maioria das dextranas possui ligações α -1,6 entre moléculas de glicose adjacentes.

E.A. Kabat verificou, inicialmente, que seres humanos injetados com dextranas produzem apreciáveis quantidades de anticorpos antidextranas.

Em seguida, mostrou que esse sistema **Ac** e **Ag** produz curvas de precipitinas semelhantes às resultantes de outros sistemas. Naquela época, Landsteiner havia demonstrado que moléculas cujas estruturas possuíam grupos reativos iguais ou semelhantes interferiam nas ligações entre si. Baseando-se nesse fato, E.A. Kabat preparou uma série de polirriboses com diferentes tamanhos, todos porém com ligações α - (1→6) entre moléculas de glicose adjacentes: isomaltose (2 glicoses), isomaltotriose (3 glicoses), e isomaltotetraose (4 glicoses) e tentou inibir a reação de precipitação adicionando esses carboidratos em quantidades adequadas ao soro, antes de adicionar o **Ag** dextrana. Verificou que tri- e tetraoses, isto é, isomaltotriose e isomaltotetraose, inibiam a reação de precipitação entre **Ac** antidextrana e **Ag** dextrana mais eficientemente que os demais compostos de glicose. Interpretou seus resultados admitindo que as moléculas que inibem se acomodariam no interior do sítio combinatório de tal modo a bloquear, especialmente, o acesso das moléculas inteiras de dextranas naquele sítio.

Concluiu que os sítios combinatórios (atualmente denominados parátomos) da molécula de Acs antidextrana comportam 3 a 4 moléculas de glicose no seu interior e que juntas corresponderiam ao tamanho dos determinantes antigênicos (atualmente denominados epitopos). Como as dimensões em Angströms das moléculas de glicose eram conhecidas, foi possível determinar, indiretamente, as dimensões da bolsa (paratopo) que acomoda partes do **Ag** (epitopo).

Bem mais tarde, nos anos 80, dispondo-se de anticorpos específicos para um único epitopo, por exemplo **Ac** antilisoizima de ovo de galinha, foi possível estudar com pormenores as interações entre epitopos e paratopos. Verificou-se que **Ac**, quando se combina com **Ag**, tem parte de sua superfície sob o epitopo; analogamente, parte da molécula de **Ag** fica sob o paratopo. Reavaliações daquelas dimensões chegaram aos seguintes valores: $1,6\text{nm}^2$ a 9nm^2 para ambos, **Ac** e **Ag**.

Como você verá um pouco mais tarde, com o refinamento dos métodos de estudo, com o advento dos anticorpos monoclonais, das técnicas de cristalização de proteínas, das análises de proteínas por difração de raios X, além de outras, foi possível conhecer pormenores importantes da estrutura interna dos paratopos e epitopos.

Esses estudos revelaram que o paratopo é formado pela justaposição de seis alças que conectam as pranchas- β nos domínios variáveis da molécula de Igs: três são providas pela cadeia H, alças H1, H2 e H3, e as outras três pela cadeia L, L1, L2 e L3. As alças, em conjunto, são designadas regiões determinantes da complementaridade, sigla CDRs – *Complementarity-Determining Regions*.

As alças L1 e L2 são codificadas por genes encontrados no segmento VL e as alças H1 e H2, por genes encontrados no segmento VH. Nos dois casos, os segmentos de genes encontram-se na linhagem germinativa. A alça L3 é formada pela união entre os segmentos de genes VL e JH e a alça H3 pela fusão dos segmentos de genes VH, D e JH. O comprimento dos CDRs varia de anticorpo para anticorpo. Para as alças L1, L2, L3, H1, H2 e H3, as variações nos comprimentos encontram-se nos seguintes limites: L1, 10-17; L2, 7; L3, 7-11; H1, 5-7; H2, 9-12; H3, 4-25. Alguns anticorpos usam apenas quatro das seis regiões hipervariáveis para contatar a molécula de **Ag**, enquanto outros usam todas as seis. L3 e H3 são sempre usadas; L2 é usada de preferência para contatar moléculas grandes de **Ag**s.

Normalmente a cadeia H fornece o maior número de resíduos de aminoácidos para o contato dos CDRs, a molécula de **Ag**, enquanto a cadeia L contribui com apenas alguns.

O tamanho dos CDRs determina, de certa maneira, a forma dos paratopos. Alguns paratopos possuem a bolsa de forma nitidamente côncava, que acomoda moléculas pequenas de **Ag** como haptenos, peptídeos, carboidratos de baixo peso molecular e ácidos nucléicos. Outros, ao contrário, são apenas timidamente côncavos, como os específicos para certas proteínas, entre elas epitopos de lisoizima.



Elvin A. Kabat, Ph.D., foi um dos grandes imunologistas do século XX. Morreu aos 82 anos em Falmouth, Massachusetts, EUA. Durante sua carreira de setenta anos de pesquisa deixou um legado de decisivas contribuições à Imunoquímica, sua paixão, e numerosos estudantes, alguns dos quais laureados com o prêmio Nobel. Era um terror para os jovens, um desconforto para os mais maduros, um guardião dos princípios e normas da ciência e, sobretudo, autocrítico severo. Professor Elvin A. Kabat (1914-2000), Professor of Immunochemistry, Departments of Microbiology and Human Genetics and Development, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York, USA. Durante sua carreira de quase setenta anos, publicou aproximadamente 400 trabalhos e alguns livros, como *Experimental immunochemistry*, *Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry*, *Blood group substances – Their Chemistry and Immunichemistry*, and *Variable Regions of Immunoglobulin Chains*. Como descrito rapidamente no texto, os trabalhos do Dr. Kabat e do Dr. Heidelberger transformaram a Imunologia, de uma disciplina puramente descritiva, em uma disciplina química quantitativa. J. Immunol. (2001)166:3635-3636. (Site: JI online: <http://www.jimmunol.org>).

UMA OUTRA QUESTÃO ABORDADA POR M. HEIDELBERGER E E.A. KABAT

Os anticorpos que precipitam **Ag** solúveis são os mesmos que aglutinam **Ag** particulados? E.A. Kabat e seus colaboradores cuidaram dessa pergunta realizando o seguinte experimento: adicionaram a amostras de soros que continham anticorpos antipneumococos quantidades ponderáveis de polissacarídeos de diferentes constituições químicas, de modo a precipitar todos os anticorpos específicos para todos polissacarídeos, exceto um. Centrifugavam essas amostras de soro para remover os imunoprecipitados. Obtinham, assim, amostras de soro específicas para um e apenas um polissacarídeo. As amostras de soro, depois desse tratamento, tornavam-se monoespecíficas. Essa técnica, referida como “imunoadsorção”, continua sendo muito usada nos laboratórios de Imunologia. Em seguida, usaram como fontes de **Acs** as amostras de soros monoespecíficos, e como **Ags**, suspensões de pneumococos ou soluções de polissacarídeos, respectivamente, nas reações de aglutinação ou de precipitação. As curvas de precipitação e de aglutinação resultantes foram semelhantes.

Precipitação e aglutinação resultam de interações semelhantes entre **Ac** e **Ag**. A variável está no estado em que se apresenta o **Ag**, solúvel ou apenso a uma partícula.

Em resumo, os anticorpos, entidades que aparecem no soro essencialmente após contato com proteínas e carboidratos estranhos ao

organismo do hospedeiro, são, portanto, proteínas que se precipitam sem desnaturar em pH ligeiramente ácido e em baixa força iônica; migram na eletroforese com as proteínas γ , possuem pelo menos dois sítios combinatórios com dimensões da ordem de algumas dezenas de Å; interagem com grupamentos na molécula de **Ag** com dimensões aproximadamente da mesma grandeza e que podem ser quantificados no soro pela reação quantitativa de precipitinas.

Ainda mais uma pergunta (felizmente sempre há o que se perguntar!): os anticorpos que surgem no soro de pessoas, e por extensão de animais que sofrem infecções, comportam-se como os experimentalmente induzidos?

M. Heidelberger abordou esta questão usando como modelo a pneumonia causada por pneumococos tipos I, II, V e VII. Na época, início da década de 1940, essa infecção era um problema de saúde pública. Ele realizou uma experiência em seres humanos segundo as normas da ética médica prevalentes na época. Selecionou um grupo de 900 estudantes. Injetou em cada um 60-70 μg de uma mistura daqueles polissacarídeos que ele e seus colaboradores haviam isolado e purificado. Outro grupo, com o mesmo número de estudantes, foi injetado com solução fisiológica (NaCl a 0,15 M). No dia das injeções foram colhidas amostras de sangue de cada estudante para obter soros que seriam usados como referência ou controle. Os estudantes dos dois grupos conviviam no mesmo ambiente, a escola. Naquela época, pneumonias causadas por pneumococos eram um problema sério de saúde pública. Penicilina e outros antibióticos ainda não estavam disponíveis. Decorrido o tempo suficiente para produção de anticorpos, amostras de sangue, também de cada estudante, foram colhidas para a titulação de anticorpos antipneumococos que, presumivelmente, haviam sido produzidos. Tão importante quanto pesquisar a presença desses anticorpos nas amostras de soro foi acompanhar a saúde dos estudantes com atenção especial para o aparecimento de pneumonias.

Resultados:

- a) No grupo imunizado, quatro casos de pneumonia por pneumococos tipos I, II, V e VII nas duas primeiras semanas depois da imunização; esse período coincidiu com o período

de formação dos anticorpos. Depois desse período não ocorreram mais casos de pneumonia causadas por aqueles pneumococos.

- b) No grupo de controle ocorreram três casos nas duas primeiras semanas e vinte e três nas demais dezesseis semanas de observação.
- c) No soro dos estudantes imunizados, ao contrário dos controles, havia anticorpos dosados pelo método de precipitação quantitativa para os polissacarídeos tipos I, II, V e VII, que variavam entre 9 e 72 μg de N por 4,0ml de soro. Alguns desses soros protegiam camundongos contra infecção experimental por cepas virulentas de pneumococos.

Estava demonstrado que anticorpos induzidos por polissacarídeos de pneumococos protegem seres humanos e animais de experimentação contra a correspondente infecção ativa. Foi essa a primeira infecção a ser prevenida por vacina não-protéica.

**Anticorpos ou
Imunoglobulinas (Igs)
Bloco: Anticorpos Humanizados**

AULA 20

objetivo

- A segunda aula cobre a adição dos conhecimentos que permitiram caracterizá-los como imunoglobulinas - Anos cinquenta, sessenta e setenta, principalmente.

INTRODUÇÃO

Uma das lições que os químicos de proteínas aprenderam foi que o material insolúvel se precipita se houver a adição quantitativamente progressiva de sais neutros, a um determinado volume de soro ou plasma, depois que o sal atinge certa concentração, como, por exemplo, sulfato de amônio. O soro ou plasma, como se sabe, é rico em proteínas. As proteínas permanecem em solução estável porque suas moléculas interagem com moléculas de água e ficam à parte umas das outras. Quando o sulfato de amônio é adicionado ao soro ou ao plasma, moléculas de água ligam-se às moléculas desse sal. À medida que se adiciona mais sal, proporcionalmente mais moléculas de água tornam-se indisponíveis, até o ponto de não haver água suficiente para interagir com as proteínas. Nesse ponto, as moléculas de proteínas agregam-se e formam precipitados que deixam a solução. Esse fenômeno é designado *salting out*.

Apenas para recordar: Proteínas são constituídas de unidades estruturais, os aminoácidos. Um α -aminoácido consiste de um grupo amino, um grupo carboxílico, um átomo de hidrogênio e um radical R ligado a um átomo de carbono, que é denominado α -carbono porque é adjacente ao grupo carboxílico, isto é, ácido.

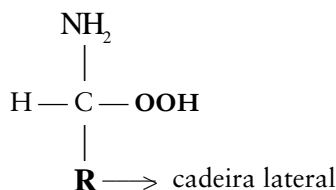
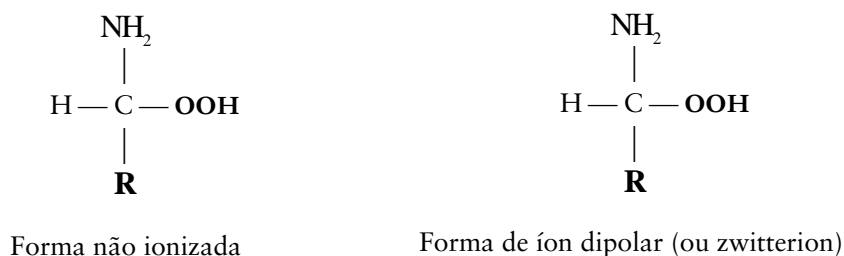


Figura 20.1- Estrutura básica de um aminoácido.

Aminoácidos em solução de pH neutro são predominantemente íons dipolares (ou zwitterions). Na forma dipolar, o grupo amino é protonado (—NH_3^+) e o grupo carboxílico é dissociado (—COO^-). O estado ionizado de um aminoácido varia com o pH. Em solução ácida (p. ex. pH 1), o grupo carboxílico é não-ionizado (—COOH) e o grupo amino é ionizado (—NH_3^+). Em solução alcalina (p. ex. pH 11), o grupo carboxílico é ionizado (—COO^-) e o grupo amino é não-ionizado (—NH_2). Para o aminoácido glicina, o pK do grupo carboxílico é 2,3 e o do aminoácido é 9,6. Isto é, o ponto médio da primeira ionização é 2,3 e o da segunda é 9,6.

Os quatro grupos que preenchem o α -carbono, NH_3 , COO^- , **R**, e **H** dispõem-se no plano em duas formas especulares, L-isômeros e D-isômeros:

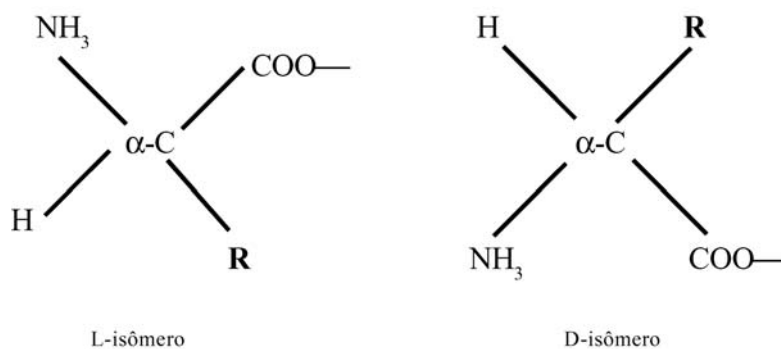


Figura 20.2- Configuração dos isômeros L- e D- de um aminoácido.

Nas proteínas são encontrados somente L-aminoácidos.

Vinte tipos de cadeias laterais que variam em tamanho, forma, carga, capacidade de ligar com hidrogênio e reatividade química ligam-se ao radical **R** e formam vinte diferentes aminoácidos. Esses aminoácidos são os constituintes de todas as proteínas encontradas em todas as espécies, desde bactérias até seres humanos. Trata-se do alfabeto fundamental das proteínas com *dois bilhões de anos de idade*. A impressionante quantidade e variedade de funções que as proteínas exercem resultam da diversidade e da versalidade desses vinte aminoácidos. A disposição dos aminoácidos ao longo das moléculas de proteínas cria estruturas tridimensionais variadíssimas; cada configuração pode executar determinada função.

O aminoácido mais simples, *glicina*, possui a estrutura básica representada na **Figura 20.1**, em que o R é um átomo de H. A substituição de H por CH_3 , $\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$, $\text{CH}_2-(\text{CH}_3)_3$, $\text{CH}_2-(\text{CH}_3)_4$, resulta nos aminoácidos *alanina*, *valina*, *leucina* e *isoleucina*.

Da adição de grupos aromáticos na cadeia lateral resulta os aminoácidos *fenilalanina*, *tirosina* e *triptofano*.

Dois aminoácidos contêm um átomo de enxofre S na cadeia lateral: cisteína, que contém um grupo sulfidril ($-\text{SH}$); e metionina, que contém um S na ligação tioéter ($-\text{S}-\text{CH}_3$).

Dois aminoácidos, *serina* e *treonina*, contêm grupos alifáticos, CH_2-OH e CH_3-CHOH , respectivamente, como cadeias laterais.

Há um grupo de três aminoácidos que contêm cadeias laterais polares que os tornam altamente hidrofílicos.

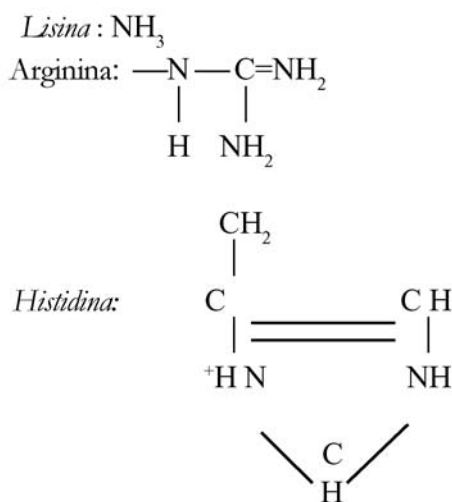


Figura 20.3 - Cadeias laterais de aminoácidos polares.

Há, ainda, aminoácidos com cadeias laterais ácidas, $\text{C}-\text{O}^-$, *aspartato* e *glutamato* e seus derivados:



amida, *asparagina* e *glutamina*, em que O - é substituído por NH_2 .

Os aminoácidos são designados ou pela abreviatura de três letras ou por uma só letra símbolo (*veja Anticorpos Humanizados, Aula 21*). Os aminoácidos, ao longo da cadeia peptídica, ligam-se dois a dois através de ligações peptídicas.

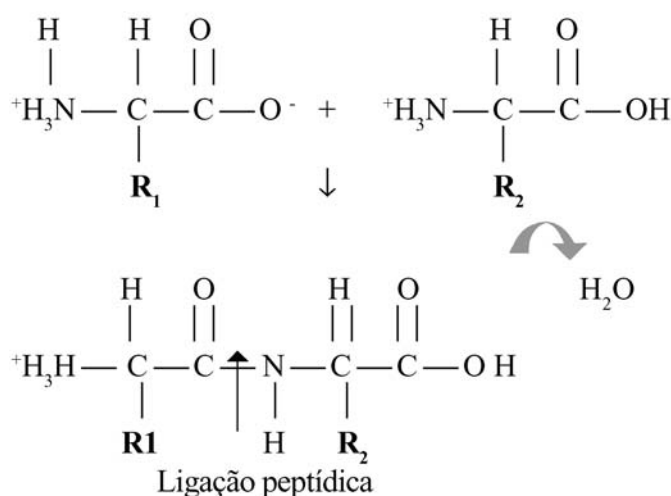


Figura 20.4 - Ligação peptídica.

Por convenção, a sequência de aminoácidos de uma cadeia polipeptídica é escrita começando-se com o resíduo (porque representa o que sobrou na construção da cadeia de ligação peptídica) do aminoácido amino terminal ou N-terminal. No exemplo acima, o resíduo apenas a **R1** é o N-terminal e o **R2** é o C-terminal. A maioria das cadeias polipeptídicas contém entre 50 a 2.000 resíduos de aminoácidos. Como o peso molecular médio dos aminoácidos gira em torno de 110, os pesos moleculares da maioria das cadeias polipeptídicas é em torno de 5.500 a 220.000. O tamanho das proteínas é também referido em termos de massa, expresso em unidades daltons. Uma unidade *dalton* é igual a uma unidade de massa atômica. Assim, uma proteína de peso molecular de 150.000 (os anticorpos têm aproximadamente esse peso molecular), tem uma massa de 150.000 daltons, ou 150 kd ou 150 kilodaltons.

Certas proteínas possuem *ligações dissulfeto*. Essas ligações interligam partes de uma cadeia (quando os resíduos de *cisteína* estão em diferentes partes da sequência da mesma cadeia polipeptídica) ou duas cadeias quando estão em diferentes cadeias de uma mesma molécula de proteína. A ligação resulta da interação entre os grupos SH de que resulta uma cistina:

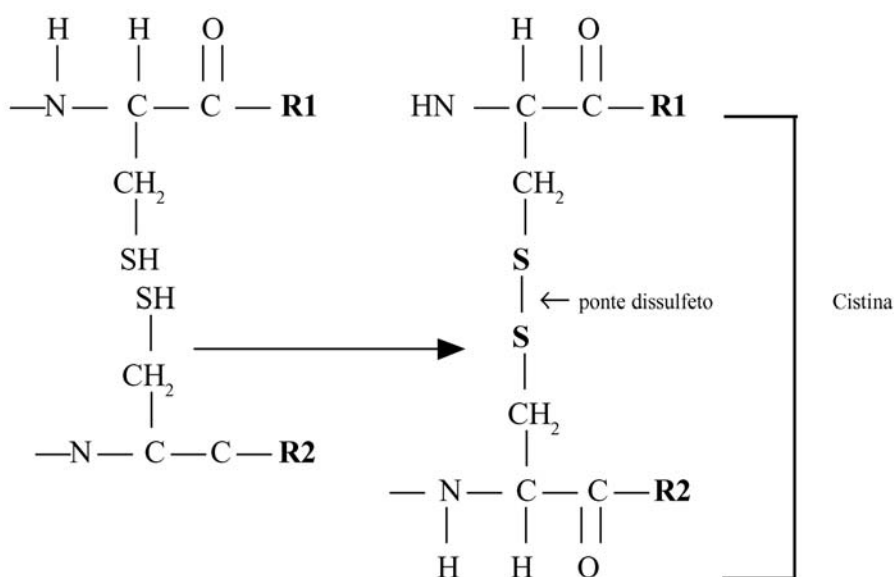


Figura 20.5 - Formação de ponte dissulfeto.

Certos aminoácidos podem ser modificados após a síntese da cadeia polipeptídica. Por exemplo, os resíduos da porção N-terminal podem ser acetilados, modificação que aumenta a resistência da proteína à degradação. A hidroxiprolina pode ser hidroxilada, transformando-se em hidroxiprolina, processo importante na síntese do colágeno. A carboxilação do glutamato, que se transforma em γ -carboxiglutamato, é importante para que protrombina exerça suas ações. Fosforilação de serina, treonina e tirosina.

As cadeias polipeptídicas podem enrolar-se sobre si mesmas e formar unidades estruturais regularmente repetidas. Esse remodelamento da estrutura molecular básica cria possibilidades configuracionais de que resultam as estruturas tridimensionais das proteínas. É claro que a sequência de aminoácidos de cada proteína orienta a especificidade da conformação. Linus Pauling e Robert Corey abordaram esse problema estrutural das proteínas usando os métodos de cristalografia por raios-X. Mostraram que na estrutura tridimensional das proteínas há duas estruturas polipeptídicas periódicas, α -hélice e β -hélice são estruturas em forma de bastão, estabilizadas por pontes de hidrogênio formadas por grupos NH e CO. Grupo CO de um aminoácido liga-se por ponte de hidrogênio ao grupo NH do quarto aminoácido localizado adiante na mesma cadeia polipeptídica. A cadeia se dobra

em hélice. Nas β -folhas as pontes de hidrogênio entre grupos NH e CO situam-se em cadeias polipeptídicas diferentes. Formam estruturas tridimensionais em forma de folhas ou placas. Cadeias adjacentes podem orientar-se na mesma direção ou em direção oposta. No primeiro caso formam β -folhas paralelas e no segundo β -folhas antiparalelas.

As proteínas, via de regra, depois de sintetizadas, recebem um número variável de moléculas de carboidratos na sua molécula. Moléculas de carboidratos de estrutura variada ligam-se por meio de reações de glicosilação mediadas por enzimas específicas a certos resíduos de aminoácidos. As cadeias de carboidrato são importantes para as atividades das proteínas.

O grupo de proteínas que se precipitava em concentrações menores de sulfato de amônio, da ordem de 25-30%, foi denominado globulinas; as proteínas que permaneciam em solução ou que só se precipitavam com concentrações muito altas de sulfato de amônio foram denominadas albuminas. A eletroforese, cujos princípios, aparelho e técnica já foram descritos, permite separar albumina de globulinas (*Aula 19- Anticorpos como entidade*, **Figura 19.3**). A aplicação mais cuidadosa desse método permite separar os dois grupos de proteínas, dissociar as globulinas em α , β e γ globulinas. Mais tarde cada uma foi subfracionada em α_1 , α_2 e β_1 e β_2 .

O emprego da técnica da imunoabsorção descrita na *Aula 19- Anticorpos como entidade* permitiu demonstrar que a maioria dos anticorpos (**Acs**) encontra-se entre as γ -globulinas; apenas uma pequena porção de **Acs** acha-se entre as β -globulinas. As globulinas anticorpos foram sucessivamente denominadas globulinas imunes e imunoglobulinas, abreviadamente Igs.

A aquisição de mais conhecimentos sobre a molécula de anticorpo, isto é, sobre sua arquitetura, composição e anatomia funcional, estava dependendo de inovações técnicas que permitissem sua obtenção como proteína pura, livre de moléculas de outras proteínas.

No final dos anos quarenta e início dos anos cinquenta, B. Lindqvist e T. Storgards fizeram a primeira tentativa de purificar proteínas utilizando amido pré-umedecido. Imaginaram construir um gel de malhas uniformes através das quais as moléculas de proteínas solubilizadas em água penetrassem e saíssem em ordem decrescente conforme o tamanho de suas moléculas.

O amido, embebido em uma solução aquosa compatível com a integridade de moléculas de proteínas, era depositado em uma coluna de vidro disposta em posição vertical. A solução de proteínas, dissolvida em um pequeno volume da mesma solução usada para dissolver o amido, era adicionada no topo da coluna. Depois que a solução de proteínas penetrava o gel de amido, procedia-se à eluição das proteínas gotejando a mesma solução no topo da coluna e recolhendo o filtrado em amostras seriadas de volumes iguais. Essa coluna permitia separar moléculas grandes de moléculas pequenas. Moléculas de tamanho intermediário distribuíam-se entre os dois grupos. Os resultados variavam com as diferentes partidas de amido.

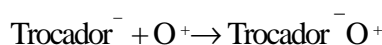
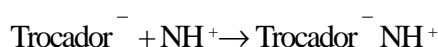
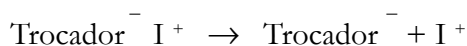
J. Porath e P. Flodin aperfeiçoaram essa técnica substituindo amido por dextranas de alto peso molecular. Esse aperfeiçoamento abriu caminho para a introdução de celulose e o desenvolvimento das resinas sintéticas mais uniformes, resistentes e menos agressivas para as moléculas de proteínas e de outros biopolímeros. Esses métodos, referidos como filtração em gel, permitem a separação de biopolímeros de acordo com o tamanho de suas moléculas.

As resinas sintéticas, poliestirene, polifenólicas, acrilamida, são cadeias uniformes que permitiram a introdução de grupamentos químicos eletricamente carregados com radicais negativos ou positivos, p.ex., ácido sulfônico, grupos carboximetílicos etc. Surgiram as resinas de troca iônica.

Troca de íons pode ser definida como uma permuta reversível de íons em solução com íons eletrostaticamente ligados a um suporte insolúvel. O trocador de íons é o suporte inerte no qual grupos funcionais positivos (no caso, trocadores de ânions) ou negativos (no caso trocadores

de cátions) estão covalentemente ligados. Todo íon eletrostaticamente ligado ao trocador é referido como contra-íon. O valor dessa técnica no isolamento e separação de biopolímeros está na possibilidade de criar condições que permitam a ligação eletrostática de certos componentes no trocador de íons e outros não. Como funcionam?

As misturas de compostos iônicos, no caso de biopolímeros, a serem separados são colocadas em contato com o trocador de íons até atingir o equilíbrio. Ver exemplo abaixo:



No exemplo, Trocador^- é o trocador de cátions, e I^+ , NH^+ e O^+ são os cátions. Moléculas neutras e ânions não se ligam à esta resina.

Em seguida à ligação eletrostática da molécula que possui um diferencial de carga oposta à do trocador, moléculas de igual diferencial de carga ou sem carga não se ligam e podem ser excluídas. Os cátions ligados, no caso NH^+ e O^+ , são sequencialmente eluídos, ou lavando a resina com solução contendo concentrações crescentes de I^+ , assim aumentando a probabilidade de I^+ substituir NH^+ ou O^+ , ou lavando a resina com solução cujo pH vai sendo progressivamente aumentado e convertendo NH^+ e O^+ em N^0 e O^- , respectivamente.

Quando a concentração de I^+ aumenta, a força de ligação depende da quantidade de carga em NH^+ e em O^+ . Quanto maiores as cargas das moléculas (no caso) NH^+ e O^+ , maior será a concentração requerida de I^+ para eluí-las.

Quando o pH é trocado, a ligação depende do pK da molécula de biopolímero, no caso, $\text{NH}^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{N}^0 + \text{HOH}$ ou $\text{O}^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{O}^- + \text{OH}_2^+$. Quanto maior o pK da molécula, O^+ ou NH^+ , maior será o pH requerido para eluí-las do trocador de íons.

Na mesma época foram delineados métodos analíticos de caracterização de biomoléculas. Eletroforese em gel de poliacrilamida ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) polimerizada por bisacrilamida N,N - metileno

permite a separação de biomoléculas segundo o tamanho e a carga de suas moléculas. Pequenas amostras da solução de biomoléculas são depositadas em um dos bordos do gel de poliacrilamida que, a seguir, é submetido a uma corrente elétrica de corrente contínua por algumas horas. As diferentes espécies de biomoléculas, separadas ao longo do gel, são identificadas por técnicas de coloração específica segundo a natureza da biomolécula. Moléculas de massa e carga semelhantes podem ainda ser resolvidas segundo seu ponto isoelétrico (pI), isto é, o pH no qual a diferença entre as cargas da biomolécula for zero.

A associação de métodos de cromatografia de filtração em gel e de troca iônica

Vencida a etapa de obtenção de moléculas de biopolímeros em estado de alta pureza, o objetivo seguinte foi o desenvolvimento de métodos que permitissem determinar as seqüências de suas unidades estruturais. No caso de proteínas, métodos de determinar a seqüência de seus aminoácidos foram desenvolvidos por P. Edman, em 1950 e F. Sanger e H. Tuppy, em 1961.

Os imunoquímicos, evidentemente, usaram esse arsenal de técnicas para esclarecer a estrutura das Igs. No período de 1959 a 1969, entre as numerosas e excelentes contribuições sobre a anatomia funcional da molécula da Ig: IgG, destacam-se as de R. R. Porter, em 1959 e de G. M. Edelman e M. D. Poulik, em 1961.

Vários grupos de imunologistas abordaram a anatomia funcional do anticorpo IgG associando várias estratégias.

Obtenção de soros ricos em anticorpos de especificidade conhecida. Para facilitar a localização das proteínas com atividade de anticorpos, coelhos eram imunizados com antígenos bem conhecidos usando esquemas de imunização tradicionais. Decorrido o tempo suficiente para que o sistema imune dos coelhos produzisse anticorpos para aqueles antígenos, os coelhos eram sangrados e o soros obtidos também pelos métodos tradicionais. A presença de anticorpos específicos para os antígenos usados na imunização dos coelhos era testada usando qualquer dos métodos imunoquímicos disponíveis e já padronizados. Esses anticorpos eram precipitados com quantidades de sulfato de amônio ou de sódio necessárias para precipitar γ -globulinas, entre elas anticorpos IgG, e separá-las, principalmente, da albumina.

Purificação de IgG de soro de coelho. Os precipitados com sulfato de amônio ou de sódio contendo a maior parte de anticorpos IgG eram dissolvidos em solução tampão de pH e concentração salina adequados. Volumes adequados da solução rica em anticorpos IgG eram aplicados no topo de uma coluna de vidro contendo resina de DEAE-celulose, que contém grupos dietilaminoetil ligados a uma rede de celulose, um trocador de ânions. Moléculas de proteínas aniônicas, PrCOO^- — H^+ permutam-se com o trocador de ânions, resina de celulose contendo grupos $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, de onde são eluídas, logo no primeiro pico, com tampão de fosfato 0,02M, pH 8.0. Neste processo de separação, denominado cromatografia de troca iônica, como já referido, as γ -globulinas, entre elas IgG, eluem-se no primeiro seguidas de β , α , e albumina (Figura 20.6).

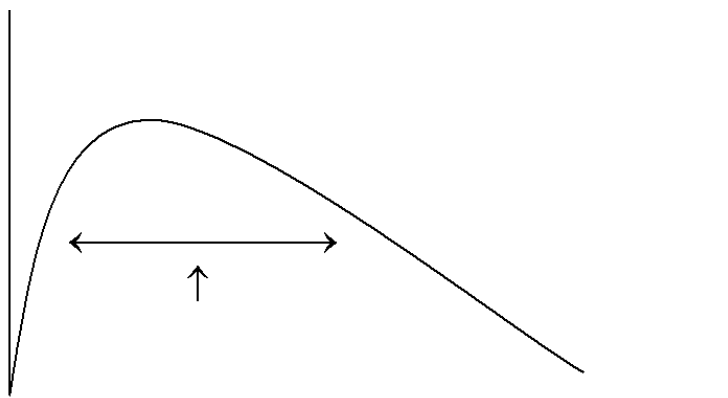


Figura 20.6 - Isolamento de IgG de coelho por cromatografia em DEAE-celulose. IgG foi recuperada da resina em um pico assimétrico, como indicado pelas setas.

Separação das cadeias polipeptídicas. A proteína IgG recolhida da cromatografia, como descrito, foi tratada com o agente redutor 2-mercaptoetanol 2 ($\text{HO}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{SH}$). As ligações dissulfeto se rompem por exposição ao agente redutor. Para impedir a reorganização da ligação dissulfeto, os grupamentos S- são alquilados com o composto iodoacetamida 2 ($\text{ICH}_2\cdot\text{C}=\text{ONH}_2$), conforme representado no esquema abaixo:

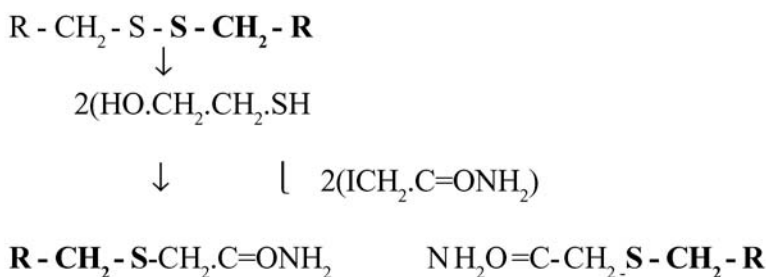


Figura 20.7- Rompimento de ponte dissulfeto por agente redutor.

Estrutura geral da molécula de Ig. Os conhecimentos sobre a estrutura da molécula de imunoglobulina foram obtidos por Gerald Edelman. Esse pesquisador separou suas presumíveis cadeias polipeptídicas por cromatografia em colunas de CM-celulose. O gráfico da **Figura 20.8** mostra que a solução de IgG reduzida e alquilada, nesta cromatografia, resolveu-se em dois picos de proteínas, um de 23kd e outro de 53kd.

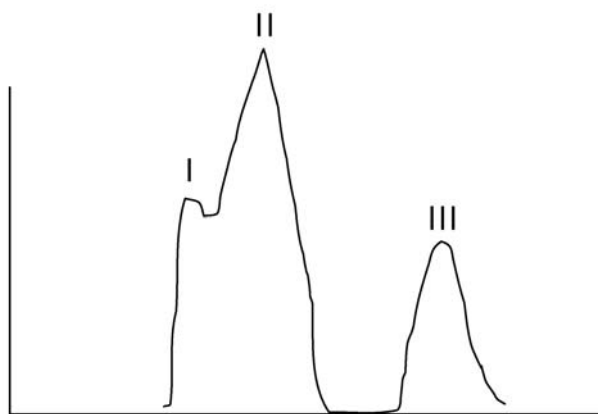


Figura 20.8- Cromatografia em coluna de Sephadex G-100 de IgG reduzida com 2-mercapetanol e alquilada com iodoacetamida. Pico I, IgG agregada; P II, cadeias H; pico III, cadeias L.

Essas proteínas foram denominadas, respectivamente, cadeias leves ou **L** (*light*) e pesadas ou **H** (*heavy*). Outro pesquisador, Rodney Porter, modificou o processo e submeteu a solução de IgG a condições de redução menos drásticas. Com essa modificação conseguiu reassociar as cadeias e reconstituir a molécula original de IgG: duas cadeias **L** e duas cadeias **H**, formando duas a duas os pares **LH** unidos entre si. A estrutura proposta para a molécula, de um **Y**, na qual os braços correspondem às regiões em que as cadeias **L** estão unidas às cadeias **H** sendo formado pelas regiões das cadeias **H** livres de **L**, confirmou-se mais tarde quando a molécula foi submetida a análises mais refinadas. A forma de **Y** tornou-se o símbolo da imunologia.

Estrutura geral. A molécula de IgG é, portanto, constituída por quatro cadeias polipeptídicas, duas pesadas (**H**), idênticas entre si, e duas leves (**L**), também idênticas entre si, as quais, como mostra o esquema da **Figura 20.9**, se acham interligadas por pontes de dissulfeto (**-S-S-**).

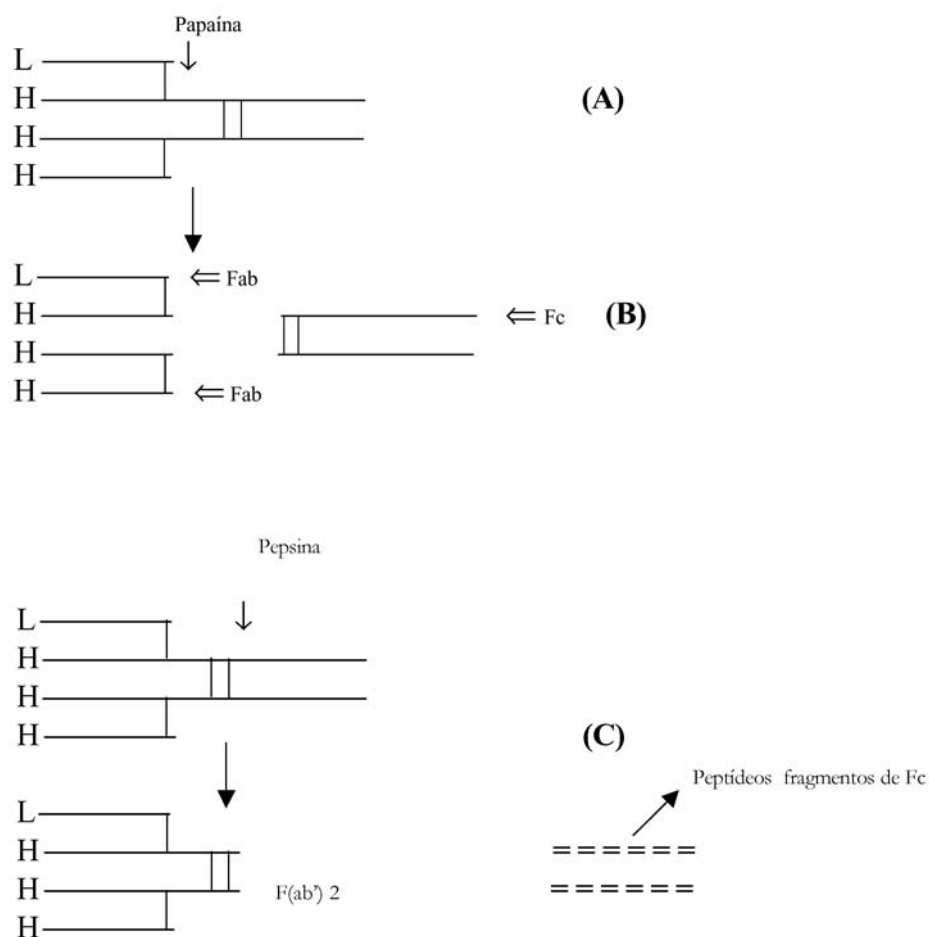


Figura 20.9 - Estrutura da molécula de IgG (A) e dos produtos de clivagem por papaína (B) e por pepsina (C).

Anatomia funcional da molécula de IgG. O passo seguinte foi estudar a anatomia funcional da molécula de IgG. Também, neste capítulo, apesar das numerosas contribuições de outros pesquisadores, destacam-se os trabalhos realizados independentemente de R. R. Porter, Edelman e de A. Nissonoff e D. Pressman, publicados em 1958. Como se viu, já era possível obter moléculas de IgG altamente purificadas. Além disso, a enzimologia havia caracterizado o modo de ação de certas enzimas que cortam com extrema precisão ligações peptídicas formadas por resíduos específicos de aminoácidos na estrutura de proteínas. Aqueles pesquisadores usaram, para fragmentar a molécula de IgG, duas enzimas de especificidade muito bem caracterizadas: papaína extraída do látex do mamão (*Carica papaya*) e pepsina isolada do suco gástrico. Soluções de IgG tratadas com uma dessas enzimas foram cromatografadas, pelos mesmos processos já descritos em colunas de filtração em gel, como Sephadex G-200.

A Figura 20.9 A, B e C mostra que da fragmentação enzimática da molécula de IgG resultaram os fragmentos designados Fab de *antigen binding domain*, Fc de *fragment cristalisable domain* e $F(ab')_2$. Esses fragmentos foram analisados com respeito à sua capacidade para combinar com epitopos, presentes nas moléculas dos antígenos, usados para imunizar o animal de cujos soros a IgG foi isolada. Verificou-se que apenas os fragmentos Fab retinham essa propriedade. O fragmento Fc, além de não se combinar com o antígeno, cristalizava-se, espontaneamente, após sua remoção da molécula de IgG. A reorganização desses fragmentos na molécula de IgG permitiu localizar suas posições na estrutura em Y de IgG.

Verificou-se, mais tarde, que o fragmento Fc é responsável pelas funções inespecíficas da molécula de IgG, como suas interações com receptores celulares ou com certas proteínas do soro coletivamente denominadas sistema complemento. Verificou-se, também, que numa mesma molécula os Fabs possuem a mesma especificidade.

R. R. Porter e G. M. Edelman foram laureados com o prêmio Nobel, em 1972, por essas contribuições fundamentais para o conhecimento da estrutura da molécula de IgG.

Antes de prosseguir na análise da estrutura da molécula de Ig, algumas noções de imunologia fundamental são necessárias à compreensão dos tópicos seguintes:

a) os anticorpos, isto é, Igs, são sintetizados por clones de células denominadas plasmócitos, diferenciadas de uma população de células linfóides denominadas linfócitos B;

b) cada clone de linfócitos B está comprometido a fazer anticorpos para um, e somente um, epitopo; como uma mesma molécula de antígeno pode conter vários epitopos, para a molécula de um determinado antígeno podem diferenciar-se diferentes clones de linfócitos B e, portanto, diferentes clones de plasmócitos que produziram diferentes anticorpos;

c) mielomas são tumores de plasmócitos que se originam na medula óssea; as células de um mesmo plasmocitoma sintetizam Igs com a especificidade do anticorpo que teria sido produzido se seus progenitores normais tivessem sido estimulados pelo epitopo para o qual potencialmente estavam destinados;

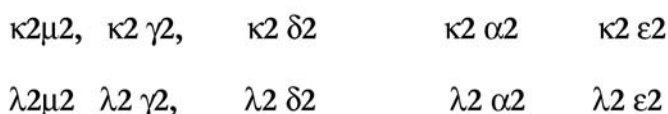
d) a injeção de cadeias L e H ou dos fragmentos Fab e Fc em animais de espécie diferente da que forneceu a Ig original produz anti-

corpos capazes de precipitar especificamente cada uma das cadeias ou de seus fragmentos; esses anticorpos anticadeia **L**, anticadeia **H**, anti-Fab e anti-Fc foram de grande importância para os avanços seguintes nos conhecimentos das Igs.

Com o apoio desses conceitos, métodos e reagentes, verificou-se a existência de dois tipos de cadeias **L**, kappa (κ) e lambda (λ) e cinco tipos de cadeias **H**, μ , γ , δ , α e ϵ . Dois conceitos ficaram solidamente estabelecidos:

- cada molécula de Ig contém ou κ ou λ , jamais as duas;
- cada molécula de Ig contém duas cadeias **H**, porém ambas de um mesmo tipo, isto é, ou μ , ou γ , ou δ , ou α ou ϵ ,

Portanto, no soro, são encontradas moléculas de Ig com as seguintes constituições:



Há, portanto, nos mamíferos, incluindo-se o homem, cinco classes de Igs: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, cada uma possuindo um ou mais isotipos. As classes e os seus isotipos diferenciam-se entre si pelo tamanho, pela carga elétrica, e pela composição de aminoácidos e carboidratos da respectiva molécula.

Os imunoquímicos, usando os métodos de Sanger e Edman, seqüenciaram as cadeias **L** e **H**. Obtiveram a informação que as cadeias **H** possuem em torno de 440 resíduos de aminoácidos e as cadeias **L** 220. Em ambas, a partir de um segmento curto na porção N-terminal, dispõem-se resíduos do aminoácido cisteína distanciados 60 resíduos de aminoácidos um do outro. Há, portanto, 4 resíduos de cisteína nas cadeias **L** e 8 nas cadeias **H**. Os aminoácidos intervenientes entre dois resíduos de cisteína consecutivos expandem-se em alça para o lado externo da molécula, enquanto os dois resíduos de cisteína se ligam por pontes dissulfeto intracadeias. Formam-se, assim, duas alças nas cadeias **L** e quatro nas cadeias **H**. As concavidades das alças das cadeias **L** colocam-se, simetricamente, defronte das que se formam nos segmentos correspondentes das cadeias **H**, de modo a constituir domínios. Por processo idêntico, as duas alças da porção das cadeias **H** não emparelhadas com cadeias **L** formam

módulos ou domínios com as correspondentes alças da outra cadeia **H**. Organizam-se, portanto, seis domínios, sendo quatro envolvendo as cadeias **L** e dois apenas cadeias **H**. Os primeiros quatro domínios estão separados dos dois últimos por uma ligação dissulfeto entre as duas cadeias **H**. Essa região, denominada *região da dobradiça* confere certa flexibilidade à molécula, de modo que entre os domínios que contêm cadeia **L** podem se flexionar. Cada domínio consta, portanto, de 110 resíduos de aminoácidos.

Em cada tipo de cadeia há, portanto, um domínio variável (V_H e V_L) e outro constante (C_H e C_L). Os domínios variáveis estão unidos aos constantes por regiões *J Joining*. Nos vertebrados, as duas classes de cadeias **L**, κ e λ , são diferentes na composição de aminoácidos. As cadeias pesadas, denominadas, como referido, γ para IgG, α para IgA, μ para IgM, δ para IgD e ϵ para IgE também diferem entre si na composição de aminoácidos. Além disso, os isotipos de cada classe designados por um número colocado imediatamente à direita da sigla (IgM₁, IgM₂, IgG₁, IgG₂ etc.) também diferem entre si por substituições de um ou outro aminoácido na sua porção constante. É importante acentuar que num dado anticorpo as duas cadeias **L** e as duas cadeias **H** são sempre da mesma classe e isotipo.

Tanto nas cadeias **L** como nas **H**, o caráter variável ou constante é determinado pela seqüência de aminoácidos. Assim, quando se comparam as seqüências de várias cadeias **L** de uma mesma espécie, as quais têm aproximadamente 220 aminoácidos, verifica-se que a região C-terminal é quase idêntica em todas elas, enquanto a região N-terminal é muito diferente uma da outra. Denomina-se, portanto, **VL** a seqüência formada pelos 110 primeiros aminoácidos e **CL** a metade restante.

Verificou-se, depois, que as substituições de aminoácidos nas regiões variáveis não se distribuem homogeneamente: algumas porções da cadeia eram muito mais variáveis do que outras e por isso foram denominadas regiões hipervariáveis. Nas cadeias **L** essas regiões estão localizadas nas proximidades dos resíduos de aminoácidos de números 30, 50 e 95. As regiões hipervariáveis constituem os sítios de união dos anticorpos com o antígeno, sendo por isso denominadas CDR de *Complementarity Determining Regions*. Há três segmentos CDR separados um do outro por estruturas rígidas, denominadas FR, de *Framework Regions*, tanto na cadeia **L** como na cadeia **H**. Assim, o sítio de

união da molécula de Ig com o antígeno consta de um esqueleto rígido formado por uma prega da cadeia de aminoácidos, nele se distribuindo os peptídeos que dão lugar às alças de tamanho e formas variáveis e que constituem um CDR.

Na Figura 20.9D, esquema resultante de uma análise cristalográfica da molécula de Ig mostra o esqueleto rígido e o pregueamento (para maiores informações, consultar as referências: SILVERTON, E. W.; NAVIA, M. A.; DAVIES, D.R. Three-dimensional structure of an intact human immunoglobulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v.74, n.11, p.5140-5144.

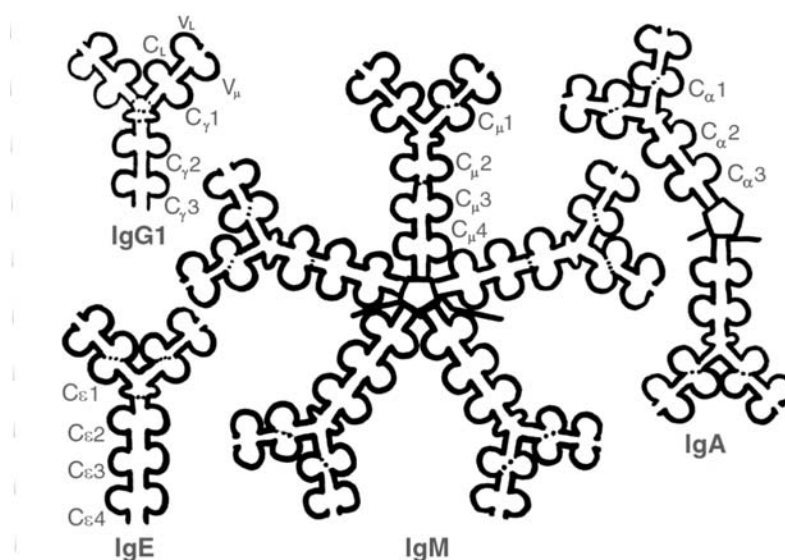
Os seis CDR são bastante variáveis com respeito à sua composição de aminoácidos; o terceiro, CDR da cadeia **H**, é o de maior variabilidade porque é mais longo, podendo conter até quinze ou mais aminoácidos.

Admite-se, hoje, que as dobras que organizam um CDR, pelo menos em cinco dos seis segmentos CDR, formam o que se costuma chamar de *configurações canônicas*. Assim o enorme repertório de especificidades dos anticorpos seria o resultado da seleção combinatória de uma número restrito de dobras canônicas, que, por sua vez, diferem um do outro quanto ao seus aminoácidos. Modificações no esqueleto rígido também afetam a conformação final dos segmento CDR; por exemplo, a substituição de um aminoácido volumoso (arginina) por um menor (alanina) na posição 71 da cadeia **H** pode deslocar o CDR₂ para um espaço vazio e assim alterar a configuração do sítio de ligação do anticorpo com o antígeno.

As modificações que se passam tanto nas alças como no esqueleto rígido constituem a base da especificidade dos anticorpos, sendo, por isso mesmo, o fundamento químico do reconhecimento específico exercido pelos anticorpos sobre os antígenos. Nesse caso, as diferentes possibilidades de combinações de estruturas canônicas representariam, na analogia da *chave-fechadura* proposta por Erlich para explicar a especificidade antígeno-anticorpo, a forma geral da chave (as características gerais que lhe permitem entrar na fechadura) e as características especiais dos aminoácidos se responsabilizariam pela pormenorização dos ajustes finos (as características próprias de cada chave que lhe permitiriam movimentar o sistema).

Classes e isotipos de imunoglobulinas - Reconhecem-se atualmente 5 classes de imunoglobulinas humanas, caracterizadas por possuírem, em suas cadeias **H**, determinantes isotípicos distintos, designados como já referido em parágrafo anterior, pelas letras γ , α , μ , δ e ϵ e denominadas, respectivamente, IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

A Figura 20.10 mostra, lado-a-lado, a estrutura esquemática das



Imunoglobulina G. IgG é a imunoglobulina que ocorre em maior concentração no soro humano ($1.240 \pm 270\text{mg}/100\text{ml}$) e possui teor de carboidrato cerca de 3-4 vezes menor que o das demais imunoglobulinas.

Existem 4 variantes isotípicas ou subclasses de IgG humana, denominadas IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, que correspondem, respectivamente, a 70, 16, 10 e 4% do teor total de IgG. Diferenciam-se ainda as subclasses pelo número de pontes SS existentes na região da dobradiça: 2 para IgG1 e IgG4, 4 para IgG2 e 5 para IgG3. No que concerne a propriedades biológicas, todas as subclasses de IgG humana são capazes de atravessar a placenta (uma propriedade certamente não relacionada ao peso molecular, pois a IgA monomérica, de 160 kDa, ou a soralbumina, de P.M. 60.000, são incapazes de fazê-lo), porém IgG4 não fixa complemento, IgG2 não é capaz de fixar-se à pele heteróloga e tanto IgG2 como IgG4 são destituídas de ação opsonizante para polimorfonucleares ou de citofilia para macrófagos.

As cadeias pesadas das diferentes subclasses de IgG humana são portadoras de especificidades alotípicas (fatores Gm) distintas.

Imunoglobulina A. A IgA humana ocorre seja no soro, seja nas secreções exócrinas (saliva, fluidos nasal, brônquico e intestinal, lágrima, colostro).

No soro, a imunoglobulina A existe principalmente sob forma monomérica (7S), podendo, entretanto, também formar polímeros de 9-13S, cujas unidades são ligadas por uma cadeia polipeptídica de 15kD, denominada peça J (*Junction Piece*), que facilmente se dissocia com 2-mercaptoetanol, liberando as unidades monoméricas. Quanto à IgA secretora, é formada por um dímero estabilizado pela cadeia J, unido a uma glicoproteína de cerca de 60 kD dita “componente secretor” ou “peça de transporte”, que parece condicionar a passagem do dímero, sintetizado em regiões subepiteliais, à superfície das mucosas. Enquanto as unidades monoméricas e a cadeia J são sintetizadas em plasmócitos, a peça de transporte é formada em células epiteliais glandulares.

Distinguem-se duas subclasses de IgA (IgA1 e IgA2), que ocorrem no soro nas proporções de 80 e 20% (nas secreções, aproximadamente em partes iguais). A molécula de IgA1 possui 3 pontes SS intercatenárias (1 inter-He 2 inter-L), ao passo que IgA2 apresenta apenas duas pontes intercatenárias (1 inter-H e inter-L).

Imunoglobulina M. IgM é uma molécula de 900 kDa, constituída por 5 unidades monoméricas de 180 kDa reunidas pelos 2 segmentos constantes C-terminais de seus fragmentos Fc num disco central estabilizado pela peça J. Ao contrário das demais imunoglobulinas, IgM não apresenta a região da dobradiça, rica em carboidrato; no caso de imunoglobulina M, o carboidrato se distribui na periferia do disco central e possivelmente propicia a flexibilidade necessária à abertura dos braços de Fab de cada unidade monomérica.

De acordo com o modelo pentamérico de IgM que acabamos de descrever, aliás confirmado por análises em microscopia eletrônica, a molécula dessa imunoglobulina deveria exibir uma valência igual a 10. Isso, porém, só foi possível ser verificado com moléculas antigênicas muito pequenas, *e.g.*, com DNP-octametileno diamina. Com antígenos maiores, porém, em virtude de impossibilidade estérica, somente 5 sítios combinantes são disponíveis.

Tal como IgG1 e IgG3, IgM é capaz de fixar complemento e, de fato, com maior eficiência, pois uma única molécula de IgM na superfície de um eritrócito é capaz de iniciar a ativação do sistema complemento pela via clássica. IgM é também mais eficiente que IgG no que concerne à capacidade aglutinante e à aderência opsônica. Nas experiências *in vivo*, sua capacidade opsônica tem-se revelado até mais elevada que a de IgG; porém, *in vitro*, a aderência opsônica condicionada por C3b fixado ao complexo Ag/Ac pode não ser seguida de endocitose, pela impossibilidade de “encaixe” dos fragmentos Fc. O assunto será melhor discutido a propósito do mecanismo da imunofagocitose.

Imunoglobulina D. Por existir em pequena quantidade (30µg/ml), IgG não é evidenciada na eletroforese do soro humano normal em presença de anti-soros capazes de revelar os arcos de precipitação correspondentes a IgG, IgA e IgM. O achado de um caso de mieloma permitiu, porém, caracterizá-la como uma imunoglobulina distinta das precedentes que, posteriormente, verificou-se poder estar associada à função anticorpo (antinsulina). Tal como as cadeias pesadas de IgM e IgE, a cadeia H de IgD tem um peso molecular de cerca de 70 kDa e nela se verifica um quarto domínio C-terminal, rotulado CH₄.

Imunoglobulina ou IgE. Trata-se de Ig encontrada em quantidades ínfimas no soro, peso molecular de 185 kDa, decorrente do fato de suas cadeias e corresponderem a 70 e não 50kDa, como no caso de IgG e de IgA; constante de sedimentação 8 S; alto teor de carboidratos (12%); existência de um quarto domínio CH₄, como em IgM e em IgD; termolabilidade a 56°C. 4 horas, devida provavelmente à destruição das estruturas responsáveis pela sensibilidade anafilática.

Marcadores Genéticos das Imunoglobulinas

Alótipos. Assim se denominam os tipos alternativos de qualquer classe ou subclasse de imunoglobulina, caracterizados por especificidades antigênicas codificadas por genes alelos.

A demonstração das especificidades alotípicas (alótipos) foi feita pela primeira vez no coelho por Oudin (1956) e, contemporaneamente, no homem, por Grubb.

No coelho, reconheceram-se inicialmente 2 séries de especificidades alotípicas correspondentes a alelos codominantes de 2 blocos distintos (a,b): as especificidades a1, a2, a3 localizadas na região variável da cadeia H (γ ou μ) e as especificidades b4, b5, b6 na região constante das cadeias L (Kappa).

Posteriormente, 3 séries adicionais foram identificadas (c, d, e):

Cκ	b4, b5, b6, b9
Cλ	c7, c21
V_H	a1, a2, a3
C_H	d11, d12, e14, e15

O mecanismo mendeliano de transmissão foi desde logo estabelecido, verificando-se, ademais, que poderiam ser transmitidas um mínimo de 2 e um máximo de 4 especificidades alotípicas. Na molécula de imunoglobulina, as cadeias H e as cadeias L possuem marcadores genéticos idênticos, de sorte que um heterozigoto cujo genótipo seja, por exemplo, a1 a3 b4 b6, produzirá 4 tipos de moléculas (a1 b4, a1 b6, a3 b4, a3 b6), o homozigoto em apenas um dos locos, *e.g.*, a1 a1 b4 b4, apenas 1 (a1b4). A expressão de apenas 1 dos dois genes de cada loco é denominada restrição alotípica.

No homem foram descritas especificidades alotípicas correspondentes aos fatores Gm (cadeia g), Am (cadeia a2) e InV (cadeia κ). Reconhecem-se presentemente mais de 20 fatores Gm, cuja distribuição se faz, na maioria das vezes, em subclasses específicas: 1, 2, 3, 7, 17, 18 e 20 na subclasse IgG1; 23 em IgG2; 5, 6, 10, 11, 14, 15, 16, 21 e 25 em IgG3; 4a e 4b 4m em IgG4. Quanto aos fatores InV (In, de inibidor e V, inicial do paciente), são em número de 3 e ocorrem nas cadeias κ de qualquer classe de imunoglobulina.

A especificidade dos determinantes InV depende da substituição de um único aminoácido na posição 191 das cadeias kappa: leucina para InV 1, 2 e valina para InV 3*.

A determinação dos grupos de Gm é feita através de reação de inibição num sistema constituído de hemácias Rh (D)-positivas, soro anti-Rh (D) incompleto, soro de casos de artrite reumatóide.

Obviamente, para tal determinação não se pode usar qualquer anti-D, nem qualquer F.R., mas sim as combinações que correspondem à mesma especificidade.

Idiótipos. Anticorpos individuais e proteínas mielomatosas de mesma subclasse e alótipo possuem determinantes antigênicos específicos, resultantes de diferenças na sequência de aminoácidos das zonas hipervariáveis que compõem o sítio combinatório. Nessas condições, se coelhos forem imunizados com anticorpos purificados provenientes de outra espécie, *e.g.*, anticorpos humanos anti-A, provenientes de diferentes indivíduos, os anti-soros obtidos, após absorção exaustiva com soro humano normal, reagirão apenas com os anti-A homólogos, indicando uma especificidade dirigida contra seqüências variáveis produzidas por clones individuais de células formadoras de anticorpo.

Tais especificidades foram pela primeira vez evidenciadas por Oudin, que as denominou especificidades idiotípicas ou, simplesmente, idiótipos.

As especificidades idiotípicas se expressam não somente em moléculas de imunoglobulinas livres, mas também nos receptores de linfócitos B(Ig) ou de linfócitos T(IgT). Neste último caso, além da participação de genes V_H , admite-se que, também, esteja envolvido o loco principal de histocompatibilidade.

Nos anos sessenta, o mapeamento imunoquímico dos sítios combinatórios (parátomos) da molécula de IgG passou a ser o tema da época. Era importante conhecer a configuração das diferentes fendas ou bolsas onde se encaixam os respectivos determinantes antigênicos (epítomos). O conhecimento desses pormenores, isto é, constituição e seqüência de aminoácidos, era fundamental para se saber o tamanho do repertório de variabilidades que o sistema imune é capaz de organizar. Iniciavam-se os trabalhos de seqüenciação de aminoácidos, mais tarde completados com os estudos de DNA recombinante dos anticorpos.

O soro de Elvin A. Kabat, como descrito na aula anterior, era fonte preciosa de anticorpos IgG antidextranas e antilevanas. Os títulos desses anticorpos permaneciam elevados mesmo depois de muitos anos e, surpreendentemente, tornaram-se monoclonais. Como veremos na aula *Anticorpos Humanizados, Aula 21* anticorpos monoclonais possuem especificidade para apenas um epítomo. Para obter quantidades suficientes de sua IgG submeteu-se, estoicamente, a sangrias semanais, de modo a obter 7,5 litros de seu soro. Infelizmente, as quantidades de anticorpos monoclonais antidextranas que se obtiveram eram pequenas para os métodos de

seqüenciamento disponíveis na época. Entretanto, três anticorpos IgA monoclonais antidextranas $\alpha(1\rightarrow6)$ isolados de camundongo, rotulados W3129, QUPC52 e W3434 permitiram uma análise fina de seus sítios combinatórios. W3129 e W3434 possuíam sítios combinatórios complementares para cinco glicoses $\alpha(1\rightarrow6)$, enquanto QUPC52 possuía para seis desses sítios; W3129 era dirigido para a porção redutora terminal do oligossacarídeo $\alpha(1\rightarrow6)$, enquanto QUPC52 era específico para sua cadeia interna de glicoses. Reconhecia-se, experimentalmente, que os sítios combinatórios dos anticorpos identificam pormenores estruturais extremamente finos.

Mais informações foram obtidas sobre a natureza dos sítios combinatórios dos anticorpos com a obtenção de imunoglobulinas monoclonais presentes no soro de pacientes com certas doenças malignas do sangue: imunoglobulinas completas ou quase completas, as proteínas de Waldenström e uma proteína semelhante à cadeia L de imunoglobulinas, proteína de Bence Jones. Essas proteínas permitiram numerosos estudos da estrutura dos sítios combinatórios dos anticorpos.

As primeiras análises de seqüência de aminoácidos feitas em duas proteínas de Bence Jones revelaram que elas diferiam extensivamente nos seus primeiros 107 resíduos de aminoácidos, porém eram essencialmente idênticas no restante da cadeia. Análise semelhante de grande quantidade de proteínas Bence Jones confirmou a existência de duas regiões, uma variável e outra constante, dispostas linearmente na molécula de imunoglobulina.

Em alguns soros de pacientes com mieloma foram isoladas imunoglobulinas da classe IgM que exibiam atividades de anticorpo específicas para pormenores estruturais de polissacarídeos. Entre esses destacaram-se uma IgM^{NOV} específica para ácido N-acetilneuramínico poli $\alpha(2\rightarrow8)$ e um outro polissacarídeo capsular de meningococos grupo B e de *E. coli*.

Vimos, nos últimos tópicos, que os sítios combinatórios dos anticorpos reconhecem pormenores estruturais nos epitopos antigênicos, que nas L há as regiões L_V e L_C alinhadas, e que as proteínas de Bence Jones são cadeias leves facilmente obtidas em grandes quantidades da urina de pacientes com mielomas. Essas informações permitiram que conhecimentos sobre a estrutura e composição em aminoácidos da cadeia leve dos anticorpos avançassem rapidamente. Contribuíram para esse progresso vários grupos de pesquisadores liderados por Kabat, Edelman, Hilschmann, Hood, Metzger, Potter, Milstein, Capra, e outros.

A seqüência de aminoácidos de várias cadeias leves de seres humanos e camundongos foi obtida. Os aminoácidos foram alinhados a partir da porção N-terminal. As seguintes informações gerais foram obtidas:

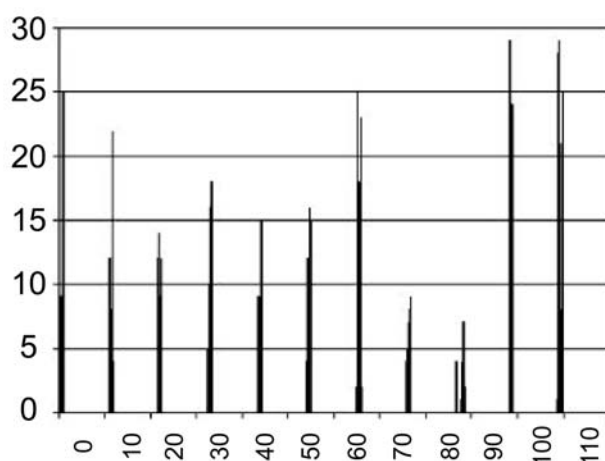
a) as regiões **C** de IgG humana e de camundongo variam em apenas alguns resíduos de aminoácidos; a região **V**, ao contrário, varia em dezenas de resíduos;

b) a presença de resíduos de glicina nas posições 99 e 101 em todas cadeias leves analisadas;

c) grande invariabilidade na seqüência dos primeiros 23 aminoácidos a partir da porção N-terminal;

d) a existência de grande variabilidade na seqüência de aminoácidos em três segmentos lineares da região **V** tanto da cadeia leve como da pesada; essas regiões hipervariáveis foram denominadas *complementary determinig regions*, como já indicado, abreviadamente CDR.

A **Figura 20.11 A e B** mostra a variabilidade na composição de aminoácidos de duas proteínas, imunoglobulinas e citocromo C. Veja as legendas.



Variabilidade na seqüência de aminoácidos da cadeia H de IgG humana.

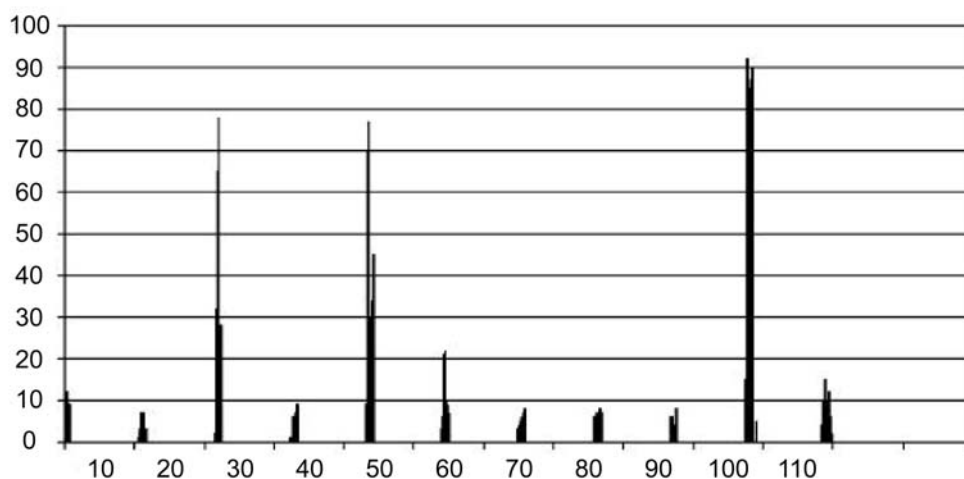


Figura 20.11A e B- A seqüência de aminoácidos da região V_H de IgG humana exibe enorme variabilidade (valores na ordenada à esquerda) nos resíduos correspondentes às regiões 30-40, 50-60, e 97-100. Essas regiões, como explanado no texto, correspondem aos CDR1 (resíduos 31-35), CDR2 (resíduos 50-65) e CDR3 (resíduos 95-102), respectivamente.

E. A Kabat e T.T. Wu (1970) J.Exp. Med 132:211-250 (<http://www.jem.org>) introduziram a equação, Variabilidade = N. de aminoácidos diferentes em uma dada posição/ Freqüência do aminoácido mais comum naquela posição, para medir a variabilidade na seqüência V_L de 77 seqüências de regiões V_L, V_K, e V_H humanas e V_K murina feitas até aquela época.

Análises da estrutura terciária das imunoglobulinas por difração de raios-X revelaram que todos os domínios da molécula de Ig apresentam padrão comum de pregueamento. Em cada domínio a cadeia polipeptídica forma sete (domínios C) ou nove (domínios V) β -strands. Os β -strands se conectam por alças finas, dois a dois, e se dobram no sentido antiparalelo, de modo a formar β -sheets, duas para a região C e duas para a V.

Nos domínios C uma β -sheet é constituída de três e a outra de quatro β -strands antiparalelos e nos domínios V uma contém quatro e a outra cinco β -strands. As β -sheets são arranjadas em forma de barril com dimensões de $40 \times 2525 \text{ \AA}$. As alças que conectam as cinco β -sheets do domínio V emergem dos barris VH e VL como prolongamentos digitiformes correspondentes, por analogia com os dedos das mãos, aos dedos indicador, médio e anular. Estendendo-se essa analogia para as duas mãos segurando uma bola, a mão esquerda correspondendo, por exemplo, à cadeia H e a direita à L, os dedos indicador, médio e anular de cada mão formariam as garras que prendem a bola; os dedos de uma das mãos equivalentes ao domínio VH corresponderiam aos CDR1, CDR2 e CDR3 da cadeia H, e os equivalentes à VL corresponderiam aos respectivos CDRs da L; a bola, na analogia, corresponderia ao determinante antigênico. A Figura 20.12, diagrama topológico das regiões constantes e variáveis da molécula de IgG, mostra como os CDRs se organizam.

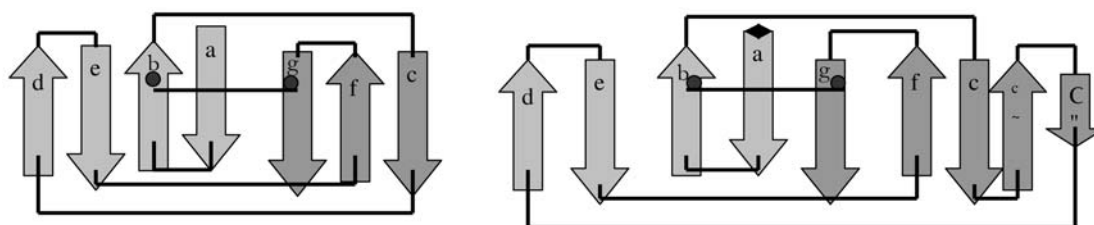


Figura 20.12- Diagramas do “Dobramento lim noglobulínico” da estrutura das regiões constante (C) (Tipo-c) e variável (V) (Tipo-v) da molécula de imunoglobulina IgG. Bandas claras ou mais escuras representam os conjuntos de b-cadeias antiparalelas que formam as duas b-folhas do “sandwich”. As esferas negras representam resíduos de Cys e as linhas de união entre elas nas b-cadeias b e g representam ligações dissulfetos.

Imunoglobulinas (Igs): proteínas

Bloco: Anticorpos Humanizados

Aula escrita em co-autoria com
a professora Ana Beatriz Garcia

AULA 21

objetivo

- A terceira aula cobre a adição dos conhecimentos de Biologia Molecular nos estudos da origem da diversidade dos anticorpos e suas consequências.
Fins dos anos setenta até os dias atuais.

As seqüências de aminoácidos de numerosas moléculas de Igs humanas relatadas na aula anterior indicam: a) que o sítio combinatório da molécula de Ig é uma cavidade formada pelos CDRs, CDR1, CDR2 e CDR3, seqüências de aminoácidos localizadas na região variável das cadeias **L** e **H**; e, b) que os aminoácidos destinados a cada um dos três blocos de CDR seriam selecionados por informações genéticas independentes. Esse conceito, em termos de informação genética, admitiria a existência no genoma de um “minigene” que codificaria para os três CDRs. Os nucleotídeos desse “minigene” seriam escolhidos por recombinação dos segmentos gênicos que os contêm e inseridos na moldura que enquadra os demais nucleotídeos que codificam para a molécula inteira da cadeia. Essa hipótese foi confirmada por Susumo Tonegawa e seus colaboradores em 1976:

Origem da Diversidade dos Anticorpos

Você aprendeu nas aulas de Anticorpos Humanizados 19 e 20:

- que os anticorpos exibem, nas regiões variáveis de suas cadeias **L** e **H**, enorme variabilidade em termos de composição e seqüência de seus aminoácidos;
- que apenas as regiões variáveis da molécula de anticorpo, denominadas sítios combinatórios ou parátomos, reconhecem regiões da molécula dos antígenos denominadas determinantes antigênicos ou epitomos;
- que apenas as regiões variáveis contribuem para a especificidade de reconhecimento do antígeno pela molécula de anticorpo;
- que o número estimado de epitomos com diferentes configurações é enorme;
- que, como consequência, o sistema imune deveria expressar um número correspondente de parátomos para reconhecer especificamente todos os epitomos.

Como, então, as diferentes especificidades seriam geradas se estão ligadas à região invariável **C** da molécula de Ig?

Duas maneiras distintas foram imaginadas para resolver esse problema:

a) Uma seria a existência de muitos segmentos gênicos no DNA que codifica para regiões variáveis **V** das cadeias **L** e **H**; qualquer uma delas seria potencialmente capaz de ligar-se a um dos segmentos gênicos de DNA que codifica para região constante **C**. Proposta da *recombinação somática*.

b) A outra seria pela ocorrência de mutações restritas aos segmentos de DNA que codificam para as regiões **V** dos genes das cadeias **L** e **H** das Igs; essas mutações seriam pontuais no DNA de cada célula produtora de anticorpos. Proposta da *mutação somática*.

Tanto por *recombinação somática* como por *mutação somática* seriam gerados genes que codificariam anticorpos com uma e somente uma especificidade.

O mecanismo da *recombinação somática* foi o primeiro a receber suporte experimental. Ocorre durante a maturação dos linfócitos B: célula tronco ou hemohistioblasto→célula pré-B precoce→célula pré-B tardia→célula-pré-B volumosa→célula B imatura→célula B *naive*→linfoblasto→linfócito de memória.

O mecanismo da *mutação somática* é mais freqüente nos linfócitos B maduros após ativação pelo antígeno.

Sabe-se, hoje, que os dois mecanismos operam na geração da diversidade dos anticorpos.

Mecanismo da recombinação somática

Por conveniência de exposição, abordaremos primeiro o experimento-chave realizado por Susumo Tonegawa e seus colaboradores.

Esses pesquisadores extraíram DNA de embriões de camundongo com 12 dias de desenvolvimento (DNA de embrião) e de células de um tumor de camundongo denominado mieloma, células produtoras de anticorpos específicos para um único antígeno (DNA de adulto).

As duas amostras de DNA foram clivadas com enzimas de restrição, isto é, enzimas que cortam a molécula de DNA em pontos definidos de sua molécula, de acordo com a especificidade de cada enzima. Em seguida, os fragmentos de cada DNA foram separados segundo seu tamanho pelo método de eletroforese usando gel de agarose como meio de suporte e, em seguida, visualizados por hibridização com sondas de

DNA marcadas com radioisótopos. Essas sondas, para esclarecimento, são moléculas de RNAs de cadeia κ extraídas de células do mieloma, purificadas e usadas para identificar as regiões V e C da cadeia L κ . Parte dessas moléculas era cortada ao meio e seus fragmentos 3' (ver apêndice), depois de purificados, foram usados como sonda para a região C κ ; moléculas íntegras de RNAs foram usadas em paralelo como sondas para as duas regiões C κ e V κ .

A Figura 21.1 mostra o resultado dessa experiência. Consta de dois painéis, ambos com duas fitas de material de suporte nas quais os fragmentos de DNA foram separados por eletroforese. Observe que tanto nas fitas em que os fragmentos de DNA de mieloma foram hibridizados com RNAm para C κ (C κ DNA probe) como com RNAm para o conjunto C κ , V κ (V κ , C κ DNA probe), as correspondentes bandas reveladas estão à mesma distância da origem. Ao contrário, nas duas fitas de suporte em que fragmentos de DNA de embrião foram igualmente separados por eletroforese, na fita hibridizada com RNAm para C κ (C κ DNA probe), a banda de DNA revelada migrou pouco e localizou-se próximo à origem, enquanto a banda hibridizada com RNAm para o conjunto V κ , C κ (V κ , C κ DNA probe) migrou muito e localizou-se próximo à base. O DNA que codifica para a cadeia L κ no embrião é, portanto, menor do que o DNA que a codifica no adulto. Conclusão: no DNA de embrião os genes que codificam para as regiões C e V estão separados.

Susumo Tonegawa e colaboradores mostraram sucessivamente que:

- Esses dois genes nas células diferenciadas de adulto ainda estão separados por uma sequência de DNA que não codifica, isto é, que não transmite mensagem, um *intron*.

- O polipeptídeo correspondente à região V da cadeia L continha mais aminoácidos do que nucleotídeos no DNA que a codifica, sugerindo que um segmento adicional de DNA seria necessário para completar a síntese da cadeia; o segmento foi localizado e designado segmento J de *joining*, isto é, que une.

- Que na organização do gene que codifica para região V da cadeia H intervêm além dos segmentos de DNA V e J, um terceiro segmento que foi denominado D, de *diversity*.

Você aprenderá, a seguir, como a geração da diversidade dos anticorpos é gerada.

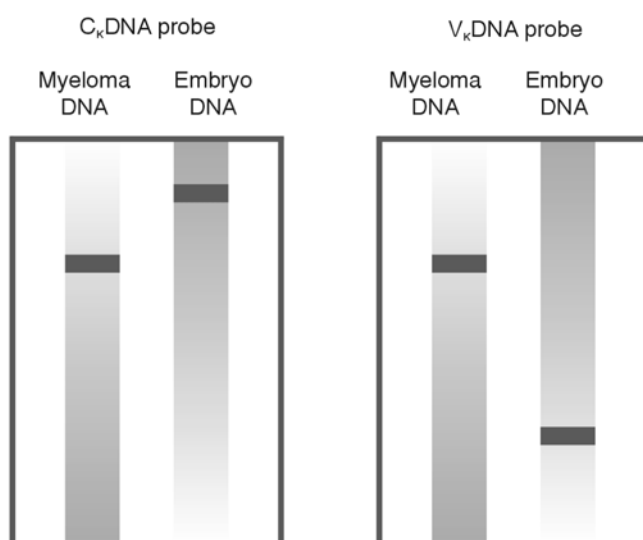


Figura 21.1- Reorganização do gene-k durante a diferenciação e maturação de linfócitos B. (Reprodução autorizada pelos autores).
(Fonte: N. Hozumi and S. Tonegawa (1976) *Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. Proc. Acad. Natl. Sci. (USA)* 73:3628).

Para facilitar a compreensão dos tópicos seguintes, sugerimos que você recapitule alguns conhecimentos básicos de genética molecular. Veja o Apêndice.

A hipótese de Dreyer e Bennett

É interessante notar que foram as próprias características estruturais dos anticorpos que forneceram as pistas para a origem genética de sua diversidade. Na década dos anos sessenta, Dreyer e Bennett estavam estudando como a organização genética seria responsável pela diversidade dos anticorpos e, sobretudo, o que explicaria a presença de uma região constante e outra variável em uma mesma cadeia polipeptídica. Diante do paradigma então vigente, que afirmava a existência de um único gene para cada cadeia polipeptídica, tinha que se admitir que algum mecanismo deveria atuar no curso da evolução para conservar inalterada a sequência da região constante do gene, enquanto a outra metade variava intensamente. Não havia nenhum precedente biológico de um mecanismo semelhante, nem nenhuma razão aparente para que isso ocorresse. A fim de encontrar uma explicação para esse fenômeno, Dreyer e Bennett propuseram uma hipótese revolucionária para aquela época. Em vez de aceitar que a informação genética para a cadeia polipeptídica do anticorpo seria codificada por um conjunto contínuo de códons, eles propuseram que cada cadeia polipeptídica dos anticorpos seria codificada

por 2 segmentos descontínuos de DNA, um para a região variável e outro para a região constante. Além disso, eles admitiram a existência de várias centenas de segmentos de DNA para a região variável e um único (ou alguns poucos) gene para a região constante. Admitindo um único gene para a região constante, a hipótese desses autores tornava fácil compreender como uma mesma seqüência aparecia em cada região constante de anticorpos de diferentes especificidades. Implícita em sua hipótese estava a proposta de que os diferentes segmentos gênicos deveriam de algum modo se juntar para formar uma mensagem genética contínua e coerente, a fim de codificar uma única cadeia polipeptídica.

Organização dos genes da cadeia leve

Observação direta dos genes dos anticorpos realizada por Tonegawa (veja um dos experimentos básicos descritos na **Figura 21.1** e outros pesquisadores mostrou que as regiões variáveis e constantes da cadeia leve são codificadas separadamente e que dois segmentos gênicos diferentes são necessários para codificar a região variável. Um desses segmentos, denominado **V**, codifica os primeiros 95 aminoácidos da região variável, enquanto um segundo segmento, denominado **J** (porque seu produto *junta* a região variável à região constante), codifica os restantes aminoácidos (cerca de 15). No camundongo existem pelo menos 300 genes **V** e cinco genes **J** para a região variável da cadeia leve κ (um dos genes **J** não se expressa). Um terceiro segmento, denominado **C**, codifica a região constante (Figura 21.2).

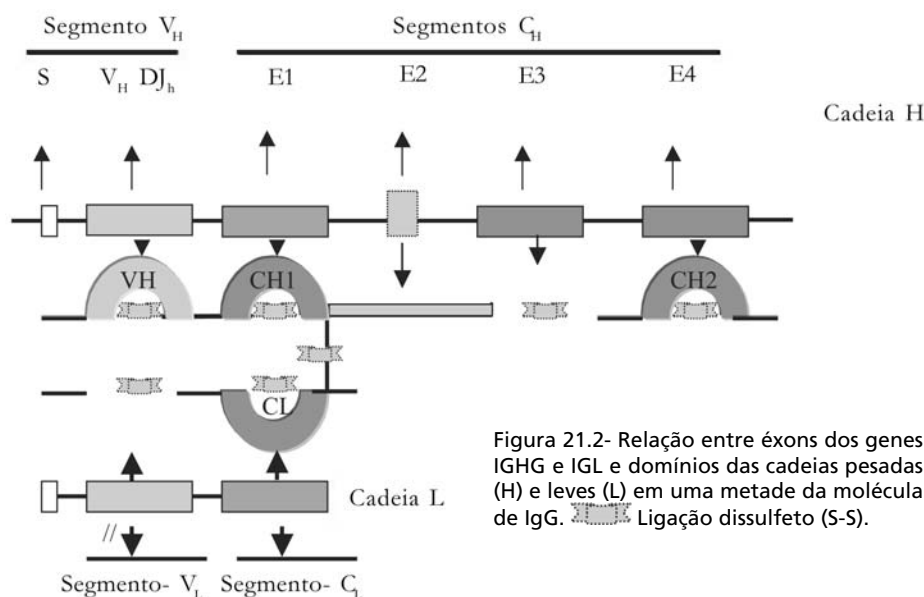


Figura 21.2- Relação entre éxons dos genes IGHG e IGL e domínios das cadeias pesadas (H) e leves (L) em uma metade da molécula de IgG. Ligação dissulfeto (S-S).

Quando um pró-linfócito B começa a se diferenciar, os segmentos V e J juntam-se entre si, porém permanecem ainda separados do segmento da região constante (C). A união com este somente é feita mais tarde, após a mensagem do DNA ter sido copiada para o RNA mensageiro. Cada um dos segmentos V possui certos detalhes estruturais importantes. Por exemplo, cada gene V é dividido em dois segmentos codificadores (éxons) V e L, separados por uma seqüência não-codificadora (íntron).

O primeiro segmento gênico (L) codifica uma curta freqüência de 12 a 20 aminoácidos muito hidrofóbicos, que é importante para o transporte da molécula do anticorpo através da membrana celular, denominada de guia. Este é cortado da molécula do anticorpo quando ele passa através da membrana do retículo endoplasmático. O outro éxon do segmento V codifica a maior parte da região V da cadeia leve até o aminoácido 95, enquanto os outros 15 são codificados pela região J. A região J é repetida 5 vezes com pequenas mas significantes variações, separadas por intervalos de cerca de 300 nucleotídeos.

O gene de uma cadeia leve possui, desse modo, 3 seqüências codificadoras: um gene guia, um gene V/J e um gene da região constante. Essas seqüências são montadas pelo processo de corte e emenda do RNA para formar um RNA mensageiro coerente para a cadeia leve (Figura 21.3).

Com esses conhecimentos, o potencial para o desenvolvimento da diversidade da cadeia leve começou a ficar claro. A união de um dos vários genes V, cerca de 300 na cadeia leve κ do camundongo, a um dos quatro genes J pode originar 300×4 ou 1.200 genes diferentes para a região variável da cadeia leve. Além disso, estudos comparativos da seqüência de aminoácidos de cadeias leves mostraram um elevado grau de variação em uma região perto do ponto de união V-J, que constitui uma das 3 regiões hipervariáveis. Parte da alta variabilidade dessa região é explicada pelo fato de o sítio de união entre os genes V e J não ser constante, a união podendo ocorrer em pontos diferentes. Calcula-se que esse fato aumenta em pelo menos 10 vezes o número total de combinação dos genes V e J.

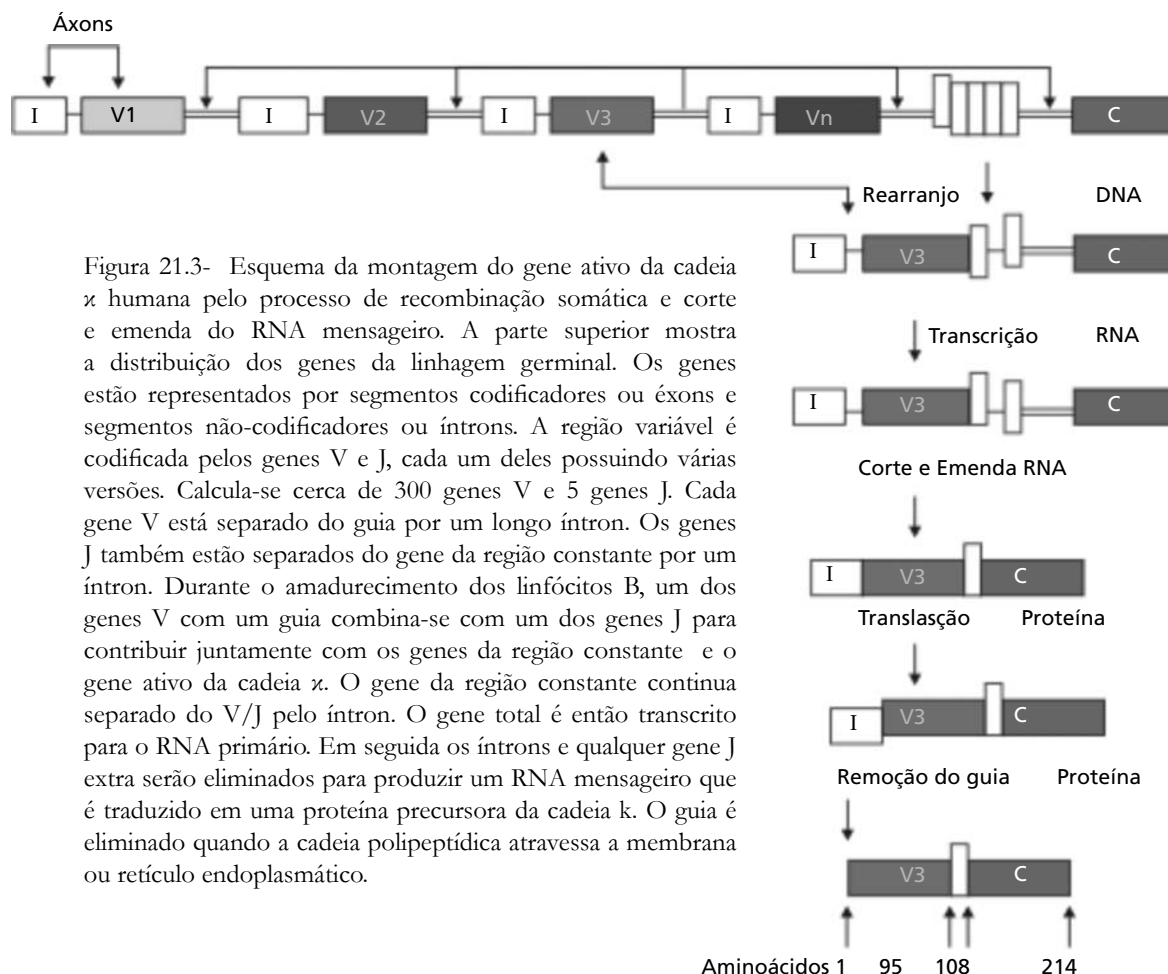


Figura 21.3- Esquema da montagem do gene ativo da cadeia κ humana pelo processo de recombinação somática e corte e emenda do RNA mensageiro. A parte superior mostra a distribuição dos genes da linhagem germinal. Os genes estão representados por segmentos codificadores ou éxons e segmentos não-codificadores ou íntrons. A região variável é codificada pelos genes V e J, cada um deles possuindo várias versões. Calcula-se cerca de 300 genes V e 5 genes J. Cada gene V está separado do guia por um longo íntron. Os genes J também estão separados do gene da região constante por um íntron. Durante o amadurecimento dos linfócitos B, um dos genes V com um guia combina-se com um dos genes J para contribuir juntamente com os genes da região constante e o gene ativo da cadeia κ . O gene da região constante continua separado do V/J pelo íntron. O gene total é então transcrito para o RNA primário. Em seguida os íntrons e qualquer gene J extra serão eliminados para produzir um RNA mensageiro que é traduzido em uma proteína precursora da cadeia κ . O guia é eliminado quando a cadeia polipeptídica atravessa a membrana ou retículo endoplasmático.

Organização do gene da cadeia pesada

Para a cadeia pesada, a organização gênica da região variável obedece aos mesmos princípios da cadeia leve, porém o potencial para a diversidade é maior, devido à existência de um terceiro segmento gênico denominado gene **D** (*D* de diversidade) que codifica os aminoácidos da maior parte da terceira região hipervariável da cadeia pesada. Para a codificação da região variável da cadeia pesada há 3 grupos de segmentos gênicos, **V**, **D** e **J**. No camundongo calcula-se a existência de 200 genes **V**, 12 genes **D** e 4 genes **J**. O complexo gênico que codifica a região constante da cadeia pesada (Figura 21.4) é constituído de oito conjuntos de genes no camundongo (μ , δ , γ -3, γ -1, γ -2b, γ -2a, ϵ e α) e nove no homem (μ , δ , γ -1, γ -2, γ -3, γ -4, ϵ , α -1 e α -2). Esses genes estão

organizados em vários éxons, cada um deles codificando um dos domínios da molécula da imunoglobulina. Existe também um éxon para a região da dobradiça nas imunoglobulinas que a possuem. Justapostos nesses segmentos gênicos existem dois pequenos éxons que codificam o segmento da imunoglobulina que fica dentro da membrana.

A recombinação somática dos genes da região variável da cadeia pesada origina assim $200 \times 12 \times 4$, ou 9.600 combinações diferentes. Isso deve ainda ser multiplicado por um fator de pelo menos 100, devido à flexibilidade de recombinação das pontes de união entre os segmentos V/D e D/J.

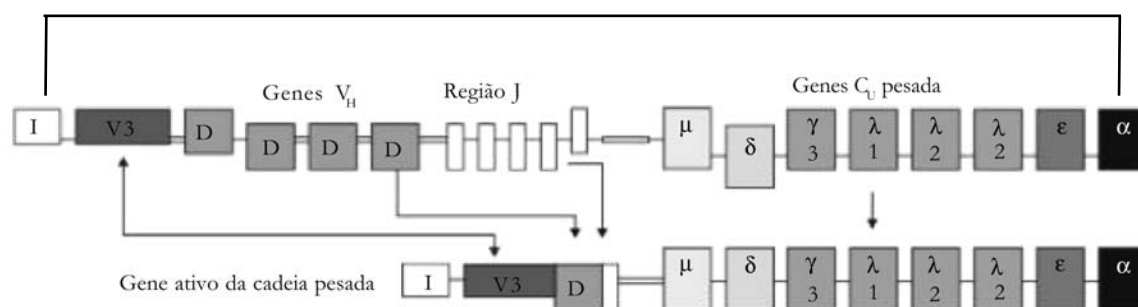


Figura 21.4 - O gene ativo da cadeia pesada é montado a partir de 4 segmentos do DNA da linhagem terminal: L/V, D, J e C. A recombinação somática aproxima uma de cada versão dos genes V, D e J para formar a região variável. Ao contrário da cadeia leve, há 8 genes separados para a região constante, cada um codificando uma região constante diferente. Cada gene constante codifica três a cinco domínios diferentes. A montagem final do RNA mensageiro é feita pelo processo de corte e emenda.

Mecanismo da recombinação somática

O processo de mutação somática se realiza no nível individual ou somático, levando à formação de um repertório de células de memória graças à hipermutação e à seleção efetuadas pelo antígeno. A hipermutação ocorre vários dias depois que o linfócito B foi estimulado pelo antígeno a uma velocidade e taxas bastante elevadas. Estima-se que em média um par de bases de DNA mutaria a cada duas ou três divisões celulares, numa velocidade cerca de cem mil vezes maior do que a que se calcula para o aparecimento de mutantes espontâneos. Essas mutações se passam no segmento genético que codifica para a porção V, não afetando o resto do genoma das células. Pelo processo de hipermutação é possível gerar um potencial fabuloso de especificidades anticórpicas da ordem, por exemplo, de 10^{30} para cada cadeia de Ig. Cabe ao antígeno, portanto, selecionar a especificidade útil e necessária.

Os linfócitos B estimulados pelo antígeno se localizam nos centros germinativos dos folículos linfóides no baço e em outros órgãos linfóides. Nesses locais, devido ao processo de hipermutação e da seleção consecutiva das células úteis à resposta imune, as demais morrem. Há quem admita que as células de memória que sobreviveram ainda possam sofrer novas hipermutações e seleções por processos que, em última análise, repetiriam os processos da resposta primária já descritos.

Em resumo, se um antígeno encontrar um grupo de linfócitos B contendo na superfície anticorpos virgens, essa união dará lugar à resposta primária e formação de linfócitos de memória. A hipermutação somática que se segue proveria as células dos receptores que o antígeno selecionaria para fabricar os anticorpos com maior especificidade e afinidade.

Números da diversidade

Tomadas em conjunto, as 1.200 combinações diferentes para a cadeia leve κ humana e as 9.600 combinações da cadeia pesada dão um total de cerca de 10 bilhões de anticorpos diferentes. Essa enorme diversidade é ainda aumentada por outro mecanismo, a mutação somática, que introduz trocas esporádicas em nucleotídeos isolados durante o desenvolvimento somático. A especificidade final do anticorpo depende, portanto, do mecanismo do rearranjo somático, da variação nos pontos de união dos segmentos V-D-J e de mutações somáticas que ocorrem durante o amadurecimento do linfócito B. O número final de mais de 10 bilhões de especificidades diferentes em potencial está muito além do necessário para explicar a diversidade.

Troca da cadeia pesada – troca de isotipos

O embaralhamento genético que torna possível a geração de bilhões de regiões variáveis é complementado por dois processos adicionais que explicam como uma única região variável une-se sucessivamente a diferentes regiões constantes de cadeia pesada.

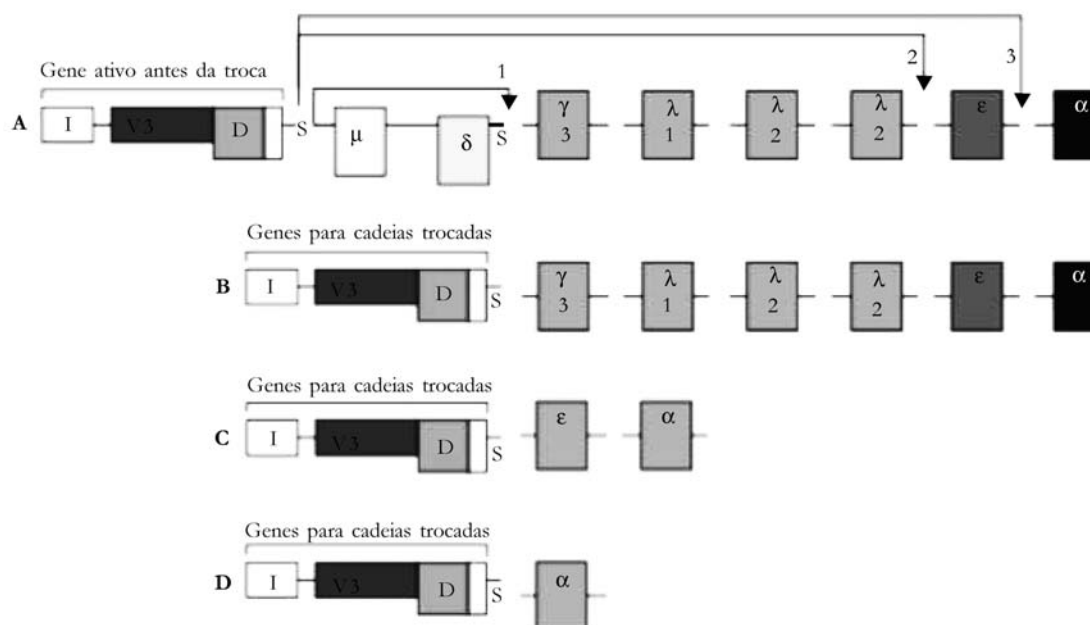


Figura 21.5- A troca da cadeia pesada envolve recombinação do DNA. Enquanto o linfócito B está sintetizando as cadeias μ ou δ , o gene da cadeia pesada é disposto como em A. Cada gene da região constante é precedido de um sinal de troca (S), que é complementar a um sinal semelhante entre a região variável e o gene μ . Esses sinais permitem a recombinação que unirá a região variável a uma das seqüências gênicas da região constante. O DNA trocado é transcrito e o RNA é cortado e reunido seletivamente para fazer um RNA mensageiro codificando, por exemplo, a cadeia $\gamma 3$ (B), a cadeia ϵ (C) ou a cadeia α (D), como mostrado nesta figura.

Produção das moléculas de anticorpo durante o amadurecimento dos linfócitos

A cadeia pesada μ é sintetizada primeiro e a cadeia leve, λ ou κ , em seguida. A IgM de membrana e logo depois a IgD aparecem na superfície da célula. Aparentemente, sob o estímulo antigênico e dos linfócitos T o linfócito B maduro se diferencia em células produtoras de grandes quantidades de imunoglobulina de secreção, quando muda a expressão dos genes da região constante da cadeia pesada e diferentes isotipos de anticorpos são produzidos. Veja Figura 21.6.

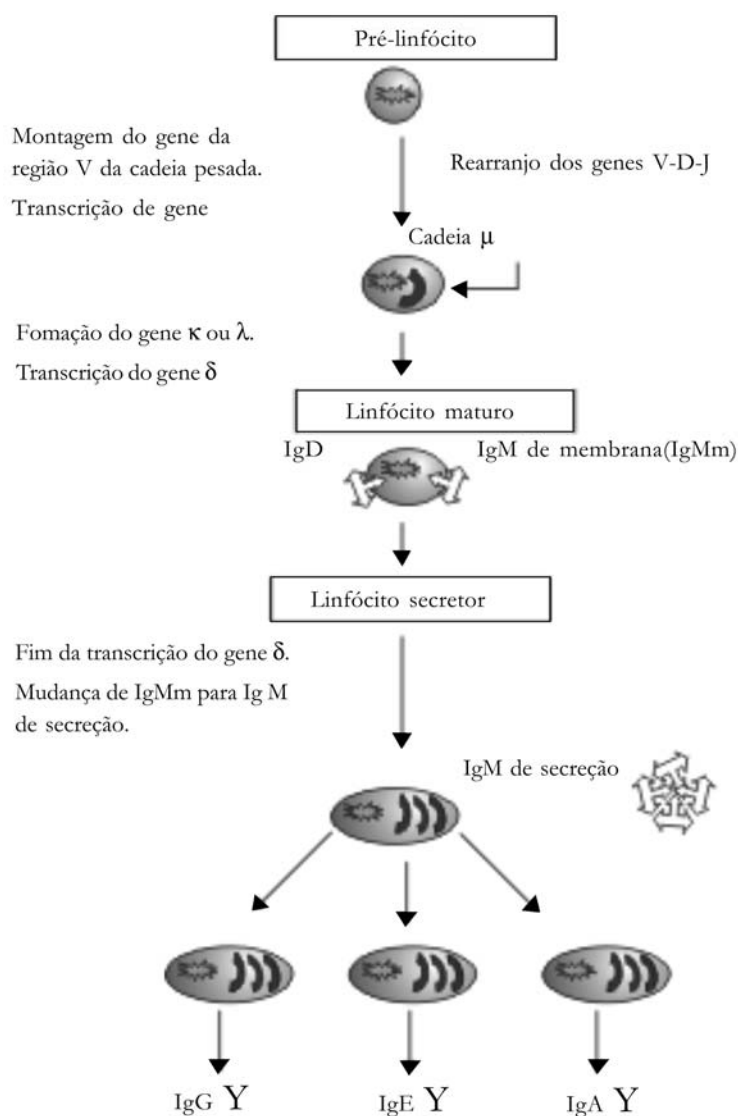


Figura 21.6 - Produção das moléculas de anticorpo durante o amadurecimento do linfócito B.

Antes de concluir essa aula, mais algumas informações e conceitos importantes para o entendimento do sistema imune.

Que fique claro que o processo de diferenciação dos linfócitos B ocorre, esquematicamente, em duas etapas. A primeira, como já se viu, é antígeno-independente e envolve a diferenciação para plasmócitos de precursores indiferenciados; nessa etapa há o reordenamento somático do DNA por aqueles processos que você acabou de ver e as células sintetizam um anticorpo (IgMm) que permanece unido à sua membrana.

Nos mamíferos essa transformação ocorre primeiro no fígado do feto e, nos adultos, essa transformação se passa ou na medula óssea ou no segmento íleo-cecal, e nas aves na bolsa de Fabrício.

Cada linfócito (e sua progene) expressa IgM com a mesma região V. Essas células, que compõem o repertório que ainda não entrou em contato com o antígeno, é que migram e se localizam no baço e nos linfonodos. Já a segunda etapa é antígeno-dependente. Logo que a IgMm da membrana se une especificamente a um antígeno, o linfócito se ativa, prolifera-se e dá origem às células de memória e aos plasmócitos. Estas últimas células é que se encarregam de secretar os anticorpos cuja especificidade é a mesma dos anticorpos da membrana que reconheceu o antígeno.

No sistema imune maduro do camundongo há aproximadamente 10^8 linfócitos B e da medula óssea nascem, diariamente, cerca de 5×10^7 , algumas morrendo em poucos dias e outras permanecendo vivas no sistema imune por vários dias, semanas ou mesmo meses.

Como você acaba de ver, quando se fez a analogia do sistema antígeno-anticorpo com a *chave-fechadura*, os primeiros anticorpos, digamos aqueles que foram produzidos antes do contato com o antígeno, são de baixa especificidade e afinidade, isto é, a chave não se encaixa tão bem na fechadura. Quando, entretanto, o linfócito B interage com o antígeno, é que começa a colocação final dos pormenores da chave, de modo a permitir que ela abra somente a fechadura para a qual está sendo desenhada. No caso do anticorpo, é nesse momento que se aprimora a estrutura interna dos seus sítios combinatórios, pelo ajustamento final de cada CDR à estrutura espacial do antígeno. O ajustamento se faz às custas de mutações somáticas pontuais e que assim, se constituem nos últimos geradores da diversidade.

A análise do DNA que codifica a molécula completa de imunoglobulina mostrou que os segmentos gênicos para as cadeias H, κ L e λ L estão em três *loci* genéticos localizados em três cromossomos distintos: cadeia H no cromossomo 14, cadeia κ L no cromossomo 2 e cadeia λ L no cromossomo 22. Cada *locus* possui múltiplas regiões variáveis e uma região constante ou apenas algumas poucas. Cada grupo das regiões variáveis é denominado *library*.

Nota: se você desejar conhecer a abordagem experimental usada para alcançar os resultados que permitiram obter uma boa parte dos conceitos emitidos neste capítulo, seria interessante consultar exatamente os autores dos trabalhos:

Tonegawa (Nature 302, 575-581, 1983); Max, Seidman, & Leder (Proc. Nat. Acad. Sci. USA 76, 3340-3344, 1979); Van Ness et al. (Proc. Nat. Acad. Sci, USA 79, 262-266, 1982); Honjo & Habu (Ann. Rev. Biochem. 54, 803-830, 1985); Davis, Kim, & Hood (Cell 22, 1-2, 1980) e Shimizu & Honjo (Cell 36, 301-303, 1984); Baltimore (Cell 26, 295-296, 1981); Hood, Kronenberg & Hunkapiller (Cell 40, 225-229, 1985) e Steinmetz & Hood (Science 222, 727-732, 1983). : Silverton et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 74:5140, 1977; Marchalonis e Schluter, FASEB, J 3:2469, 1989); Max, Seidman, & Leder (Proc. Nat. Acad. Sci. USA 76, 3340-3344, 1979); Van Ness et al. (Proc. Nat. Acad. Sci, USA 79, 262-266, 1982); Honjo & Habu (Ann. Rev. Biochem. 54, 803-830, 1985); Davis, Kim, & Hood (Cell 22, 1-2, 1980)); Baltimore (Cell 26, 295-296, 1981); Hood, Kronenberg & Hunkapiller (Cell 40, 225-229, 1985) e Steinmetz & Hood (Science 222, 727-732, 1983).

Apêndice: Leitura Opcional

- as informações genéticas estão contidas na molécula de DNA;
- a molécula de DNA é um polímero de unidades denominadas desoxirribonucleotídeos;
- os desoxirribonucleotídeos são constituídos de uma base nitrogenada, uma desoxirribose e um ou mais grupos fosfatos; a desoxirribose é uma ribose sem oxigênio no carbono C-2;
- as bases nitrogenadas são derivadas de purinas, adenina (A) e guanina (G), ou de pirimidinas, timina (T), citosina (C) e uracila (U);
- nos desoxirribonucleotídeos o átomo de C-1 da desoxirribose está ligado ao N-1 de uma pirimidina ou N-9 de uma purina através de ligações N-glicosídicas;

- os nucleosídeos consistem de uma base purina ou pirimidina ligada à desoxirribose; a molécula de DNA contém, portanto, os nucleosídeos desoxiadenina, desoxiguanosina, desoxitimidina e desoxicitidina;

- o grupo hidroxil do C-5 da pentose é o sítio de esterificação mais comum e o composto resultante é referido como nucleosídeo 5-fosfato ou 5'-nucleotídeo, por exemplo, deoxiadenosina 5'-trifosfato (dATP);

- o eixo da molécula de DNA, invariável ao longo de toda a molécula, consiste de desoxirriboses ligadas a grupos fosfatos: 3'-hidroxirriboses da pentose de um desoxirribonucleotídeo unido ao 5'-hidroxil da pentose adjacente por uma ponte fosfodiéster;

- a parte variável da molécula de DNA reside na sua seqüência de quatro bases A, G, C e T;

- uma cadeia de DNA tem polaridade: uma de suas extremidades tem um grupo 5'-OH, enquanto a outra tem um grupo 3'-OH ligado ao nucleotídeo seguinte na molécula; por convenção, o símbolo ACG indica que o grupo 5'-OH não ligado está na desoxiadenosina, enquanto o grupo 3'-OH não ligado está na desoxiguanosina; assim, a seqüência de bases é escrita na direção 5'→3';

- em 1953, James Watson e Francis Crick, baseados na análise de fotografias obtidas por Rosalind Franklin e Maurice Wilkens por difração de raios-X de filamentos de DNA, deduziram o modelo estrutural da molécula de DNA, (J. D. Watson and F. H. C. Crick, 1953, *Nature* (London), 171: 737-738). A dupla-hélice proposta, mais tarde comprovada ser quase a correta, tornou-se o emblema da biologia moderna.

- Modelo: duas cadeias de polinucleotídeos dispostas em hélice que giram em direções opostas ao redor de um eixo comum. As bases A, G, C e T estão no lado interno da hélice, enquanto as unidades de fosfatos e pentoses estão no lado externo. Os planos das bases são perpendiculares ao eixo da hélice, enquanto os planos das pentoses estão quase em ângulo reto em relação aos planos das bases. O diâmetro da hélice é de 20 Å; as bases adjacentes estão separadas por 3,4 Å ao longo do eixo da hélice, relacionadas por uma rotação de 36 graus; assim, a estrutura helicoidal repete-se a cada dez resíduos em cada cadeia a intervalos de 34 Å. As duas cadeias são mantidas unidas por pontes de H entre os pares de bases, A e T, G e C; finalmente, a seqüência de bases ao longo da cadeia polinucleotídica não é restrita: a seqüência de bases carrega a informação genética.

No modelo, cada fita é complementar à outra de tal sorte que, na replicação, uma é o molde da outra. Isso implica que durante a síntese de moléculas de DNA, enquanto uma das fitas filhas é sintetizada de novo, a outra passa íntegra para a nova molécula: a replicação da molécula de DNA é semiconservativa. As associações A-T e G-C respondem por isso.

Algumas informações básicas: Kilobase (kb) = Unidade de comprimento igual a 1.000 pares de bases de uma molécula de ácido nucleico de fita dupla, ou 1.000 bases de uma molécula de fita simples.

1 kb de DNA de fita dupla tem um comprimento de 0,34 μ m e massa de em torno de 660kd.

O DNA armazena, perpetua e transfere as informações nele contidas. O fluxo da informação gênica é formado por uma seqüência de processos complexos que consistem na leitura da mensagem armazenada no DNA, em sua transferência para uma molécula intermediária e finalmente na síntese do produto protéico, que irá desempenhar sua função celular. A perpetuação da informação genética se dá através do mecanismo de replicação, onde cada uma das fitas da dupla hélice do DNA é utilizada como molde para a síntese de uma nova molécula de DNA. A replicação envolve a participação de dezenas de proteínas que desempenham diferentes funções essenciais. A transferência da informação ocorre através da síntese de uma molécula de RNA num processo conhecido como transcrição. O maquinário da transcrição reconhece uma unidade transcricional (gene) formada pelas regiões promotora, codificadora e terminadora. Na região promotora são ligadas proteínas regulatórias que modulam a expressão do gene no nível transcricional, bem como a RNA polimerase, que fará a síntese do RNA; a região codificadora carrega a informação que será posteriormente traduzida para a linguagem de aminoácidos e a região terminadora indica o final da unidade transcricional. Em eucariota, o RNA primário, produzido a partir de uma unidade transcricional, sofre modificações até formar o RNA mensageiro que será transportado para o citoplasma a fim de ser traduzido. Uma guanossina metilada é adicionada à extremidade 5' do RNA primário, formando uma estrutura conhecida como 5' cap. Na extremidade 3', é adicionada uma cauda formada por uma repetição de resíduos de adenosina, chamada de cauda poli A, que pode variar de 50 a 200 resíduos. Além disso, os genes de eucariota são freqüentemente interrompidos por seqüências que não aparecem no RNA final, ou RNA

mensageiro. As seqüências intercalares removíveis são chamadas *íntrons*. O processo pelo qual os *íntrons* são removidos é chamado de *splicing*. As seqüências que são mantidas após o *splicing* são chamadas *éxons*. A maior parte dos RNAs majoritários em eucariota contém *íntrons*. Uns poucos eucariota não possuem *íntrons*.

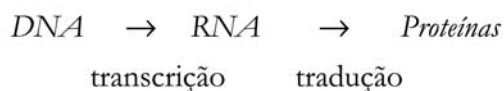
A localização de sítios de *splicing* no pré-mRNA pode ser determinada comparando-se a seqüência do DNA genômico com aquela do cDNA preparado a partir do mRNA correspondente. As seqüências que estão presentes no DNA genômico mas ausentes no cDNA representam *íntrons* e indicam posições em torno da junção *éxon-íntron*. As análises de um número grande de mRNAs diferentes revelaram seqüências moderadamente conservadas; a junção *íntron-exon* em pré-mRNA de eucariota superiores apresenta uma região rica em pirimidina localizada acima do sítio de clivagem no extremo 3'. Os nucleotídeos conservados universalmente são GU na extremidade 5' e AG na extremidade 3' do *íntron*. O *íntron* é removido na forma de uma alça na qual o G da 5' é unido de forma pouco usual através de uma ligação fosfodiéster 2'-5' a uma adenosina próxima ao extremo 3' do *íntron*. A adenosina é chamada de ponto de ramificação porque ela forma um braço na estrutura de alça. A remoção é mediada por um complexo chamado *spliciossoma*, que é formado por RNAs nucleares pequenos associados a proteínas; esse complexo reconhece as estruturas referidas anteriormente, removem as regiões intercalares e juntam as regiões codificadoras.

O *splicing* apresenta implicações evolutivas. Os *éxons* geralmente coincidem com os domínios protéicos. Domínios são regiões das moléculas das proteínas que exercem funções específicas. Os *éxons* podem ser prontamente “trocados” entre diferentes genes por recombinação. Isso significa que novos tipos de proteínas podem ser formados de um modo relativamente simples.

O *splicing* também permite a “criação” de *éxons* durante a expressão gênica. Por exemplo, durante o desenvolvimento, alguns genes sofrem *splicing* de uma maneira e sofrem *splicing* de modo diferente mais tarde. Alterando a maneira como um RNA é processado altera-se a sequência de aminoácidos na proteína por ele codificada; assim, as células podem “modificar” a sequência e a função de uma proteína. Cerca de 5% de todos os pré-mRNAs de eucariota superiores estão sujeitos a esse tipo de *splicing* regulado. A regulação do *splicing* pode levar à produção de proteínas diferentes ou podem controlar a expressão de proteínas funcionais incluindo ou excluindo códons de parada. É provável que em muitos tipos de regulação do *splicing* de RNA, proteínas específicas ligantes de RNA inibam ou ativem os sítios de *splicing*.

Uma vez processado, o RNAm será transportado para o citoplasma, onde será traduzido para um polipeptídeo. A tradução ocorre nos ribossomos, que são estruturas macromoleculares complexas formadas por RNAs ribossomais e proteínas. Participam ainda os RNA transportadores, RNAt, que têm como função transportar os aminoácidos especificamente até o ribossomo. O reconhecimento se dá através do pareamento de bases do RNA mensageiro correspondendo a um triplete, códon, e uma região complementar do RNAt que corresponde ao anti-códon.

- genes especificam os diferentes tipos de proteínas, porém não fazem isso diretamente;
- as moléculas de DNA não servem de molde direto para a síntese de proteínas; pelo contrário, servem de molde para a síntese de moléculas de RNA que são os moldes diretos para a síntese de proteínas:



RNA é uma macromolécula longa que consiste de nucleotídeos unidos por ligações 3'→5' fosfodiésteres; o açúcar é a ribose e as bases são adenina (A) e uracila (U), guanina (G) e citosina (C) adenina emparelha-se com uracila e guanina com citosina.

A molécula de RNA, exceto nos vírus, é de fita única; há quatro tipos de RNA: RNA mensageiro ou mRNA, RNA ribossomal ou rRNA, e RNA transferidor ou tRNA, além de RNAs nucleares pequenos ou RNAnp. Os três primeiros tipos participam diretamente da síntese de

proteínas, enquanto o quarto participa da reduplicação do DNA e do processamento de moléculas de RNA.

Todos os aminoácidos inseridos nas moléculas de proteínas, com exceção de glicina, são L-aminoácidos, isto é, opostos às suas imagens especulares denominadas D-aminoácidos. Essa terminologia refere-se à configuração tridimensional ao redor do carbono no qual se ligam os grupos amino NH^3+ e as cadeias laterais que diferenciam um aminoácido de outro. A síntese de proteínas acontece nos ribossomos auxiliada por conjuntos de enzimas específicas e dos tRNAs: um ribossoma caminha ao longo de um segmento da molécula de mRNA decifrando, de cada vez, a sequência em grupos de três bases.

O código genético descrito por

M. Nirenberg (1968), *The Genetic code: In Nobel Lectures: Physiology and Medicine (1963-1970)*, pp. 372-395. American Elsevier(1973),

é um pequeno dicionário que relaciona o alfabeto de quatro letras dos ácidos nucleicos, A, G, T e C para DNA; RNA tem U em lugar de T, ao alfabeto de vinte letras de proteínas. Um grupo de três letras adjacentes, denominado códon, codifica para um aminoácido. Além disso, três códons estabelecem o local de parada na síntese da cadeia peptídica. Esse código aparece na Tabela 1(página 128). Para facilitar seu manejo, os aminoácidos estão representados por abreviaturas; as três bases de cada aminoácido podem ser lidas pelas três entradas da tabela, primeira à esquerda, a segunda no topo e a terceira à direita. O código genético é dito degenerado, ou seja, mais de um códon pode resultar na síntese de um mesmo aminoácido. Assim, o aminoácido valina (Val) é codificado por GUU, GUC, GUA e GUG, enquanto histidina (His) é codificada por CAU e CAC. Os três códons para o final da cadeia polipeptídica (STOP) são UAA, UAG e UGA. ‘Por razões químicas, as extremidades esquerda e direita de uma cadeia de DNA ou RNA, como usualmente escritas, são denominadas, respectivamente, 5’e 3’.

Tabela 1: Código genético

<i>1^a posição (Term 5')</i>	<i>2^a posição</i>				<i>3^a posição (Term. 3')</i>
	<i>U</i>	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>G</i>	
<i>U</i>	<i>Phe</i> <i>Phe</i> <i>Leu</i> <i>Leu</i>	<i>Ser</i> <i>Ser</i> <i>Ser</i> <i>Ser</i>	<i>Tyr</i> <i>Tyr</i> <i>STOP</i> <i>STOP</i>	<i>Cys</i> <i>Cys</i> <i>STOP</i> <i>Trp</i>	<i>U</i> <i>C</i> <i>A</i> <i>G</i>
<i>C</i>	<i>Leu</i> <i>Leu</i> <i>Leu</i> <i>Leu</i>	<i>Pro</i> <i>Pro</i> <i>Pro</i> <i>Pro</i>	<i>His</i> <i>His</i> <i>Gln</i> <i>Gln</i>	<i>Arg</i> <i>Arg</i> <i>Arg</i> <i>Arg</i>	<i>U</i> <i>C</i> <i>A</i> <i>G</i>
<i>A</i>	<i>Ile</i> <i>Ile</i> <i>Ile</i> <i>Met</i>	<i>Thr</i> <i>Thr</i> <i>Thr</i> <i>Thr</i>	<i>Asn</i> <i>Asn</i> <i>Lys</i> <i>Lys</i>	<i>Ser</i> <i>Ser</i> <i>Arg</i> <i>Arg</i>	<i>U</i> <i>C</i> <i>A</i> <i>G</i>
<i>G</i>	<i>Val</i> <i>Val</i> <i>Val</i> <i>Val</i>	<i>Ala</i> <i>Ala</i> <i>Ala</i> <i>Ala</i>	<i>Asp</i> <i>Asp</i> <i>Glu</i> <i>Glu</i>	<i>Gly</i> <i>Gly</i> <i>Gly</i> <i>Gly</i>	<i>U</i> <i>C</i> <i>A</i> <i>G</i>

Abreviaturas: O código parece ser o mesmo para todas as plantas e animais estudados até agora. No entanto, algumas variações menores são conhecidas, especialmente para o DNA de certas mitocôndrias e fungos.

U Uracila (para DNA, ler T [=Timina] ao invés de U)

C Citosina

A Adenina

G Guanina

Ala Alanina

Arg Arginina

Asp Ácido aspártico

Cis Cisteína

Gln Glutamina

Lis Lisina

Phe Fenylalanine

Pro Prorolina

Ser Serina

Tre Treonina

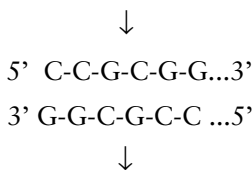
Glu	Ácido glutâmico	Trip	Triptofano
Gli	Glicina	Tir	Tirosina
His	Histidina	Val	Valina
Ile	Isoleucina		
Leu	Leucina	STOP	“significa final da cadeia”

A eletroforese em gel fornece uma ferramenta poderosa para a separação de macromoléculas de diferentes tamanhos e cargas. As moléculas de DNA podem ser separadas em géis de acrilamida e agarose com base no seu tamanho e conformação. A acrilamida e a agarose servem como peneiras moleculares que permitem primeiramente a passagem de moléculas pequenas, seguidas pelas moléculas maiores. Os géis de agarose são utilizados para moléculas grandes de DNA, enquanto a acrilamida é utilizada para moléculas menores. Sendo o DNA uma molécula grande, o mesmo pode ser analisado após o tratamento com enzimas de restrição, separação por eletroforese em gel e visualizado através de coloração com brometo de etídeo (um agente intercalante que se liga ao DNA e emite fluorescência quando em contacto com luz ultravioleta). O DNA pode ainda ser submetido à análise de hibridização com fragmentos de DNA ou RNA específicos, num processo conhecido como *southern blotting*, onde segmentos específicos do DNA podem ser monitorados e localizados em amostras específicas. Os processos serão sucintamente descritos a seguir.

- enzimas que copiam moléculas de DNA para formar mais moléculas de DNA, as DNA polimerases, ou que produzem RNA copiando DNA, RNA polimerases;

- enzimas que cortam a molécula de DNA em regiões específicas, enzimas de restrição ou endonucleases, reconhecem seqüências específicas de quatro a oito bases na dupla-hélice de DNA, hidrolisam as ligações fosfodiésteres de cada cadeia nessa região e clivam as duas cadeias. Há mais de uma centena de enzimas de restrição descritas, seus nomes sendo uma abreviatura das três primeiras letras do organismo de onde foram isoladas, p.ex., Eco, de *E. coli*, Hin de *Haemophilus influenzae* etc.

- uma característica da maioria dos sítios de clivagem das enzimas de restrição é que a seqüência de bases antecedente a uma das cadeias corresponde a uma de leitura inversa na outra cadeia:



Sítio de clivagem

Em cada cadeia a enzima cliva a ligação fosfodiéster entre ...C-G ... no lado 3'.

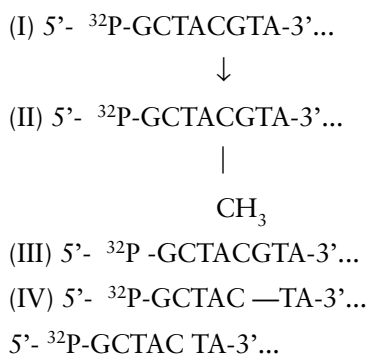
Essa seqüência de reconhecimento é denominada palíndrome (o que se lê igualmente da direita para a esquerda e da esquerda para a direita: roma - amor).

As enzimas de restrição clivam a molécula de DNA em diversos fragmentos menores em que pelo menos a seqüência de bases de uma de suas extremidades é conhecida. Esses fragmentos, por sua vez, podem ser subclivados de modo a se obterem fragmentos ainda menores. Quando submetidos a uma eletroforese, a mobilidade de cada um deles no campo elétrico é inversamente proporcional, até um certo limite, ao logaritmo do número de pares de bases. A posição de cada fragmento no diagrama eletroforético pode ser visualizada ou por fluorescência ou por auto-radiografia.

E. M. Southern, em 1975, desenvolveu um procedimento que permite identificar a localização de genes e outras seqüências de DNA em fragmentos de restrição separados por eletroforese em gel. A técnica consiste na transferência de moléculas de DNA do gel para membranas de nylon ou nitrocelulose. O DNA é desnaturado no gel, antes da transferência pela adição de uma solução alcalina, que promove o rompimento das pontes de hidrogênio. O DNA é transferido para a membrana por capilaridade, e fixado a ela por calor ou ultravioleta. Uma sonda, geralmente radioativa, correspondendo ao segmento de DNA ou RNA de interesse, é hibridizada ou anelada com o DNA imobilizado na membrana. A sonda irá parear com as moléculas da membrana que contenham uma seqüência complementar à seqüência da sonda. O excesso de sonda pode ser lavado, e a membrana exposta a um filme de raio-X para detectar a presença de radioatividade na membrana, correspondendo ao híbrido DNA membrana/sonda. As sondas podem ser geradas utilizando-se uma variedade de procedimentos, incluindo: produção de sondas de RNA radioativo através da transcrição *in vitro* de seqüências clonadas, usando pelo menos um dos precursores

marcados radioativamente; transferência de grupos de ^{32}P aos extremos das moléculas de DNA a partir de nucleotídeos marcados através da enzima polinucleotídeo quinase; quebra da molécula de DNA por enzimas específicas e subsequente preenchimento, utilizando-se nucleotídeos marcados radioativamente e a enzima DNA polimerase; replicação *in vitro* utilizando-se iniciadores aleatórios, DNA polimerase e precursores radioativos. A técnica é conhecida como Southern blot em homenagem ao seu idealizador; por extrapolação, a análise de RNA ficou conhecida como Northern blot e a análise de proteína como Western blot.

A análise da estrutura dos genes foi possível com o desenvolvimento de técnicas seqüenciamento de suas bases. A. Maxam e W. Gilbert desenvolveram o primeiro método de clivagem química do DNA. Consiste, em resumo, na marcação do 5' hidroxil terminal da molécula de DNA com ^{32}P usando a enzima polinucleotídeo quinase (I); a molécula ou fragmento ^{32}P -DNA é, então, sucessivamente tratada com dimetil-sulfato para metilar uma das bases(II), liberação da base metilada por aquecimento (III) e incisão do eixo por tratamento alcalino (IV):



Por essa clivagem em G resultou o tetranucleotídeo ^{32}P -GCTAC. Procedendo-se de maneira semelhante em clivagens em A, C e T, obtêm-se, respectivamente, ^{32}P -GCT e ^{32}P -GCTACGT, ^{32}P - G e GCTA, ^{32}P - GC e ^{32}P -GCTACG.

Os fragmentos de cada mistura são, a seguir, submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida, que os separa de acordo com seus comprimentos, isto é, que diferem em apenas um nucleotídeo. Submetendo-se o diagrama eletroforético a uma auto-radiografia como descrito acima, a posição dos nucleotídeos será indicada pelo sinal de ^{32}P - G: duas posições para os nucleotídeos resultantes das clivagens em A, C e T, e uma para a clivagem em G com os seguintes valores:

Posições 3 e 7 → 32P-GCT e 32P-GCTACGT

Posição 5 → 5" → 32P-GCTAC

Posições 1 e 4 → 32P- G e GCTA

Posições 2 e 6 → GC e 32P-GCTACG

Lendo, em ordem e no sentido ascendente, a seqüência do nucleotídeo será: 5'-CTACGTA-3'.

Essa metodologia, a princípio muito simples, está sofisticando-se cada vez mais de modo a tornar-se mais precisa e rápida.

Os métodos mais modernos de obtenção de dados e de análise de resultados permitiu às numerosas equipes de cientistas seqüenciar o genoma humano: 2,91 bilhões de pares de bases, com previsão de 26.000 a 30.000 genes. A revista Science dedicou seu Vol. 291, No. 5507, páginas 1145-1434 de 16-02/2002 aos resultados desse fato. (www.sciencemag.org).

O editorial desse volume, redigido por Barbara R. Jasny e Donald Kenedy, inicia-se com a frase "Humanity has been given a great gift. With the completion of the human genome sequence, we have received a powerfull tool for unlocking the secrets of our heritage and for finding our place among the other participants in the adventure of life".

Acreditamos que você com essas informações gerais, poderá prosseguir na leitura de como o enigma da diversidade dos anticorpos foi resolvido: a associação de duas abordagens metodológicas, a imunológica e a tecnologia de manipulação dos ácidos nucléicos, genética molecular ou biologia molecular.

Anticorpos monoclonais

Bloco: anticorpos humanizados

AULA 22

objetivo

- A quarta aula, finalmente, cobre a introdução de engenharia genética na manipulação da molécula de Imunoglobulina: anticorpos monoclonais e humanizados. Dias atuais.

INTRODUÇÃO

Cada linfócito B (como qualquer célula somática) possui dois pares de cromossomos, sendo um deles de origem paterna e o outro de origem materna. As cópias de um mesmo gene existentes em cada um dos pares cromossômicos são chamadas alelos. O que se chama exclusão alélica indica a expressão pelo linfócito B de apenas 1 dos alelos para as cadeias leve ou pesada. Estudos do gene da cadeia leve de mieloma têm mostrado que usualmente apenas um dos alelos é rearranjado, enquanto o outro permanece como estava na linhagem germinal. Em outros casos, entretanto, ambos os alelos sofrem rearranjo somático, porém um deles é rearranjado defeituosamente (por exemplo, união de um segmento V a um outro segmento diferente do J). Esses genes defeituosos podem ser transcritos e mesmo traduzidos, porém não codificam cadeias leves funcionais. O mesmo fenômeno pode ocorrer com a cadeia pesada. O mecanismo molecular da exclusão alélica ainda não está bem conhecido.

ANTICORPOS MONOCLONAIS

O mieloma ou plasmocitoma é um tumor maligno de linfócitos B cujas células multiplicam-se rapidamente e produzem grandes quantidades de imunoglobulinas, denominadas proteínas mielomatosas. O tumor representa um clone imortal de linfócitos B descendentes de uma única célula progenitora, que podem ser cultivados indefinidamente e que secretam imunoglobulinas estruturalmente idênticas. Estas são usualmente anticorpos cuja especificidade é desconhecida.

Anticorpos monoclonais são homogêneos produzidos por um único clone de linfócitos B e que, por isso, possuem a mesma especificidade, o mesmo isótipo, o mesmo idiótipo e o mesmo alótipo. Eles foram inicialmente obtidos pela técnica da microgota, com a qual foi possível isolar um único linfócito e mostrar que ele produzia anticorpos de uma única especificidade e isótipo. A produção de anticorpos monoclonais por essa técnica era evidentemente ínfima, sendo quase insuficiente para a sua caracterização.

Uma nova e revolucionária técnica para a produção de anticorpos monoclonais foi desenvolvida por Köhler e Milstein, em 1975 (eles receberam o prêmio Nobel de Medicina em 1984 por suas pesquisas).

Esses autores desenvolveram um método para fundir células mielomatosas com linfócitos produtores de anticorpos, obtendo desse modo células híbridas do mieloma ou hibridomas. Estes irão sintetizar anticorpos monoclonais contra o antígeno usado na imunização, bem como a proteína mielomatosa que era secretada pela célula mielomatosa usada para a fusão. Para se obter hibridomas que produzam exclusivamente o anticorpo monoclonal, usa-se uma célula mielomatosa não-secretora, para fazer a fusão.

As células dos hibridomas expressam a capacidade de produzir anticorpos do linfócito e possuem a imortalidade da célula mielomatosa. Essas células são então cultivadas e manipuladas *in vitro*, de modo a permitir a obtenção de clones que produzirão grandes quantidades de anticorpos idênticos dirigidos a um único determinante antigênico, ou seja, anticorpos monoclonais. Esses anticorpos fazem contraste com os anticorpos produzidos normalmente pelo animal imunizado, que são policlonais (Figura 22.1). Os clones de hibridomas podem ser mantidos por tempo indefinido, e a qualquer tempo pode-se colher amostras dos mesmos para replicação *in vitro* ou *in vivo*, possibilitando a produção em larga escala de anticorpos monoclonais. Se conveniente, pode-se também congelar uma alíquota dos hibridomas em nitrogênio líquido para uso futuro.

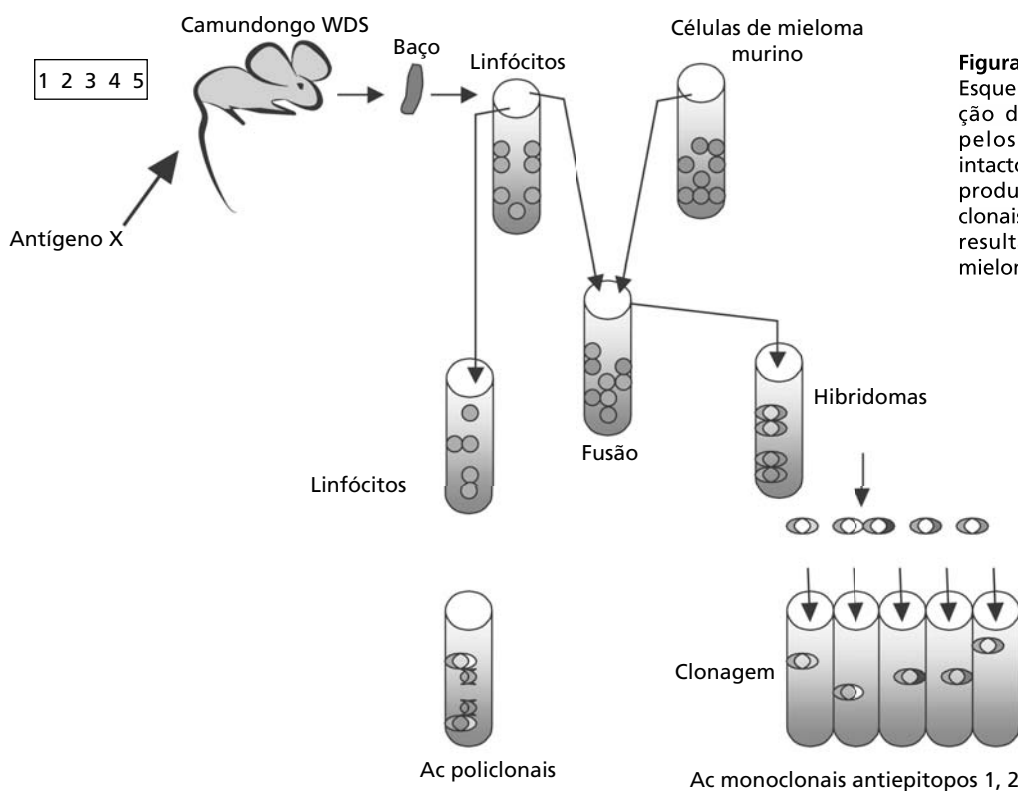


Figura 22.1: Esquema comparando a produção de anticorpos policlonais pelos linfócitos B do animal intacto, após imunização, com a produção de anticorpos monoclonais por clones de hibridomas resultantes da fusão de célula mielomatosa com um linfócito B.

OBTENÇÃO DE HIBRIDOMAS

Em cultura de tecidos ocorre ocasionalmente e em percentagem muito baixa a fusão celular. O número de fusões pode ser aumentado pela adição à cultura de vírus Sendai irradiado com luz ultravioleta (as partículas do vírus aderem à membrana das células, causando modificações não conhecidas que induzem à fusão celular). Uma outra maneira é adicionar à cultura de células polietilenoglicol (PEG), que produz o mesmo efeito, porém de forma mais eficiente. Há, inicialmente, fusão das membranas das células, depois do citoplasma e, ao fim, dos núcleos.

Uma vez obtidas as fusões, as células híbridas ou hibridomas precisam ser isoladas das células não-fundidas ou “parentais”. Para conseguir isso, trabalha-se com células mielomatosas resistentes a certas drogas (8-azaguanina ou 5-bromodesoxiuridina) para fazer a fusão e usa-se um meio de cultura que impede a sobrevivência das células parentais, permitindo, porém, o crescimento dos hibridomas.

A 8-azaguanina é um análogo de uma das bases do DNA que, quando incorporada ao DNA da célula, interfere com a replicação e a transcrição normais, impedindo a proliferação celular. Entretanto, quando se cultivam células mielomatosas em presença de elevadas concentrações dessa droga, obtêm-se mutantes que são resistentes à ação da 8-azaguanina. A mutação ocorre em um gene que codifica para a enzima hipoxantinaguanina-fosforribosil transferase (HGFRT), que a célula usa para incorporar a hipoxantina ou a 8-azaguanina ao seu DNA. Quando a enzima HGFRT não é mais sintetizada devido à mutação, a 8-azaguanina não pode mais ser incorporada, e a célula torna-se resistente a essa droga.

A 5-bromodesoxiuridina é outra base com ação semelhante à da 8-azaguanina. Os mutantes resistentes a essa droga apresentam mutação em um gene que codifica para timidina quinase, que é uma enzima usada pelas células normais para incorporar a timidina ou a 5-bromodesoxiuridina ao DNA.

Tanto a linhagem resistente à 8-azaguanina como a resistente à 5-bromodesoxiuridina são sensíveis à aminopterina, uma droga que não é tóxica para células normais. A aminopterina impede a síntese *de novo* da hipoxantina e da timidina, e como as células mutantes são incapazes de incorporar esses dois precursores do DNA pré-formados do meio de cultura, elas morrem (as células mielomatosas resistentes à 8-azaguanina não podem incorporar a hipoxantina, porque são deficientes da enzima HGFRT, e as células resistentes à 5-bromodesoxiuridina não podem incorporar a timidina porque são deficientes na timidina quinase). A 5-bromodesoxiuridina é sensível à aminopterina, uma droga que não é tóxica para células normais.

Quando se induz a fusão de células mielomatosas resistentes à 8-azaguanina com células mielomatosas resistentes à 5-bromodesoxiuridina e se cultivam essas células em meio de cultura contendo hipoxantina, aminopterina e timidina (meio HAT), somente os híbridos crescerão. As células parentais morrerão porque são sensíveis ao efeito tóxico da aminopterina; porém, as células híbridas proliferarão porque o seu parental resistente à 8-azaguanina lhes terá dado a capacidade de incorporar a timidina, enquanto, por outro lado, o parental resistente à 5-bromodesoxiuridina lhes terá dado a capacidade de incorporar a hipoxantina do meio de cultura. Quando uma das células usadas na fusão possui pouca capacidade de proliferar, ela pode ser usada sem que seja necessário torná-la incapaz de incorporar a hipoxantina ou a timidina. Entretanto, a outra célula tem que ser deficiente. Por exemplo, células mielomatosas deficientes em HGFRT podem ser fundidas com linfócitos B normais, e essas células e os híbridos resultantes cultivados em meio HAT. Nesse caso, as células deficientes em HGFRT não-fundidas morrerão por causa do efeito tóxico da aminopterina, os linfócitos também morrerão porque não sobrevivem em cultura sem estímulo antigênico e, desse modo, apenas os hibridomas sobreviverão.

Usualmente, a fusão é feita entre linfócitos B obtidos de animais que receberam uma última dose antigênica, três a quatro dias antes, e células mielomatosas não-secretoras na proporção de 2 a 5 para 10,0 PEG (p.m. 1.000 - 4.000) na concentração de 35 a 50% v/v são usadas como agente indutor da fusão. O linfócito B fornece a informação para a síntese de um único anticorpo, e a célula mielomatosa fornece a imortalidade. A mistura de linfócitos esplênicos com as células mielomatosas é incubada por um tempo curto com o PEG, em seguida as células são lavadas e colocadas em pocinhos de placas de microtitulação e incubadas em meio de HAT (**Figura 22.1**). Alguns dias depois, o sobrenadante das culturas em crescimento é testado quanto à presença de anticorpos (por métodos imunoquímicos, hemaglutinação, citotoxicidade, imunofluorescência etc.). As culturas positivas são então clonadas pela técnica de diluição limite. As células clonadas podem então ser cultivadas em massa para produção de grandes quantidades de anticorpos monoclonais, injetadas em camundongos para produção de mieloma e obtenção dos anticorpos do líquido ascítico ou, ainda, congeladas em nitrogênio líquido para uso posterior.

Anticorpos monoclonais têm sido exaustivamente usados por experimentalistas de diferentes áreas: biólogos moleculares, biólogos celulares, microbiologistas, bioquímicos e, obviamente, imunologistas. Conquanto estejam sendo largamente usados nos laboratórios clínicos como ferramenta altamente específica para diagnóstico de doenças, seu uso terapêutico é limitado por várias razões.

Uma delas, de ordem imunológica é que anticorpos de uma espécie animal, como proteínas, se injetados em indivíduos de outra espécie, induzem a produção de anti-anticorpos injetados. Os anticorpos anti-anticorpos neutralizariam as ações terapêuticas que se esperavam dos anticorpos injetados.

Outra de ordem técnica: células de plasmacitomas humanos são difíceis de serem fundidas com linfócitos. Ainda uma outra: por razões de ordem ética não se pode, deliberadamente, como se faz em camundongos, imunizar seres humanos e recolher células de seu baço para fusão com células de plasmacitocitoma humano.

Uma abordagem usada porém sem sucesso foi transformar linfócitos B humanos infectando-os com o vírus Epstein-Barr. O DNA desse vírus, conquanto não se integre no genoma do linfócito B, aí persiste como episomas. Linfócitos B infectados com vírus Epstein-Barr continuam produzindo fatores de crescimento, permanecem dividindo-se como se fossem células indiferenciadas e alguns, inclusive, secretam anticorpos. A quantidade de anticorpos produzida entretanto é baixa e de curta duração.

Outra abordagem visando a obter anticorpos monoclonais humanizados foi o uso de uma linhagem de camundongos denominada *Camundongos scid*.

Esses pequenos animais sofreram uma mutação em um gene requerido para que a combinação **VDJ** que codifica para suas imunoglobulinas IgG e dos receptores de seus linfócitos T (TCR) se complete. Os linfócitos T e B desses camundongos são portadores de cópias defeituosas nos dois genes que codificam para Igs e TCR. Os camundongos expressam um defeito imunológico conhecido como *severe combined immunodeficiency disease (scid)*.

Camundongos scid, ao contrário dos normais, não rejeitam transplantes de órgãos ou tecidos, mesmo quando os doadores são muito distantes filogeneticamente de seres humanos. Células precursoras de linfócitos humanos (células tronco ou hemohistioblastos) injetadas nesses camundongos não são rejeitadas; alojam-se no timo, onde se diferenciam para linfócitos T e B humanos e reconhecem como “próprios” os tecidos do camundongo. A imunização da quimera *Camundongos scid* – linfócitos humanos com o antígeno desejado fornece linfócitos imunes humanos. Esses linfócitos, se fundidos com plasmocitoma de camundongo como descrito na **Figura 22.1**, permitem a obtenção de hibridomas que produzirão anticorpos humanos.

O refinamento na técnica de obtenção de “anticorpos humanizados”, como esperado, aconteceu com a introdução das técnicas de engenharia genética na metodologia geral de produção de anticorpos.

Os genes responsáveis pela síntese da molécula de anticorpos foram redesenhados, de modo a substituir os segmentos gênicos que codificam para a porção C das cadeias H e L de camundongo por segmentos correspondentes humanos. Os anticorpos humanizados por esse método ainda retêm, como camundongo, uma boa parte das regiões V de suas cadeias L e V. A remoção mais profunda da região V até o início dos CDRs pode ser feita.

Etapas:

- Construção do segmento gênico híbrido entre $C_H^h V_H^{hm}$ e $C_L^h V_L^{hm}$, em que: C, região constante; V, região variável; H, cadeia pesada; L, cadeia leve; h, humana; m, murina.
- Isolar RNAm de células do baço de camundongos previamente imunizados com o antígeno desejado X.
- Converter o RNA de fita simples em DNA complementar de fita dupla por meio da enzima transcriptase reversa.
- Amplificar as seqüências que codificam para a cadeia L de imunoglobulina ($V_L C_L$) e para a parte da cadeia H que se acha no Fab ($V_H C_H1$) pela técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) usando *primers* específicos para as terminações 3' e 5' dos correspondentes segmentos de DNA, inclusive a região do *promoter*.
- Inserir os produtos amplificados no vetor de expressão fago λ ; sempre um segmento $V_L C_L$ e um segmento $V_H C_H1$ são inseridos no mesmo vetor de expressão. Os vetores contendo $V_L C_L$ e $V_H C_H1$ empacotados no fago π são usados para infectar a bactéria *Escherichia coli*.
- Semear, em monocamada, as bactérias transfectadas sobre meios de cultura sólidos depositados em placas de cultura de modo que uma bactéria, ao multiplicar-se, dê origem a uma colônia.
- As bactérias transfectadas produzem as proteínas $V_L C_L$ e $V_H C_H1$ espontaneamente associadas ao Fab. Um filtro colocado no topo da cultura captura as proteínas produzidas pelas bactérias. A exposição subsequente do filtro ao antígeno X marcado com isótopo radioativo permite identificar, individualmente, as colônias que estão produzindo Fab portador do sítio combinatório para o antígeno X.
- Segmentos de DNA que codificam para esses Fabs podem ser usados para transfectar outras bactérias e, assim, amplificar e produzir grandes quantidades de anticorpo.

O processo está esquematizado na Figura 22.2:

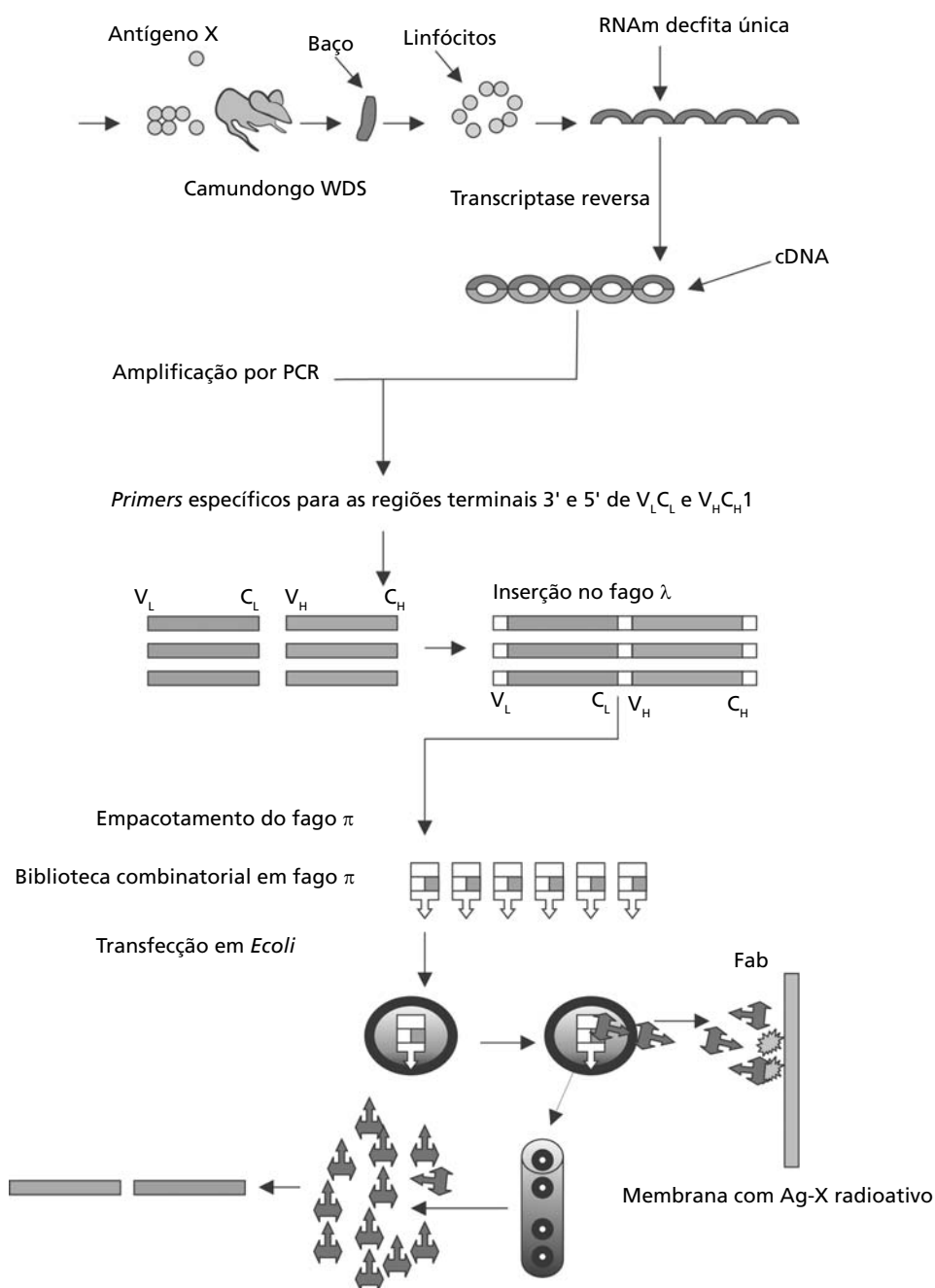


Figura 22.2: Anticorpos (Ac) redesenhados por métodos de DNA recombinante. a) Igs de murina e humana; b) Igs químera (murina-humana) e humanizada; c) Ig-imunotoxina e Ig-bifuncional.

As moléculas de anticorpos obtidas são basicamente humanas, exceto para as partes que determinam sua especificidade. Estão humanizadas. Possuem baixo poder imunogênico para seres humanos.

Anticorpos humanizados estão sendo usados, com sucesso, no tratamento de várias doenças, como tumores malignos. O poder destruidor desses anticorpos pode ser potencializado com a adição de mais artifícios em sua molécula. Anticorpos em que um de seus braços Fab seja dirigido para o antígeno tumoral e outro para um componente de linfócito T como moléculas de CD3, também humano, não só reconheceriam especificamente a célula tumoral como facilitariam o contato com linfócitos T citotóxicos. Certas toxinas podem, também, ser dirigidas especificamente à célula tumoral quando ligadas ao Fc do anticorpo.

Grandes Temas em Biologia



Referências



AYALA, F.J.; TRACY, M.L.; HEDGECOCK, D.; RICHMOND, R.C. Genetic differentiation during the speciation process in *Drosophila*. *Evolution*, v.28, p.576-592, 1974.

CONNELL, J.H. Some mechanisms producing structure in natural communities: A model and evidence from field experiments. In: *Ecology And Evolution of Communities*. CODY, M. L.; DIAMOND, J.M. Boston: Harvard Univ. Press, 1975. p. 460-490.

DARWIN, C. *On The Origin of Species*. London: John Murray , 1859.

DARWIN, Charles. *Origem das espécies*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 2002. 381p.

DOBZHANSKY, Theodosius D. *Genética do processo evolutivo*. São Paulo: T. A. Queiroz/ EDUSP, 1973. 181p.

DOBZHANSKY, Theodozius. *Genetics of the evolutionary process*. New York: Columbia Univ. Press, 1970.

ELTON, Charles S. *Animal Ecology*. London: Sidgwick & Jackson, 1927.

ELTON, Charles. *Animal Ecology*. Chicago: University of Chicago Press, 2001.

FUTUYMA, Douglas J. *Biologia evolutiva*. 2.ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, 1992. 646p.

HUTCHINSON, G.E. *An Introduction to Population Ecology*. New Haven: Yale University Press, 1980.

LEWONTIN, R. C.; HUBBY, J.L. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. *Genetics*, v.54, p.595-609, 1966.

LEWONTIN, R. C.; Rose S., KAMIN, L.J. *Not in our genes: Biology, ideology and human nature*. New York: Pantheon, 1984.

MAYR, E. *Animal species and evolution*. Cambridge: Harvard Univ. Press., 1963

MAYR, Ernest. *Populações, espécies e evolução*. São Paulo: Ed. Universidade de São Paulo, 1977. 485 p.

SMITH, Adam. *A Riqueza das Nações*. São Paulo: Editora Nova Cultura, 1996. (Coleção Os Economistas).

SMITH, Adam. *The Wealth of Nations*. London: Aldine Press, 1910.

TANSLEY, A.G. The use and abuse of vegetational concepts and terms. *Ecology*, v.16, p.204-307, 1935.

Aula 10

<http://www.literature.org/authors/darwin-charles/>

Podem ser encontradas, na íntegra, as principais obras de Charles Darwin. (*Origem da Espécies e A Descendência do Homem*).

<http://www.secularhumanism.org/>

O movimento humanista moderno advoga que a inteligência, a criatividade e a moralidade são de inspiração humana e que o racionalismo deve prevalecer sempre. Seus defensores, na sua maioria anti-religiosos, defendem a posição de que a religião é plenamente dispensável à humanidade e um impecilho à liberdade de pensamento.

http://www.geocities.com/gilson_medufpr/evolucao.html

Você poderá encontrar traduções de vários textos sobre a controvérsia evolução *versus* criação.

<http://nearctica.com/>

Tem uma boa introdução a diferentes endereços estrangeiros sobre vários tópicos em Evolução (Paleontologia, Sistemática, Macroevolução, Biogeografia etc.)

Aula 11

<http://www.world-of-dawkins.com/> e <http://www.ucmo.berkeley.edu/>

Uma boa introdução a esse tema pode ser encontrada nesses endereços.

Aula 12

<http://www.ucmp.berkeley.edu/history/evothought.html>

Uma boa introdução ao desenvolvimento histórico do evolucionismo é encontrada nesse endereço.

Aula 13

<http://www.ucmp.berkeley.edu/clad/clad4.html>

<http://www.cladistics.org/education.html>

<http://www.science.uts.edu.au/sasb/WestonCrisp.html>

<http://www.ufba.br/~qualibio/welcome.html>

Uma boa introdução à sistemática filogenética (cladística) encontra-se nos endereços acima.

Aula 18

ESTEVES, F.A. *Fundamentos de Limnologia*. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

ESTEVES, F.A. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé*. Rio de Janeiro: NUPEM/UFRJ. 1998.

MASON, C.F. *Biology of Freshwater Pollution*. Londres: Longman, 1981.

MEYBECK, M.; CHAPMAN D.; HELMER, R. *Global Freshwater Quality: a first assessment*. Oxford: Basil Blackwell, 1989.

POSTEL, S. Fresh Water Supplies and Competing Uses. In: *Perspectives on Water* (ed): SPEIDEL, D. H.; RUEDISIL, L. C.; AGNEW, A.F. Oxford: Oxford University Press, 1988. p 103-109.

REBOUÇAS, A.C. Água doce no mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A.C., BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. (eds.) *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. São Paulo: Inst. Estudos Avançados/USP, 1999.

Aula 21

B. Lindqvist and T. Storgars (1955) *Nature* (London), 175:511.

J. C. Porat and P. Flodin (1959) *Nature* (London) 183:1657.

Protein Purification - Editores: Jan-Crister Janson and Lars Ryden. Second Edition.

Wiley-Liss, A John Willey & Sons, Inc. Publication, New York

e-mail: PERMREQ@WILEY.COM

P. Edman (1950) *Acta Chem. Scand.* 28:283-293.

F. Sanger and H. Tuppy (1961) Biochem. J. 49:463-490.

G. M. Edelman and M. D. Poulik (1961) J. Exp. Med. 113:861.

R. R. Porter (1959) Biochemistry, 73:119.

Dalton: em homenagem a John Dalton (1766-1844) que desenvolveu a teoria atômica da matéria.

Uma unidade de massa muito próxima da massa de um átomo de hidrogênio, precisamente igual a 1,0000 na escala de massa atômica. Kilodalton (kd) - uma unidade de massa igual a 1,000 daltons.

Angstrom (Å)- em homenagem a Anders J. Angström (1814 - 1874).

Uma unidade de comprimento igual a 10^{-10} de metro.

$$1\text{Å} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm} = 10^{-4} \text{ mm} = 10^{-1} \text{ nm}.$$

ISBN 85-8920048-5



9 788589 200486



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério
da Educação

