

## Tema 1 – Reprodução e Manipulação da Fertilidade

### Sistema Reprodutor Masculino:

A **Espermatogênese** ocorre nos túbulos seminíferos dos testículos, inicia-se na puberdade e prolonga-se por toda a vida.

A localização dos testículos fora do corpo, faz com que estejam expostos a uma temperatura favorável para a produção de espermatozóides (menos 2°C que o organismo).

Os testículos são revestidos externamente por uma **cápsula albugínea** que forma **septos incompletos**. Os septos dividem os testículos em cerca de 300 a 400 lóbulos de forma cônica.

Nos **lóbulos** existem os **túbulos seminíferos**, onde são produzidos os espermatozóides e as **células de Leydig**, que produzem hormonas masculinas ou androgénios. O principal androgénio é a **testosterona**.

Dentro dos túbulos seminíferos existem dois tipos de células: **as germinativas** e **as de Sertoli**.

**As células de Sertoli** são células de grandes dimensões que se prolongam desde a periferia até ao lúmen dos túbulos seminíferos e as suas membranas aderem umas às outras .

Entre as **células de Sertoli** existem as **espermatogónias**, que **proliforam continuamente**. Uma parte das espermatogónias sofre diferenciação que leva à formação dos espermatozóides.

O desenvolvimento dos espermatozóides ocorre da periferia para o centro do túbulo seminífero.

A Espermatogénese tem **4 fases**:

1. **Multiplicação**: as espermatogónias dividem-se continuamente por mitose, aumentando em número. Este processo inicia-se na puberdade.
2. **Crescimento**: algumas espermatogónias iniciam um processo de intensa biossíntese, aumentam de tamanho e acumulam substâncias de reserva, passando a chamar-se **espermatócitos I** – células diplóides.
3. **Maturação**: os espermatócitos I sofrem a primeira divisão da meiose, passando a **dois espermatócitos II**. Cada um dos espermatócitos II sofre a segunda divisão da meiose e origina **dois espermatídeos**.
4. **Diferenciação**: Os espermatídeos sofrem a **espermiogénese**, processo de diferenciação mediante o qual desenvolvem uma cabeça, uma peça intermédia e uma cauda, constituindo um **espermatozóide**.

Assim: uma espermatogónia origina um espermatócito I, que se divide por meiose e origina dois espermatócitos II no final da primeira divisão e cada uma desses espermatócitos II origina dois espermatídeos, que originam um espermatozóide cada. Portanto, uma espermatogónia origina 4 espermatozóides.

Os **espermatozoides** são células alongadas com **3 regiões**:

1. **Cabeça**: onde se localiza o núcleo, contendo os cromossomas. Possui na extremidade uma cápsula chamada **acrossoma**, que contém **enzimas hidrolíticas** necessárias à penetração no oócito.
2. **Peça intermédia**: com numerosas mitocôndrias que produzem o ATP necessário para o movimento do espermatozoide.
3. **Cauda**: flagelo que se movimenta.

Os espermatozoides são libertados no lúmen dos túbulos seminíferos.

**As células de Sertoli possuem receptores de testosterona e recebem testosterona produzida pelas células de Leydig.**

**As células de Sertoli controlam o processo de espermiogénese.** Contribuem para a nutrição das células germinativas e isolam os espermatozoides do sistema imunitário.

#### **A testosterona influencia:**

O desenvolvimento das estruturas reprodutoras e a manutenção das suas capacidades funcionais;

O desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários;

O controlo da formação de espermatozoides;

A maior probabilidade no desenvolvimento de comportamentos, como a agressividade.

Os espermatozoides são lançados para o lúmen dos túbulos seminíferos e daí para o **epidídimo, onde amadurecem e são armazenados**. Passam depois para os **canais deferentes, onde se juntam os líquidos** produzidos pelas vesículas seminais e pela próstata e daí para a uretra.

As **vesículas seminais** produzem o **líquido seminal, rico em açúcares e alcalino**.

A **Próstata** produz o **líquido prostático, alcalino** que é lançado na uretra.

As **Glândulas de Cowper** segregam uma **substância mucosa** que é expulsa antes da ejaculação e que **neutraliza a acidez da uretra**.

#### **Regulação Hormonal:**

1. Neurónios do hipotálamo libertam GnRH para a hipófise.
2. O aumento da concentração de GnRH leva à segregação das hormonas gonadotróficas pela hipófise anterior: LH e FSH.
3. **LH estimula as células de Leydig a produzir testosterona.**
4. **FSH liga-se às células de Sertoli e estimula o desenvolvimento dos espermatozoides.**

**Retroalimentação negativa:** níveis elevados de testosterona inibem a secreção de GnRH pelo hipotálamo e as concentrações de LH e FSH baixam.

**Gónadas** – são os testículos, constituídos por túbulos seminíferos enovelados que produzem espermatozóides e hormonas masculinas. Localizam-se no escroto.

### **Sistema Reprodutor Feminino:**

A **Oogénese** começa nos ovários, no interior dos **folículos ovários** e conclui-se nas **Trompas de Falópio**, momento da fecundação. Tem início durante o desenvolvimento embrionário e pode ocorrer até à menopausa. Os ovários estão cobertos por uma túnica albugínea. Dividem-se em duas regiões: uma **zona cortical mais densa e periférica**, contendo numerosos folículos em desenvolvimento e uma **zona medular, mais interior**, que contém vasos sanguíneos e nervos.

Na altura do nascimento, o ovário possui inúmeros folículos primordiais (oócito I + zona granulosa).

A partir da puberdade, mensalmente, vários folículos primordiais iniciam uma série de transformações e um deles transforma-se num folículo maduro ou folículo de Graaf. Os restantes folículos que iniciam o desenvolvimento degeneram.

Transformações que dão origem a um folículo de Graaf:

1. Oócito **umenta** de tamanho
2. Células da zona granulosa crescem e multiplicam-se – a zona passa a ter **várias camadas celulares**
3. Forma-se a **zona pelúcida**, constituída por glicoproteínas.
4. Forma-se uma cápsula com duas camadas – **Tecas** – a mais interior tem função secretora.
5. Surgem vesículas cheias de líquido entre as células da zona granulosa, que se fundem e formam a **Cavidade Folicular ou Antro**
6. O oócito situa-se na **extremidade oposta** à cavidade folicular.

O líquido produzido pelas células foliculares faz aumentar a pressão dentro do folículo que se expande e rompe – Ovulação.

Após a ovulação, as **células da zona granulosa e a teca interna tornam-se secretoras, formando o corpo lúteo ou amarelo** que, se não houver gravidez, degenera ao fim de alguns dias.

**As 3 fases da Oógene são:**

1. **Multiplicação:** as oógonias dividem-se por mitose durante o desenvolvimento embrionário
2. **Crescimento:** ainda durante o desenvolvimento embrionário, algumas oogónias aumentam de tamanho e acumulam substâncias de reserva
3. **Maturação:** Antes do nascimento inicia-se a meiose, mas pára em Profase I. As células então formadas chama-se oócitos I e ficam encerradas

dentro dos folículos primordiais. As oogónias degeneram, bem como muitos oócitos I.

### **Regulação hormonal:**

Ciclo ovário e ciclo uterino.

Mecanismos de retroalimentação positiva e negativa.

GnRH é produzida pelo hipotálamo e actua na hipófise anterior, estimulando a secreção de LH e FSH.

FSH e LH actua nos ovários.

**FSH actua ao nível do desenvolvimento dos folículos**, que começam a produzir estrogénios.

**LH estimula a ovulação e o desenvolvimento do corpo amarelo.**

O aumento progressivo da concentração de **estrogénios** (no mecanismo de retroalimentação positiva) até à altura da ovulação, **induz a proliferação das células do endométrio uterino** (fase proliferativa do ciclo uterino) e estimula a síntese de moléculas receptoras de progesterona.

Após a ovulação, **a LH, com valor elevado, estimula o desenvolvimento do corpo lúteo, que produz grandes quantidades de progesterona e também, embora mais baixas, de estrogénios.**

A **progesterona liga-se aos receptores do endométrio uterino** que se hipertrofiam e se **tornam secretoras** (fase secretora do ciclo uterino). As hormonas produzidas pelo corpo lúteo têm efeito de retroalimentação negativa, fazendo baixar LH e FSH. A diminuição da LH causa a degeneração do corpo amarelo.

**A diminuição das concentrações de estrogénios e progesterona estimulam as contracções uterinas e o desprendimento do endométrio.**

Faz aumentar FSH e estimula um novo desenvolvimento folicular.

### **Fecundação, Desenvolvimento embrionário e gestação:**

A fecundação ocorre nas Trompas de Falópio.

Nas Trompas de Falópio vários espermatozóides rodeiam o oócito II. Um dos espermatozóides atinge a **zona pelúcida, que tem uma proteína (ZP3) receptora dos espermatozóides**, ligando-se a uma molécula complementar na superfície da cabeça do espermatozóide.

A ligação da cabeça do espermatozóide com a molécula receptora induz a libertação do conteúdo do acrossoma – **reacção acrossómica**. As enzimas proteolíticas permitem que a cabeça do espermatozóide atinja a membrana citoplasmática do oócito e as duas membranas fundem-se. Esta fusão causa a **despolarização da membrana do oócito**.

Os grânulos corticais do citoplasma do oócito libertam o seu conteúdo por exocitose para fora da célula, umenta assim o espaço perivitelino que funciona como **uma barreira à polispermia**.

Quando ocorre a entrada da cabeça do espermatozóide o núcleo do oócito **completa a segunda divisão da meiose**, dando origem ao **segundo glóbulo**

**polar e ao pró-núcleo feminino**, que se desloca para o centro do óvulo. O núcleo do espermatozóide aumenta de tamanho e transforma-se no pró-núcleo masculino.

A fusão dos dois pró-núcleos origina o **zigoto**.

Até às 8 semanas de gestação formam-se os principais órgãos e o novo ser humano designa-se embrião. A partir daí designa-se feto.

6 a 7 dias após a fecundação, o embrião implanta-se no endométrio uterino onde continua o seu desenvolvimento – nidação.

**As etapas do desenvolvimento embrionário são:**

1. **Segmentação:** divisões celulares sucessivas que não são acompanhadas pelo crescimento das células. As primeiras divisões originam uma esfera compacta de células, a **Mórula**. Posteriormente, surge uma cavidade no interior e forma-se uma esfera oca, o **Blastocisto** - cada célula que o rodeia é um Blastómero, a cavidade é o Blastocélio e a camada de células que o rodeia é o Trofoblasto. Nesta etapa, **todas as células do embrião são pluripotentes**.

Sete dias após a fecundação o Blastocisto implanta-se no útero - e a **Nidação**.

O Blastocisto produz uma hormona, a Gonadotrofina Coriônica Humana (HCG) que impede a degeneração do corpo amarelo e a consequente expulsão do endométrio.

2. **Morfogénese:** As células do Blastocisto reorganizam-se e formam a **Gástrula**, que é um embrião com **3 Camadas Germinativas**: endoderme (origina o revestimento do tubo digestivo, o fígado, o pâncreas e os pulmões), ectoderme (origina sistema nervoso) e epiderme (origina pele e órgãos dos sentidos), a mesoderme desenvolve-se no esqueleto, músculos, sistema circulatório e reprodutor.
3. **Diferenciação Celular:** As interações entre as células embrionárias induzem alterações nas expressões dos genes em diversos sentidos - **indução embrionária**.

**Anexos Embrionários:**

- **Âmnio:** membrana protectora fina que cresce à volta do embrião durante a terceira e quarta semanas, acabando por o encerrar num saco membranoso, o saco amniótico, onde se encontra o líquido amniótico. Amortece contra choques mecânicos, protege o embrião da dessecação e mantém a temperatura constante.
- **Placenta:** Disco achatado que envolve a cavidade uterina e através do qual se verificam trocas de nutrientes, gases e resíduos entre o sangue materno e o do embrião ou feto. **A Placenta tem origem mista** e é formada à **custa do córion do embrião e do endométrio uterino**. Na

nidação, os prologamentos do trofoblasto (as vilosidades coriônicas) mergulham no endométrio uterino cujos vasos sanguíneos sofrem digestão enzimática, originando as lacunas cheias de sangue. Uma fina camada de células separa o sangue materno (que se preenche nas lacunas de sangue) do sangue do embrião ou feto que circula pelos capilares sanguíneos das vilosidades coriônicas. É através desta camada que se efectuam as trocas, sem que se verifique mistura de sangue.

A Placenta produz hormonas responsáveis pela manutenção da gravidez - como o embrião jovem começa logo a segregar HCG, impedindo a degeneração do corpo amarelo, mantendo portanto a concentração de estrogénios e de progesterona, o endométrio mantém-se; a Placenta, uma vez formada, substitui o corpo amarelo na produção de estrogénios e de progesterona e o corpo amarelo degenera em função da diminuição da HCG. É por isso que é possível detectar a gravidez por testes de urina, pois o embrião jovem produz HCG que é detectada na urina.

- **Cordão Umbilical:** É constituído por duas artérias e uma veia, envolvidas por tecido conjuntivo. Estabelece a ligação entre o sistema circulatório do embrião e a placenta.
- **Saco Vitelino:** Surge na segunda metade de desenvolvimento. Produz o sangue do embrião até que o fígado comece a funcionar. Uma parte do saco vitelino transforma-se no tubo digestivo e outra é integrada no cordão umbilical.
- **Alantóide:** Aparece durante a terceira semana, inicialmente é responsável pela formação de células sanguíneas do embrião e mais tarde dá origem às artérias e à veia do cordão umbilical.

A **progesterona** é responsável pela manutenção do endométrio uterino e os estrogénios expandem o útero. Estas duas hormonas actuam também na maturação das glândulas mamárias.

No final da gestação **o feto produz oxitocina, assim como a hipófise posterior** (mecanismo de retroalimentação positiva).

Ocorre também a diminuição da concentração de progesterona ao nível do miométrio, o que conduz ao domínio de estrogénios. A dominância de estrogénios leva à contracção dos músculos uterinos, favorecendo a deslocação do feto para o colo do útero. A pressão exercida pelo feto no colo do útero estimula o hipotálamo a estimular a hipófise posterior a produzir também oxitocina. **A oxitocina estimula as contracções do miométrio**, que aumentam as contracções a novamente a produção de oxitocina, até à expulsão do feto.

Após o nascimento e a eliminação da placenta, **as concentrações de estrogénios e progesterona diminuem, o que estimula a secreção de prolactina pela hipófise anterior.** A prolactina actua ao nível das glândulas mamárias, estimulando a produção de **colostro** (rico em proteínas e anti-corpos) nos primeiros dias e leite, que tem início 2 a 3 dias após o parto. Durante o aleitamento, as mamadas do bebé estimulam a libertação de oxitocina e de prolactina pela hipófise. A oxitocina estimula a contracção das células que

rodeiam os alvéolo mamários e a libertação do leite, enquanto que a prolactina estimula a produção do leite da refeição seguinte.

### **Métodos Contraceptivos:**

#### **Métodos Naturais:**

- Método do Ritmo
- Método das Temperaturas
- Método do Muco Cervical

#### **Métodos de Barreira:**

- Preservativo masculino e feminino
- Diafragma
- Espermicidas

#### **Métodos hormonais:**

- Pílula - comprimidos com estrogénios e progesterona sintéticos que mantêm os níveis hormonais no sangue, fazendo retroalimentação negativa e impedindo a libertação de FSH e LH, não havendo ovulação.
- Hormonas injectáveis - com progesterona, previnem gravidez por 3 meses
- Implantes

**Dispositivo Intra-Uterino** - dificulta progressão dos espermatozóide e impede a nidação, aumenta a intensidade de hemorragias e a probabilidade e gravidez ectópica

#### **Métodos Cirúrgicos:**

- Laqueação das Trompas de Falópio
- Vasectomia - corte dos canais deferentes, espermatozóides não se juntam ao esperma e são reabsorvidos

**Contraceção de Emergência** - pílula do dia seguinte: contém doses elevadas de estrogénios e progesterona, atrasa ou inibe a ovulação, impede a nidação.

### **Infertilidade Masculina:**

- Ausência de Espermatoizóides (azoospermia) ou quantidade reduzida de espermatozóides (oligoespermia)
- Imobilidade dos Espermatozóides

### **Infertilidade Feminina:**

- Falta de ovulação (disfunções hormonais, ovários anormais com camada espessa, endometriose)
- Bloqueio das Trompas de Falópio

- Secreções da Vagina ou do colo do útero hostis aos espermatozóides
- Interrupção da Nidação – tumores uterinos como fibromiomas
- Idade (erros da meiose leva a abortos espontâneos)

#### **Técnicas de Reprodução Assistida:**

- **Inseminação artificial:** espermatozóide lavado é colocado no colo do útero e a fecundação ocorre normalmente, nas Trompas de Falópio.
- **Fecundação in Vitro (FIV):** extracção cirúrgica de oócitos II que são colocados em Placas de Petri com meio adequado e aos quais se juntam espermatozóides. O embrião com 8 células é transferido para o útero.
- **Fecundação in Vitro por Microinjecção:** O espermatozóide é injectado no oócito. Permite escolher espermatozóide.
- **Transferência interfalopiana de gâmetas (GIFT):** oócitos e espermatozóides recolhidos, são depositados em conjunto das Trompas de Falópio, num local que ultrapassa a obstrução.
- **Transferência interfalopiana do Zigoto (ZIFT):** Um zigoto obtido por fecundação in vitro é colocado nas Trompas de Falópio, num local que ultrapassa a obstrução.
- **Implantação de embriões após diagnóstico genético de pré-implantação (DGPI):** Detecta anomalias genéticas e cromossómicas antes da implantação do zigoto através de uma biópsia a um blastómero.
- **Biópsia ao primeiro glóbulo polar:** O primeiro glóbulo polar partilha a informação genética da mulher.

#### **Crioconservação de embriões:**

Feita em azoto líquido com crioprotectores químicos que previnem a formação de cristais de gelo. A do espermatozóide é simples, a dos oócitos é mais complexa devido à sua situação em metafase da meiose II (fuso acromático muito frágil).

## **Tema 2 – Património Genético**

### **Transmissão das Características Hereditárias:**

#### **Leis de Mendel:**

- **Lei da Segregação Factorial:** os dois elementos de um par de genes alelos separam-se nos gâmetas de tal modo que a probabilidade de se formarem gâmetas com um alelo é igual à probabilidade de se formarem gâmetas com o outro alelo.
- **Lei da Segregação Independente:** durante a formação dos gâmetas, a segregação dos alelos de um gene é independente da segregação dos alelos de outro gene.

Um cruzamento teste faz-se sempre com um indivíduo homocigótico recessivo.

### Tipos de Transmissão:

1. **Transmissão autossômica dominante:** exemplos: cabelo castanho, capacidade de enrolar a língua, hipercolesterémia familiar, intolerância à lactose
2. **Transmissão autossômica recessiva:** exemplos: inaptidão para enrolar a língua, cabelo louro, miopia, albinismo, fibrose quística, fenilcetonúria
3. **Transmissão de um alelo dominante ligado ao cromossoma X:** exemplos: Síndrome de Rett, hipertricosose
4. **Transmissão de um alelo recessivo ligado ao cromossoma X:** exemplos: daltonismo, hemofilia, diabetes insípidos

Um dos cromossomas X das células do embrião feminino é **desactivado**, o que compensa a desigualdade de alelos do cromossoma X nos dois sexos. A inactivação do cromossoma X ocorre ao acaso nos dois sexos, podendo ser inactivado um cromossoma materno ou paterno. Assim, umas células exprimem os alelos de um cromossoma X e outras do outro cromossoma X. O cromossoma inactivado é visível no núcleo das células femininas e designa-se Corpúsculo de Barr.

### Exceções às Leis de Mendel:

1. **Alelos Múltiplos:** o gene existe em mais que duas formas alelas, aumenta a variedade fenotípica - exemplo, grupos sanguíneos ABO
2. **Alelos letais:** doença de Huntington, doença degenerativa do sistema nervoso. Manifestam-se pelos 35, 40 anos e mantêm-se assim, na população, pois a essa idade a reprodução já ocorreu.
3. **Dominância Incompleta:** o fenótipo dos indivíduos heterozigóticos é intermédio do fenótipo dos homozigóticos. Exemplos\_ doenças causadas por deficiências enzimáticas. Os heterozigóticos não manifestam sintomas da doença.
4. **Codominância:** não existe intermédio: exemplo: grupos sanguíneos ABO.
5. **Epistasia:** a expressão de um gene num locus, afecta a expressão de outro gene noutro locus. Exemplo: Fenótipo Bombay - o gene H afecta a expressão do grupo sanguíneo ABO. Um indivíduo hh não produz enzima necessária à ligação dos antígenos A e B à superfície das hemácias, pelo que apresenta fenótipo O, qualquer que seja o seu genótipo.
6. **Características multifactoriais:** factores ambientais, nutrição ou actividade física, podem condicionar a expressão fenotípica de um genótipo - exemplo; cor da pele, altura, obesidade, esquizofrenia.
7. **Ligação factorial:** genes localizados no mesmo cromossoma não sofrem a segregação independente da meiose, ficando juntos no mesmo gameta e por isso os fenótipos decedentes não seguem as leis de Mendel. O

Crossing-Over pode separar os genes ligados, quando mais afastados estiverem, mais provável é que se separem por crossing-over. Exemplo: gene do grupo sanguíneo Rh e o gene de uma forma de anemia estão no mesmo cromossoma. Estes genes são herdados em bloco na maioria dos indivíduos.

### **Organização e Regulação do Material Genético:**

O genoma é a totalidade do material genético de um organismo e contém os genes.

Um gene é uma sequência de nucleótidos de uma molécula de DNA que origina uma molécula de RNA funcional. Esta pode ser RNAm (mensageiro que codifica um polipéptido), RNAt ou RNAr.

#### **Procariontes:**

O seu genoma é constituído por uma molécula circular de DNA associada a proteínas e que forma o seu único cromossoma, concentrando na região do nucleóide.

Algumas bactérias possuem também pequenas moléculas circulares de DNA – os plasmídeos – úteis em engenharia genética como vectores.

#### **Eucariontes:**

O seu genoma é constituído por várias moléculas lineares de DNA nuclear associadas a uma grande quantidade de proteínas, especialmente **histonas**, formando a **cromatina**. Cada molécula de DNA associada a proteínas constitui um cromossoma. O genoma dos eucariontes contém também material genético extracelular – as mitocôndrias e os cloroplastos contêm DNA semelhante ao bacteriano.

Em cada ciclo celular, o DNA é replicado.

Os genes estão sujeitos a regulação. Um dos pontos de regulação da expressão dos genes é a transcrição do DNA para RNAmensageiro.

#### **Regulação nos Procariontes:**

#### **Modelo do Operão:**

É constituído pelos seguintes elementos:

1. **Genes estruturais:** conjunto de genes que codificam proteínas
2. **Promotor:** Sequência específica de nucleótidos do DNA à qual se liga a RNA polimerase e onde tem início a transcrição
3. **Operador:** sequência de DNA que controla o acesso da RNA polimerase ao promotor e que permite activar ou desactivar a transcrição de todos os genes estruturais.

Um **gene regulador** encontra-se a uma determinado distância do operão, tem o seu próprio promotor e codifica o repressor.

O **repressor é uma proteína alostérica com duas formas**: uma **ativa** e **outra inactiva**. É específico, reconhece e liga-se ao operador de um determinado operão.

A transcrição dos genes estruturais do operão origina uma longa molécula de RNAm.

**Bactéria Escheria coli: operões lac (metabolismo da Lactose) e trp (síntese do Triptofano)**

**Operão LAC- operão do tipo indutivo - tem REPRESSOR ACTIVO (vias catabólicas - SÓ HÁ TRANSCRIÇÃO SE O SUBSTRATO ESTIVER PRESENTE):**

**Na ausência de lactose:** O gene regulador produz um repressor que se liga ao operador, a RNA polimerase não se pode ligar ao promotor e a transcrição é bloqueada - **não se forma RNAm.**

**Na presença de lactose:** A lactose liga-se ao repressor, que então não se pode ligar ao operador, a RNA polimerase liga-se ao promotor e transcreve os genes, surgem então as enzimas que intervêm na degradação da lactose.

**Operão TRP - operão do tipo repressivo - tem REPRESSOR INACTIVO E O PRODUTO FINAL DA VIA METABÓLICA FUNCIONA COMO CO-REPRESSOR, quando a sua actividade aumenta, liga-se ao repressor, activando-o (vias anabólicas - POUPANÇA DE RECURSOS):**

**Na ausência de Triptofano:** O gene regulador produz um repressor inactivo que não se pode ligar ao operador, a RNA polimerase liga-se ao promotor e dá-se a transcrição dos genes, surgem as enzimas da via do triptofano.

**Na presença de Triptofano:** O triptofano liga-se ao repressor, activando-o, o repressor liga-se ao operador, impedindo a ligação da RNA polimerase ao promotor, **não se dá a transcrição.**

## **Alterações do material genético:**

### **Mutações:**

As mutações são importantes do ponto de vista evolutivo. Podem ser espontâneas, sendo mais frequentes em genes de maior tamanho e do genoma mitocondrial.

### **Mutações génicas:**

Alteram a sequência de nucleótidos do DNA. Podem conduzir à modificação da molécula de RNAm que é transcrita e à alteração da proteína produzida. A alteração de uma proteína tem, geralmente, efeito no fenótipo.

São dos tipos:

1. **Substituição:** mutação silenciosa (codifica o mesmo aminoácido - sem efeito sobre fenótipo); mutação com perda de sentido (proteína alterada - exemplo: anemia falciforme); mutação sem sentido (proteína mais curta ou comprida que o normal)
2. **Delecção:** altera completamente a mensagem do gene
3. **Inserção:** altera completamente a mensagem do gene

### **Mutações cromossômicas numéricas:**

Traduzem-se numa alteração do número dos cromossomas.

São dos tipos:

1. **Poliploidia:** existe pelo menos um conjunto completo de cromossomas a mais. Nas plantas é comum, nos humanos, origina abortos, embora algumas células somáticas humanas possam ser poliplóides.
2. **Aneuploidia:** existem cromossomas a mais ou a menos. Geralmente envolve um único par de cromossomas. Pode ser autossômica ou heterossômica.

Existem:

- a. **Polissomia** : XXY ou Síndrome de Klinefelter (homens estéreis, inteligência normal, altos, caracteres sexuais pouco desenvolvidos); XYY (Homens altos, inteligência normal, desenvolvimento normal)
- b. **Trissomias**: Trissomia 21 ou Síndrome de Down; Trissomia 18 ou Síndrome de Edwards (raramente sobrevivem, atraso mental grave, malformações cardíacas); Trissomia 13 ou Síndrome de Patau (raramente sobrevivem, atraso mental profundo e mal formações nervosas); Trissomia do X (mulheres estéreis com inteligência normal)
- c. **Monossomias**: Monossomia do X ou Síndrome de Turner (mulheres estéreis, baixa estatura, inteligência normal)
- d. **Nulissomia**: faltam dois cromossomas de um par de homólogos

### **Mutações Cromossômicas Estruturais:**

1. **Delecção:** Falta uma porção de um cromossoma (síndrome do “mio do gato” está associado a uma delecção de parte do braço p do cromossoma 5)
2. **Duplicação:** Informação genética repetida numa região do cromossoma
3. **Translocação:** Transferência de segmentos entre cromossomas não homólogos. Existem:
  - a. Translocação Simples: transferência de um segmento de um cromossoma para outro não homólogo (se não houver quebra de genes, o fenótipo não é afectado)
  - b. Translocação recíproca: troca de pares entre dois cromossomas (se não houver quebra de genes, o fenótipo não é afectado)
  - c. Translocação Robertsoniana: os braços longos de dois cromossomas unem-se e perdem-se os braços curtos. (trissomia 21 está associada a este tipo de translocação)
4. **Inversão:** uma parte do cromossoma está inserida ao contrário. A inversão pode ser paracêntrica (não inclui o centrómero) ou pericêntrica (inclui o centrómero).

Algumas inversões não têm efeito sobre o fenótipo, mas causam problemas reprodutivos. Como está invertido, o cromossoma homólogo deste durante a meiose tem de se dobrar e o crossing-over nessa região pode originar delecções ou duplicações nos cromossomas.

### **Mutações e cancro:**

O cancro é uma doença genética que resulta da perda de controlo do ciclo celular.

As células cancerosas têm as seguintes características:

- São pouco especializadas e com forma arredondada
- Dividem-se continuamente
- Invadem os tecidos adjacentes
- Podem instalar-se em outros locais do organismos através da corrente sanguínea ou linfática (metástases)

Os cancros surgem devido a mutações em proto-oncogenes que se transformam em oncogenes ou a mutações em genes supressores de tumores.

Estes genes codificam produtor que controlam a divisão celular.

Geralmente, é um acumular de mutações que origina o cancro.

### **Genes relacionados com o aparecimento de cancro:**

Oncogenes: resultam da mutação de proto-oncogenes. Os proto-oncogenes codificam proteínas que estimulam o crescimento e a divisão celular e têm uma

função essencial nas células normais. Quando indevidamente activados, promovem uma proliferação celular que conduz ao cancro.

A activação de um oncogene pode resultar de:

Substituições de bases do DNA e alteração da sequência de aminoácidos, resultando numa proteína diferente, resistente à degradação

Amplificação do proto-oncogene: traduz-se numa maior quantidade do produto codificado pelo gene

Inversões ou translocações que levam à alteração do local que o proto-oncogene ocupa no genoma, se o local for próximo de um gene activamente transcrito ou junto de um DNA viral, a sua taxa de transcrição aumenta.

### **Genes supressores de tumores:**

Os produtos destes genes **inibem a divisão celular**. A perda destes genes ou a diminuição da sua actividade contribui para o aparecimento de cancro.

Podem estar na origem do cancro quando sofrem mutações como:

- Delecções, que causam a sua perda.
- Substituição de bases do DNA, que resulta numa proteína com uma função diferente

### **Genes que codificam as proteínas reparadoras do DNA:**

As mutações nestes genes permitem a acumulação de outras mutações.

Os agentes mutagénicos podem activar oncogenes ou desactivar genes supressores de tumores.

As **infecções por vírus** contribuem para o aparecimento de cancro pela integração do material genética viral no DNA das células afectadas. O DNA viral pode ser inserido num local que o faça destruir a actividade de um gene supressor de tumores ou activar um oncogene a partir de um proto-oncogene.

### **Tecnologia do DNA recombinante:**

Permite combinar na mesma molécula de DNA genes provenientes de fontes diferentes, embora não necessariamente de espécies diferentes.

Origina um molécula chamada DNA recombinante.

A técnica consiste em utilizar enzimas de restrição que reconhecem determinadas sequências de DNA e cortam a molécula nesses locais, em **ligases do DNA** que unem as moléculas depois de cortadas e em vectores, geralmente plasmídeos e bacteriófagos (são entidades constituídas por DNA que transfere o DNA de uma célula par outra).

A actividade de enzimas de restrição dá origem a fragmentos de DNA em dupla hélice com extremidades em cadeia simples. Os fragmentos chama-se **fragmentos de restrição** e as extremidades, **extremidades coesivas**.

Existe complementaridade entre bases do DNA nas extremidades coesivas de fragmentos obtidos com a mesma enzima. As extremidades ligam-se por pontes de hidrogénio e podem unir-se com as ligases do DNA.

As enzimas de restrição são específicas e ocorrem geralmente em bactérias e protegem-nas de ataques de vírus, reconhecendo o seu DNA e cortando-o. O DNA bacteriano está protegido das enzimas de restrição.

A técnica é:

1. Selecciona-se uma molécula de DNA dadora, contendo o gene com interesse que se pretende transferir e clonar
2. A molécula de DNA e o vector são tratados com a mesma enzima de restrição que corta as duas moléculas em regiões com a mesma sequência de nucleótidos
3. Misturam-se os fragmentos e adicionam-se as ligases de DNA, estabelecendo-se uma ligação
4. O vector, que contém agora o DNA dador, é transferido para uma célula ou organismo receptor
5. o DNA dador é incorporado no genoma do organismo receptor e passa a ser um DNA recombinante.

Permite:

- Investigação fundamental
- Obter organismos geneticamente modificados como produção de alimentos em maior quantidade e variedade, grandes quantidades de substâncias com aplicação médica, produção de substâncias com aplicação industrial (corante dos jeans)
- Biorremediação para degradar poluentes.

### **Tecnologia do DNA complementar - DNAC:**

O DNA complementar é uma molécula de DNA **sem intrões** (que impedem que a proteína produzida seja funcional) e que é directamente transcrita em RNA mensageiro.

**O interesse desta técnica reside no facto de os procariontes serem seres muito utilizados em engenharia genética, mas que não processam o RNA mensageiro**, e que, quando existem intrões no seu DNA, estes não são retirados.

1. Isola-se uma molécula de RNAmensageiro funcional
2. Adiciona-se transcriptase reversa (efeito inverso da transcriptase, cataliza a síntese de DNA a partir de RNAm) e nucleótidos livres
3. Junta-se a enzima que degrada o RNAm que serviu de molde e DNA polimerase que cataliza a formação da cadeia complementar do DNA

O DNAC pode ser inserido através de um vector.

O objectivo é obter cópias de genes que codificam produtos com interesse e tornar possível a produção de proteínas humanas por procariontes que podem ser cultivados facilmente em biorreactores.

### **Reacções de Polimerização em cadeia:**

Técnica que permite amplificar qualquer porção de DNA fora das células.

1. O fragmento de DNA a amplificar é aquecido de modo a separar as duas cadeias em dupla hélice
2. Adicionam-se nucleótidos livres e DNA polimerase resistente ao calor, obtida a partir de microrganismos termófilos que catalisa a formação de cadeias complementares, reconstituindo a dupla hélice

O DNA amplificado pode depois ser aplicado em DNA finger print.

### **DNA finger print ou impressões digitais genéticas:**

No genoma humano existem sequências de DNA que são reconhecidas e cortadas por determinadas enzimas de restrição. Diferentes fragmentos movimentam-se de forma diferente quando submetidos a electroforese e o resultado é um padrão de bandas para cada indivíduo.

Aplicado em investigação criminal, forense e histórica e em testes de determinação da paternidade.

## **Tema 3 – Imunidade e Controlo e Doenças**

### **Defesas específicas e não específicas:**

#### **Sistema Imunitário:**

Constituído por um conjunto de órgãos, tecidos e células capazes de reconhecer os elementos próprios e estranhos ao organismo e de desenvolver acções que protegem o organismo de agentes patogénicos e das células cancerosas.

#### **Fazem parte do sistema imunitário:**

- Diferentes tipos de leucócitos e macrófagos
- Medula vermelha dos ossos e timo, onde se formam e diferenciam os leucócitos
- Baço, gânglios linfáticos, apêndice, amígdalas e as adenóides, onde se concentram os leucócitos

O reconhecimento de elementos estranhos ao organismo baseia-se na existência de um **conjunto de glicoproteínas superficiais na membrana citoplasmática** que funciona como marcador celular.

Estas glicoproteínas são codificadas por um conjunto de genes localizados no cromossoma 6, sendo designado por **Complexo Principal de Histocompatibilidade, MHC**.

### Propriedades dos leucócitos:

- **Diapedese:** passagem através dos poros dos vasos sanguíneos para os tecidos envolventes. O poro é muito menor que a célula.
- **Fagocitose:** captura, por endocitose, de células ou restos de células que são destruídas em vesículas digestivas – as células que fagocitam são os fagócitos.
- **Quimiotaxia:** atracção dos leucócitos por certas substâncias químicas produzidas por microrganismos ou células injuriadas.

### Tipos de leucócitos:

- **Neutrófilos:** São os primeiros a chegar aos tecidos infectados, atraídos por quimiotaxia, realizam fagocitose e o seu tempo de vida é apenas de algumas horas. Circulam no sangue e representam 60 a 70 % dos leucócitos. São granulócitos polilobados.
- **Basófilos:** Quando activados libertam substâncias como a histamina, que produzem a resposta inflamatória. São granulócitos com núcleo volumoso, constituem cerca de 2% dos leucócitos. Reduzem a acção inflamatório pela libertação de enzimas que degradam as substâncias químicas produzidas pelos basófilos.
- **Eosinófilos:** São granulócitos, bilobados e constituem 2% dos leucócitos. Têm actividade fagocítica limitada, principalmente dirigida a parasitas.
- **Monócitos:** Circulam no sangue durante poucas horas e depois migram para os tecidos, aumentam de tamanho e **tornam-se macrófagos**. São muito eficientes em fagocitose e vivem muito tempo. São agranulócitos com núcleo bilobado e constituem 2% dos leucócitos.
- **Linfócitos:** 30 % dos leucócitos, são B ou T, consoante produzidos na medula vermelha dos ossos e ou no timo. Constituem a defesa específica. São agranulócitos com núcleo esférico e volumoso.

### Defesa Não Específica:

- **Barreiras físicas e secreções:** pele, membranas mucosas, secreções de glândulas sebáceas e sudoríparas, lisozima presente na saliva e nas lágrimas, ácido clorídrico presente no estômago, muco ciliado das vias respiratórias.
- **Mediadores químicos:** histamina (produzidas pelos basófilos no sangue e pelos mastócitos no tecido conjuntivo, **estimula a vasodilatação e aumenta a permeabilidade dos capilares sanguíneos**, iniciando a reacção inflamatória), sistema de complemento (grupo de proteínas que circulam no sangue de forma inactiva, que pode ser activado e atrair fagócitos e abrir poros na membrana citoplasmática das células invasoras, facilitando a sua lise), Interferão (conjunto de proteínas anti-virais segregadas por células infectadas por vírus que embora não as

proteja directamente, difunde-se para as células vizinhas e estimula-as a produzir substâncias que inibem a replicação do vírus)

- **Fagócitos:** neutrófilos e macrófagos
- **Células NK (natural Killers):** causam a ruptura da membrana citoplasmática e a lise das células.

### **Reacção inflamatória:**

Envolve mediadores químicos e fagócitos.

Os agentes patogénicos e/ou as células dos tecidos lesados libertam substâncias químicas, principalmente histamina e prostaglandinas. Essas substâncias químicas causam a **vasodilatação** e o **aumento da permeabilidade dos capilares** sanguíneos da zona afectada e aumenta o fluxo sanguíneo no local e uma maior quantidade de fluido intersticial passa para os tecidos envolventes. A zona atingida apresenta **rubor, calor e edema**. A dor é causada pela acção de substâncias químicas nas terminações nervosas locais e pela distensão dos tecidos.

Os **neutrófilos e monócitos são atraídos por quimiotaxia**, deixando os vasos sanguíneos por **diapedese** e dirigindo-se aos tecidos afectados. Os primeiros a chegar são os neutrófilos e depois os monócitos, que se diferenciam em macrófagos.

Os macrófagos fagocitam os agentes patogénicos e os seus produtos, bem como os neutrófilos destruídos e as células danificadas. O pús que se acumula no local é formado por microrganismos e fagócitos mortos e por proteínas e fluidos que saíram dos vasos sanguíneos.

Quando os agentes patogénicos são muito agressivos, desenvolve-se uma **reacção inflamatória sistémica**, acompanhada de:

- **Febre** - desencadeada por agentes pirógenos produzidos pelos leucócitos ou por toxinas produzidas pelos agentes patogénicos. Estas substâncias actuam sobre o hipotálamo e regulam a temperatura corporal. Uma febre moderada favorece a fagocitose, a reparação dos tecidos lesados, inibe a multiplicação de alguns microrganismos e acelera as reacções do organismo;
- **Aumento do número de leucócitos** em circulação devido à estimulação da medula óssea por substâncias químicas produzidas pelas células lesadas.

### **Defesa Específica ou Imunidade Adquirida:**

Ao contrário do que acontece com a defesa não específica, a específica tem uma resposta do organismo ao agente invasor melhor a cada novo contacto, pois verifica-se especificidade e memória.

As substâncias que desencadeiam uma resposta específica são os antigénios. Um antigénio possui várias regiões capazes de serem reconhecidas pelas células do sistema anfitrião, cada uma dessas regiões é **um determinante antigénico** ou **epítipo**.

As principais células que intervêm na defesa específica são **os linfócitos B** (imunidade humoral) e **os linfócitos T** (imunidade celular). Ambos se formam a partir da medula vermelha dos ossos, mas as **células precursoras dos linfócitos T migram para o Timo**, onde completam a maturação, enquanto que dos **linfócitos B sofrem maturação na medula óssea**. Durante a maturação, os linfócitos B e T adquirem receptores superficiais e variados, passando a reconhecer vários antígenos e tornando-se células imunocompetentes. O conjunto de linfócitos com receptores para um determinado antígeno chama-se **clone**.

Os linfócitos que durante o processo de maturação adquirem capacidade de reconhecer antígenos do próprio organismo são destruídos ou inativados.

Os linfócitos maduros passam para a circulação sanguínea e linfática e encontram-se em grande quantidade nos órgãos do sistema linfático como o baço e os gânglios.

### **Imunidade humoral:**

Mediada por anticorpos que circulam no sangue após o reconhecimento do antígeno pelos **linfócitos B**.

1. Um macrófago fagocita um determinado antígeno e processa-o (os fragmentos passam pelo complexo de Golgi). Uma porção do antígeno – determinante antigénico – liga-se a uma proteína do MHC e apresenta-se à superfície do macrófago.
2. O determinante antigénico é reconhecido pelo clone os linfócitos B que possui os receptores específicos e por linfócitos T auxiliares
3. O clone de linfócitos B é activado e multiplica-se
4. Uma parte das células do clone activado diferencia-se em plasmócitos e outra parte em linfócitos B de memória. Os **plasmócitos** são as células **produtoras de anticorpos** que são libertados no sangue e na linfa. Os linfócitos B de memória são células que ficam no sangue por longos períodos de tempo e respondem rapidamente num segundo contacto com o antígeno.
5. Os anticorpos interagem com o antígeno, levando à sua destruição
6. Após a destruição, os plasmócitos morrem e os anticorpos são degradados, enquanto que as células de memória permanecem no sangue durante muitos anos e desencadeiam uma resposta imunitária secundária.

### **Estrutura de um anticorpo:**

Pertencem a um grupo de proteínas chamado **imunoglobulinas** - são moléculas em forma de Y, com 4 cadeias polipeptídicas, duas pesadas e duas leves, que possuem uma região constante e outra variável. Na região variável liga-se o antígeno.

Um mesmo antígeno pode ligar-se a vários anti-corpos.

### **Imunidade celular:**

É mediada pelos **linfócitos T** e é particularmente efectiva na defesa do organismo contra **agentes patogénicos intracelulares**, destruindo as células infectadas e contra células cancerosas. É também responsável pela rejeição de excertos ou transplantes.

1. Células que apresentam na sua superfície determinantes antigénicos estranhos ligados a proteínas do MHC são reconhecidas por linfócitos T auxiliares. As células apresentadoras podem ser macrófagos que fagocitaram e processaram agentes patogénicos, células cancerosas ou de outro organismo.
2. O clone de linfócitos T auxiliar que reconhece o complexo antigénio-MHC divide-se e diferencia-se em linfócitos T citotóxicos (que também libertam substâncias que estimulam a fagocitose, a produção de interferão e a produção de anti-corpos pelos linfócitos B) e linfócitos T de memória.
3. Os linfócitos T ligam-se às células estranhas ou infectadas e libertam perforina – proteína que forma poros na membrana citoplasmática, provocando a lise celular
4. Os linfócitos T de memória desencadeiam uma resposta mais rápida e vigorosa num segundo contacto com o mesmo antigénio

### **Memória imunitária e imunidade artificial:**

**Resposta imunitária primária:** primeiro contacto com o antigénio origina activação de linfócitos B e T que se diferenciam em células efectoras e de memória

**Resposta imunitária secundária:** devido à presença de células de memória, o segundo contacto com o mesmo antigénio desencadeia uma resposta imunitária mais intensa, rápida e prolongada.

**Vacina:** solução preparada com antígenos tornados inofensivos, como microrganismos mortos ou atenuados ou toxinas inactivas. A vacina desencadeia no organismo uma resposta imunitária primária e formam-se células de memória.

**Imunidade activa:** O sistema imunitário do indivíduo responde ao antigénio e produz células efectoras e de memória.

Pode ser:

- Natural: o indivíduo é naturalmente exposto ao antigénio
- Artificial: vacinação

**Imunidade passiva:** O sistema imunitário do indivíduo não responde ao antigénio, são transferidos anticorpos produzidos por outra pessoa ou animal.

Pode ser:

- Natural: anticorpos transferidos da mãe para o feto
- Artificial: soro com anticorpos

### Desequilíbrios e doenças:

- **Imunodeficiência inata:** Falta de linfócitos B e T. A imunodeficiência grave combinada caracteriza-se pela ausência de linfócitos B e T, os doentes são extremamente vulneráveis e têm de estar em ambientes completamente estéreis – tratamento: transplante de medula óssea.
- **Imunodeficiência adquirida:** SIDA – o HIV infecta principalmente linfócitos T, embora também B e as outras células do sistema imunitário. A diminuição progressiva dos linfócitos T deixa o organismo susceptível a doenças oportunistas e a cancro. Existem drogas que inibem a transcriptase reversa e da ligação do vírus às células hospedeiras.
- **Alergias:** são reacções de hipersensibilidade a certos antigénios – alergénios. Num primeiro contacto os linfócitos B diferenciam-se em plasmócitos que produzem anticorpos específicos IgE. Estes ligam-se a mastócitos e basófilos. Num segundo contacto, o antigénio liga-se aos anticorpos IgE em mastócitos e basófilos e estimula-os a libertar grandes quantidades de histamina. Surge uma reacção inflamatória intensa.
- **Doenças autoimunes:** Reacção de hipersensibilidade do sistema imunitário contra antigénios do próprio organismo: esclerose múltipla (linfócitos T destroem a mielina dos neurónios), artrite reumatóide (destruição das cartilagens), diabetes insulínica (destruição de células do pâncreas).

### Biotecnologia: importância dos anti-corpos

**Anti-corpos policlonais:** resultam da estimulação de **vários clones de linfócitos B** em resposta a um determinado antigénio e apresentam especificidade para cada um dos determinantes antigénicos desse antigénio.

**Anti-corpos monoclonais:** são obtidos a partir da estimulação de **um único clone de linfócitos B** e são todos iguais e específicos só para um determinado agente antigénico. São produzidos em grande quantidade em laboratório:

Linfócitos B activado isolado a partir do baço de um animal inoculado com um antigénio+Mieloma(célula tumoral do sistema imunitário) = **Hibridoma** = Isolamento dos anticorpos monoclonais.

Os hibridomas conjugam as seguintes características:

- Produzem grandes quantidades de anti-corpos específicos para um único determinante antigénico
- Dividem-se activamente, dando origem a um grande número de células.

As aplicações dos anti-corpos monoclonais são:

- Diagnóstico de doenças ou condições clínicas: testes de gravidez
- Imunização passiva: preparação de soros
- Tratamento de cancro: marcadores tumorais que fazem com que as radiações destruam só as células cancerosas
- Enxertos e transplantes: permitem verificar a compatibilidade dos tecidos
- Antídotos para venenos e drogas

#### **Bioconversão:**

Transformação de um determinado composto noutra estruturalmente relacionado e com valor comercial, por células ou microrganismos.

Antibióticos (produzidos por certo tipo de fungos como *Penicillium*), Esteróides (contraceptivos, anti-inflamatórios, são produzidos por certos tipos de fungos e bactérias), Vitaminas, Vacinas, Proteínas.

## **Tema 4 - Produção de Alimentos e Sustentabilidade**

### **Microrganismos e indústria alimentar:**

#### **Fermentação:**

Processo anaeróbio realizado por certas espécies de **bactérias e leveduras**, durante o qual moléculas orgânicas são utilizadas na produção de ATP. Os produtos finais da fermentação dependem da molécula orgânica que é produzida a partir do ácido pirúvico.

#### **Etapas da fermentação:**

1. **Glicólise:** A glicose é oxidada e formam-se duas moléculas de ácido pirúvico. O agente oxidante é o  $\text{NAD}^+$  que é transformado em NADH. Formam-se duas moléculas de ATP.
2. **Redução do ácido pirúvico:** o ácido pirúvico ou moléculas orgânicas que se formam a partir dele são aceptores de electrões de NADH, o que permite regenerar  $\text{NAD}^+$ , que pode ser usado novamente na glicólise.

**Fermentação alcoólica - Realizada por leveduras - ácido pirúvico é convertido em  $\text{CO}_2$  e etanol:**

1. **Pão:** Levedura *Sacharomices cerevisiae* é o fermento de padeiro. O amido é hidrolisado em açúcares simples e posteriormente transformado em  $\text{CO}_2$  (produto desejado que faz crescer a massa e dá textura porosa) e etanol (evaporado).
2. **Vinho:** Levedura *Sacharomices cerevisiae* existe nas cascas das uvas. O vinho ferve e o  $\text{CO}_2$  é libertado e aumenta a concentração de etanol

(produto desejado). O etanol torna-se tóxico para as leveduras quando atinge cerca de 12% e a fermentação termina.

3. **Cerveja:** Levedura *Sacharomices cerevisiae* e malte. Leveduras convertem os cereais em CO<sub>2</sub> e ácido acético.

### **Fermentação láctica - Realizada por bactérias- ácido pirúvico é directamente convertido em ácido láctico**

1. **Queijo** - diferentes tipos de bactérias produzem diferentes tipos de queijos. O aumento da acidez provoca a coagulação do leite.
2. **Iogurte:** cultura mista
3. Outros produtos lácticos fermentados

### **Fermentação acética - é na verdade uma oxidação realizada por bactérias**

1. **Vinagre:** pode ser de vinho, cereais ou fruta. Dá-se a fermentação do açúcar a etanol. O etanol é oxidado a ácido acético.

### **Actividade enzimática:**

As enzimas são biocatalizadores que intervêm no mecanismo celular:

1. aumentam a velocidade das reacções químicas, porque diminuem a sua energia de activação
2. não são consumidas nas reacções químicas que catalizam
3. são moléculas proteicas, com conformação tridimensional
4. Algumas necessitam de elementos não proteicos para a sua acção catalítica (cofactores que podem ser iões ou moléculas orgânicas - coenzimas - unem-se à apoenzima e formam a holoenzima)
5. A sua actividade é influenciada pelo pH, a temperatura, concentração do substrato e a presença de outras substâncias (inibidores irreversíveis, reversíveis competitivos ou reversíveis não competitivos)

### **Vias metabólicas:**

Vias metabólicas são sequências ordenadas de reacções químicas catalisadas por enzimas, nas quais o produto de uma reacção química funciona como substrato da outra, até à obtenção do produto final. O conjunto de enzimas que catalisa uma via metabólica é o **complexo multienzimático ou cadeia enzimática**.

Frequentemente é o produto final de uma via metabólica que quando se acumula em excesso inibe a primeira enzima por ligação ao centro alostérico.

Uma via metabólica é controlada por retroalimentação negativa, o que permite à célula poupar recursos.

## **Conservação, melhoramento e produção de novos alimentos:**

A **água no alimento** constitui um dos factores que mais influencia a actividade microbiana, pois todos os microrganismos requerem humidade para o seu desenvolvimento.

Se as condições favoráveis se estabelecerem para todos, as bactérias têm um crescimento mais rápido, seguindo-se as leveduras e depois fungos. É frequente um organismo criar condições para que actue o outro, mecanismo chamado de metabiose.

### **Processos de conservação de alimentos:**

#### **1. Remoção de microorganismos por:**

- a. **Lavagem** – frutos e vegetais
- b. **Filtração esterilizante** – sumos de fruta, cerveja, vinho e água

#### **2. Calor:**

- a. **Pasteurização** – com temperaturas inferiores a 100°C, não destrói esporos, nem células mais resistentes. Leites, iogurtes, natas, queijos frescos, sumos de fruta
- b. **Tratamento UHT** – aquecimento a 130°C. Destrói os microrganismos. Leite.
- c. **Esterilização (enlatados)** – destrói microrganismos e enzimas. Vegetais, cogumelos, frutos, peixe

#### **3. Frio**

- a. **Refrigeração** – reduz crescimento. Fiambre, carne, peixe, queijos frescos
- b. **Congelação** – inibe o crescimento dos microrganismos, mas continuam a ocorrer reacções de autólise no alimento. Peixe, marisco, carne, alimentos pré-cozinhados

#### **4. Redução de água**

- a. **Secagem ao sol**
- b. **Evaporação** – água parcialmente removida por fervura. Sumos concentrados, leite.
- c. **Desidratação** – remoção da maior parte da água por evaporação. Vegetais, ovos, frutos.
- d. **Liofilização** – sublimação de água. Sopas de pacote, café.

#### **5. Efeitos osmóticos**

- a. Salga
- b. Adição de açúcar

#### **6. Modificação da atmosfera**

- a. Embalagem no vácuo
- b. Conservação em embalagem de atmosfera modificada

#### **7. Irradiação**

- a. Lâmpadas UV – batatas, cebolas, frutos secos, especiarias

#### **8. Acidez**

- a. Fermentação
- b. Conserva em vinagre

## 9. Fumagem e aditivos alimentares

### Aditivos alimentares:

Dose diária admissível em mg/kg peso corporal, é a dose diária que pode ser ingerida durante toda a vida e que não tem riscos, face aos conhecimentos actuais.

- a. Aditivos com acção conservante**
  - a. Conservantes – inibem ou reduzem a actividade dos organismos e as reacções de autólise do próprio alimento
  - b. Antioxidantes – retardam a oxidação, previnem o aparecimento de ranço e o escurecimento da fruta
- b. Aditivos com função sensorial**
  - a. Corantes
  - b. Intensificadores de sabor
  - c. Espessantes – melhoram a consistência
  - d. Aromatizantes
- c. Aditivos que facilitam operações industriais e de fabrico**
  - a. Estabilizadores e emulsionantes – permitem a manutenção do estado físico dos alimentos e facilitam a mistura de ingredientes.

### Melhoramento e produção de novos alimentos:

A Biotecnologia aplicada à indústria alimentar permite melhorar e produzir novos alimentos através das seguintes acções:

- 1. Optimização das condições em que ocorrem as fermentações:**

Seleccionam-se estirpes de organismos fermentativos e criam-se condições como a temperatura, o pH e a composição atmosférica, que tornam possível obter produtos fermentados de melhor qualidade, em maior quantidade e variedade.
- 2. Utilização de microrganismos para a produção de substâncias usadas na modificação de alimentos ou como aditivos alimentares:**

A cultura de microrganismos em fermentadores para produzir aditivos alimentares, as enzimas microbianas utilizadas no processamento e transformação de alimentos, a imobilização de enzimas que facilita o isolamento dos produtos e utilizar as enzimas em melhor controlo.
- 3. Produção de alimentos transgénicos:**

Arroz com maior valor nutritivo, tomate que não amolece enquanto amadurece. São alimentos que ajudam a controlar a fome no mundo, mas são alvo de polémica em termos de efeitos no equilíbrio dos ecossistemas e na saúde humana.

## **Exploração das capacidades da biosfera:**

### Consequências da Monocultura:

1. Produção de alimentos em grande quantidade
2. Desflorestação
3. Degradação do solo e desertificação
4. Falta de biodiversidade aumenta doenças e pragas
5. Excesso de adubos polui o solo e a água
6. Volumes de água utilizados muito elevados
7. Consumo de grandes quantidades de energia fóssil

### **Reprodução Selectiva:**

Seleção artificial para obter variedades de animais e plantas com características vantajosas. Exemplo: sémen de macho com características vantajosas pode ser usado para inseminar artificialmente muitas fêmeas. Permite obter produtos com melhor qualidade, melhora as capacidades de reprodução, origina descendentes mais resistentes a pragas e doenças. Mas é um processo lento, só permite combinar indivíduos da mesma espécie, as variedades obtidas ficam mais susceptíveis a doenças ou pragas.

### **Propagação vegetativa:**

Obtenção de clones de plantas com características desejadas, por reprodução assexuada. As plantas possuem uma grande capacidade de regeneração porque as células vegetais sofrem desdiferenciação e manifestam **totipotência** com facilidade. É feita por propagação por estaca, mergulhia, enxertia.

### **Cultura de Tecidos e Micropropagação vegetal:**

É uma extensão dos métodos tradicionais de propagação vegetativa.

A clonagem de plantas com características desejáveis é feita numa cultura in vitro de tecidos vegetais em meio adequado e condições assépticas e na presença de reguladores de crescimento que induzem a manifestação de totipotência das células.

Um pequeno fragmento de planta, o explante, é colocado num meio que favorece a desdiferenciação e a formação de tecido caloso.

O **tecido caloso é muito heterogéneo** e formado por uma massa de células em proliferação.

As células do tecido caloso podem ser induzida por:

1. **Embriogénese somática** – produção de estruturas semelhantes a embriões a partir de células somáticas.
2. **Organogénese** – formação de estruturas caulinares ou radiculares a partir do tecido caloso.

### **Cultura de Protoplastos:**

Os protoplastos são células vegetais **cujas paredes celulares foram removidas** por processos mecânicos ou enzimáticos.

São aplicados em:

- Cultivados in vitro e regenerar plantas completas

- Utilizados na transformação genética de plantas, já que a ausência de parede celular torna mais fácil a introdução de DNA estranho
- Utilizados na obtenção de plantas híbridas por fusão em cultura

### **Criação e clonagem de animais:**

Conseguida através de fertilização in vitro com transferência de embriões. As primeiras células que originam do zigoto são totipotentes e podem ser separadas e cultivadas em meio de cultura apropriado, sendo cada uma um embrião que é implantado no útero de uma fêmea.

Origina uma perda de variabilidade genética, com menor adaptação da espécie às alterações do meio ambiente.

- Problemas para a saúde humana:
  - Uso de antibióticos, de hormonas farinhas de origem animal (BSE).

### **Organismos transgênicos:**

Através da tecnologia do DNA recombinante é possível manipular o genoma de plantas e animais.

### **Controlo de Pragas:**

Uma praga é a abundância de indivíduos de uma espécie indesejável. As pragas disseminam doenças, competem pelo alimento, invadem os campos de cultura, etc.

Um **agente biocida ou pesticida** é um produto químico utilizado no controlo de pragas. Herbicidas, fungicidas, insecticidas.

**Espectro de acção de um pesticida:** quantidade de espécies para as quais é tóxico.

**Persistência de um pesticida:** intervalo de tempo que permanece activo.

### **A utilização de pesticidas leva a :**

- Desenvolvimento de variedades resistentes ( o desenvolvimento destas variedades é tão mais rápido quanto mais curto for o ciclo reprodutor)
- Desequilíbrios nos ecossistemas por causa de afectar outros organismos, por vezes predadores naturais das pragas
- Origina bioacumulação em tecidos ou órgãos numa concentração mais elevada do que seria de esperar
- Origina bioampliação por aumentar a concentração do pesticida de nível trófico para nível trófico, ao longo das cadeias alimentares

## Métodos alternativos no controlo de pragas:

1. **Práticas de cultura alternativas:**
  - a. Rotação de culturas
  - b. Plantação de sebes em redor das culturas, criando habitats para os inimigos naturais das pragas
  - c. Cultivo de espécies em locais onde não existem pragas
  - d. Ajuste dos ciclos de cultura de forma a fazer coincidir a altura de maior produção com a fase do ciclo de vida da praga em que é menos activa
  - e. Culturas marginais, que desviam as pragas
2. **Controlo Biológico:** Regulação das populações de pragas pelos seus inimigos naturais – é complexo e demorado, pode entrar em descontrolo e originar pragas
3. **Esterilização de insectos:** esterilizam-se machos que depois se misturam na praga, não havendo descendência. É lento, dispendioso, tem de ser aplicado continuamente.
4. **Ferormonas:** Substâncias produzidas pelos animais em época de acasalamento são colocadas em armadilhas. Tem acção específica, é dispendioso, demorado.
5. **Hormonas de mudas e juvenis:** Controlam o desenvolvimento e a reprodução dos insectos em várias fases, se se aplicarem hormonas sintéticas que interfiram com estas impede-se o ciclo de vida do insecto
6. **Biopesticidas:** Alguns microrganismos produzem toxinas específicas e biodegradáveis que podem ser usadas como pesticidas biológicos. É o caso da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* que produzem toxinas Bt.
7. **Engenharia genética:** Tecnologia do DNA recombinante pode ser usada para introduzir genes nas plantas que codificam a produção de toxinas ou substâncias com acção pesticida. Apesar de aumentar a produtividade das culturas e reduzir o impacto ambiental do uso de pesticidas, introduz desequilíbrios nos ecossistemas.
8. **Luta integrada:** Não tem como objectivo a erradicação das pragas, mas a sua redução e manutenção em níveis aceitáveis, através de programas de controlo integrado de pragas, que reconhecem e avaliam o sistema ecológico, as pragas que existem, os inimigos naturais e associam diferentes métodos para aumentar a produtividade das culturas reduzindo os riscos ambientais.

## Tema 5 - Reservar e Recuperar o Ambiente

### Poluição:

#### Factores de toxicidade:

1. **Dose:** é a quantidade de substância ingerida, inalada ou absorvida através da pele.
  - a. **Dose Letal** é a que causa a morte de um organismo. No caso humano depende de vários factores, o sexo, a idade, o estado de saúde.
  - b. **Dose Letal média:** LD50 é a concentração de uma substância que provoca a morte de 50% de uma população em 14 dias. Um veneno é uma substância cuja LD50 é menor ou igual que 50mg/kg de peso corporal.
2. **Solubilidade:** Substâncias tóxicas dissolvidas na água são mais facilmente absorvidas, mas mais fáceis de eliminar do que as substâncias dissolvidas em lípidos.
3. **Persistência:** As substâncias tóxicas persistentes têm efeitos mais prolongados.
4. **Bioacumulação**
5. **Bioampliação**
6. **Interação com outras substâncias:**
  - a. **Sinergismo:** interacção multiplica o efeito da substância
  - b. **Antagonismo:** interacção diminui o efeito da substância

Efeito agudo: reacção rápida e imediata, pode ir de uma erupção cutânea á morte

Efeito crónico: permanente ou duradouro, com lesões renais ou hepáticas

#### Tipos de Agentes Tóxicos:

1. **Mutagénico:** radiações ionizantes, raios X
2. **Teratogénico:** defeitos no embrião - metais pesados como chumbo e arsénio, polifenóis biclorados
3. **Cancerígeno:** indução de alterações do DNA
4. **Alergénico:** veneno de insectos
5. **Asfixiante:** impede captação de oxigénio - monóxido de carbono
6. **Neurotóxico:** afecta sistema nervoso - DDT, chumbo, mercúrio
7. **Irritante:** irrita a pele - detergentes

Estudo epidemiológico: compara a saúde de um grupo de indivíduos expostos a um agente tóxico com outro grupo de controlo, o mais semelhante possível ao primeiro.

Muitas substâncias têm efeitos insignificantes sobre a saúde em baixas concentrações e acentuados para concentrações elevadas. Isto deve-se a facto de

organismo ter mecanismos de destruição, diluição e excreção de substâncias; as células terem enzimas que reparam o DNA; as células de algumas regiões do organismo, como a pele, os revestimentos do sistema digestivo, multiplicam-se a velocidade elevada.

### **Poluição atmosférica:**

Troposfera: camada mais baixa de atmosfera e mais densa.

Estratosfera: sobrepõe-se à troposfera, é mais rarefeita e contém maior concentração de ozono.

**Poluentes primários**: emitidos directamente para a troposfera

**Poluentes secundários**: resultam da reacção dos poluentes primários com o ar, formando novos componentes – exemplo: **ozono troposférico com efeitos nocivos no sistema respiratório**

### **Chuvas ácidas:**

**Dióxido de enxofre SO<sub>2</sub> e óxidos de azoto NO** produzidos pela queima de combustíveis fósseis em centrais termoeléctricas, a indústria e os transportes rodoviários reagem com o vapor de água atmosférico e originam ácido sulfúrico e ácido nítrico. Destroem as florestas, desequilibram os ecossistemas, fazem aumentar as doenças respiratórias, libertam metais pesados das canalizações para a água de consumo público, degradam monumentos.

### **Efeito de Estufa:**

Os principais responsáveis pelo efeito de estufa são **o CO<sub>2</sub> e o vapor de água**.

CO<sub>2</sub> com origem na queima de produtos fósseis, queima de florestas para obter terrenos agrícolas, metano CH<sub>4</sub> originado pelas plantações de arroz e na pecuária, óxido nitroso N<sub>2</sub>O originado dos combustíveis fósseis, fertilizantes químicos e pecuária e os Clorofluorcarbonetos CFC utilizados nos propulsores dos aerossóis e em gases de refrigeração.

O aumento destes gases origina o **aquecimento global do planeta** – aumento do nível das águas, alterações climáticas, fenómenos extremos como secas, inundações, alterações dos ecossistemas.

### **Rarefação do ozono estratosférico:**

Libertação de CFC para a atmosfera é o principal factor. Os CFC são compostos estáveis com C, F e Cl. Na estratosfera, o efeito das radiações UV torna-os instáveis e faz com que reajam como ozono O<sub>3</sub>, **transformando-o em O<sub>2</sub> e O**, de uma maneira cíclica. Cada molécula de CFC pode permanecer na estratosfera por dezenas de anos.

A redução do ozono estratosférico aumenta a incidência dos raios UV na terra, aumentando as queimaduras solares, as cataratas, os cancros, os problemas de sistema imunitário.

## **Poluição aquática:**

Fontes localizadas: indústria, ETAR

Fontes dispersas: cidades, zonas agrícolas

**Cursos de água superficiais:** conseguem recuperar com alguma facilidade da poluição causada por substâncias biodegradáveis devido à diluição e decomposição bacteriana.

**Lagos e albufeiras:** ficam **eutrofizados** com excesso de nutrientes. A eutrofização pode ser cultural (resultante de actividades humanas como aplicação de nitratos e fosfatos em zonas agrícolas, efluentes das ETAR) ou natural. A falta de oxigénio resultante da actividade das bactérias aeróbias provoca a morte dos organismos.

**Águas subterrâneas:** recuperam muito dificilmente, pois o seu fluxo é muito lento. A sua contaminação é muito grave em saúde pública.

**Oceanos:** não têm capacidade infinita, certos poluentes sofrem bioacumulação e bioampliação.

**Carência Bioquímica em Oxigénio (CBO):** é a quantidade de oxigénio dissolvido necessária aos decompositores aeróbios para decompor os materiais orgânico num certo volume de água. Normalmente é aos 5 dias e a 20°C.

É um indicador da quantidade de matéria orgânica biodegradável presente na água. Quanto maior a CBO, maior é a concentração em matéria orgânica.

**Contagem de bactérias coliformes fecais:** é o número de colónias de Escheria coli existentes num dado volume de água. A água de consumo humano não pode ter bactérias fecais. As águas balneares são classificadas de acordo com os níveis destas bactérias.

## **Tratamento de resíduos:**

### **Resíduos Sólidos Urbanos:**

- 1. Aterros Sanitários:** Onde são depositados resíduos sólidos compactados abaixo da superfície do terreno. Os aterros devem ser construídos em locais com características geológicas adequadas e revestidos com materiais impermeáveis. Os gases produzidos pelas bactérias (biogás) podem ser usados na obtenção de energia. **Podem contaminar águas residuais**, apesar de serem de construção rápida, grande capacidade e baixos custos de manutenção.
- 2. Incineração:** combustão de resíduos a altas temperaturas. Reduzem o volume de lixos e requerem pouco espaço, mas aumenta a poluição atmosférica e são caros.
- 3. Reciclagem:** Recolha e processamento de resíduos. Os produtos podem ser do mesmo tipo ou convertidos em outros. Permite poupar materiais e energia, reduzir os resíduos, proteger os ecossistemas.

4. **Compostagem:** Decomposição em condições adequadas de resíduos orgânicos por bactérias anaeróbias. Obtém-se um produto estável, chamado composto e pode ser usado no melhoramento de solos.

### Águas residuais:

#### ETAR:

1. **Tratamento primário:** processo mecânico que remove materiais sólidos de grande dimensão e outros em suspensão por filtração e decantação
2. **Tratamento secundário:** processo biológico em que as bactérias aeróbias e anaeróbias eliminam 90% da matéria orgânica dissolvida. As bactérias decompositoras podem ser incluídas em **lamas activadas** que podem ser misturadas com as águas resultantes do tratamento primário e originar os **tanques de percolação**.
3. **Tratamento terciário:** tratamento físico ou químico para remover poluentes específicos. Nem sempre é usado por ser muito caro.

Antes de ser devolvida ao ambiente a água é desinfectada com cloro ou radiações UV para matar os microrganismos. As **lamas são sujeitas a compostagem** e podem ser usadas como fertilizante. O biogás produzido pelas bactérias anaeróbias durante o tratamento secundário ou a compostagem de lamas, pode ser usado para obter energia.

### Crescimento da população humana e sustentabilidade:

Existe um crescimento exponencial da população humana associado ao consumo massivo de recursos do planeta. Globalmente, existe uma diminuição da taxa de mortalidade maior do que da taxa de natalidade.

Os países em vias de desenvolvimento apresentam pirâmides etárias com bases largas e contribuíram para o crescimento das populações durante o século XXI. Os países desenvolvidos apresentam base estreita, população envelhecida, problemas futuros de trabalho, de encargos sociais.

A emigração de pessoas dos países em vias de desenvolvimento para os países desenvolvidos poderá ajudar a resolver os problemas.

Uma **sociedade sustentável** é aquela que é *capaz de assegurar a satisfação das necessidades básicas da população sem comprometer a satisfação das populações futuras*.

O seu desenvolvimento prende-se com a utilização dos recursos renováveis a uma taxa inferior à sua reposição na natureza, uma utilização mais eficiente dos recursos renováveis, prevenção da poluição, protecção das espécies e dos seus habitats, estabilização da população.