Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão



PROCESSOS CELULARES E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

EDITORA CONHECIMENTO LIVRE

Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão

PROCESSOS CELULARES E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

1ª ed.

Goiânia-GO
Editora Conhecimento Livre

Copyright© 2026 por Editora Conhecimento Livre

1ª ed.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Castilho, Pamella Fukuda de
C352P PROCESSOS CELULARES E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

/ Pamella Fukuda de Castilho. Cleison da Rocha Leite. João Andrade. Fernanda Galvão. – Goiânia-GO

Editora Conhecimento Livre, 2026

86 f.: il
DOI: 10.37423/2026.edcl1386
ISBN: 978-65-5367-818-7
Modo de acesso: World Wide Web
Incluir Bibliografia

1. biologia-molecular 2. fisiologia-celular 3. biotecnologia 4. medicina-regenerativa 5. terapias-celulares I. Castilho, Pamella Fukuda de II. Leite, Cleison da Rocha III. Andrade, João IV. Galvão, Fernanda V. Título

CDU: 570

https://doi.org/10.37423/2026.edcl1386

O conteúdo dos artigos e sua correção ortográfica são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

EDITORA CONHECIMENTO LIVRE

Conselho Editorial

MSc Edson Ribeiro de Britto de Almeida Junior

MSc Humberto Costa

MSc Thays Merçon

MSc Adalberto Zorzo

MSc Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno

PHD Willian Douglas Guilherme

MSc Andrea Carla Agnes e Silva Pinto

Dr. Walmir Fernandes Pereira

MSc Edisio Alves de Aguiar Junior

MSc Rodrigo Sanchotene Silva

MSc Adriano Pereira da Silva

MSc Guilherme Fernando Ribeiro

MSc Fabricio Vieira Cavalcante

PHD Marcus Fernando da Silva Praxedes

MSc Simone Buchignani Maigret

Dr. Adilson Tadeu Basquerote

Dra. Thays Zigante Furlan

MSc Camila Concato

PHD Miguel Adriano Inácio

Dra. Anelisa Mota Gregoleti

PHD Jesus Rodrigues Lemos

MSc Karine Moreira Gomes Sales

Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares

MSc Pedro Panhoca da Silva

MSc Helton Rangel Coutinho Junior

MSc Carlos Augusto Zilli

MSc Euvaldo de Sousa Costa Junior

Dra. Suely Lopes de Azevedo

Dr. Francisco Odecio Sales

MSc Ezequiel Martins Ferreira

MSc Eliane Avelina de Azevedo Sampaio

MSc Carlos Eduardo De Oliveira Gontijo

Dr. Rodrigo Couto Santos

Dra. Milena Gaion Malosso

PHD Marcos Pereira Dos Santos

Editora Conhecimento Livre
Goiânia-GO
2026

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta obra resulta da integração de conhecimentos de biologia celular, bioquímica, biologia molecular, microbiologia e biotecnologia aplicada à saúde. Registramos nosso reconhecimento à comunidade científica cujas contribuições experimentais, conceituais e clínicas fundamentam os temas discutidos ao longo dos capítulos.

Agradecemos aos professores, pesquisadores, estudantes e profissionais que participam da produção, do ensino e da aplicação desses conhecimentos. A formação científica depende do diálogo entre diferentes áreas, da análise crítica das evidências e do compromisso com a atualização contínua dos conceitos e métodos utilizados em pesquisa e saúde.

Agradecemos também às instituições de ensino e pesquisa que mantêm ambientes de formação, investigação e colaboração. Esta obra é destinada aos leitores interessados em compreender os processos celulares e as ferramentas biotecnológicas que sustentam a investigação experimental, o diagnóstico e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

APRESENTAÇÃO

A biotecnologia celular aplicada à saúde reúne conhecimentos sobre organização, funcionamento e manipulação das células com métodos capazes de investigar moléculas, estruturas e processos biológicos. Essa integração é necessária para compreender tanto os mecanismos celulares normais quanto as alterações associadas a doenças, infecções e intervenções terapêuticas.

A obra foi organizada em uma sequência progressiva. Os quatro primeiros capítulos apresentam os fundamentos necessários para compreender a célula: origem e evolução, composição química, atividade enzimática e bioenergética. O quinto capítulo aborda o ciclo celular e os mecanismos que regulam replicação, segregação cromossômica e divisão. O sexto capítulo discute células-tronco, regeneração e reprogramação celular, relacionando esses processos à manutenção dos tecidos e à modelagem experimental.

Os capítulos seguintes concentram-se nas ferramentas de investigação. A microscopia permite analisar organização estrutural, localização e dinâmica celular, enquanto as técnicas moleculares permitem detectar, quantificar e caracterizar ácidos nucleicos, proteínas e outros componentes celulares. Essas abordagens fornecem a base metodológica para estudar fenômenos complexos em diferentes escalas.

Os dois capítulos finais apresentam aplicações diretamente relacionadas à saúde. A biologia celular da infecção discute a interação entre patógenos e células hospedeiras, incluindo adesão, invasão, manipulação de organelas, resposta celular e resistência antimicrobiana. O capítulo de terapias celulares aborda produtos celulares, transplantes, células geneticamente modificadas, controle de qualidade, segurança e desafios de aplicação clínica. Em conjunto, os capítulos procuram relacionar mecanismos celulares, métodos experimentais e aplicações biotecnológicas de maneira técnica e integrada.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 9
A CÉLULA EM PERSPECTIVA EVOLUTIVA: ORIGEM, DIVERSIDADE E COMPLEXIDADE BIOLÓGICA
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
DOI 10.37423/261011471

CAPÍTULO 2 16
ARQUITETURA MOLECULAR DA VIDA: COMPONENTES E INTERAÇÕES NO AMBIENTE CELULAR
Fabiana Gomes da Silva Dantas
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
DOI 10.37423/261011472

CAPÍTULO 3 23
CONTROLE BIOQUÍMICO DAS FUNÇÕES CELULARES: CATÁLISE, REGULAÇÃO E EQUILÍBRIO FUNCIONAL
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
DOI 10.37423/261011473

CAPÍTULO 4 29
ENERGIA E METABOLISMO: PRINCÍPIOS DA CONVERSÃO ENERGÉTICA EM SISTEMAS BIOLÓGICOS
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
DOI 10.37423/261011474

CAPÍTULO 5 36
PROLIFERAÇÃO E ESTABILIDADE GENÔMICA: CONTROLE MOLECULAR DA REPRODUÇÃO CELULAR
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
Renata Pires de Araújo
DOI 10.37423/261011475

CAPÍTULO 6 42
PLASTICIDADE E DESTINO CELULAR: AUTORRENOVAÇÃO, DIFERENCIAÇÃO E REPARO TECIDUAL
Fabiana Gomes da Silva Dantas
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
DOI 10.37423/261011476

CAPÍTULO 7 50
EXPLORANDO A CÉLULA POR IMAGENS: RECURSOS ÓPTICOS E ESTRATÉGIAS DE ANÁLISE
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
Adriana Araújo de Almeida Apolonio
DOI 10.37423/261011477

CAPÍTULO 8 58
INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DA CÉLULA: FERRAMENTAS ANALÍTICAS E TECNOLOGIAS CONTEMPORÂNEAS
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
Renata Pires de Araújo
DOI 10.37423/261011478

CAPÍTULO 9 67
PATÓGENOS E CÉLULAS HOSPEDEIRAS: INTERFACES MOLECULARES NO PROCESSO INFECCIOSO
Fabiana Gomes da Silva Dantas
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
DOI 10.37423/261011479

CAPÍTULO 10 75
ENGENHARIA E USO TERAPÊUTICO DE CÉLULAS: AVANÇOS, SEGURANÇA E PERSPECTIVAS CLÍNICAS
Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão
Mariane da Silva Fagundes
Jéssica Maria Félix Bonfim
Adriana Araújo de Almeida Apolonio
DOI 10.37423/261011480

Capítulo 1

10.37423/261011471

A CÉLULA EM PERSPECTIVA EVOLUTIVA: ORIGEM, DIVERSIDADE E COMPLEXIDADE BIOLÓGICA

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

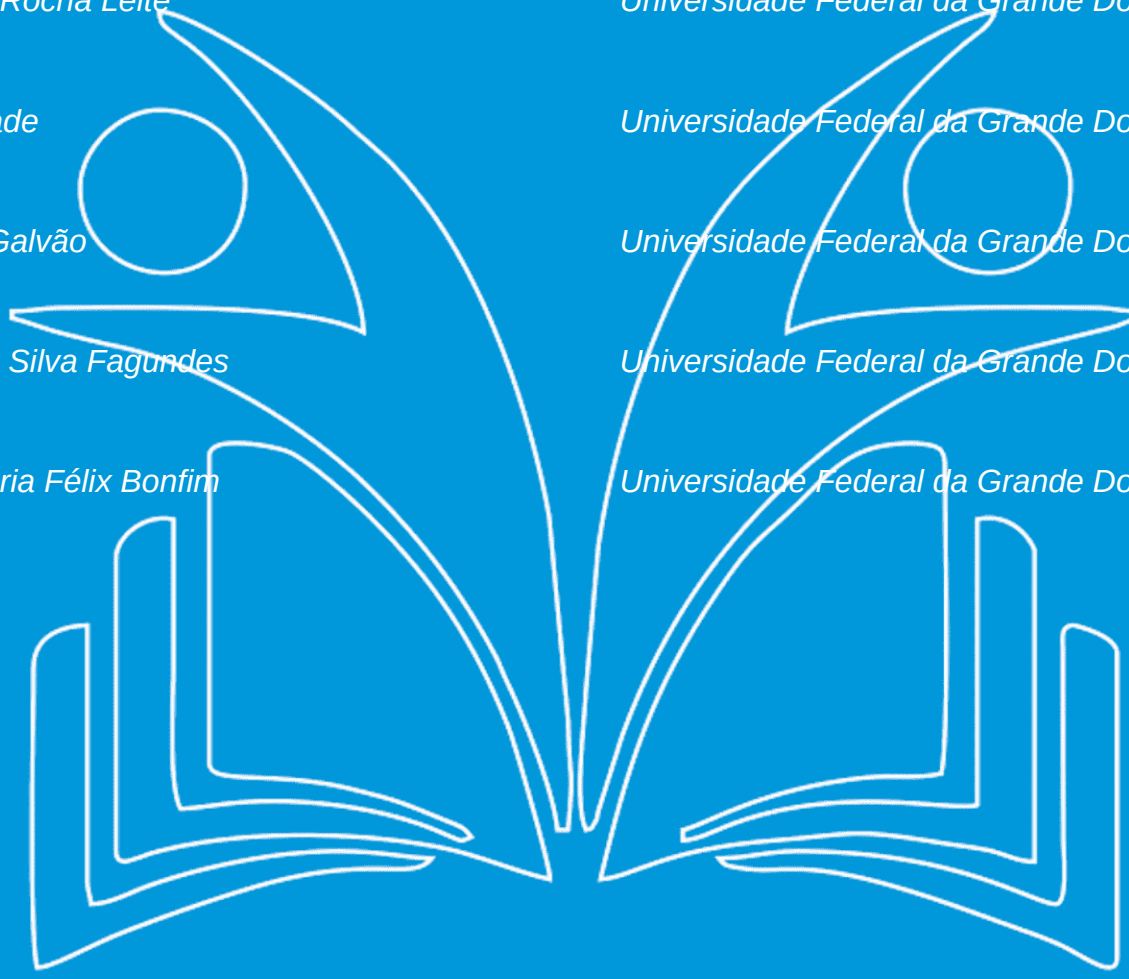
Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*



A célula constitui a unidade estrutural e funcional básica dos organismos celulares. Bactérias, arqueias e eucariotos compartilham propriedades fundamentais, como membrana plasmática, material genético, ribossomos e utilização de ATP, mas diferem quanto à arquitetura interna, composição de membranas e organização dos processos de expressão gênica. A teoria celular consolidou a noção de que os organismos são formados por células e que novas células surgem de células preexistentes, enquanto a sistemática molecular revelou relações evolutivas que não podem ser inferidas apenas pela morfologia (WOESE; KANDLER; WHEELIS, 1990; MAZZARELLO, 1999).

A origem das primeiras formas de vida permanece uma questão investigada por geologia, química prebiótica, biologia molecular e evolução. Evidências de atividade biológica são bem documentadas em materiais com cerca de 3,5 bilhões de anos, mas propostas para sinais ainda mais antigos dependem da interpretação de registros geológicos modificados ao longo do tempo (DODD et al., 2017). Por isso, os modelos atuais distinguem aquilo que pode ser reproduzido experimentalmente em condições plausíveis daquilo que pode ser afirmado sobre os eventos efetivamente ocorridos na Terra primitiva.

Os experimentos de Miller demonstraram que moléculas orgânicas podem ser produzidas abioticamente a partir de precursores simples submetidos a fontes de energia, mas a atmosfera utilizada nesses ensaios não deve ser tratada como representação exata da Terra jovem. Modelos contemporâneos admitem diferentes microambientes geoquímicos, incluindo sistemas hidrotermais e superfícies sujeitas a ciclos de hidratação e secagem. Dessa forma, a síntese prebiótica é compreendida como um conjunto de processos possíveis, e não como uma única sequência química obrigatória (MILLER, 1953).

Um problema central na transição da química prebiótica para sistemas celulares é explicar a integração entre armazenamento de informação, catálise e compartimentalização. A hipótese do mundo de RNA propõe que moléculas relacionadas ao RNA tenham exercido funções informacionais e catalíticas antes da consolidação do sistema DNA-RNA-proteína. A existência de ribozimas e a demonstração experimental de rotas plausíveis para a formação de nucleotídeos sustentam partes desse modelo, embora a origem de sistemas autorreplicativos completos e do código genético permaneça em investigação (HIGGS; LEHMAN, 2015; POWNER; GERLAND; SUTHERLAND, 2009; FINE; PEARLMAN, 2023).

A compartimentalização por membranas também foi decisiva porque vesículas formadas por moléculas anfipáticas podem concentrar reagentes, limitar difusão e estabelecer diferenças entre interior e exterior. Modelos de protocélulas procuram integrar membranas, polímeros informacionais e redes metabólicas mínimas. Esses sistemas não correspondem a células modernas, mas permitem investigar etapas pelas quais propriedades celulares básicas podem ter surgido antes da diversificação das linhagens atuais (HIGGS; LEHMAN, 2015).

O ancestral comum universal mais recente, LUCA, não corresponde à primeira forma de vida, mas ao ancestral das linhagens que originaram Bacteria e Archaea. Reconstruções filogenômicas indicam que já possuía sistemas complexos de tradução, metabolismo energético e manutenção da informação genética. Moody et al. (2024) estimaram sua existência em aproximadamente 4,2 bilhões de anos, embora a reconstrução dependa de modelos evolutivos e calibrações sujeitas a incertezas. Isso implica que uma fase extensa de evolução química e celular precedeu LUCA.

A evolução inicial também ocorreu em um planeta com disponibilidade de oxigênio muito inferior à atual. A fotossíntese oxigênica desenvolvida por ancestrais das cianobactérias alterou progressivamente a química dos oceanos e da atmosfera, contribuindo para o Grande Evento de Oxidação por volta de 2,4 bilhões de anos atrás. A maior disponibilidade de O2 ampliou as possibilidades da respiração aeróbia, sem eliminar metabolismos anaeróbios, que permanecem distribuídos entre diversas linhagens microbianas (LYONS; REINHARD; PLANAVSKY, 2014).

A análise molecular levou à divisão da vida celular em Bacteria, Archaea e Eukarya, mas dados filogenômicos posteriores indicam que os eucariotos estão relacionados a linhagens arqueanas, particularmente às Asgard archaea. Assim, 'procarionte' continua útil para descrever células sem núcleo delimitado, porém não representa um grupo evolutivo homogêneo. Bactérias e arqueias diferem na composição das membranas e em componentes dos sistemas de replicação, transcrição e tradução, o que sustenta sua separação em linhagens distintas (WOESE; KANDLER; WHEELIS, 1990; EME et al., 2017; VOSSEBERG et al., 2024).

As bactérias apresentam elevada diversidade de forma e fisiologia. Em muitas espécies, a parede contém peptidoglicano, enquanto o DNA ocupa uma região nucleoidal sem envoltório membranoso. Plasmídeos podem carregar genes relacionados à adaptação e resistência antimicrobiana, e proteínas relacionadas ao citoesqueleto organizam divisão, segregação cromossômica e síntese de parede.

Portanto, a ausência de organelas membranosas típicas de eucariotos não significa ausência de organização espacial interna (VOLLMER; BLANOT; DE PEDRO, 2008; CAMERON; MARGOLIN, 2024).

A origem da célula eucariótica envolveu inovação na linhagem hospedeira e endossimbiose. Evidências filogenômicas sustentam que a linhagem hospedeira estava relacionada às arqueias e que a mitocôndria deriva de um ancestral bacteriano. A aquisição mitocondrial foi seguida por extensa transferência gênica para o núcleo e por integração metabólica crescente entre endossimbionte e hospedeiro. Essa associação é considerada um evento central na eucariogênese, embora a sequência exata das etapas celulares que a precederam ainda seja discutida (EME et al., 2017; ROGER; MUÑOZ-GÓMEZ; KAMIKAWA, 2017; VOSSEBERG et al., 2024).

Mitocôndrias preservam características que refletem essa origem, como genoma próprio, ribossomos derivados de sistemas bacterianos e divisão por mecanismos relacionados à fissão. Os plastídios surgiram posteriormente em uma linhagem eucariótica já portadora de mitocôndria, a partir da incorporação de um ancestral cianobacteriano. A endossimbiose primária originou os plastídios de plantas e algas relacionadas, enquanto eventos secundários de endossimbiose contribuíram para a diversidade de eucariotos fotossintéticos (ARCHIBALD, 2015).

A célula eucariótica também desenvolveu extensa compartimentalização interna. Envelope nuclear, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, endossomos e lisossomos separam processos bioquímicos e regulam o tráfego de proteínas e lipídios. Peroxissomos participam de reações oxidativas e metabolismo lipídico, enquanto o citoesqueleto organiza a forma celular, a distribuição de organelas, a migração e a divisão. Essa compartimentalização permite que reações com requisitos químicos diferentes ocorram simultaneamente em regiões distintas da célula (SCHWARZ; BLOWER, 2016; FLETCHER; MULLINS, 2010).

Células animais, vegetais e fúngicas compartilham essa organização eucariótica, mas apresentam especializações. Células vegetais possuem parede rica em polissacarídeos, plastídios e grande vacúolo central; fungos apresentam parede com quitina e glucanos; células animais dependem mais diretamente da matriz extracelular e de junções celulares para sustentação e organização tecidual. Essas diferenças resultam de trajetórias evolutivas próprias e têm consequências para fisiologia, patogenicidade e alvos terapêuticos (COSGROVE, 2024; GOW; LENARDON, 2023).

Os vírus ocupam posição distinta porque são entidades acelulares que dependem da maquinaria da célula hospedeira para produzir novas partículas. Seus genomas podem ser constituídos por DNA ou RNA e apresentam ampla diversidade estrutural e evolutiva. Embora não sejam incluídos nos três domínios da vida celular, são fundamentais para compreender transferência gênica, pressão seletiva e interação entre genomas celulares e elementos genéticos móveis (KOONIN et al., 2020).

A multicelularidade surgiu independentemente em diferentes linhagens eucarióticas. Sua evolução exigiu adesão estável, comunicação entre células, controle da proliferação e mecanismos de diferenciação. Em animais, a especialização celular depende de redes regulatórias que permitem que células com genomas semelhantes mantenham programas de expressão distintos; em plantas e outros grupos, princípios equivalentes foram recrutados de forma independente. A multicelularidade, portanto, não representa um único evento evolutivo, mas diferentes soluções para coordenar células em organismos integrados (BRUNET; KING, 2017; UMEN, 2014).

A organização celular descrita neste capítulo estabelece a base para os temas seguintes. Compartimentalização, membranas, material genético e organelas condicionam as propriedades químicas e funcionais das células, enquanto diferenças entre bactérias, arqueias e eucariotos ajudam a explicar metabolismo, patogenicidade e seletividade terapêutica. Com essa base estrutural e evolutiva, o Capítulo 2 examina a composição química das células e as relações entre água, íons e macromoléculas que sustentam sua organização.

REFERÊNCIAS

ARCHIBALD, John M. Endosymbiosis and eukaryotic cell evolution. Current Biology, v. 25, n. 19, p. R911-R921, 2015. DOI: 10.1016/j.cub.2015.07.055.

BRUNET, Thibaut; KING, Nicole. The origin of animal multicellularity and cell differentiation. Developmental Cell, v. 43, n. 2, p. 124-140, 2017. DOI: 10.1016/j.devcel.2017.09.016.

CAMERON, Todd A.; MARGOLIN, William. Insights into the assembly and regulation of the bacterial divisome. Nature Reviews Microbiology, v. 22, p. 33-45, 2024. DOI: 10.1038/s41579-023-00942-x.

COSGROVE, Daniel J. Structure and growth of plant cell walls. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 340-358, 2024. DOI: 10.1038/s41580-023-00691-y.

DODD, Matthew S. et al. Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates. Nature, v. 543, p. 60-64, 2017. DOI: 10.1038/nature21377.

EME, Laura et al. Archaea and the origin of eukaryotes. Nature Reviews Microbiology, v. 15, p. 711-723, 2017. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.133.

FINE, Jacob L.; PEARLMAN, Ronald E. On the origin of life: an RNA-focused synthesis and narrative. RNA, v. 29, n. 8, p. 1085-1098, 2023. DOI: 10.1261/rna.079598.123.

FLETCHER, Daniel A.; MULLINS, R. Dyche. Cell mechanics and the cytoskeleton. Nature, v. 463, p. 485-492, 2010. DOI: 10.1038/nature08908.

GOW, Neil A. R.; LENARDON, Megan D. Architecture of the dynamic fungal cell wall. Nature Reviews Microbiology, v. 21, p. 248-259, 2023. DOI: 10.1038/s41579-022-00796-9.

HIGGS, Paul G.; LEHMAN, Niles. The RNA World: molecular cooperation at the origins of life. Nature Reviews Genetics, v. 16, p. 7-17, 2015. DOI: 10.1038/nrg3841.

KOONIN, Eugene V. et al. Global organization and proposed megataxonomy of the virus world. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 84, n. 2, e00061-19, 2020. DOI: 10.1128/MMBR.00061-19.

LYONS, Timothy W.; REINHARD, Christopher T.; PLANAVSKY, Noah J. The rise of oxygen in Earth's early ocean and atmosphere. Nature, v. 506, p. 307-315, 2014. DOI: 10.1038/nature13068.

MAZZARELLO, Paolo. A unifying concept: the history of cell theory. Nature Cell Biology, v. 1, p. E13-E15, 1999. DOI: 10.1038/8964.

MILLER, Stanley L. A production of amino acids under possible primitive Earth conditions. Science, v. 117, n. 3046, p. 528-529, 1953. DOI: 10.1126/science.117.3046.528.

MOODY, Edmund R. R. et al. The nature of the last universal common ancestor and its impact on the early Earth system. Nature Ecology & Evolution, v. 8, p. 1654-1666, 2024. DOI: 10.1038/s41559-024-02461-1.

POWNER, Matthew W.; GERLAND, Beatrice; SUTHERLAND, John D. Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions. Nature, v. 459, p. 239-242, 2009. DOI: 10.1038/nature08013.

ROGER, Andrew J.; MUÑOZ-GÓMEZ, Sergio A.; KAMIKAWA, Ryoma. The origin and diversification of mitochondria. Current Biology, v. 27, n. 21, p. R1177-R1192, 2017. DOI: 10.1016/j.cub.2017.09.015.

SCHWARZ, Dianne S.; BLOWER, Michael D. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. Cellular and Molecular Life Sciences, v. 73, p. 79-94, 2016. DOI: 10.1007/s00018-015-2052-6.

UMEN, James G. Green algae and the origins of multicellularity in the plant kingdom. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, v. 6, n. 11, a016170, 2014. DOI: 10.1101/cshperspect.a016170.

VOLLMER, Waldemar; BLANOT, Didier; DE PEDRO, Miguel A. Peptidoglycan structure and architecture. FEMS Microbiology Reviews, v. 32, n. 2, p. 149-167, 2008. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x.

VOSSEBERG, Julian et al. The emerging view on the origin and early evolution of eukaryotic cells. Nature, v. 633, p. 295-305, 2024. DOI: 10.1038/s41586-024-07677-6.

WOESE, Carl R.; KANDLER, Otto; WHEELIS, Mark L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 87, n. 12, p. 4576-4579, 1990. DOI: 10.1073/pnas.87.12.4576.

Capítulo 2

10.37423/261011472

ARQUITETURA MOLECULAR DA VIDA: COMPONENTES E INTERAÇÕES NO AMBIENTE CELULAR

Fabiana Gomes da Silva Dantas — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*

A organização celular depende das propriedades químicas de água, íons, pequenas moléculas e macromoléculas. Esses componentes não atuam isoladamente: polaridade, carga, capacidade de formar ligações, hidrofobicidade e reatividade determinam como moléculas se distribuem entre compartimentos, interagem entre si e participam de processos celulares. O carbono ocupa posição central por formar estruturas lineares, ramificadas e cíclicas com ampla diversidade funcional, constituindo a base de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (ALBERTS et al., 2022; NELSON; COX, 2021).

A água é o componente mais abundante da maioria das células e funciona como solvente, reagente e meio no qual ocorrem processos de difusão e transporte. Sua polaridade favorece solvatação de íons e grupos carregados, enquanto o efeito hidrofóbico contribui para formação de membranas e dobramento de proteínas. O meio intracelular, porém, não apresenta pH uniforme: o citosol permanece próximo da neutralidade, enquanto lisossomos, endossomos e outros compartimentos mantêm valores distintos necessários às suas funções. A regulação desses gradientes depende de transportadores, canais e bombas de prótons (CASEY; GRINSTEIN; ORLOWSKI, 2010).

Íons inorgânicos estão distribuídos de forma assimétrica entre citosol, organelas e meio extracelular. Na^+, K^+ e Cl^- participam do potencial de membrana e do equilíbrio osmótico; Ca^{2+} funciona como mensageiro intracelular, sendo mantido em baixa concentração citosólica e liberado de estoques ou do meio extracelular após estímulos; Mg^{2+} estabiliza nucleotídeos e participa de numerosas reações enzimáticas. Ferro, zinco, cobre, manganês e selênio integram proteínas e cofatores, mas precisam ser regulados porque seu excesso ou deficiência pode comprometer processos celulares (BERRIDGE; BOOTMAN; RODERICK, 2003; DE BAAIJ; HOENDEROP; BINDELS, 2015).

Os ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos constituídos por base nitrogenada, pentose e fosfato. O DNA armazena informação genética e, em células eucarióticas, encontra-se principalmente no núcleo e também nas mitocôndrias. O RNA assume funções mais diversas: mRNAs servem como moldes para síntese proteica, rRNAs integram os ribossomos, tRNAs participam da tradução e diferentes RNAs não codificadores regulam expressão gênica, processamento e organização da cromatina. A estrutura do RNA pode formar regiões pareadas, alças e domínios tridimensionais necessários à sua função (CAO et al., 2024; MATTICK et al., 2023).

A estabilidade e a expressão da informação genética dependem das propriedades químicas das bases e da cadeia fosfodiéster. Pareamento complementar permite replicação do DNA e hibridização de ácidos nucleicos, princípio posteriormente explorado por PCR, sequenciamento e outras técnicas moleculares. No RNA, a diversidade estrutural amplia funções regulatórias e catalíticas. Portanto, ácidos nucleicos não devem ser analisados apenas como moléculas de armazenamento, mas como componentes estruturais e regulatórios essenciais à dinâmica celular (SPITALE; INCARNATO, 2023).

Carboidratos incluem monossacarídeos, oligossacarídeos e polímeros com funções energéticas, estruturais e regulatórias. Glicose é utilizada em vias metabólicas e pode ser armazenada na forma de glicogênio em animais e amido em plantas; ribose e desoxirribose integram nucleotídeos; polissacarídeos estruturais, como celulose, participam de paredes celulares. Entretanto, uma parcela importante dos carboidratos celulares está ligada covalentemente a proteínas e lipídios formando glicoconjugados.

A glicosilação modifica proteínas e lipídios principalmente no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi, influenciando dobramento, estabilidade, tráfego, adesão e reconhecimento celular. Na superfície, glicoproteínas, glicolipídios e proteoglicanos contribuem para o glicocálice, que participa da interação célula-célula, resposta imune e contato com a matriz extracelular. Alterações de glicosilação estão associadas a doenças hereditárias, inflamação e câncer, demonstrando que os carboidratos possuem funções regulatórias além do metabolismo energético (VARKI, 2017; REILY et al., 2019).

Os lipídios formam uma classe estruturalmente diversa que inclui ácidos graxos, glicerofosfolipídios, esfingolipídios, esteróis e lipídios neutros. Fosfolipídios e esfingolipídios constituem a base das membranas porque apresentam regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, mas a composição da bicamada é assimétrica e varia entre organelas. O colesterol modifica propriedades mecânicas e permeabilidade das membranas de células animais, enquanto diferentes lipídios contribuem para curvatura, formação de domínios e recrutamento de proteínas (VAN MEER; VOELKER; FEIGENSON, 2008; HARAYAMA; RIEZMAN, 2018).

Lipídios também participam de sinalização e armazenamento. Fosfoinositídeos regulam associação de proteínas às membranas, eicosanoides atuam como mediadores locais e esteroides derivados do colesterol funcionam como hormônios. Triacilgliceróis e ésteres de colesterol são armazenados em gotículas lipídicas, organelas que mantêm contato com retículo endoplasmático e mitocôndrias e

ajudam a regular fluxo de ácidos graxos e lipotoxicidade. Distúrbios desse equilíbrio contribuem para doenças metabólicas (MATHIOWETZ; OLZMANN, 2024).

Proteínas são polímeros de aminoácidos cujas cadeias laterais determinam carga, polaridade e reatividade. A sequência de aminoácidos restringe as conformações possíveis, mas a função depende de dobramento, dinâmica estrutural, associação com outras subunidades e interação com ligantes. A divisão em estruturas primária, secundária, terciária e quaternária é útil didaticamente, mas muitas proteínas apresentam regiões flexíveis ou desordenadas e alternam entre conformações funcionais (NELSON; COX, 2021; ALBERTS et al., 2022).

Modificações pós-traducionais ampliam a diversidade funcional das proteínas. Fosforilação, acetilação, ubiquitinação, glicosilação e adição de lipídios podem alterar atividade, estabilidade ou localização. A manutenção do conjunto proteico funcional, denominada proteostase, envolve chaperonas, sistema ubiquitina-proteassoma e degradação lisossomal. Quando esses mecanismos falham, proteínas mal dobradas ou agregadas podem acumular-se e contribuir para doenças, especialmente em tecidos de longa duração, como o sistema nervoso (HIPP; KASTURI; HARTL, 2019; CHRISTIANSON; JAROSCH; SOMMER, 2023).

As enzimas são proteínas — ou, em alguns casos, RNAs catalíticos — que aceleram reações ao reduzir a barreira de energia de ativação. Sua atividade depende da composição química do meio, incluindo pH, força iônica, substratos, cofatores e moduladores. A catálise e os mecanismos de regulação enzimática são desenvolvidos no Capítulo 3, no qual essas propriedades são relacionadas à manutenção da homeostase celular (NELSON; COX, 2021).

O interior celular é mais concentrado e organizado do que soluções bioquímicas diluídas. Proteínas, RNAs e outros complexos ocupam parte significativa do volume e influenciam difusão e equilíbrio de associação, fenômeno denominado crowding macromolecular. Além disso, algumas regiões sem membrana, como nucléolos e grânulos de estresse, podem concentrar proteínas e ácidos nucleicos por interações multivalentes, formando condensados biomoleculares. Esses mecanismos ampliam a compartimentalização química da célula (RIVAS; MINTON, 2016; BANANI et al., 2017).

Cada compartimento celular estabelece um microambiente químico específico. Lisossomos mantêm meio ácido e hidrolases; o retículo endoplasmático favorece síntese e controle de qualidade de proteínas secretadas; mitocôndrias concentram cofatores do metabolismo oxidativo; e o núcleo

organiza DNA, RNA e proteínas de cromatina. Essa heterogeneidade espacial permite que reações com requisitos incompatíveis ocorram simultaneamente sem perder controle químico (ALBERTS et al., 2022).

Macromoléculas estão sujeitas a modificações decorrentes do metabolismo e do estresse. Espécies reativas podem oxidar lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, enquanto glicação e mudanças de pH alteram propriedades moleculares. Sistemas antioxidantes, reparo de DNA, renovação proteica e remodelamento de membranas limitam essas alterações. A doença surge quando o dano excede a capacidade de controle ou quando defeitos genéticos comprometem os mecanismos de manutenção (HIPP; KASTURI; HARTL, 2019).

A análise da composição celular também sustenta abordagens genômicas, transcriptômicas, proteômicas, lipidômicas e metabolômicas, cujos princípios metodológicos serão retomados no Capítulo 8. Antes disso, a compreensão das propriedades químicas de proteínas, cofatores, ácidos nucleicos, lipídios e carboidratos fornece a base necessária para examinar, no Capítulo 3, como reações catalisadas são reguladas e integradas à homeostase celular.

REFERÊNCIAS

ALBERTS, Bruce et al. Molecular Biology of the Cell. 7. ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.

BANANI, Salman F. et al. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 18, n. 5, p. 285-298, 2017. DOI: 10.1038/nrm.2017.7.

BERRIDGE, Michael J.; BOOTMAN, Martin D.; RODERICK, H. Llewelyn. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 4, p. 517-529, 2003. DOI: 10.1038/nrm1155.

CAO, Xinang et al. Identification of RNA structures and their roles in RNA functions. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 784-801, 2024. DOI: 10.1038/s41580-024-00748-6.

CASEY, Joseph R.; GRINSTEIN, Sergio; ORLOWSKI, John. Sensors and regulators of intracellular pH. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 11, n. 1, p. 50-61, 2010. DOI: 10.1038/nrm2820.

CHRISTIANSON, John C.; JAROSCH, Ernst; SOMMER, Thomas. Mechanisms of substrate processing during ER-associated protein degradation. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 24, p. 777-796, 2023. DOI: 10.1038/s41580-023-00633-8.

DE BAAIJ, Jeroen H. F.; HOENDEROP, Joost G. J.; BINDELS, René J. M. Magnesium in man: implications for health and disease. Physiological Reviews, v. 95, n. 1, p. 1-46, 2015. DOI: 10.1152/physrev.00012.2014.

HARAYAMA, Takeshi; RIEZMAN, Howard. Understanding the diversity of membrane lipid composition. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 19, p. 281-296, 2018. DOI: 10.1038/nrm.2017.138.

HIPP, Mark S.; KASTURI, Prasad; HARTL, F. Ulrich. The proteostasis network and its decline in ageing. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 20, p. 421-435, 2019. DOI: 10.1038/s41580-019-0101-y.

MATHIOWETZ, Alyssa J.; OLZMANN, James A. Lipid droplets and cellular lipid flux. Nature Cell Biology, v. 26, p. 331-345, 2024. DOI: 10.1038/s41556-024-01364-4.

MATTICK, John S. et al. Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 24, p. 430-447, 2023. DOI: 10.1038/s41580-022-00566-8.

NELSON, David L.; COX, Michael M. Lehninger Principles of Biochemistry. 8. ed. New York: W. H. Freeman/Macmillan Learning, 2021.

REILY, Colin et al. Glycosylation in health and disease. Nature Reviews Nephrology, v. 15, n. 6, p. 346-366, 2019. DOI: 10.1038/s41581-019-0129-4.

RIVAS, Germán; MINTON, Allen P. Macromolecular crowding in vitro, in vivo, and in between. Trends in Biochemical Sciences, v. 41, n. 11, p. 970-981, 2016. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.08.013.

SPITALE, Robert C.; INCARNATO, Danny. Probing the dynamic RNA structurome and its functions. Nature Reviews Genetics, v. 24, p. 178-196, 2023. DOI: 10.1038/s41576-022-00546-w.

VAN MEER, Gerrit; VOELKER, Dennis R.; FEIGENSON, Gerald W. Membrane lipids: where they are and how they behave. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 9, p. 112-124, 2008. DOI: 10.1038/nrm2330.

VARKI, Ajit. Biological roles of glycans. Glycobiology, v. 27, n. 1, p. 3-49, 2017. DOI: 10.1093/glycob/cww086.

Capítulo 3

10.37423/261011473

CONTROLE BIOQUÍMICO DAS FUNÇÕES CELULARES: CATÁLISE, REGULAÇÃO E EQUILÍBRIO FUNCIONAL

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

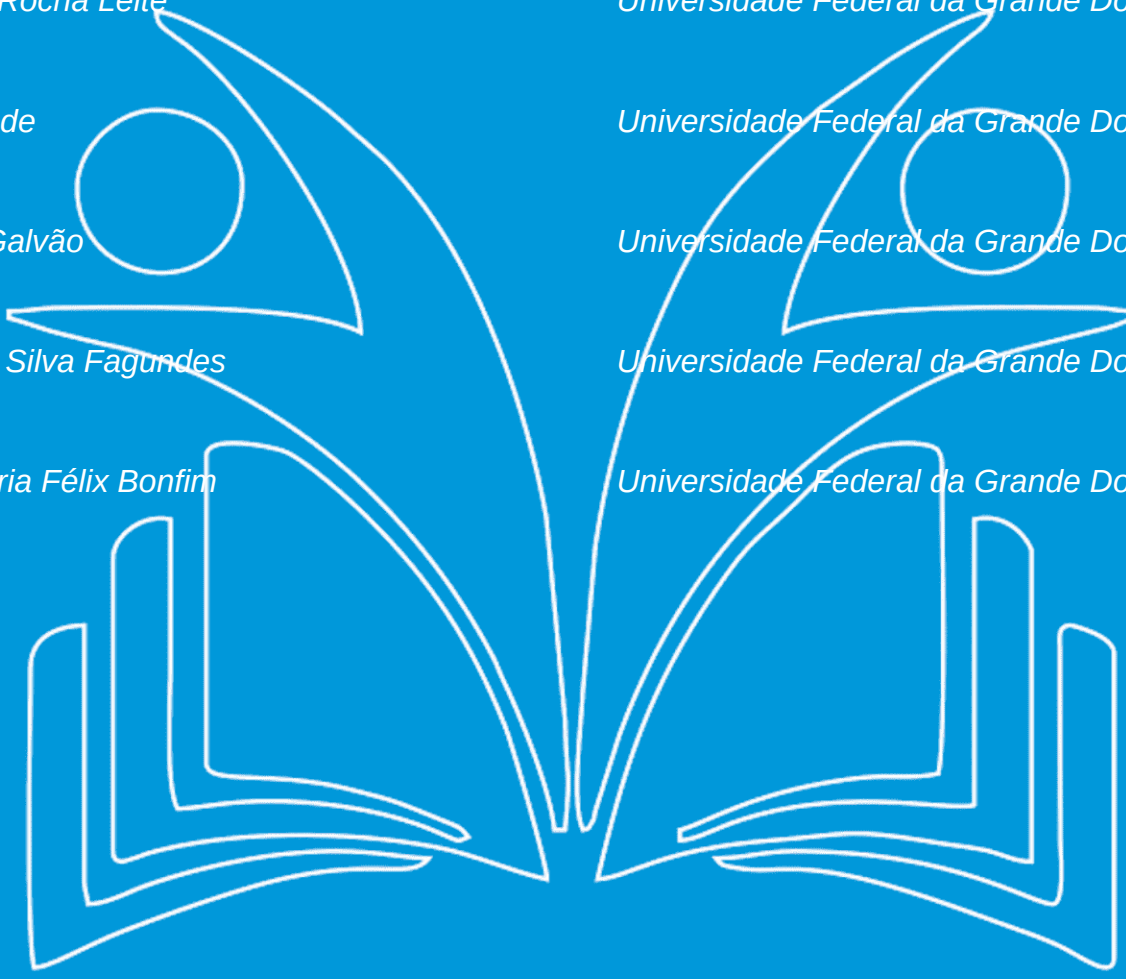
Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*



A homeostase celular depende de reações químicas que ocorram em velocidades compatíveis com as necessidades fisiológicas. Enzimas são catalisadores biológicos que aceleram essas reações ao reduzir a energia de ativação sem modificar a variação de energia livre global nem a posição de equilíbrio. A maioria é formada por proteínas, mas ribozimas demonstram que RNAs também podem exercer catálise. Essa propriedade permite que síntese, degradação, transferência de grupos químicos e sinalização ocorram em escalas de tempo compatíveis com a vida celular (NELSON; COX, 2021; MCDONALD; TIPTON, 2023).

A catálise depende da organização tridimensional do sítio ativo e das interações estabelecidas com o substrato. Mudanças conformacionais podem acompanhar a ligação e contribuir para especificidade e regulação. Muitas enzimas requerem cofatores como Mg2+, Zn2+, Fe2+/Fe3+ ou coenzimas derivadas de vitaminas, que participam diretamente da reação ou transportam elétrons e grupos químicos. A classificação EC organiza as enzimas conforme o tipo de transformação catalisada e atualmente inclui sete classes, entre elas oxidorredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases e translocases (MCDONALD; TIPTON, 2023).

A velocidade enzimática varia com concentração de substrato, quantidade de enzima, pH, temperatura e composição do meio. Em sistemas que obedecem às premissas de Michaelis-Menten, Vmax descreve a velocidade próxima da saturação e Km corresponde à concentração de substrato em que a velocidade é metade de Vmax. Esses parâmetros não devem ser usados de forma automática para inferir afinidade em qualquer mecanismo, e enzimas alostéricas ou sistemas multissubstrato podem apresentar comportamentos diferentes. A compartimentalização também altera atividade, como exemplificado pelas hidrolases lisossomais adaptadas ao meio ácido (NELSON; COX, 2021; BALLABIO; BONIFACINO, 2020).

A atividade enzimática é regulada em múltiplos níveis. Ligantes alostéricos modificam estados conformacionais; fosforilação e outras modificações covalentes alteram atividade, estabilidade ou localização; processamento proteolítico ativa determinados precursores; e síntese e degradação das proteínas ajustam a capacidade catalítica em escalas de tempo maiores. Esses mecanismos integram disponibilidade de nutrientes, sinalização hormonal e condições celulares e impedem que as vias funcionem a velocidades fixas (CHANGEUX, 2012).

O controle metabólico também é distribuído entre diferentes etapas de uma via. Embora algumas enzimas exerçam influência regulatória importante, o fluxo não é determinado necessariamente por uma única 'enzima limitante'. A análise de controle metabólico mostra que diferentes enzimas e transportadores podem compartilhar o controle e que sua contribuição muda conforme o estado fisiológico. Feedback por produtos finais, estado energético, razão NAD+/NADH e disponibilidade de substratos completam essa regulação integrada (MORENO-SÁNCHEZ et al., 2008; BRUGGEMAN et al., 2023).

Glicólise, ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa constituem exemplos de vias dependentes desse controle, mas sua descrição detalhada pertence ao capítulo de bioenergética. Aqui, é suficiente reconhecer que a organização das reações em compartimentos e a modulação de enzimas-chave ajustam utilização de carbono, geração de poder redutor e produção de ATP. A função de uma enzima deve, portanto, ser interpretada em relação à rede metabólica na qual está inserida.

A manutenção do equilíbrio redox fornece outro exemplo de integração enzimática. Espécies reativas de oxigênio são produzidas por mitocôndrias, NADPH oxidases e outras reações e, em níveis controlados, participam de sinalização. O estresse oxidativo ocorre quando a produção de oxidantes excede a capacidade de controle e modifica proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Superóxido dismutases convertem superóxido em peróxido de hidrogênio, catalase e glutationa peroxidases removem peróxidos, e peroxirredoxinas atuam tanto na detoxificação quanto na sinalização redox (SIES; JONES, 2020; BRIGELIUS-FLOHÉ; MAIORINO, 2013).

Enzimas também participam da manutenção do genoma. DNA polimerases possuem mecanismos de fidelidade e proofreading, enquanto nucleases, glicosilases, ligases e outras proteínas catalíticas atuam em vias de reparo por excisão de base, excisão de nucleotídeos, reparo de pareamentos incorretos e reparo de quebras. Erros de replicação e lesões químicas do DNA são eventos distintos, mas ambos podem gerar mutações quando não corrigidos. A falha acumulada desses sistemas favorece instabilidade genômica e transformação celular (CHATTERJEE; WALKER, 2017; TUBBS; NUSSENZWEIG, 2017).

Lisossomos concentram hidrolases ácidas que degradam proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos provenientes de endocitose, fagocitose e autofagia. Essas enzimas dependem do pH luminal e do direcionamento correto ao lisossomo. O compartimento também participa de sensoriamento de

nutrientes e comunicação com outras organelas, de modo que sua função não se limita à digestão intracelular (BALLABIO; BONIFACINO, 2020).

As doenças de depósito lisossomal mostram as consequências da deficiência enzimática. Na doença de Gaucher, variantes em GBA1 reduzem a atividade da beta-glicocerebrosidase e promovem acúmulo de glicoesfingolipídios; na doença de Pompe, deficiência de alfa-glicosidase ácida compromete a degradação lisossomal de glicogênio. Fora do lisossomo, a deficiência de adenosina desaminase altera o metabolismo de purinas e pode causar imunodeficiência combinada grave. Esses exemplos demonstram que atividade residual, natureza do substrato e distribuição tecidual influenciam o fenótipo (PLATT et al., 2018; FLINN; GENNERY, 2018).

Nem toda doença causada por uma proteína defeituosa é uma enzimopatia. CFTR, por exemplo, atua principalmente como canal aniônico regulado por nucleotídeos e, por isso, a fibrose cística não deve ser classificada como deficiência enzimática. A distinção entre enzimas, canais, receptores e transportadores é necessária porque o mecanismo molecular condiciona tanto a fisiopatologia quanto a estratégia terapêutica.

A atividade enzimática possui ampla aplicação diagnóstica. Alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase auxiliam na avaliação de lesão hepatocelular; fosfatase alcalina e gama-glutamiltransferase contribuem para investigar padrões colestáticos; creatina quinase é utilizada em lesão muscular; e lipase participa da avaliação de pancreatite. A interpretação depende de distribuição tecidual, meia-vida, indução enzimática, exercício, medicamentos e condições pré-analíticas, razão pela qual nenhuma dessas medidas deve ser analisada isoladamente do contexto clínico (MCPHERSON; PINCUS, 2021).

Enzimas constituem também uma das principais classes de alvos farmacológicos. Inibidores de ciclooxigenases, enzima conversora de angiotensina, HMG-CoA redutase, proteases virais, transcriptase reversa e quinases ilustram como a redução seletiva de atividade catalítica pode ser explorada terapeuticamente. Inibidores podem ser reversíveis ou irreversíveis, e seu comportamento in vivo depende não apenas da potência bioquímica, mas de distribuição, concentração, metabolismo e turnover da proteína-alvo (SANTOS et al., 2017).

Em outras situações, a própria enzima é utilizada como tratamento. Terapias de reposição enzimática restauram parcialmente atividades deficientes em determinadas doenças lisossomais, mas enfrentam

limitações relacionadas à distribuição tecidual, imunogenicidade, necessidade de infusões repetidas e baixa penetração no sistema nervoso central. Chaperonas farmacológicas e terapias de redução de substrato constituem estratégias complementares quando há atividade residual ou quando diminuir a carga metabólica é clinicamente útil (DESNICK; SCHUCHMAN, 2012; PLATT et al., 2018).

Na biotecnologia, enzimas também funcionam como ferramentas analíticas e de manipulação molecular. DNA polimerases, transcriptases reversas, ligases e nucleases sustentam diferentes técnicas de análise e modificação de ácidos nucleicos; essas aplicações são desenvolvidas de forma específica no Capítulo 8, dedicado às técnicas moleculares aplicadas à biologia celular.

A medição de atividade enzimática precisa considerar substrato, cofatores, força iônica, pH, temperatura e integridade da amostra. Ensaios realizados em extratos não reproduzem integralmente o ambiente celular, no qual compartimentalização, crowding macromolecular e interações proteína-proteína modificam a cinética. Por isso, resultados bioquímicos devem ser interpretados em conjunto com o contexto celular e fisiológico.

A homeostase celular depende de redes enzimáticas que controlam metabolismo, estado redox, integridade genômica, reciclagem de componentes e sinalização. Defeitos podem causar doença por acúmulo de substratos, deficiência de produtos, produção de metabólitos tóxicos ou falha de reparo, enquanto a mesma atividade catalítica pode ser explorada como marcador diagnóstico, alvo farmacológico, agente terapêutico ou ferramenta biotecnológica. No capítulo seguinte, essa lógica será aplicada especificamente à conversão de energia e à função das mitocôndrias e dos cloroplastos.

REFERÊNCIAS

BALLABIO, A.; BONIFACINO, J. S. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 21, n. 2, p. 101-118, 2020. DOI: 10.1038/s41580-019-0185-4.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; MAIORINO, M. Glutathione peroxidases. Biochimica et Biophysica Acta, v. 1830, n. 5, p. 3289-3303, 2013. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.

BRUGGEMAN, F. J. et al. Whole-cell metabolic control analysis. BioSystems, 105067, 2023. DOI: 10.1016/j.biosystems.2023.105067.

CHANGEUX, J.-P. Allostery and the Monod-Wyman-Changeux model after 50 years. Annual Review of Biophysics, v. 41, p. 103-133, 2012. DOI: 10.1146/annurev-biophys-050511-102222.

CHATTERJEE, N.; WALKER, G. C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. Environmental and Molecular Mutagenesis, v. 58, n. 5, p. 235-263, 2017. DOI: 10.1002/em.22087.

DESNICK, R. J.; SCHUCHMAN, E. H. Enzyme replacement therapy for lysosomal diseases: lessons from 20 years of experience and remaining challenges. Annual Review of Genomics and Human Genetics, v. 13, p. 307-335, 2012. DOI: 10.1146/annurev-genom-090711-163739.

FLINN, A. M.; GENNERY, A. R. Adenosine deaminase deficiency: a review. Orphanet Journal of Rare Diseases, v. 13, n. 1, 65, 2018. DOI: 10.1186/s13023-018-0807-5.

MCDONALD, A. G.; TIPTON, K. F. Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. FEBS Journal, v. 290, n. 9, p. 2214-2231, 2023. DOI: 10.1111/febs.16274.

MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 24. ed. St. Louis: Elsevier, 2021.

MORENO-SÁNCHEZ, R. et al. Metabolic control analysis: a tool for designing strategies to manipulate metabolic pathways. Journal of Biomedicine and Biotechnology, v. 2008, 597913, 2008. DOI: 10.1155/2008/597913.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger Principles of Biochemistry. 8. ed. New York: W. H. Freeman, 2021.

PLATT, F. M. et al. Lysosomal storage diseases. Nature Reviews Disease Primers, v. 4, 27, 2018. DOI: 10.1038/s41572-018-0025-4.

SANTOS, R. et al. A comprehensive map of molecular drug targets. Nature Reviews Drug Discovery, v. 16, n. 1, p. 19-34, 2017. DOI: 10.1038/nrd.2016.230.

SIES, H.; JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 21, n. 7, p. 363-383, 2020. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3.

TUBBS, A.; NUSSENZWEIG, A. Endogenous DNA damage as a source of genomic instability in cancer. Cell, v. 168, n. 4, p. 644-656, 2017. DOI: 10.1016/j.cell.2017.01.002.

Capítulo 4

10.37423/261011474

ENERGIA E METABOLISMO: PRINCÍPIOS DA CONVERSÃO ENERGÉTICA EM SISTEMAS BIOLÓGICOS

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

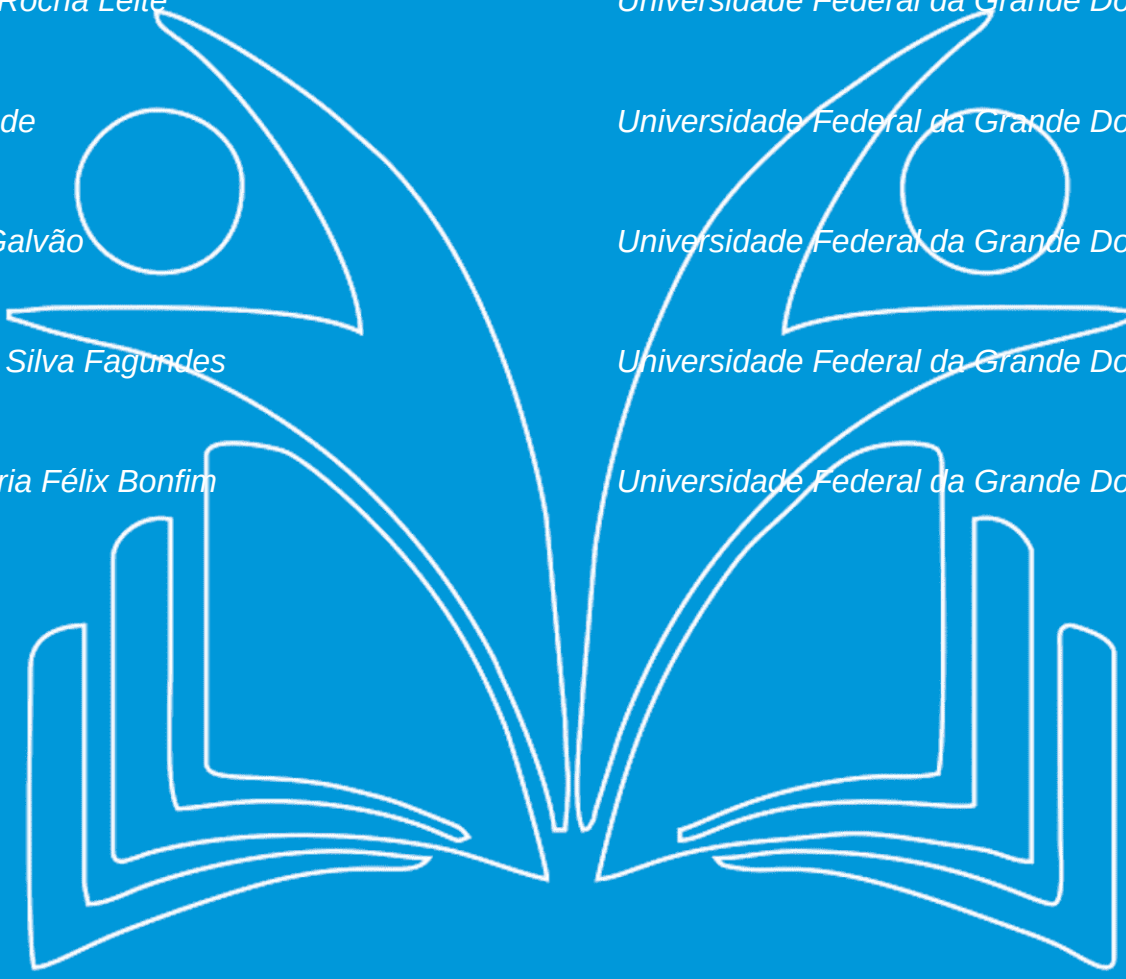
Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*



A bioenergética celular estuda como as células obtêm, transformam e utilizam energia. ATP ocupa posição central porque acopla reações exergônicas a processos biossintéticos, transporte ativo e movimento, mas não funciona como reserva energética de longo prazo. Carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos fornecem carbono e elétrons para vias catabólicas, e sua utilização varia conforme o tipo celular, disponibilidade de nutrientes e demanda fisiológica.

Mitocôndrias e cloroplastos utilizam princípios quimiosmóticos relacionados e apresentam origem endossimbiótica, tema discutido no Capítulo 1. Neste capítulo, o foco recai sobre suas funções bioenergéticas: mitocôndrias oxidam combustíveis celulares e sustentam a fosforilação oxidativa, enquanto cloroplastos convertem energia luminosa em energia química e poder redutor. Em ambos os casos, membranas especializadas organizam cadeias de transporte de elétrons e gradientes eletroquímicos usados para síntese de ATP (MITCHELL, 2011; ROGER; MUÑOZ-GÓMEZ; KAMIKAWA, 2017).

As mitocôndrias possuem membranas externa e interna, espaço intermembrana e matriz. A membrana interna forma cristas que ampliam a área disponível para cadeia respiratória e ATP sintase. A matriz contém enzimas do complexo piruvato desidrogenase, ciclo do ácido cítrico e beta-oxidação, além de DNA mitocondrial e ribossomos. A morfologia e a distribuição das mitocôndrias variam conforme o tipo celular e a demanda metabólica (MONZEL; ENRÍQUEZ; PICARD, 2023).

A glicólise ocorre no citosol e converte glicose em piruvato, gerando ATP por fosforilação em nível de substrato e NADH. Ela não é uma 'fase anaeróbia' da respiração, porque ocorre independentemente da presença de oxigênio. O piruvato pode ser reduzido a lactato para regenerar NAD+ ou entrar na mitocôndria e ser convertido em acetil-CoA. A produção de lactato ocorre também em condições aeróbias e participa de trocas metabólicas entre células e tecidos (BROOKS, 2018).

Quando a reoxidação mitocondrial de NADH é limitada ou quando determinados organismos dependem de vias fermentativas, a regeneração de NAD+ pode ocorrer por redução de metabólitos orgânicos. Em células animais, a conversão de piruvato em lactato sustenta a continuidade da glicólise; em leveduras e outros microrganismos, a fermentação alcoólica converte piruvato em etanol e CO_2. Essas vias não acrescentam ATP além daquele produzido na glicólise, mas permitem manter o balanço redox citosólico quando a fosforilação oxidativa não atende à necessidade metabólica (NELSON; COX, 2021).

O acetil-CoA alimenta o ciclo do ácido cítrico, no qual carbonos são oxidados a CO_2 e a energia é conservada principalmente como NADH e $FADH_2$. O ciclo não utiliza O_2 diretamente, mas depende funcionalmente da reoxidação desses carreadores pela cadeia respiratória em células aeróbias. Intermediários também são desviados para síntese de aminoácidos, lipídios e outras moléculas, mostrando que o ciclo integra catabolismo e biossíntese (SPINELLI; HAIGIS, 2018).

A cadeia respiratória mitocondrial contém os complexos I a IV e os carreadores móveis coenzima Q e citocromo c. Elétrons provenientes de NADH entram principalmente pelo complexo I e elétrons provenientes de succinato pelo complexo II; os complexos I, III e IV contribuem para o bombeamento de prótons. O oxigênio atua como aceptor final de elétrons no complexo IV e é reduzido a água. A organização em supercomplexos pode influenciar estabilidade e transferência eletrônica, mas não elimina a individualidade funcional dos complexos (VERCELLINO; SAZANOV, 2022).

O bombeamento de prótons gera força próton-motriz através da membrana interna. A ATP sintase utiliza esse gradiente para sintetizar ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico, conforme o princípio quimiosmótico proposto por Mitchell. O rendimento não corresponde a um valor fixo de 38 ATP por glicose: ele depende da estequiometria da fosforilação oxidativa, das lançadeiras que transferem equivalentes redutores do citosol e do grau de acoplamento mitocondrial (MITCHELL, 1961; HINKLE, 2005).

Parte da força próton-motriz pode ser dissipada por vazamento de prótons e proteínas desacopladoras. Esse desacoplamento reduz a fração de energia convertida em ATP e pode aumentar produção de calor. A cadeia respiratória também é fonte de espécies reativas de oxigênio, especialmente quando elétrons reduzem parcialmente o oxigênio. Em níveis controlados, espécies reativas participam de sinalização; em excesso, podem contribuir para dano molecular e disfunção celular.

Mitocôndrias também regulam homeostase de cálcio, síntese de heme e centros ferro-enxofre, metabolismo de lipídios e aminoácidos e morte celular. A permeabilização da membrana externa e a liberação de citocromo c participam da apoptose intrínseca, demonstrando que a função mitocondrial ultrapassa a produção de ATP (BOCK; TAIT, 2020).

Essas organelas são dinâmicas. Fusão e fissão alteram tamanho e conectividade da rede, enquanto mecanismos de biogênese, proteostase e mitofagia removem componentes danificados e renovam o compartimento. Alterações persistentes nesses processos podem comprometer metabolismo e

sinalização. PINK1 e Parkin participam de uma das vias mais estudadas de controle de qualidade mitocondrial, embora a mitofagia celular não dependa exclusivamente desse mecanismo (NARENDRA; YOULE, 2024; TÁBARA; SEGAWA; PRUDENT, 2025).

Doenças mitocondriais primárias podem resultar de variantes no DNA mitocondrial ou nuclear. A heteroplasmia, a distribuição desigual de genomas mutantes e os limiares funcionais contribuem para a variabilidade clínica. Sistema nervoso, músculo, coração e retina são frequentemente afetados devido à elevada demanda energética, mas manifestações multissistêmicas são comuns. Alterações mitocondriais também acompanham doenças comuns e envelhecimento, porém associação não deve ser confundida automaticamente com causalidade (GORMAN et al., 2016; LIU; SULC; AUWERX, 2025).

Nos organismos fotossintéticos eucarióticos, cloroplastos convertem energia luminosa em energia química e participam da assimilação de carbono. A organela é delimitada por duas membranas e contém estroma e sistema interno de tilacoides. Complexos fotossintéticos localizados na membrana tilacoidal capturam energia luminosa e estabelecem gradientes de prótons, enquanto o estroma contém enzimas do ciclo de Calvin-Benson-Bassham e outras vias biossintéticas.

Nas reações dependentes de luz, o fotossistema II utiliza energia luminosa para oxidar água, liberando O2, prótons e elétrons. Os elétrons percorrem plastoquinona e complexo citocromo b6f antes de chegar ao fotossistema I, onde são novamente excitados e direcionados à redução de NADP+ a NADPH. O transporte eletrônico contribui para acidificar o lúmen tilacoidal e gerar força próton-motriz utilizada pela ATP sintase para formar ATP (SHIKANAI, 2024).

O fluxo linear de elétrons produz ATP, NADPH e O2, enquanto rotas cíclicas em torno do fotossistema I ajustam a relação entre ATP e poder redutor sem gerar NADPH adicional. Esse controle é importante porque a demanda de ATP e NADPH varia com o metabolismo. Mecanismos de dissipação não fotoquímica e outras respostas fotoprotetoras também limitam danos quando a energia absorvida excede a capacidade de utilização metabólica (SHIKANAI, 2024).

ATP e NADPH são utilizados no ciclo de Calvin-Benson-Bassham, no qual Rubisco catalisa a carboxilação da ribulose-1,5-bisfosfato. O ciclo compreende carboxilação, redução e regeneração do aceptor de CO2, produzindo trioses fosfato destinadas à síntese de sacarose, amido e outras moléculas. A Rubisco também apresenta atividade oxigenase, que inicia a fotorespiração e reduz a eficiência líquida de assimilação de carbono em determinadas condições (SHARKEY, 2024; TIMM; SUN; HUANG, 2024).

Plantas C4 e CAM desenvolveram mecanismos que aumentam a concentração de CO2 próxima à Rubisco e reduzem a fotorespiração, mas fazem isso de maneiras distintas. Em plantas C4 há separação espacial entre fixação inicial de carbono e ciclo de Calvin, enquanto em plantas CAM existe separação temporal associada à abertura estomática noturna. Essas estratégias evidenciam como restrições ambientais moldaram a bioenergética fotossintética.

Cloroplastos também participam da síntese de ácidos graxos, aminoácidos, tetrapirróis e outros metabólitos. Em células vegetais, produtos da fotossíntese alimentam a respiração mitocondrial, enquanto mitocôndrias participam do balanço redox e do metabolismo associado à fotorespiração. Portanto, cloroplastos e mitocôndrias funcionam de forma integrada e não como sistemas energéticos independentes.

A comparação entre os dois tipos de organela evidencia um princípio geral: a conversão eficiente de energia depende de membranas capazes de separar compartimentos, organizar transportadores de elétrons e manter gradientes eletroquímicos. Em saúde, defeitos mitocondriais podem comprometer ATP, cálcio, sinalização redox e morte celular; em organismos fotossintéticos, alterações equivalentes afetam crescimento e produtividade. A disponibilidade de energia e o estado metabólico influenciam também a decisão de crescimento e proliferação celular, estabelecendo uma conexão direta com os mecanismos de controle do ciclo celular discutidos no Capítulo 5.

REFERÊNCIAS

BOCK, F. J.; TAIT, S. W. G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 21, n. 2, p. 85-100, 2020. DOI: 10.1038/s41580-019-0173-8.

BROOKS, G. A. The science and translation of lactate shuttle theory. Cell Metabolism, v. 27, n. 4, p. 757-785, 2018. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.03.008.

GORMAN, G. S. et al. Mitochondrial diseases. Nature Reviews Disease Primers, v. 2, 16080, 2016. DOI: 10.1038/nrdp.2016.80.

HINKLE, P. C. P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics, v. 1706, n. 1-2, p. 1-11, 2005. DOI: 10.1016/j.bbabio.2004.09.004.

LIU, Y. J.; SULC, J.; AUWERX, J. Mitochondrial genetics, signalling and stress responses. Nature Cell Biology, v. 27, p. 393-407, 2025. DOI: 10.1038/s41556-025-01625-w.

MITCHELL, P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. Nature, v. 191, p. 144-148, 1961. DOI: 10.1038/191144a0.

MIYAGISHIMA, S.-Y. Taming the perils of photosynthesis by eukaryotes: constraints on endosymbiotic evolution in aquatic ecosystems. Communications Biology, v. 6, 1150, 2023. DOI: 10.1038/s42003-023-05544-0.

MONZEL, A. S.; ENRÍQUEZ, J. A.; PICARD, M. Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction. Nature Metabolism, v. 5, n. 4, p. 546-562, 2023. DOI: 10.1038/s42255-023-00783-1.

NARENDRA, D. P.; YOULE, R. J. The role of PINK1-Parkin in mitochondrial quality control. Nature Cell Biology, v. 26, p. 1639-1651, 2024. DOI: 10.1038/s41556-024-01513-9.

SHARKEY, T. D. The end game(s) of photosynthetic carbon metabolism. Plant Physiology, v. 195, n. 1, p. 67-78, 2024. DOI: 10.1093/plphys/kiad601.

SHIKANAI, T. Molecular genetic dissection of the regulatory network of proton motive force in chloroplasts. Plant and Cell Physiology, v. 65, n. 4, p. 537-550, 2024. DOI: 10.1093/pcp/pcad157.

SPINELLI, J. B.; HAIGIS, M. C. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. Nature Cell Biology, v. 20, n. 7, p. 745-754, 2018. DOI: 10.1038/s41556-018-0124-1.

TÁBARA, L.-C.; SEGAWA, M.; PRUDENT, J. Molecular mechanisms of mitochondrial dynamics. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 26, p. 123-146, 2025. DOI: 10.1038/s41580-024-00785-1.

TIMM, S.; SUN, H.; HUANG, W. Photorespiration - emerging insights into photoprotection mechanisms. Trends in Plant Science, v. 29, n. 10, p. 1052-1055, 2024. DOI: 10.1016/j.tplants.2024.04.011.

VERCELLINO, I.; SAZANOV, L. A. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 23, p. 141-161, 2022. DOI: 10.1038/s41580-021-00415-0.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger Principles of Biochemistry. 8. ed. New York: W. H. Freeman, 2021.

Capítulo 5

10.37423/261011475

PROLIFERAÇÃO E ESTABILIDADE GENÔMICA: CONTROLE MOLECULAR DA REPRODUÇÃO CELULAR

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

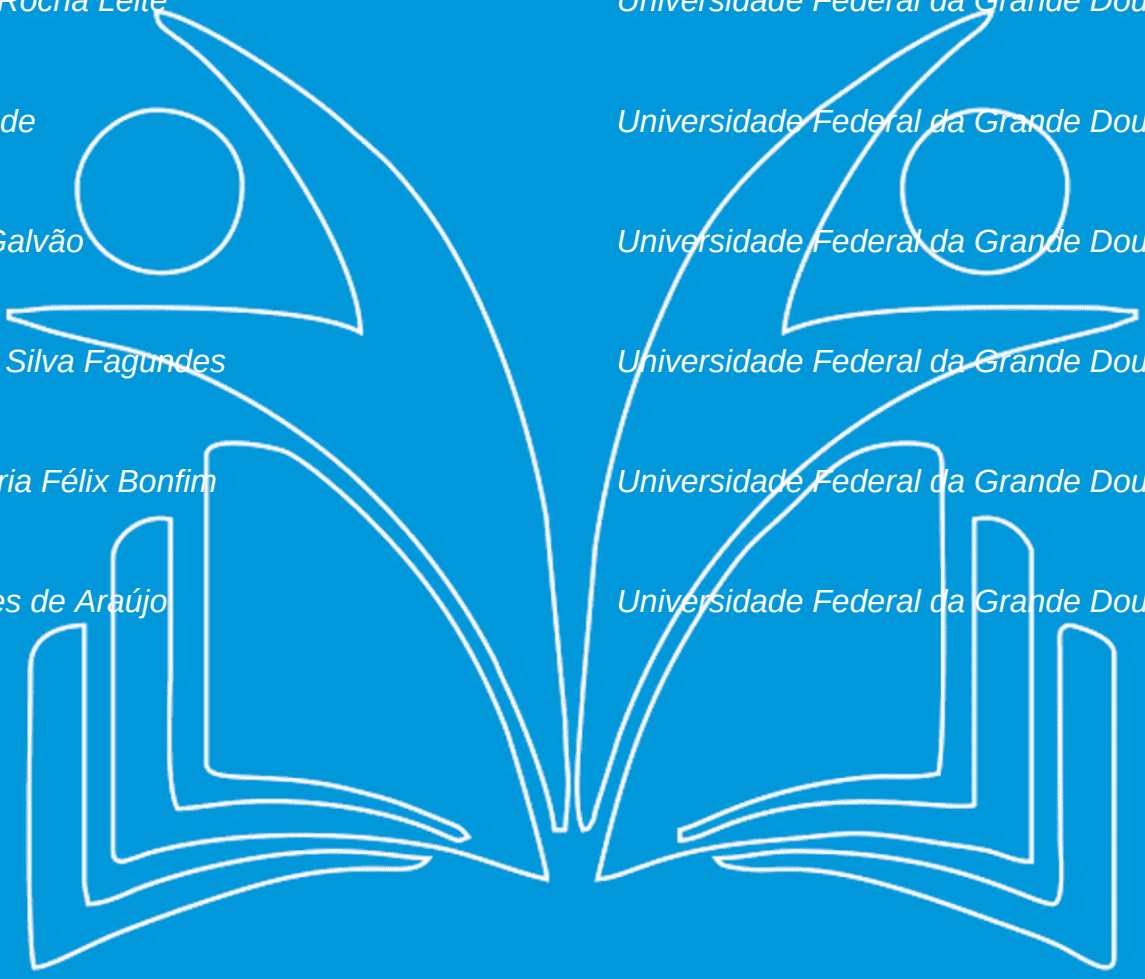
João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Renata Pires de Araújo — *Universidade Federal da Grande Dourados*



O ciclo celular corresponde ao conjunto ordenado de eventos que permite às células crescer, duplicar o material genético e, quando apropriado, dividir-se. Em organismos multicelulares, esse processo sustenta desenvolvimento, renovação tecidual e reparo, mas precisa ser ajustado ao estado fisiológico da célula e às condições do tecido. Matthews, Bertoli e De Bruin (2022) destacam que a progressão do ciclo resulta da integração entre estímulos proliferativos, mecanismos de replicação do DNA e sistemas de vigilância que impedem a transmissão de danos ou erros cromossômicos às células-filhas. Assim, divisão celular não depende apenas da sequência temporal G1-S-G2-M, mas de decisões moleculares que determinam se a célula deve proliferar, permanecer quiescente, diferenciar-se ou interromper o ciclo.

Nas células eucarióticas proliferativas, a interfase compreende G1, S e G2, seguida pela fase M, que inclui mitose e citocinese. A duração dessas etapas varia amplamente entre tipos celulares e condições fisiológicas, de modo que valores fixos, como um ciclo de 24 horas, representam apenas referências experimentais. Células diferenciadas podem permanecer por longos períodos em G0, enquanto populações progenitoras ou embrionárias apresentam ritmos distintos. O ponto central é que a progressão depende da ativação coordenada de complexos formados por ciclinas e quinases dependentes de ciclina (CDKs), cuja atividade aumenta e diminui de acordo com síntese, degradação, fosforilação e ação de inibidores específicos (NURSE, 2024; MATTHEWS; BERTOLI; DE BRUIN, 2022).

Em G1, a célula integra disponibilidade de nutrientes, fatores de crescimento, sinais de adesão e estresse. A via ciclina D-CDK4/6-RB-E2F participa de forma central dessa decisão: a fosforilação progressiva da proteína RB reduz sua capacidade de reprimir fatores E2F, permitindo expressão de genes necessários à replicação e à transição para S. Engeland (2022) ressalta que esse eixo interage com o sistema p53-p21, que pode reduzir a atividade de CDKs quando há dano ao DNA ou outros sinais incompatíveis com proliferação. Por isso, o chamado ponto de restrição de G1 não funciona como um simples interruptor isolado, mas como parte de uma rede que determina a persistência ou a reversão do compromisso proliferativo.

A fase S exige que cada região do genoma seja duplicada uma única vez. Esse controle começa ainda no final da mitose e em G1, quando complexos pré-replicativos são montados nas origens de replicação com participação de ORC, CDC6, CDT1 e do complexo helicase MCM2-7. Stillman, Diffley e Iwasa (2025) descrevem esse processo como licenciamento das origens, etapa que torna o cromossomo competente para replicação na fase S. Depois que a replicação começa, mecanismos dependentes de

CDKs, degradação de CDT1 e ação de geminina impedem novo licenciamento, reduzindo o risco de rereplicação e instabilidade genômica.

A replicação do DNA não ocorre sem intercorrências. Escassez de nucleotídeos, estruturas secundárias do DNA, transcrição concomitante, lesões químicas e ativação oncogênica podem reduzir a velocidade ou bloquear forquilhas de replicação. Nessas situações, a resposta ao estresse replicativo, especialmente por ATR e CHK1, limita a ativação de novas origens, estabiliza forquilhas e posterga a progressão do ciclo até que a replicação seja concluída. Quando há dano mais amplo ao DNA, ATM, p53 e outros componentes da resposta ao dano coordenam reparo, parada transitória, senescência ou morte celular, dependendo da intensidade e do contexto (DREW; ZENKE; CURTIN, 2025; FISCHER; SAMMONS, 2024).

A transição G2-M exige que a duplicação do genoma esteja suficientemente concluída e que danos relevantes não permaneçam sem resposta. O aumento da atividade de ciclina B-CDK1 desencadeia mudanças características da entrada em mitose, incluindo condensação cromossômica, reorganização do citoesqueleto e desmontagem do envelope nuclear em células com mitose aberta. Ao mesmo tempo, fosfatases e quinases adicionais, como PLK1 e Aurora, coordenam eventos espaciais e temporais. Essa organização mostra que os chamados checkpoints não são pontos anatômicos da célula, mas redes de sinalização capazes de retardar transições até que processos essenciais tenham alcançado condições compatíveis com continuidade do ciclo (MATTHEWS; BERTOLI; DE BRUIN, 2022).

A mitose distribui as cromátides-irmãs replicadas para dois núcleos-filhos. Embora seja tradicionalmente descrita em prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase, essas etapas representam uma sequência contínua de reorganizações da cromatina, dos microtúbulos e das membranas. Valdez et al. (2023) mostram que a montagem do fuso depende de nucleação, dinâmica e organização de microtúbulos em uma estrutura bipolar capaz de capturar cromossomos e gerar forças para sua movimentação. Os cinetócoros, formados na região centromérica, constituem a interface entre cromossomos e microtúbulos do fuso e precisam estabelecer ligações apropriadas para que a segregação seja precisa.

Antes da anáfase, o spindle assembly checkpoint monitora principalmente o estado das ligações entre cinetócoros e microtúbulos. Cinetócoros inadequadamente conectados mantêm a produção do complexo de checkpoint mitótico, que inibe CDC20 e, consequentemente, o complexo promotor da anáfase/ciclossomo (APC/C). Quando as ligações tornam-se adequadas, o sinal é silenciado, APC/C é

ativado e promove degradação de securina e ciclina B. A liberação de separase permite clivagem da coesina que mantém as cromátides-irmãs unidas, iniciando a anáfase (MCAINSH; KOPS, 2023). Esse mecanismo reduz, mas não elimina, erros de segregação.

A citocinese completa a divisão física. Em células animais, sinais derivados do fuso determinam o local de ativação de RHOA na região equatorial, promovendo montagem de actina e miosina II e formação do anel contrátil. A constrição origina uma ponte intercelular que é posteriormente resolvida por mecanismos de abscisão. As Rho GTPases, portanto, conectam informações espaciais do aparato mitótico à reorganização mecânica do córtex celular (BEMENT et al., 2024). Em células vegetais, a presença da parede celular exige outra estratégia: vesículas são direcionadas pelo fragmoplasto para formar a placa celular que separará as células-filhas.

Além de fosforilação, a progressão do ciclo depende de proteólise seletiva. As ubiquitina-ligases SCF e APC/C reconhecem diferentes conjuntos de proteínas e controlam sua degradação pelo proteassoma, contribuindo para tornar determinadas transições unidirecionais. A eliminação de ciclinas, inibidores e reguladores de coesão permite que a célula altere rapidamente seu estado molecular sem depender apenas de mudanças transcricionais. Essa combinação de atividade quinase, fosfatases e proteólise explica por que o ciclo celular é melhor compreendido como uma rede regulatória oscilatória do que como um cronômetro linear (MATTHEWS; BERTOLI; DE BRUIN, 2022).

A meiose utiliza parte dessa maquinaria, mas tem uma finalidade distinta: reduzir o número cromossômico e gerar gametas geneticamente diversos. Após uma única fase S, ocorrem duas divisões sucessivas. Na meiose I, cromossomos homólogos são pareados e segregados; na meiose II, ocorre separação das cromátides-irmãs. Durante a prófase I, que inclui leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese, forma-se o complexo sinaptonêmico e são induzidas quebras programadas de dupla fita que iniciam recombinação homóloga. Arter e Keeney (2024) ressaltam que a recombinação meiótica é importante tanto para diversidade genética quanto para estabelecer conexões físicas que favorecem a segregação correta dos homólogos.

Erros meióticos possuem consequências clínicas diretas. Falhas no pareamento, recombinação ou segregação podem produzir gametas aneuploides e contribuir para infertilidade, perdas gestacionais e alterações cromossômicas embrionárias. Em mamíferos, a gametogênese feminina e masculina também difere no ritmo e na distribuição citoplasmática: a ovogênese utiliza divisões assimétricas que preservam a maior parte do citoplasma no oócito, enquanto a espermatogênese produz células com

distribuição mais equilibrada. Essas diferenças não alteram a lógica cromossômica central da meiose, mas influenciam a biologia dos gametas e a susceptibilidade a determinados erros.

Em procariotos não ocorre mitose. A maioria das bactérias divide-se por fissão binária, processo em que replicação e segregação cromossômica são coordenadas com montagem do divisoma. FtsZ, homólogo estrutural da tubulina, organiza um anel na região de divisão e recruta proteínas responsáveis pela constrição da membrana e remodelamento do peptidoglicano. Cameron e Margolin (2024) enfatizam que a divisão bacteriana também possui controle espacial e temporal complexo, embora utilize componentes moleculares diferentes dos eucariotos.

A fidelidade do ciclo celular tem importância particular para a saúde humana porque erros persistentes podem gerar aneuploidia e instabilidade cromossômica. Chen et al. (2025) definem instabilidade cromossômica como aumento da propensão a adquirir alterações numéricas ou estruturais durante divisões sucessivas, contribuindo para heterogeneidade tumoral e evolução do câncer. Alterações em RB, TP53, ciclinas, CDKs, checkpoints mitóticos ou resposta ao dano podem facilitar proliferação de células que normalmente interromperiam o ciclo, mas a oncogênese não resulta simplesmente de uma divisão “mais rápida”; envolve perda de mecanismos que limitam a continuidade proliferativa e tolerância crescente a dano genômico (MATTHEWS; BERTOLI; DE BRUIN, 2022).

Essas dependências também possuem valor terapêutico. Inibidores de CDK4/6 já são utilizados em determinados cânceres e outras estratégias buscam explorar vulnerabilidades em ATR, CHK1, WEE1, mitose ou resposta ao dano. Contudo, a eficácia dessas intervenções depende do contexto molecular do tumor, porque bloqueios prolongados podem produzir senescência, morte, adaptação ou seleção de populações resistentes. Drew, Zenke e Curtin (2025) destacam que terapias dirigidas à resposta ao dano funcionam melhor quando relacionadas às deficiências específicas de reparo e controle presentes nas células tumorais.

O ciclo celular, portanto, integra duplicação do genoma, crescimento, segregação cromossômica e divisão física por mecanismos regulatórios parcialmente redundantes. Ciclinas e CDKs determinam transições; licenciamento e checkpoints preservam a replicação; fuso e cinetócoros controlam segregação; e proteólise direcionada torna a progressão ordenada. Esses mecanismos são retomados no Capítulo 6 para compreender como células-tronco equilibram quiescência, autorrenovação, diferenciação e resposta a lesões durante a manutenção e a regeneração dos tecidos.

REFERÊNCIAS

ARTER, M.; KEENEY, S. Divergence and conservation of the meiotic recombination machinery. Nature Reviews Genetics, v. 25, p. 309-325, 2024. DOI: 10.1038/s41576-023-00669-8.

BEMENT, W. M. et al. Patterning of the cell cortex by Rho GTPases. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 290-308, 2024. DOI: 10.1038/s41580-023-00682-z.

CAMERON, T. A.; MARGOLIN, W. Insights into the assembly and regulation of the bacterial divisome. Nature Reviews Microbiology, v. 22, p. 33-45, 2024. DOI: 10.1038/s41579-023-00942-x.

CHEN, X. et al. Chromosomal instability as a driver of cancer progression. Nature Reviews Genetics, v. 26, p. 31-46, 2025. DOI: 10.1038/s41576-024-00761-7.

DREW, Y.; ZENKE, F. T.; CURTIN, N. J. DNA damage response inhibitors in cancer therapy: lessons from the past, current status and future implications. Nature Reviews Drug Discovery, v. 24, p. 19-39, 2025. DOI: 10.1038/s41573-024-01060-w.

ENGELAND, K. Cell cycle regulation: p53-p21-RB signaling. Cell Death & Differentiation, v. 29, p. 946-960, 2022. DOI: 10.1038/s41418-022-00988-z.

FISCHER, M.; SAMMONS, M. A. Determinants of p53 DNA binding, gene regulation, and cell fate decisions. Cell Death & Differentiation, v. 31, p. 836-843, 2024. DOI: 10.1038/s41418-024-01326-1.

HU, Y.; STILLMAN, B. Origins of DNA replication in eukaryotes. Molecular Cell, v. 83, n. 3, p. 352-372, 2023. DOI: 10.1016/j.molcel.2022.12.024.

MATTHEWS, H. K.; BERTOLI, C.; DE BRUIN, R. A. M. Cell cycle control in cancer. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 23, p. 74-88, 2022. DOI: 10.1038/s41580-021-00404-3.

MCAINSH, A. D.; KOPS, G. J. P. L. Principles and dynamics of spindle assembly checkpoint signalling. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 24, p. 543-559, 2023. DOI: 10.1038/s41580-023-00593-z.

NURSE, P. The discovery of cyclin-dependent kinases. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 763, 2024. DOI: 10.1038/s41580-024-00765-5.

STILLMAN, B.; DIFFLEY, J. F. X.; IWASA, J. H. Mechanisms for licensing origins of DNA replication in eukaryotic cells. Nature Structural & Molecular Biology, v. 32, p. 1143-1153, 2025. DOI: 10.1038/s41594-025-01587-5.

VALDEZ, V. A.; NEAHRING, L.; PETRY, S.; DUMONT, S. Mechanisms underlying spindle assembly and robustness. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 24, p. 523-542, 2023. DOI: 10.1038/s41580-023-00584-0.

Capítulo 6

10.37423/261011476

PLASTICIDADE E DESTINO CELULAR: AUTORRENOVAÇÃO, DIFERENCIAÇÃO E REPARO TECIDUAL

Fabiana Gomes da Silva Dantas — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Células-tronco são definidas funcionalmente pela capacidade de autorrenovação e de produzir descendentes que podem avançar para estados de diferenciação mais restritos. Essas propriedades não implicam divisão ilimitada em qualquer condição, pois dependem do tipo celular, do estágio de desenvolvimento e dos sinais recebidos do microambiente. Em tecidos adultos, células-tronco podem permanecer quiescentes, proliferar ou diferenciar-se conforme a demanda fisiológica e a presença de lesão. Brunet, Goodell e Rando (2023) destacam que a manutenção dessas populações depende tanto de mecanismos intrínsecos quanto de sinais provenientes do nicho, incluindo células de suporte, matriz extracelular, fatores solúveis, metabolismo e estímulos mecânicos.

A classificação segundo o potencial de diferenciação continua útil, desde que aplicada com precisão. Células totipotentes são capazes de contribuir para estruturas embrionárias e extraembrionárias e estão restritas aos estágios iniciais do desenvolvimento. Células pluripotentes originam derivados dos três folhetos germinativos, mas não apresentam, em condições fisiológicas, a competência completa para formar um organismo. Células multipotentes geram conjuntos mais delimitados de linhagens, como ocorre com as células-tronco hematopoiéticas. A diferenciação, portanto, corresponde a uma progressiva restrição de potencial acompanhada por mudanças transcricionais, epigenéticas, metabólicas e estruturais, e não pela perda generalizada de informação genética. Essa classificação é utilizada internacionalmente para distinguir populações com potenciais biológicos diferentes e orientar sua caracterização experimental (LOVELL-BADGE et al., 2021).

A autorrenovação pode ocorrer por divisões simétricas ou assimétricas, mas o equilíbrio entre manutenção e diferenciação não depende obrigatoriamente de uma única modalidade de divisão. Em muitos tecidos, a estabilidade do compartimento de células-tronco emerge do comportamento coletivo da população e da competição por sinais do nicho. Vias como WNT, NOTCH, BMP, Hedgehog e Hippo participam de maneira específica conforme o tecido, enquanto os efetores YAP e TAZ integram sinais mecânicos, metabólicos e de adesão para modular proliferação e destino celular (DRISKILL; PAN, 2023). Estudos recentes mostram que forças físicas exercidas por células vizinhas e pela matriz também influenciam diretamente a organização e a diferenciação de células-tronco epiteliais (FIORE; ALMAGRO; FUCHS, 2025).

O epitélio intestinal é um dos modelos mais bem caracterizados de renovação contínua. Células LGR5+ localizadas na base das criptas produzem as principais linhagens epiteliais e respondem a sinais provenientes de células vizinhas e do estroma. Sato et al. (2009) demonstraram que uma única célula

LGR5+ pode gerar estruturas tridimensionais auto-organizadas contendo diferentes tipos celulares do epitélio intestinal, estabelecendo uma das bases experimentais da tecnologia de organoides. Atualmente, entende-se que a regeneração intestinal não depende de uma população absolutamente fixa: após lesão, células progenitoras ou diferenciadas podem adquirir plasticidade e contribuir para recompor o compartimento de células-tronco, o que amplia o modelo clássico de uma hierarquia rígida (SHAY; YILMAZ, 2025).

A pele também apresenta renovação contínua e capacidade de reparo, mas o fechamento de uma ferida não corresponde simplesmente à expansão de uma única população de células-tronco. Keratinócitos, fibroblastos, células endoteliais, células imunes e componentes da matriz extracelular participam de fases coordenadas de inflamação, reepitelização, angiogênese e remodelamento. Peña e Martin (2024) demonstram que a regeneração funcional é limitada pelo grau de lesão e pelo contexto tecidual; feridas extensas frequentemente resultam em cicatriz fibrosa, mostrando que regeneração e reparo não são sinônimos. Esse princípio é relevante para a medicina regenerativa, pois o aumento da proliferação celular, isoladamente, não garante restauração da arquitetura e da função do tecido.

Outros órgãos utilizam estratégias distintas. O fígado possui elevada capacidade regenerativa e, em muitas condições, sua recuperação depende principalmente da proliferação de hepatócitos maduros e de outras células residentes, sem necessidade de uma população de células-tronco permanentemente ativa em muitas situações de lesão aguda (JIANG et al., 2023). Em contrapartida, tecidos com baixa renovação apresentam limitações mais pronunciadas após lesões extensas. No sistema nervoso central humano, por exemplo, a extensão da neurogênese adulta, particularmente no hipocampo, continua sendo objeto de debate metodológico e biológico. Simard, Matosin e Mechawar (2025) ressaltam que estudos por imunohistoquímica e abordagens transcriptômicas produziram resultados divergentes, de modo que não é adequado apresentar a formação contínua de novos neurônios no cérebro adulto humano como um processo quantitativamente estabelecido.

A hematopoese constitui outro modelo central de manutenção por células-tronco. Células-tronco hematopoiéticas e progenitores associados estabelecem-se na medula óssea e produzem continuamente as diferentes linhagens sanguíneas. Esse processo depende de nichos heterogêneos formados por células endoteliais, células estromais, componentes neurais e sinais solúveis que regulam quiescência, autorrenovação, diferenciação e mobilização (CAIN; DERECKA; MCKINNEY-FREEMAN, 2025). Modelos atuais também mostram que a hematopoese é mais contínua e

heterogênea do que as antigas árvores de diferenciação sugeriam, com progenitores apresentando diferentes graus de viés de linhagem.

A formação das células do sistema imune ilustra a necessidade de distinguir origem, maturação e manutenção. Progenitores hematopoiéticos originados na medula óssea dão origem às principais linhagens sanguíneas, enquanto precursores de linfócitos T migram para o timo, onde completam etapas essenciais de diferenciação e seleção. Além disso, nem todos os macrófagos teciduais derivam continuamente de monócitos circulantes: populações residentes de diferentes órgãos podem ser estabelecidas durante o desenvolvimento embrionário e persistir por autorrenovação no adulto (LAZAROV et al., 2023). Essas observações substituem uma interpretação linear e uniforme da hematopoese por um modelo dependente da história de desenvolvimento e do nicho tecidual.

A capacidade regenerativa também se modifica com o envelhecimento. Danos ao DNA, alterações epigenéticas, disfunção mitocondrial, inflamação crônica e mudanças na composição do nicho podem reduzir a função de células-tronco ou alterar o equilíbrio entre autorrenovação e diferenciação. Brunet, Goodell e Rando (2023) destacam que o declínio regenerativo não é exclusivamente consequência do envelhecimento intrínseco das células-tronco; fatores sistêmicos e alterações do microambiente participam do processo. Essa distinção é importante porque estratégias de regeneração podem precisar modificar o nicho e o estado inflamatório, e não apenas fornecer novas células.

A possibilidade de reverter estados de diferenciação foi demonstrada inicialmente por experimentos de transferência nuclear. Gurdon (1962) mostrou que núcleos provenientes de células diferenciadas de Xenopus ainda continham informação genética suficiente para sustentar desenvolvimento quando transferidos para ovócitos enucleados. Esses experimentos indicaram que a diferenciação celular decorre principalmente de mudanças na utilização do genoma e no estado da cromatina, e não da perda irreversível de genes. A reprogramação exige, entretanto, extensa reorganização epigenética e não ocorre com a mesma eficiência em todos os núcleos ou condições experimentais.

A reprogramação ganhou aplicação mais ampla com a geração de células-tronco pluripotentes induzidas. Takahashi et al. (2007) demonstraram que fibroblastos humanos adultos podiam ser convertidos para um estado pluripotente mediante expressão de OCT4, SOX2, KLF4 e c-MYC. As células iPS preservam o genoma do doador e podem ser diferenciadas em diversos tipos celulares, permitindo produzir modelos específicos de pacientes para estudar doenças, testar fármacos e investigar mecanismos de desenvolvimento. A tecnologia também reduziu a dependência de células-tronco

embrionárias em várias aplicações experimentais, embora não elimine questões relacionadas à qualidade, à segurança e à fidelidade da diferenciação.

Reprogramação celular não precisa necessariamente passar por pluripotência. Na conversão direta, fatores de transcrição, moléculas reguladoras ou combinações de sinais podem deslocar uma célula somática para outro estado de identidade sem uma fase pluripotente intermediária. Wang et al. (2021) mostram que essa abordagem já foi aplicada experimentalmente à geração de neurônios, cardiomiócitos, células hepáticas e outras linhagens, mas a eficiência, a maturação funcional e a estabilidade dos estados obtidos permanecem variáveis. Portanto, a conversão direta é uma ferramenta de pesquisa relevante e uma possibilidade translacional, mas não deve ser tratada como equivalente a uma terapia estabelecida.

A tecnologia de organoides ampliou a utilidade experimental das células-tronco. Organoides são estruturas tridimensionais auto-organizadas derivadas de células pluripotentes ou de células-tronco residentes em tecidos e reproduzem parte da arquitetura, diversidade celular e função de órgãos. Andersson-Rolf e Clevers (2026) ressaltam que esses sistemas permitem investigar mecanismos de doença, respostas a medicamentos, toxicidade e variação entre pacientes em condições mais próximas da organização tecidual do que culturas bidimensionais. Entretanto, organoides continuam sendo modelos reduzidos: vascularização, inervação, componentes imunes, forças mecânicas e maturação podem permanecer incompletos, dependendo do sistema utilizado.

O uso de células pluripotentes exige controle rigoroso da estabilidade genética e epigenética. Durante reprogramação, expansão e diferenciação, clones com alterações cromossômicas ou vantagens proliferativas podem ser selecionados. Além disso, células pluripotentes residuais em um produto diferenciado representam risco de formação de teratomas. Yamanaka (2020) identifica tumorigenicidade, imunogenicidade e heterogeneidade como desafios centrais para a tradução clínica de células pluripotentes, e trabalhos recentes continuam a desenvolver métodos para eliminar células indiferenciadas residuais antes da administração de produtos celulares (XIA; QIN; YE, 2025).

A obtenção de células autólogas não elimina automaticamente problemas imunológicos ou de qualidade. Células iPS podem reproduzir variantes genéticas presentes no paciente, adquirir alterações durante o cultivo e originar produtos diferenciados com graus distintos de maturação e imunogenicidade. A escolha entre fontes autólogas e alogênicas depende da indicação, da logística de

produção, do tempo disponível e da necessidade de padronização; essas implicações clínicas e regulatórias são retomadas no Capítulo 10 (YAMANAKA, 2020).

Do ponto de vista experimental e clínico, células-tronco não devem ser tratadas como uma categoria homogênea. Células embrionárias, iPS, células-tronco hematopoiéticas, epiteliais, neurais ou mesenquimais possuem propriedades, potenciais e níveis de evidência distintos. A International Society for Stem Cell Research recomenda que a tradução clínica de intervenções baseadas em células seja acompanhada por caracterização pré-clínica adequada, controle de qualidade, avaliação de risco e supervisão ética e regulatória (LOVELL-BADGE et al., 2021). Essa distinção é necessária para separar resultados experimentais promissores de intervenções cuja eficácia e segurança ainda não foram demonstradas.

Em conjunto, os estudos de células-tronco mostram que renovação e regeneração dependem da interação entre potencial celular e contexto tecidual. Nichos, plasticidade após lesão, hematopoese, reprogramação, iPS e organoides ampliaram a capacidade de estudar desenvolvimento e doença, mas também evidenciaram limites de maturação, estabilidade e segurança. Para investigar esses fenômenos, os Capítulos 7 e 8 apresentam, respectivamente, técnicas de microscopia e métodos moleculares; as aplicações terapêuticas da manipulação celular são discutidas posteriormente no Capítulo 10.

REFERÊNCIAS

ANDERSSON-ROLF, A.; CLEVERS, H. New developments and applications of human organoids. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 27, p. 543-558, 2026. DOI: 10.1038/s41580-026-00974-0.

BRUNET, A.; GOODELL, M. A.; RANDO, T. A. Ageing and rejuvenation of tissue stem cells and their niches. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 24, p. 45-62, 2023. DOI: 10.1038/s41580-022-00510-w.

CAIN, T. L.; DERECKA, M.; MCKINNEY-FREEMAN, S. The role of the haematopoietic stem cell niche in development and ageing. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 26, p. 32-50, 2025. DOI: 10.1038/s41580-024-00770-8.

DRISKILL, J. H.; PAN, D. Control of stem cell renewal and fate by YAP and TAZ. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 24, p. 895-911, 2023. DOI: 10.1038/s41580-023-00644-5.

FIORE, V. F.; ALMAGRO, J.; FUCHS, E. Shaping epithelial tissues by stem cell mechanics in development and cancer. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 26, p. 442-455, 2025. DOI: 10.1038/s41580-024-00821-0.

GURDON, J. B. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. Journal of Embryology and Experimental Morphology, v. 10, p. 622-640, 1962. DOI: 10.1242/dev.10.4.622.

JIANG, Y. et al. Hepatocyte reprogramming in liver regeneration: biological mechanisms and applications. The FEBS Journal, v. 290, n. 24, p. 5674-5688, 2023. DOI: 10.1111/febs.16930.

LAZAROV, T.; JUAREZ-CARREÑO, S.; COX, N.; GEISSMANN, F. Physiology and diseases of tissue-resident macrophages. Nature, v. 618, p. 698-707, 2023. DOI: 10.1038/s41586-023-06002-x.

LOVELL-BADGE, R. et al. ISSCR Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation: the 2021 update. Stem Cell Reports, v. 16, n. 6, p. 1398-1408, 2021. DOI: 10.1016/j.stemcr.2021.05.012.

PEÑA, O. A.; MARTIN, P. Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 599-616, 2024. DOI: 10.1038/s41580-024-00715-1.

SATO, T. et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. Nature, v. 459, p. 262-265, 2009. DOI: 10.1038/nature07935.

SHAY, J. E. S.; YILMAZ, Ö. H. Dietary and metabolic effects on intestinal stem cells in health and disease. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, v. 22, p. 23-38, 2025. DOI: 10.1038/s41575-024-00980-7.

SIMARD, S.; MATOSIN, N.; MECHAWAR, N. Adult hippocampal neurogenesis in the human brain: updates, challenges, and perspectives. The Neuroscientist, v. 31, n. 2, p. 141-158, 2025. DOI: 10.1177/10738584241252581.

TAKAHASHI, K. et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell, v. 131, n. 5, p. 861-872, 2007. DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.019.

WANG, H.; YANG, Y.; LIU, J.; QIAN, L. Direct cell reprogramming: approaches, mechanisms and progress. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 22, p. 410-424, 2021. DOI: 10.1038/s41580-021-00335-z.

XIA, L.; QIN, J.; YE, S. Addressing the challenges of immunogenicity, heterogeneity and tumorigenicity in the clinical translation of human embryonic stem cells. Stem Cell Research & Therapy, v. 16, art. 694, 2025. DOI: 10.1186/s13287-025-04826-0.

YAMANAKA, S. Pluripotent stem cell-based cell therapy-promise and challenges. Cell Stem Cell, v. 27, n. 4, p. 523-531, 2020. DOI: 10.1016/j.stem.2020.09.014.

Capítulo 7

10.37423/261011477

EXPLORANDO A CÉLULA POR IMAGENS: RECURSOS ÓPTICOS E ESTRATÉGIAS DE ANÁLISE

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Adriana Araújo de Almeida Apolonio — *Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul*

A microscopia é um conjunto de métodos de formação de imagens que permite analisar estruturas e processos cuja escala é inferior à capacidade de resolução do olho humano. Sua importância para a biologia celular decorre não apenas do aumento aparente do objeto, mas principalmente da possibilidade de distinguir estruturas próximas, gerar contraste e localizar componentes moleculares em células e tecidos. O desenvolvimento dos microscópios ópticos nos séculos XVII e XIX contribuiu diretamente para a formulação da teoria celular e para a identificação de microrganismos; Hooke descreveu estruturas celulares em cortiça, enquanto as observações de Leeuwenhoek ampliaram o conhecimento sobre organismos microscópicos (GEST, 2004). A evolução posterior da óptica, dos detectores, dos fluoróforos, da microscopia eletrônica e do processamento computacional transformou a microscopia em uma ferramenta quantitativa aplicada à pesquisa biomédica e ao diagnóstico.

Em microscopia, ampliação e resolução são propriedades diferentes. A ampliação aumenta o tamanho aparente da imagem, mas não cria detalhes que o sistema óptico não consegue resolver. A resolução espacial depende, entre outros fatores, do comprimento de onda da iluminação, da abertura numérica da objetiva e da qualidade do sistema óptico. Em microscopia óptica convencional, a difração limita a separação de detalhes a aproximadamente centenas de nanômetros, de modo que aumentos muito elevados podem resultar apenas em ampliação vazia. Prakash et al. (2024) ressaltam que a resolução deve ser avaliada juntamente com relação sinal-ruído, contraste, densidade de marcação e estratégia de reconstrução, especialmente em técnicas de super-resolução. Assim, a escolha do microscópio deve considerar a dimensão da estrutura de interesse e o tipo de informação biológica que se pretende obter.

A microscopia de campo claro continua amplamente empregada em histologia, citologia, microbiologia e anatomia patológica. A luz transmitida atravessa a preparação e o contraste resulta da absorção e do espalhamento produzidos pela amostra, frequentemente após coloração. Preparações com hematoxilina e eosina, colorações microbiológicas e esfregaços citológicos permanecem relevantes porque permitem avaliar arquitetura tecidual, morfologia celular e relações entre núcleo, citoplasma e matriz extracelular. Entretanto, células vivas e não coradas apresentam baixo contraste nesse sistema. O campo escuro contorna parcialmente essa limitação ao bloquear a iluminação direta e registrar principalmente a luz espalhada pela amostra, tornando estruturas finas e pouco absorventes visíveis sobre fundo escuro. Já a microscopia de polarização explora birrefringência e anisotropia

óptica, sendo útil para cristais, fibras organizadas e outros materiais que modificam o estado de polarização da luz.

Para amostras transparentes não coradas, o contraste de fase converte diferenças de fase produzidas por variações de espessura e índice de refração em diferenças de intensidade detectáveis. Essa característica permite acompanhar células vivas em cultura sem a necessidade de marcação, embora halos e outros artefatos possam dificultar a interpretação de bordas e estruturas pequenas; abordagens quantitativas e modificações ópticas podem reduzir essas limitações (NGUYEN et al., 2017). A microscopia de contraste por interferência diferencial, ou DIC, utiliza feixes polarizados com pequeno deslocamento lateral e produz imagens com forte realce de gradientes ópticos. O DIC é particularmente útil para células vivas e estruturas transparentes, mas sua aparência de relevo não representa topografia tridimensional real e a técnica não deve ser descrita, de forma geral, como possuindo resolução fundamentalmente superior à de outros sistemas que utilizam objetiva e comprimento de onda equivalentes (WANG et al., 2023).

A microscopia de fluorescência acrescenta especificidade molecular à imagem. Fluoróforos absorvem fótons em determinada faixa espectral e emitem luz em comprimentos de onda maiores, permitindo localizar estruturas marcadas seletivamente. Corantes como DAPI podem evidenciar DNA, sondas fluorescentes podem detectar íons ou características fisiológicas, anticorpos conjugados permitem localizar proteínas e a hibridação in situ fluorescente possibilita identificar sequências nucleicas específicas. Proteínas fluorescentes geneticamente codificadas também permitem acompanhar moléculas em células vivas. Lichtman e Conchello (2005) destacam que a qualidade da imagem depende da relação entre excitação, emissão, eficiência do marcador, filtros, detector e fundo de fluorescência. Portanto, intensidade observada não deve ser interpretada automaticamente como quantidade molecular sem controles, calibração e condições de aquisição comparáveis.

A fluorescência também apresenta limitações que precisam ser consideradas no desenho experimental. Fotobranqueamento reduz progressivamente a emissão dos fluoróforos, enquanto a fototoxicidade pode alterar metabolismo, morfologia e viabilidade de células vivas. A exposição à luz, especialmente quando intensa ou repetida, pode gerar espécies reativas e produzir respostas celulares que se confundem com o fenômeno investigado. Kasprzycka et al. (2024) destacam que redução da dose luminosa, escolha adequada de fluoróforos, detectores mais sensíveis e processamento computacional podem diminuir esses efeitos. Experimentos multicanais também exigem controle de

sobreposição espectral, autofluorescência e marcação inespecífica. Essas limitações mostram que a imagem microscópica é resultado de interação entre a amostra e o sistema de detecção, e não uma reprodução neutra e direta da estrutura biológica.

Na microscopia confocal, um feixe de laser é focalizado na amostra e a luz emitida passa por uma abertura espacial, o pinhole, que reduz a contribuição proveniente de planos fora de foco. Esse princípio produz seccionamento óptico e permite adquirir séries de imagens em diferentes profundidades para reconstruções tridimensionais. Conchello e Lichtman (2005) mostram que o ganho de contraste e discriminação axial depende da abertura do pinhole, da objetiva, da intensidade de sinal e do processamento de imagem. O confocal é amplamente utilizado em imunofluorescência, análise de organelas, matriz extracelular, biofilmes e modelos tridimensionais. Entretanto, a aquisição ponto a ponto pode ser mais lenta e aumentar fotobranqueamento e fototoxicidade, razão pela qual confocal não constitui automaticamente a melhor escolha para qualquer experimento de fluorescência.

A observação de processos dinâmicos requer equilibrar resolução espacial, resolução temporal, profundidade de imagem e viabilidade celular. Shroff et al. (2024) mostram que a microscopia de células vivas tem sido ampliada por métodos computacionais de redução de ruído, reconstrução, rastreamento e segmentação, permitindo extrair informação de imagens adquiridas com menor exposição luminosa. A microscopia de folha de luz constitui outra estratégia para amostras tridimensionais e organismos vivos: a excitação é restrita a um plano fino e a detecção ocorre em eixo aproximadamente ortogonal, reduzindo a exposição de regiões fora do plano focal. Essa configuração favorece aquisição rápida de volumes e reduz fototoxicidade em comparação com modalidades que iluminam repetidamente toda a espessura da amostra (STELZER et al., 2021).

O preparo da amostra é determinante para a informação obtida. Fixação química, desidratação, inclusão, corte e coloração preservam determinadas estruturas, mas podem modificar volume, conformação molecular e distribuição de componentes. Formaldeído é amplamente utilizado para preservar tecidos e proteínas por formação de ligações cruzadas, enquanto glutaraldeído proporciona preservação estrutural mais intensa e é frequente em microscopia eletrônica. A escolha do fixador precisa ser compatível com o alvo, porque preservação morfológica máxima pode reduzir acessibilidade de epítopos ou atividade molecular. Em imagens de células vivas, esses artefatos de fixação são evitados, mas surgem outros problemas, como movimento, fototoxicidade e necessidade

de manter temperatura, pH e atmosfera adequados. Por isso, o método de preparo deve ser definido a partir da pergunta experimental, e não apenas do equipamento disponível.

A microscopia eletrônica substitui fótons por elétrons acelerados e utiliza lentes eletromagnéticas para formar imagens com resolução muito superior à da microscopia óptica convencional. Na microscopia eletrônica de transmissão (MET), elétrons atravessam seções finas ou amostras suficientemente delgadas, e diferenças de espalhamento produzem contraste relacionado à densidade e à composição do material. Esse método permite examinar membranas, organelas, complexos supramoleculares, vírus e detalhes de ultraestrutura. A preparação convencional envolve fixação, desidratação, inclusão, ultramicrotomia e contraste com metais pesados, etapas que podem introduzir alterações; por isso, a interpretação deve considerar possíveis artefatos de processamento. A microscopia eletrônica não fornece, portanto, apenas uma imagem mais ampliada, mas um tipo distinto de informação estrutural obtida sob condições experimentais específicas.

Na microscopia eletrônica de varredura (MEV), um feixe percorre a superfície da amostra e detectores registram elétrons secundários ou retroespalhados produzidos pela interação com o material. Em amostras biológicas convencionais, fixação, desidratação e recobrimento condutor são frequentemente empregados. O resultado apresenta forte informação de topografia superficial e aparência tridimensional, embora a imagem bidimensional não corresponda, por si só, a uma reconstrução volumétrica completa. MET e MEV possuem aplicações complementares: o primeiro privilegia ultraestrutura interna de seções ou amostras delgadas, enquanto o segundo é especialmente adequado à análise de superfícies, interfaces, biomateriais, células aderidas e biofilmes.

A criomicroscopia eletrônica modificou a análise estrutural ao permitir preservar amostras em gelo vítreo, reduzindo algumas alterações associadas à desidratação e ao contraste por metais. Weissenberger, Henderikx e Peters (2021) enfatizam que a vitrificação e a preparação da grade continuam sendo etapas críticas capazes de introduzir vieses. Em células e estruturas mais espessas, a criotomografia eletrônica pode adquirir projeções em diferentes ângulos e gerar volumes tridimensionais, possibilitando examinar complexos macromoleculares em contexto celular. Nogales e Mahamid (2024) destacam que essa integração aproxima biologia estrutural e biologia celular, embora ainda exija equipamentos especializados, preparação rigorosa e processamento computacional intensivo.

As técnicas de super-resolução foram desenvolvidas para contornar o limite de difração da microscopia óptica convencional. STED reduz a região efetivamente fluorescente por depleção estimulada; PALM e STORM utilizam localização de moléculas individuais ativadas ou emissoras em momentos diferentes; e outras modalidades, como SIM, aumentam a informação espacial por iluminação estruturada e reconstrução computacional. Essas estratégias podem atingir escalas de dezenas de nanômetros em condições apropriadas, mas não existe uma resolução única aplicável a todas as amostras. Prakash et al. (2024) ressaltam que densidade de marcação, movimento molecular, fotofísica do fluoróforo, algoritmo e razão sinal-ruído influenciam o detalhe recuperável. A super-resolução é, portanto, particularmente útil quando a pergunta exige organização suborganelar ou distribuição nanométrica de moléculas, mas seu uso demanda controles contra artefatos de reconstrução e interpretação.

Métodos correlativos buscam combinar a especificidade molecular da fluorescência com a informação ultraestrutural da microscopia eletrônica. Na microscopia correlativa de luz e elétrons (CLEM), uma estrutura de interesse é identificada por imagem óptica e posteriormente examinada por microscopia eletrônica na mesma região. Shafiei et al. (2025) descrevem aplicações em tecidos humanos e modelos experimentais, nas quais a correlação permite relacionar marcador molecular e arquitetura subcelular. Abordagens criogênicas mais recentes integram fluorescência e criotomografia para localizar eventos raros antes da aquisição de alta resolução, ampliando a capacidade de estudar macromoléculas no ambiente celular (SAUVANET et al., 2025). O ganho de informação, entretanto, vem acompanhado de maior complexidade de registro, preparação e análise.

A digitalização da microscopia também modificou a forma como imagens são armazenadas e analisadas. Em patologia, scanners de lâmina inteira permitem converter preparações histológicas em imagens digitais de grande dimensão, que podem ser revisadas remotamente e submetidas a mensuração quantitativa. Métodos computacionais podem segmentar núcleos, classificar tecidos, contar células e extrair características morfológicas. Komura, Ochi e Ishikawa (2024) destacam o avanço do aprendizado de máquina na análise histopatológica, mas também problemas de variação entre instituições, dados anotados insuficientes e interpretabilidade. Em revisão sistemática, McGenity et al. (2024) encontraram desempenho diagnóstico promissor para inteligência artificial em lâminas digitais, porém com heterogeneidade metodológica e risco de viés relevante em grande parte dos estudos, indicando que validação clínica continua necessária.

A análise quantitativa de imagens exige atenção semelhante à de qualquer outro método experimental. Configurações de aquisição, ganho do detector, iluminação, objetiva, espessura óptica, resolução de pixel e processamento devem ser documentados e mantidos comparáveis quando imagens serão quantificadas. Ajustes destinados apenas à visualização não devem modificar seletivamente grupos experimentais, e algoritmos de segmentação precisam ser validados contra estruturas biologicamente reconhecíveis. A deconvolução pode melhorar contraste e separação de sinais quando utiliza modelos adequados da função de espalhamento pontual, mas não substitui dados ausentes. Em imagens tridimensionais e séries temporais, o volume de dados torna automação e análise computacional cada vez mais importantes, sem eliminar a necessidade de controle experimental e inspeção crítica dos resultados (SHROFF et al., 2024).

Na biotecnologia aplicada à saúde, a escolha da técnica depende da escala e do tipo de informação necessária. Campo claro e colorações histológicas são adequados para arquitetura tecidual; contraste de fase e DIC favorecem observação de células vivas não marcadas; fluorescência e confocal permitem localização molecular; super-resolução detalha organização abaixo do limite convencional; MET e criomicroscopia revelam ultraestrutura; e MEV caracteriza superfícies. A microscopia responde principalmente onde e como estruturas estão organizadas; o Capítulo 8 complementa essa informação ao apresentar técnicas que identificam e quantificam DNA, RNA, proteínas e metabólitos.

REFERÊNCIAS

CONCHELLO, J.-A.; LICHTMAN, J. W. Optical sectioning microscopy. Nature Methods, v. 2, p. 920-931, 2005. DOI: 10.1038/nmeth815.

GEST, H. The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, fellows of the Royal Society. Notes and Records of the Royal Society of London, v. 58, n. 2, p. 187-201, 2004. DOI: 10.1098/rsnr.2004.0055.

KASPRZYCKA, W.; SZUMIGRAJ, W.; WACHULAK, P.; TRAFNY, E. A. New approaches for low phototoxicity imaging of living cells and tissues. BioEssays, v. 46, n. 5, e2300122, 2024. DOI: 10.1002/bies.202300122.

KOMURA, D.; OCHI, M.; ISHIKAWA, S. Machine learning methods for histopathological image analysis: updates in 2024. Computational and Structural Biotechnology Journal, v. 27, p. 383-400, 2024. DOI: 10.1016/j.csbj.2024.12.033.

LICHTMAN, J. W.; CONCHELLO, J.-A. Fluorescence microscopy. Nature Methods, v. 2, p. 910-919, 2005. DOI: 10.1038/nmeth817.

MCGENITY, C. et al. Artificial intelligence in digital pathology: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. npj Digital Medicine, v. 7, 114, 2024. DOI: 10.1038/s41746-024-01106-8.

NGUYEN, T. H. et al. Halo-free phase contrast microscopy. Scientific Reports, v. 7, 44034, 2017. DOI: 10.1038/srep44034.

NOGALES, E.; MAHAMID, J. Bridging structural and cell biology with cryo-electron microscopy. Nature, v. 628, p. 47-56, 2024. DOI: 10.1038/s41586-024-07198-2.

PRAKASH, K. et al. Resolution in super-resolution microscopy: definition, trade-offs and perspectives. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 677-682, 2024. DOI: 10.1038/s41580-024-00755-7.

SAUVANET, C. et al. Correlative cryogenic light and electron tomography of eukaryotic cells. Nature Reviews Methods Primers, v. 5, 77, 2025. DOI: 10.1038/s43586-025-00447-2.

SHAFIEI, N. et al. Correlative light and electron microscopy for human brain and other biological models. Nature Protocols, v. 20, p. 2994-3023, 2025. DOI: 10.1038/s41596-025-01153-9.

SHROFF, H.; TESTA, I.; JUG, F.; MANLEY, S. Live-cell imaging powered by computation. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 443-463, 2024. DOI: 10.1038/s41580-024-00702-6.

STELZER, E. H. K. et al. Light sheet fluorescence microscopy. Nature Reviews Methods Primers, v. 1, 73, 2021. DOI: 10.1038/s43586-021-00069-4.

WANG, X. et al. Single-shot isotropic differential interference contrast microscopy. Nature Communications, v. 14, 2063, 2023. DOI: 10.1038/s41467-023-37606-6.

WEISSENBERGER, G.; HENDERIKX, R. J. M.; PETERS, P. J. Understanding the invisible hands of sample preparation for cryo-EM. Nature Methods, v. 18, p. 463-471, 2021. DOI: 10.1038/s41592-021-01130-6.

Capítulo 8

10.37423/261011478

INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DA CÉLULA: FERRAMENTAS ANALÍTICAS E TECNOLOGIAS CONTEMPORÂNEAS

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

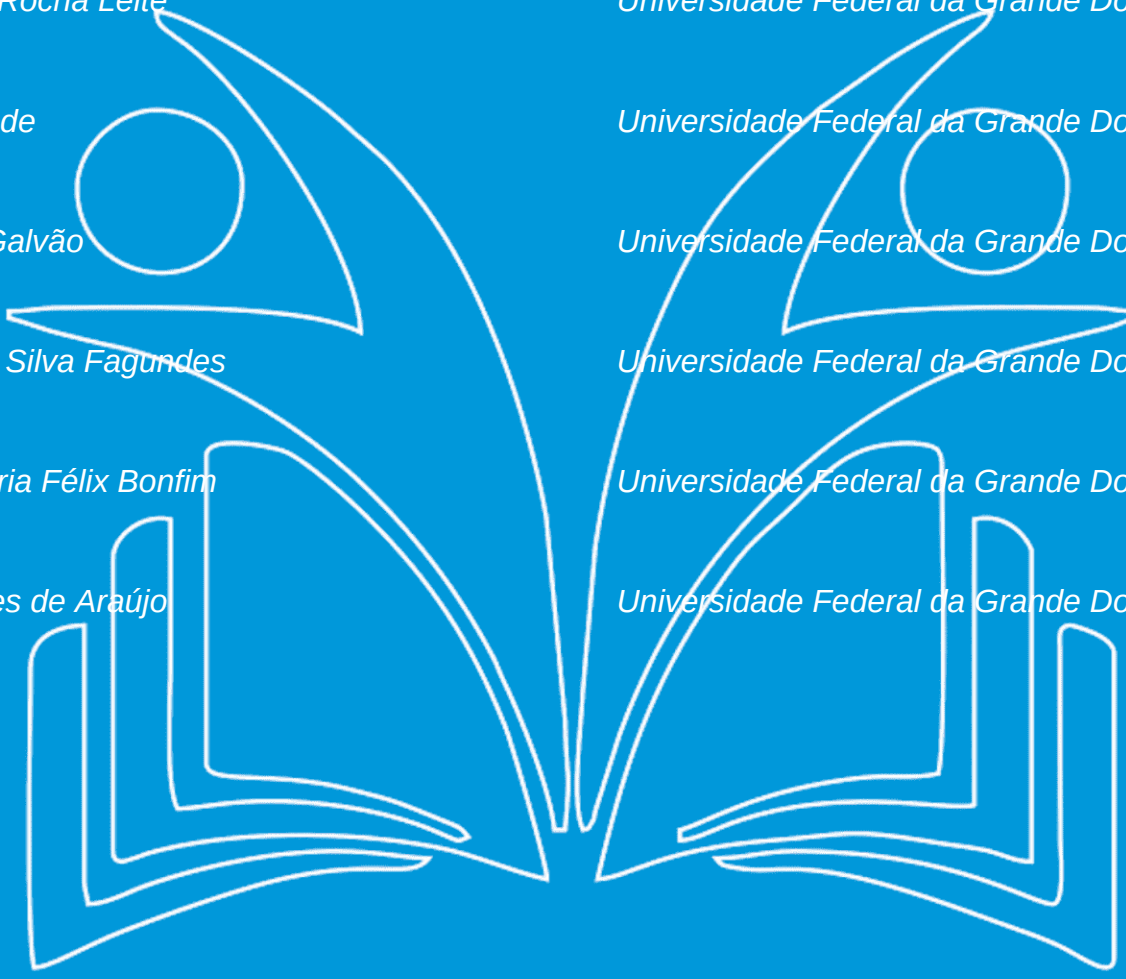
João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Renata Pires de Araújo — *Universidade Federal da Grande Dourados*



As técnicas moleculares ampliaram o estudo da célula ao permitir a análise direta de DNA, RNA, proteínas e metabólitos, complementando a informação morfológica obtida por microscopia. Eletroforese, métodos de hibridização, PCR e sequenciamento continuam úteis para perguntas direcionadas, enquanto abordagens ômicas permitem caracterizar milhares de moléculas de forma simultânea. A escolha do método deve decorrer da pergunta experimental, porque nenhuma técnica oferece, isoladamente, informação completa sobre genoma, expressão gênica, abundância proteica e estado metabólico. Brooks et al. (2024) ressaltam que diferenças de desenho experimental, processamento e análise podem produzir resultados distintos mesmo quando tecnologias semelhantes são empregadas, tornando controles e padronização partes do próprio experimento.

A qualidade da análise começa antes da etapa instrumental. Coleta, conservação, extração e quantificação de ácidos nucleicos ou proteínas influenciam diretamente a integridade da amostra e podem introduzir vieses que não são corrigidos posteriormente por métodos computacionais. Em estudos de microbioma, por exemplo, Ece et al. (2026) mostram que método de coleta, armazenamento e lise celular modificam os perfis microbianos observados. O mesmo princípio se aplica à transcriptômica e à proteômica: degradação de RNA, contaminação, baixa eficiência de extração ou diferenças sistemáticas entre lotes podem ser interpretadas incorretamente como variação biológica.

A eletroforese continua sendo uma técnica básica de separação molecular. Ácidos nucleicos migram em um campo elétrico devido à carga negativa do esqueleto fosfato, e sua velocidade em uma matriz de agarose ou poliacrilamida depende principalmente do tamanho e da conformação. Para proteínas, a separação pode explorar carga, tamanho e estado conformacional; em SDS-PAGE, a desnaturação e a associação com SDS reduzem a influência da carga intrínseca e permitem que a migração reflita predominantemente a massa molecular. A eletroforese pode ser utilizada isoladamente para controle de integridade e tamanho ou integrar etapas posteriores de identificação molecular.

Métodos de blotting combinam separação e detecção específica. Southern blot utiliza sondas de ácidos nucleicos para detectar sequências de DNA, enquanto Northern blot permite analisar RNAs específicos. Embora ambos tenham sido substituídos por técnicas de maior rendimento em muitas aplicações, permanecem úteis em contextos definidos. Western blot detecta proteínas transferidas para membranas por meio de anticorpos e pode fornecer informação sobre tamanho aparente, presença e abundância relativa. Entretanto, sua interpretação quantitativa exige controle da

linearidade do sinal, normalização apropriada, especificidade dos anticorpos e tratamento dos efeitos de lote; estudos recentes destacam que falhas nesses pontos comprometem reprodutibilidade e comparação entre experimentos (DENIES; LIU; SCHNELL, 2024; OWEN; FADER; HASSANEIN, 2024).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) permite amplificar uma região definida de DNA a partir de pequena quantidade de material. A reação utiliza DNA molde, iniciadores que delimitam a região de interesse, desoxirribonucleotídeos, íons e uma DNA-polimerase termoestável. Ciclos sucessivos de desnaturação, anelamento e extensão produzem aumento exponencial do alvo durante a fase eficiente da reação. O desempenho depende do desenho dos primers, qualidade do molde, composição da reação e controle de contaminação, razão pela qual a simples obtenção de uma banda não é suficiente para demonstrar especificidade analítica.

Na PCR quantitativa em tempo real (qPCR), a formação do produto é acompanhada por fluorescência ao longo dos ciclos, utilizando corantes intercalantes ou sondas específicas. Quando o objetivo é analisar RNA, este deve ser convertido previamente em DNA complementar por transcrição reversa, formando a base da RT-qPCR. Bustin et al. (2025), na atualização MIQE 2.0, reforçam que amostragem, qualidade dos ácidos nucleicos, desenho e validação dos ensaios, controles e métodos de análise precisam ser descritos e controlados para que resultados quantitativos sejam reproduzíveis. Assim, valores de ciclo de quantificação não devem ser interpretados isoladamente sem considerar eficiência do ensaio e estratégia de normalização.

A PCR digital representa uma alternativa para quantificação absoluta ou de alta precisão em determinadas aplicações. A amostra é particionada em numerosas reações, e a proporção de partições positivas e negativas é utilizada para estimar a concentração do alvo. Essa abordagem pode ser útil na detecção de variantes de baixa frequência, monitoramento molecular e análise de pequenas diferenças no número de cópias, mas também depende da qualidade do material, do desenho do ensaio e da adequada definição dos limiares de positividade. PCR convencional, qPCR, RT-qPCR e PCR digital são, portanto, métodos relacionados, mas respondem a necessidades analíticas distintas.

O sequenciamento de DNA acrescenta informação sobre a ordem dos nucleotídeos. O método de terminação de cadeia desenvolvido por Sanger, Nicklen e Coulson (1977) utiliza didesoxinucleotídeos que interrompem a extensão da fita. Nas versões automatizadas, os terminadores são marcados com fluoróforos e os fragmentos são separados por eletroforese capilar. O sequenciamento de Sanger permanece eficiente para regiões relativamente curtas, confirmação de variantes e análise de produtos

clonados ou amplificados, mas sua escala é limitada quando a pergunta envolve grande número de genes ou genomas completos.

O sequenciamento de alto rendimento modificou essa limitação ao permitir a leitura paralela de milhões de fragmentos. Nas plataformas de leituras curtas, o DNA ou cDNA é convertido em bibliotecas, sequenciado em paralelo e posteriormente alinhado ou montado por métodos bioinformáticos. Dependendo do desenho, podem ser analisados painéis de genes, exomas, genomas completos ou transcriptomas. O aumento da escala, entretanto, não elimina limitações: regiões repetitivas, rearranjos estruturais complexos e variantes em segmentos de difícil mapeamento podem ser sub-representados ou interpretados de maneira ambígua.

As tecnologias de leituras longas complementam as leituras curtas ao produzir moléculas sequenciadas com milhares ou dezenas de milhares de bases. Isso facilita a resolução de variantes estruturais, regiões repetitivas, haplótipos e isoformas completas de RNA. Szakállas et al. (2024) e Olivucci et al. (2024) destacam o aumento da utilidade dessas plataformas para caracterização de alterações que permanecem difíceis para abordagens convencionais. Apesar da melhora contínua de acurácia, custos, quantidade e qualidade de DNA, capacidade computacional e validação de resultados ainda influenciam sua adoção em diferentes laboratórios.

Na transcriptômica, o RNA-seq permite analisar o conjunto de transcritos presentes em uma amostra, incluindo diferenças de abundância, isoformas, splicing e, conforme o protocolo, RNAs não codificadores. A interpretação deve considerar que abundância de RNA não equivale diretamente à quantidade ou atividade da proteína correspondente, porque tradução, degradação e modificações pós-traducionais constituem níveis adicionais de regulação. Essa distinção é importante quando resultados transcriptômicos são usados para inferir função celular ou selecionar biomarcadores.

A análise de amostras em massa fornece um perfil médio e pode ocultar populações celulares raras ou estados funcionais distintos. O sequenciamento de RNA em célula única utiliza estratégias de isolamento ou compartimentalização e códigos de barras moleculares para associar moléculas de RNA às células de origem. Gulati et al. (2025) mostram que essa abordagem permitiu definir tipos e estados celulares em tecidos normais e patológicos com resolução antes inacessível. Contudo, perdas de RNA, eventos de dropout, dissociação seletiva de determinados tipos celulares e efeitos de lote exigem cautela na interpretação de clusters e diferenças de expressão.

A transcriptômica espacial acrescenta a localização tecidual aos perfis moleculares. Em vez de dissociar completamente o tecido, diferentes plataformas preservam coordenadas espaciais e associam os transcritos detectados a regiões, células ou posições determinadas. You et al. (2024), ao comparar 11 métodos de transcriptômica espacial baseados em sequenciamento, demonstraram diferenças substanciais de resolução, eficiência de captura e difusão molecular. Portanto, a escolha da plataforma depende da escala biológica de interesse, do tipo de amostra e do equilíbrio desejado entre cobertura transcriptômica e resolução espacial.

A combinação de análises em célula única, informação espacial e outras camadas moleculares constitui uma das principais expansões recentes das ciências ômicas. Carstens et al. (2024) destacam que métodos espaciais podem integrar ácidos nucleicos, proteínas, metabólitos e imagem, enquanto Inayatullah, Dwivedi e Tiwari (2025) discutem como abordagens multiômicas em célula única ampliam a caracterização da heterogeneidade celular. Esses métodos não substituem técnicas direcionadas, mas permitem formular hipóteses sobre populações, estados e circuitos celulares que podem ser posteriormente validados por ensaios específicos.

A metagenômica merece uma distinção metodológica importante. O sequenciamento de amplicons de genes marcadores, como o 16S rRNA para bactérias e arqueias, é geralmente descrito como metataxonômica e fornece principalmente informação sobre composição taxonômica. A metagenômica shotgun, por outro lado, sequencia o DNA total da comunidade e pode oferecer maior resolução taxonômica e informação sobre potencial funcional, genes de resistência e elementos genéticos. Ece et al. (2026) enfatizam que essas estratégias possuem vieses e níveis de resolução diferentes; tecnologias de leituras longas têm ampliado ainda mais a recuperação de genomas e a análise de estruturas genéticas complexas em comunidades microbianas (KIM; PONGPANICH; PORNTAVEETUS, 2024).

A proteômica busca caracterizar proteínas expressas em determinado sistema, considerando que o proteoma varia entre tipos celulares e condições fisiológicas. Em abordagens bottom-up, as proteínas são geralmente digeridas em peptídeos, separados por cromatografia e analisados por espectrometria de massas. A relação massa/carga e os padrões de fragmentação permitem identificar e quantificar peptídeos e inferir as proteínas de origem. Shuken (2023) destaca que estratégias modernas podem realizar quantificação relativa ou absoluta e operar em modos de aquisição dependente ou independente de dados, cada um com diferentes compromissos de profundidade e reprodutibilidade.

A análise de proteínas intactas por proteômica top-down procura preservar informação sobre proteoformas, isto é, formas moleculares resultantes de variantes genéticas, processamento, splicing e modificações pós-traducionais. Roberts et al. (2024) ressaltam que essa abordagem pode distinguir combinações de modificações que podem ser perdidas quando proteínas são previamente fragmentadas em peptídeos. Em paralelo, a proteômica de célula única vem aumentando a sensibilidade para estudar heterogeneidade proteica, mas permanece tecnicamente mais limitada do que a transcriptômica de célula única, sobretudo porque proteínas não podem ser amplificadas de maneira análoga aos ácidos nucleicos (BENNETT et al., 2023).

Metabolômica e lipidômica complementam genômica, transcriptômica e proteômica ao medir pequenas moléculas e lipídios que refletem de forma mais imediata o estado bioquímico. Cromatografia acoplada à espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear estão entre as plataformas utilizadas para esses estudos. A grande diversidade química dos metabólitos impede que uma única preparação ou plataforma cubra todo o metaboloma; por isso, resultados dependem fortemente da coleta, estabilização da amostra e método analítico escolhido. A integração entre camadas ômicas deve considerar essas diferenças de escala, sensibilidade e cobertura.

As técnicas de edição e perturbação genética acrescentam uma dimensão funcional às análises descritivas. Sistemas CRISPR-Cas podem produzir alterações direcionadas no DNA ou ser adaptados para modular transcrição e estados epigenéticos. Villiger et al. (2024) descrevem aplicações de CRISPR no genoma, epigenoma e transcriptoma, enquanto Kim, Kweon e Kim (2024) destacam sua integração a sequenciamento de alto rendimento para investigar o efeito funcional de variantes. Em biologia celular, essa combinação permite passar da associação entre um gene e um fenótipo para testes experimentais de causalidade, embora efeitos fora do alvo, eficiência de edição e contexto celular precisem ser controlados.

A grande quantidade de dados produzida pelas técnicas ômicas torna a bioinformática parte indissociável do experimento. Controle de qualidade, alinhamento, montagem, quantificação, normalização, correção de efeitos técnicos, estatística e anotação dependem de decisões computacionais que podem modificar o resultado final. Brooks et al. (2024) alertam que comparações de métodos ômicos precisam utilizar critérios transparentes, conjuntos de referência apropriados e métricas compatíveis com a pergunta analisada. Dessa forma, pipelines computacionais não devem ser tratados como etapas neutras ou intercambiáveis.

Na área da saúde, métodos moleculares podem ser empregados em diagnóstico de infecções, identificação de variantes genéticas, caracterização de tumores, monitoramento de doença residual, estudo do microbioma e descoberta de biomarcadores. Entretanto, desempenho em pesquisa não equivale automaticamente a validade clínica. Sensibilidade, especificidade, limites de detecção, reprodutibilidade, controles, população avaliada e finalidade do teste precisam ser estabelecidos antes de uma técnica ser incorporada à rotina. Esse cuidado é especialmente importante em tecnologias de grande escala, nas quais a quantidade de resultados aumenta também a probabilidade de achados incidentais, sinais espúrios e interpretações dependentes de banco de dados.

Em conjunto, as técnicas moleculares permitem examinar a célula desde alvos específicos de DNA, RNA ou proteína até perfis globais de milhares de células. Métodos clássicos continuam úteis para perguntas direcionadas, enquanto sequenciamento de alto rendimento, single-cell, abordagens espaciais e multiômicas ampliam a análise de heterogeneidade e organização tecidual. Esses princípios são aplicados no Capítulo 9 ao estudo das interações entre patógenos e células hospedeiras, incluindo identificação molecular, resposta celular e caracterização de comunidades microbianas.

REFERÊNCIAS

BENNETT, H. M.; STEPHENSON, W.; ROSE, C. M.; DARMANIS, S. Single-cell proteomics enabled by next-generation sequencing or mass spectrometry. Nature Methods, v. 20, p. 363-374, 2023. DOI: 10.1038/s41592-023-01791-5.

BROOKS, T. G.; LAHENS, N. F.; MRČELA, A.; GRANT, G. R. Challenges and best practices in omics benchmarking. Nature Reviews Genetics, v. 25, p. 326-339, 2024. DOI: 10.1038/s41576-023-00679-6.

BUSTIN, S. A. et al. MIQE 2.0: Revision of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines. Clinical Chemistry, v. 71, n. 6, p. 634-651, 2025. DOI: 10.1093/clinchem/hvaf043.

CARSTENS, J. L. et al. Spatial multiplexing and omics. Nature Reviews Methods Primers, v. 4, 54, 2024. DOI: 10.1038/s43586-024-00330-6.

DENIES, M. S.; LIU, A. P.; SCHNELL, S. Seeing beyond the blot: a critical look at assumptions and raw data interpretation in Western blotting. Biomolecular Concepts, v. 15, n. 1, 20220047, 2024. DOI: 10.1515/bmc-2022-0047.

ECE, G. et al. Basic Microbiome Analysis: Analytical Steps from Sampling to Sequencing. Microorganisms, v. 14, n. 2, 387, 2026. DOI: 10.3390/microorganisms14020387.

GULATI, G. S. et al. Profiling cell identity and tissue architecture with single-cell and spatial transcriptomics. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 26, p. 11-31, 2025. DOI: 10.1038/s41580-024-00768-2.

INAYATULLAH, M.; DWIVEDI, A. K.; TIWARI, V. K. Advances in single-cell omics: transformative applications in basic and clinical research. Current Opinion in Cell Biology, v. 95, 102548, 2025. DOI: 10.1016/j.ceb.2025.102548.

KIM, C.; PONGPANICH, M.; PORNTAVEETUS, T. Unraveling metagenomics through long-read sequencing: a comprehensive review. Journal of Translational Medicine, v. 22, 111, 2024. DOI: 10.1186/s12967-024-04917-1.

KIM, H. S.; KWEON, J.; KIM, Y. Recent advances in CRISPR-based functional genomics for the study of disease-associated genetic variants. Experimental & Molecular Medicine, v. 56, p. 861-869, 2024. DOI: 10.1038/s12276-024-01212-3.

OLIVUCCI, G. et al. Long read sequencing on its way to the routine diagnostics of genetic diseases. Frontiers in Genetics, v. 15, 1374860, 2024. DOI: 10.3389/fgene.2024.1374860.

OWEN, C.; FADER, K. A.; HASSANEIN, M. Western blotting: evolution of an old analytical method to a new quantitative tool for biomarker measurements. Bioanalysis, v. 16, n. 5, p. 319-328, 2024. DOI: 10.4155/bio-2023-0212.

ROBERTS, D. S. et al. Top-down proteomics. Nature Reviews Methods Primers, v. 4, 38, 2024. DOI: 10.1038/s43586-024-00318-2.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, 1977. DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463.

SHUKEN, S. R. An introduction to mass spectrometry-based proteomics. Journal of Proteome Research, v. 22, n. 7, p. 2151-2171, 2023. DOI: 10.1021/acs.jproteome.2c00838.

SZAKÁLLAS, N. et al. Can long-read sequencing tackle the barriers, which the next-generation could not? A review. Pathology & Oncology Research, v. 30, 1611676, 2024. DOI: 10.3389/pore.2024.1611676.

VILLIGER, L. et al. CRISPR technologies for genome, epigenome and transcriptome editing. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, p. 464-487, 2024. DOI: 10.1038/s41580-023-00697-6.

YOU, Y. et al. Systematic comparison of sequencing-based spatial transcriptomic methods. Nature Methods, v. 21, p. 1743-1754, 2024. DOI: 10.1038/s41592-024-02325-3.

Capítulo 9

10.37423/261011479

PATÓGENOS E CÉLULAS HOSPEDEIRAS: INTERFACES MOLECULARES NO PROCESSO INFECCIOSO

Fabiana Gomes da Silva Dantas — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

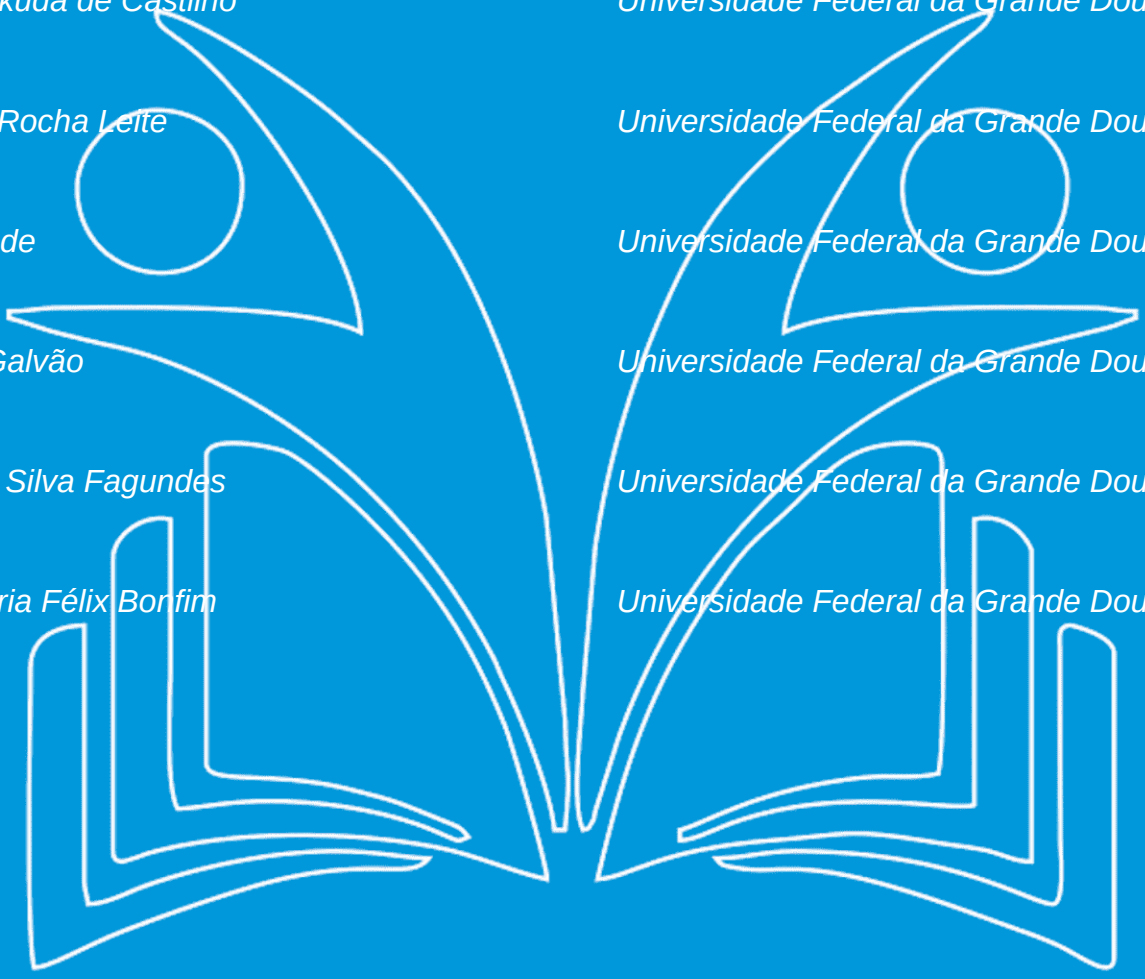
Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*



A infecção humana resulta da interação entre microrganismos e células do hospedeiro em contextos que variam de colonização assintomática a dano tecidual intenso. O corpo humano abriga comunidades microbianas abundantes em superfícies como pele, cavidade oral e trato gastrointestinal, mas a estimativa clássica de que células bacterianas superariam as células humanas em uma proporção de 10:1 não é mais aceita. Sender, Fuchs e Milo (2016) estimaram números da mesma ordem de grandeza para células bacterianas e humanas em um adulto de referência. Mais importante que a contagem absoluta é reconhecer que a microbiota participa da resistência à colonização por patógenos, do metabolismo e da maturação de respostas imunes, enquanto alterações em sua composição podem favorecer a expansão de patobiontes ou a instalação de agentes infecciosos (CABALLERO-FLORES; PICKARD; NÚÑEZ, 2023).

A aquisição inicial da microbiota também exige uma interpretação mais cautelosa do que a apresentada em modelos antigos. A existência de uma microbiota fetal estável em gestações saudáveis permanece controversa, e análises com controles rigorosos indicam que muitos sinais microbianos detectados em placenta, líquido amniótico e tecidos fetais podem decorrer de contaminação em amostras de baixa biomassa. Kennedy et al. (2023) concluíram que as evidências disponíveis não sustentam colonização microbiana persistente de tecidos fetais saudáveis. A colonização pós-natal, por outro lado, é rápida e sofre influência do tipo de parto, alimentação, antibióticos, ambiente e contatos interpessoais, formando comunidades que se modificam ao longo da vida.

A presença de um microrganismo no hospedeiro não implica necessariamente doença. A patogenicidade depende da capacidade do agente de alcançar um nicho apropriado, aderir ou invadir tecidos, obter nutrientes, multiplicar-se, disseminar-se e resistir aos mecanismos de defesa. Microrganismos que integram a microbiota também podem causar infecções quando alcançam compartimentos normalmente protegidos ou quando há comprometimento das barreiras e da imunidade. Essa transição entre colonização e doença é bem exemplificada por Staphylococcus aureus, que pode atuar como colonizador persistente e, em outras condições, produzir infecções invasivas por meio de mecanismos de adesão, evasão imune e adaptação metabólica (HOWDEN et al., 2023).

A etapa inicial da patogênese frequentemente envolve barreiras epiteliais. Pele e mucosas combinam junções celulares, renovação epitelial, muco, fluxo de secreções, moléculas antimicrobianas e microbiota residente. No intestino, a resistência à colonização inclui competição por nutrientes e sítios de adesão, produção de metabólitos e compostos antimicrobianos e modulação de respostas do

hospedeiro (CABALLERO-FLORES; PICKARD; NÚÑEZ, 2023). Para estabelecer a infecção, patógenos precisam superar ou explorar essas barreiras. A porta de entrada influencia o tropismo e a evolução clínica porque receptores, proteases, condições físico-químicas e populações celulares diferem entre trato respiratório, gastrointestinal, urogenital, pele e circulação.

A adesão é um mecanismo central para muitos patógenos bacterianos. Proteínas de superfície, pili, fímbrias e outros componentes reconhecem moléculas específicas do hospedeiro e aumentam a permanência do microrganismo em um tecido. Essa especificidade contribui para tropismo e colonização, mas a interação é dinâmica: expressão de receptores pelo hospedeiro, forças mecânicas, disponibilidade de nutrientes e competição com a microbiota modificam a eficiência da adesão. Em bactérias patogênicas, genes de virulência podem ainda codificar toxinas, sistemas de secreção e efetores que alteram processos celulares, o que faz da infecção uma interação molecular ativa, e não simples crescimento microbiano sobre um tecido (BARBER; FITZGERALD, 2024).

Patógenos extracelulares podem produzir doença sem estabelecer replicação intracelular. Nesse grupo, o dano pode resultar da ação de toxinas, degradação de matriz extracelular, inflamação intensa ou formação de biofilmes. Exotoxinas bacterianas atuam sobre alvos celulares definidos, enquanto o lipopolissacarídeo de bactérias Gram-negativas é reconhecido por receptores da imunidade inata e pode contribuir para respostas inflamatórias sistêmicas. Biofilmes acrescentam outro nível de organização: células microbianas incorporadas em matriz extracelular apresentam heterogeneidade metabólica, menor suscetibilidade a antimicrobianos e maior persistência, características relevantes em infecções associadas a cateteres, próteses e superfícies mucosas (LIU; PRENTICE; WEBBER, 2024).

Patógenos intracelulares precisam atravessar a membrana plasmática e estabelecer um compartimento compatível com sua replicação. Algumas bactérias induzem sua própria internalização em células não fagocíticas por mecanismos que exploram receptores e vias do hospedeiro. Listeria monocytogenes utiliza proteínas de superfície que se ligam a receptores celulares e promovem reorganização da membrana, enquanto Salmonella enterica emprega um sistema de secreção do tipo III para translocar efetores que remodelam o citoesqueleto de actina e desencadeiam ondulações de membrana. Esses mecanismos ilustram como proteínas bacterianas podem controlar sinalização, endocitose e arquitetura da membrana plasmática para favorecer entrada celular (KOSTOW; WELCH, 2023).

Após a internalização, o destino intracelular varia de acordo com o patógeno. Algumas bactérias permanecem em vacúolos modificados; outras rompem a membrana vacuolar e alcançam o citosol. Mycobacterium tuberculosis, por exemplo, interfere na maturação do compartimento fagocítico em macrófagos, enquanto Listeria utiliza listeriolisina O e outros fatores para escapar do vacúolo e replicar-se no citosol. A sobrevivência intracelular depende, portanto, da capacidade de manipular acidificação, tráfego de vesículas, disponibilidade de nutrientes, autofagia e mecanismos microbicidas. Essas estratégias mostram que membranas e organelas do hospedeiro são componentes diretamente explorados durante a infecção.

O citoesqueleto também pode ser utilizado para disseminação. Listeria, Shigella, Rickettsia e algumas espécies de Burkholderia recrutam ou reorganizam actina para promover movimento intracelular e propagação direta entre células. Raab et al. (2024) descrevem que a formação de protrusões de membrana e sua internalização pela célula adjacente permitem que determinadas bactérias se disseminem sem exposição prolongada ao espaço extracelular. Esse comportamento reduz o contato com anticorpos e evidencia como processos normais de dinâmica de actina e membrana podem ser redirecionados por proteínas microbianas.

Parasitas eucarióticos intracelulares empregam mecanismos distintos dos utilizados pelas bactérias. Horta et al. (2020) demonstram que Toxoplasma gondii e Plasmodium spp. penetram ativamente nas células por estruturas especializadas de invasão, enquanto Trypanosoma cruzi pode explorar vias de reparo da membrana plasmática e recrutamento de lisossomos. Leishmania, por sua vez, é internalizada por fagocitose e precisa sobreviver no ambiente fagolisossomal. Essas diferenças têm relevância terapêutica porque o alvo celular, o compartimento ocupado e o metabolismo do patógeno determinam quais etapas podem ser exploradas para bloquear a infecção.

Fungos patogênicos apresentam outro conjunto de interações celulares. Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Aspergillus fumigatus e Histoplasma capsulatum podem modificar reconhecimento, fagocitose e maturação fagossomal. Jia et al. (2024) mostram que fungos patogênicos desenvolveram estratégias capazes de redirecionar ou tolerar o compartimento fagocítico, enquanto Brown et al. (2024) destacam que morfologia, termotolerância, metabolismo e evasão imune contribuem para a patobiologia das micoses humanas. Como fungos e hospedeiros são eucariotos, a proximidade de processos celulares também restringe o número de alvos terapêuticos com elevada toxicidade seletiva.

Os vírus constituem patógenos intracelulares obrigatórios e dependem de moléculas e processos da célula hospedeira em diferentes etapas do ciclo infeccioso. A entrada começa pelo reconhecimento de receptores ou fatores de adesão e pode prosseguir por endocitose ou fusão de membranas, dependendo do vírus. Depois da penetração, ocorre desnudamento do genoma, direcionamento a compartimentos apropriados, replicação, expressão gênica, montagem e liberação. Ao contrário de uma descrição simplificada em que vírus utilizariam sempre as polimerases da célula, muitos vírus de RNA codificam suas próprias RNA-polimerases, e diversos vírus de DNA também codificam enzimas de replicação; a dependência do hospedeiro é, portanto, variável entre famílias virais (MERCER; SCHELHAAS; HELENIUS, 2010).

A infecção viral também reorganiza membranas e organelas. Retículo endoplasmático, complexo de Golgi, endossomos, lisossomos e redes de transporte vesicular podem ser convertidos em plataformas de replicação, montagem ou saída de partículas virais. Alterações no metabolismo e na síntese proteica do hospedeiro favorecem a produção de componentes virais, enquanto sensores intracelulares detectam ácidos nucleicos ou outras estruturas associadas à infecção. A intensidade do efeito citopático depende do vírus e da célula-alvo e pode envolver lise, apoptose, formação de sincícios, alterações do citoesqueleto ou disfunção persistente sem morte celular imediata.

A capacidade de evoluir durante a transmissão e a replicação modifica continuamente a relação entre patógeno e hospedeiro. Em vírus de RNA, a elevada geração de variantes em determinadas famílias pode favorecer adaptação, evasão imune ou resistência a antivirais. Nos vírus com genoma segmentado, como influenza A, segmentos genômicos podem ser reassortidos durante coinfecção, produzindo combinações genéticas distintas; esse processo é diferente de recombinação clássica. Em bactérias, mutações, seleção e transferência horizontal de genes também alteram rapidamente fenótipos relacionados a virulência, adaptação ao hospedeiro e resistência (BARBER; FITZGERALD, 2024).

A resistência antimicrobiana é uma consequência particularmente relevante dessa capacidade adaptativa. Bactérias podem reduzir a concentração intracelular do fármaco por menor permeabilidade ou efluxo, modificar o alvo molecular, inativar o antimicrobiano por enzimas ou utilizar vias metabólicas alternativas. Plasmídeos, transposons e integrons favorecem a disseminação horizontal de determinantes de resistência, enquanto biofilmes podem aumentar persistência e tolerância ao tratamento. A lista de patógenos bacterianos prioritários da Organização Mundial da

Saúde de 2024 destaca, entre outros, Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae e Mycobacterium tuberculosis resistente à rifampicina como problemas relevantes para pesquisa e saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024).

A resistência não resulta apenas da exposição individual a um antimicrobiano. Uso inadequado, tratamentos incompletos, pressão seletiva em hospitais, circulação de genes entre ambientes humanos, animais e ambientais e falhas em prevenção de infecções influenciam a emergência e a disseminação de linhagens resistentes. Por isso, o controle da resistência exige medidas de stewardship, diagnóstico adequado, vigilância, saneamento, vacinação, controle de infecções e desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Essa abordagem integrada também evita interpretar resistência como uma característica isolada de uma bactéria, pois ela emerge de interações entre genoma, ecologia microbiana, uso de fármacos e transmissão.

A célula hospedeira responde à infecção por sensores da imunidade inata capazes de reconhecer estruturas microbianas ou alterações produzidas durante a invasão. Receptores de membrana, endossomais e citosólicos ativam vias que induzem citocinas, quimiocinas, interferons, fagocitose, mecanismos microbicidas e recrutamento de leucócitos. Esses processos constituem a resposta inicial e também condicionam a ativação da imunidade adaptativa. A visão contemporânea da imunidade inata enfatiza que reconhecimento microbiano, dano tecidual e estado metabólico da célula são integrados para definir a qualidade da resposta, e não apenas a presença ou ausência de um patógeno (MEDZHITOV, 2024).

Os mecanismos efetores variam conforme a localização e a biologia do agente. Bactérias extracelulares são controladas principalmente por fagocitose, complemento e anticorpos; patógenos bacterianos intracelulares exigem ativação de macrófagos e respostas de linfócitos T; vírus induzem interferons, atividade de células NK, anticorpos neutralizantes e linfócitos T citotóxicos; e fungos dependem fortemente de neutrófilos, macrófagos e respostas celulares. Parasitas apresentam respostas ainda mais heterogêneas, relacionadas ao compartimento ocupado e ao estágio do ciclo de vida. O mesmo mecanismo imune que limita a infecção pode, quando excessivo ou persistente, contribuir para lesão tecidual, o que explica por que a patogênese resulta da soma entre dano direto pelo agente e resposta do hospedeiro.

A compreensão da infecção em nível celular modificou também a identificação de alvos terapêuticos. Moléculas de adesão, sistemas de secreção, entrada viral, vias de tráfego intracelular, metabolismo microbiano e mecanismos de evasão são investigados como pontos de intervenção. Entretanto, estratégias dirigidas a fatores do hospedeiro precisam considerar toxicidade e funções fisiológicas compartilhadas. A especificidade continua sendo um problema central em antivirais, antifúngicos e antiparasitários, enquanto a crescente resistência limita a vida útil de vários antibacterianos. Por isso, mecanismos de patogênese celular devem ser analisados juntamente com farmacologia, resistência e características do hospedeiro.

A biologia celular da infecção humana pode ser organizada como uma sequência de eventos interdependentes: contato com barreiras, adesão, entrada ou colonização, estabelecimento de nicho, aquisição de nutrientes, evasão ou modulação das defesas, replicação, dano e disseminação. Essa perspectiva evidencia como membranas, citoesqueleto, organelas, metabolismo e sinalização podem ser explorados por agentes infecciosos. No capítulo final, a lógica é invertida: em vez de considerar células como alvos de um agente biológico, o Capítulo 10 examina sua utilização controlada como componentes de intervenções terapêuticas.

REFERÊNCIAS

BARBER, M. F.; FITZGERALD, J. R. Mechanisms of host adaptation by bacterial pathogens. FEMS Microbiology Reviews, v. 48, n. 4, fuae019, 2024. DOI: 10.1093/femsre/fuae019.

BROWN, G. D. et al. The pathobiology of human fungal infections. Nature Reviews Microbiology, v. 22, p. 687-704, 2024. DOI: 10.1038/s41579-024-01062-w.

CABALLERO-FLORES, G.; PICKARD, J. M.; NÚÑEZ, G. Microbiota-mediated colonization resistance: mechanisms and regulation. Nature Reviews Microbiology, v. 21, p. 347-360, 2023. DOI: 10.1038/s41579-022-00833-7.

HORTA, M. F.; ANDRADE, L. O.; MARTINS-DUARTE, É. S.; CASTRO-GOMES, T. Cell invasion by intracellular parasites - the many roads to infection. Journal of Cell Science, v. 133, n. 4, jcs232488, 2020. DOI: 10.1242/jcs.232488.

HOWDEN, B. P. et al. Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. Nature Reviews Microbiology, v. 21, p. 380-395, 2023. DOI: 10.1038/s41579-023-00852-y.

JIA, L.-J. et al. Manipulation of host phagocytosis by fungal pathogens and therapeutic opportunities. Nature Microbiology, v. 9, p. 2216-2231, 2024. DOI: 10.1038/s41564-024-01780-0.

KENNEDY, K. M. et al. Questioning the fetal microbiome illustrates pitfalls of low-biomass microbial studies. Nature, v. 613, p. 639-649, 2023. DOI: 10.1038/s41586-022-05546-8.

KOSTOW, N.; WELCH, M. D. Manipulation of host cell plasma membranes by intracellular bacterial pathogens. Current Opinion in Microbiology, v. 71, 102241, 2023. DOI: 10.1016/j.mib.2022.102241.

LIU, H. Y.; PRENTICE, E. L.; WEBBER, M. A. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. npj Antimicrobials and Resistance, v. 2, art. 27, 2024. DOI: 10.1038/s44259-024-00046-3.

MARKOV, P. V. et al. The evolution of SARS-CoV-2. Nature Reviews Microbiology, v. 21, p. 361-379, 2023. DOI: 10.1038/s41579-023-00878-2.

MEDZHITOV, R. The conceptual foundations of innate immunity: taking stock 30 years later. Immunity, v. 57, n. 4, p. 613-631, 2024. DOI: 10.1016/j.immuni.2024.03.007.

MERCER, J.; SCHELHAAS, M.; HELENIUS, A. Virus entry by endocytosis. Annual Review of Biochemistry, v. 79, p. 803-833, 2010. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060208-104626.

RAAB, J. E.; HAMILTON, D. J.; HARJU, T. B.; HUYNH, T. N.; RUSSO, B. C. Pushing boundaries: mechanisms enabling bacterial pathogens to spread between cells. Infection and Immunity, v. 92, e00524-23, 2024. DOI: 10.1128/iai.00524-23.

SENDER, R.; FUCHS, S.; MILO, R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. PLoS Biology, v. 14, n. 8, e1002533, 2016. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization, 2024.

Capítulo 10

10.37423/261011480

ENGENHARIA E USO TERAPÊUTICO DE CÉLULAS: AVANÇOS, SEGURANÇA E PERSPECTIVAS CLÍNICAS

Pamella Fukuda de Castilho — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Cleison da Rocha Leite — *Universidade Federal da Grande Dourados*

João Andrade — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Fernanda Galvão — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Mariane da Silva Fagundes — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Jéssica Maria Félix Bonfim — *Universidade Federal da Grande Dourados*

Adriana Araújo de Almeida Apolonio — *Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul*

As terapias celulares utilizam células viáveis como componente terapêutico com o objetivo de substituir populações celulares perdidas, restaurar funções, modular respostas imunológicas ou exercer atividade antitumoral. Diferentemente de fármacos convencionais constituídos por moléculas com composição relativamente definida, produtos celulares apresentam variabilidade biológica relacionada à origem das células, ao estado funcional, ao processo de fabricação e à interação com o receptor. Essa característica exige que identidade, pureza, viabilidade, esterilidade e potência sejam controladas durante o desenvolvimento e a liberação do produto (CAPELLI et al., 2023; LEE; CHANG, 2024).

No Brasil, os produtos de terapias avançadas constituem uma categoria regulatória de medicamentos biológicos que inclui produtos baseados em células e tecidos submetidos a processos de fabricação e produtos que utilizam ácidos nucleicos recombinantes para modificar genes ou sua expressão. O marco regulatório brasileiro inclui a RDC nº 505/2021, relativa ao registro, a RDC nº 506/2021, voltada aos ensaios clínicos, e a Instrução Normativa nº 270/2023, que complementa requisitos de boas práticas de fabricação (ANVISA, 2025). Terapia celular, terapia gênica e engenharia tecidual possuem áreas de interseção, mas não são conceitos equivalentes. As células CAR-T, por exemplo, constituem um produto celular geneticamente modificado e, portanto, integram simultaneamente princípios de terapia celular e terapia gênica.

Nem toda utilização terapêutica de células corresponde a um produto de terapia avançada. O transplante de células progenitoras hematopoéticas é um exemplo consolidado de terapia celular empregada há décadas em doenças hematológicas malignas e não malignas. Dependendo da indicação, as células podem ser obtidas do próprio paciente, caracterizando um transplante autólogo, ou de um doador, no transplante alogênico. A modalidade alogênica pode substituir um sistema hematopoiético doente e produzir efeito imunológico contra células malignas, mas também envolve riscos como rejeição, infecções, toxicidade do condicionamento e doença do enxerto contra o hospedeiro (LOREN et al., 2025).

A distinção entre produtos autólogos e alogênicos é central para o desenvolvimento de terapias celulares. Produtos autólogos reduzem problemas de incompatibilidade entre doador e receptor, mas exigem uma cadeia de fabricação individualizada, frequentemente iniciada por coleta de células do próprio paciente. A condição clínica, tratamentos prévios e variabilidade do material inicial podem afetar rendimento e qualidade. Produtos alogênicos podem ser fabricados em lotes maiores e

disponibilizados previamente, mas precisam controlar respostas imunológicas contra as células administradas e, em produtos imunes, o risco de reatividade contra os tecidos do receptor. A escolha entre essas estratégias depende do mecanismo de ação, da doença e das características do produto (DIORIO; TEACHEY; GRUPP, 2025; WANG et al., 2024).

As células-tronco e progenitoras constituem uma das principais bases da medicina regenerativa, mas seu potencial terapêutico depende do grau de diferenciação e do contexto clínico. Células progenitoras hematopoéticas possuem uso estabelecido, enquanto células pluripotentes embrionárias e células pluripotentes induzidas precisam ser diferenciadas de maneira controlada antes da administração. O objetivo clínico não é transferir uma célula pluripotente indiferenciada, mas gerar uma população funcional com identidade definida e risco mínimo de proliferação inadequada. A presença residual de células pluripotentes, alterações genéticas adquiridas durante expansão e heterogeneidade de diferenciação estão entre os pontos críticos de segurança (KIRKEBY; MAIN; CARPENTER, 2025; DHAIBAN et al., 2025).

As células pluripotentes humanas vêm sendo investigadas principalmente como fonte padronizada para produção de células especializadas. Uma revisão do cenário clínico identificou mais de uma centena de ensaios regulatoriamente autorizados com produtos derivados de células pluripotentes até o final de 2024, com maior concentração nas áreas oftalmológica, neurológica e oncológica (KIRKEBY; MAIN; CARPENTER, 2025). Esses dados demonstram avanço translacional, mas não significam que a maioria dessas abordagens já constitua tratamento rotineiro. Grande parte permanece em fases iniciais, nas quais segurança, dose, sobrevivência do enxerto e sinais preliminares de eficácia ainda estão sendo definidos.

Na doença de Parkinson, a reposição de neurônios dopaminérgicos constitui um exemplo de aplicação em avaliação clínica. Sawamoto et al. (2025) relataram um ensaio fase I/II com progenitores dopaminérgicos derivados de células iPS alogênicas, no qual sete participantes receberam transplantes bilaterais no putâmen. Após dois anos, as células enxertadas apresentaram sobrevivência e produção de dopamina, sem formação tumoral identificada no período de acompanhamento, enquanto sinais de melhora motora foram observados em parte dos participantes. O tamanho reduzido da amostra e o desenho aberto impedem conclusões definitivas sobre eficácia, mas o estudo fornece evidência clínica de viabilidade da estratégia.

Outro exemplo recente envolve células produtoras de insulina derivadas de células-tronco para diabetes mellitus tipo 1. Em estudo fase 1-2, Reichman et al. (2025) avaliaram ilhotas celulares diferenciadas a partir de células-tronco e administradas por via portal. Os resultados demonstraram secreção de insulina e melhora do controle glicêmico em participantes tratados, fornecendo evidência de que produtos celulares diferenciados podem substituir funções endócrinas. Entretanto, a necessidade de imunossupressão sistêmica nas abordagens alogênicas permanece um limite relevante e estimula o desenvolvimento de encapsulamento, edição genética e outras estratégias de proteção imunológica.

As células estromais mesenquimais, frequentemente denominadas MSCs, também foram amplamente investigadas. Essas células podem ser obtidas de medula óssea, tecido adiposo, cordão umbilical e outros tecidos, mas apresentam heterogeneidade relacionada à fonte, idade do doador, expansão em cultura e processamento. Seus efeitos terapêuticos são atribuídos principalmente à secreção de mediadores imunomoduladores e tróficos, e não à substituição extensa e duradoura de tecidos por diferenciação in vivo. Apesar do grande número de ensaios clínicos, a eficácia tem sido inconsistente em várias indicações, o que reforça a necessidade de padronização do produto, do mecanismo de ação e dos ensaios de potência (LU; ALLICKSON, 2025).

Essa limitação é particularmente importante porque o termo 'célula-tronco' pode ser usado de maneira excessivamente ampla em serviços sem evidência clínica adequada. A origem celular e a capacidade de diferenciação não constituem, isoladamente, demonstração de benefício terapêutico. Para uma terapia celular ser clinicamente útil, é necessário definir o produto administrado, seu mecanismo de ação, a dose, a via de administração, os critérios de qualidade e a relação entre atividade biológica e desfecho clínico. Portanto, resultados experimentais ou estudos pequenos não devem ser extrapolados automaticamente para múltiplas doenças (LU; ALLICKSON, 2025; CAPELLI et al., 2023).

As terapias com células do sistema imune representam outro eixo de aplicação. Linfócitos T, células NK e células dendríticas podem ser isolados, expandidos ou modificados para aumentar respostas contra alvos específicos. Entre essas estratégias, as células T com receptor quimérico de antígeno, ou CAR-T, apresentam a maior consolidação clínica. O receptor quimérico combina um domínio de reconhecimento de superfície com componentes intracelulares de ativação, permitindo que a célula T reconheça um antígeno-alvo sem depender da apresentação convencional por moléculas de MHC. Essa

propriedade foi explorada principalmente em neoplasias hematológicas de células B e plasmócitos (ELMARASI et al., 2024).

A fabricação de um produto CAR-T autólogo normalmente envolve leucaférese, seleção ou enriquecimento de linfócitos, ativação celular, introdução do construto genético, expansão, controle de qualidade, criopreservação e reinfusão após regime de linfodepleção. Cada etapa pode modificar o fenótipo e a capacidade funcional do produto. Por esse motivo, tempo de fabricação, falhas de lote, variabilidade entre pacientes e logística de transporte constituem limitações relevantes. Estratégias alogênicas e abordagens destinadas à geração de células CAR diretamente in vivo estão sendo desenvolvidas para reduzir parte dessa complexidade, mas ainda apresentam desafios imunológicos e de segurança (DIORIO; TEACHEY; GRUPP, 2025; SHI et al., 2024).

Embora CAR-T possa produzir respostas duradouras em determinadas neoplasias hematológicas, seu uso está associado a toxicidades específicas. A síndrome de liberação de citocinas resulta da ativação intensa das células efetoras e pode variar de febre autolimitada a instabilidade hemodinâmica e disfunção orgânica. A síndrome de neurotoxicidade associada a células efetoras imunes, conhecida como ICANS, pode produzir alterações cognitivas, linguagem comprometida, convulsões e, em casos graves, edema cerebral. Citopenias prolongadas e infecções também são relevantes, e sua frequência varia entre produtos e populações clínicas (YAMSHON et al., 2024; ELMARASI et al., 2024).

A eficácia das células CAR-T em tumores sólidos é inferior à observada em neoplasias hematológicas. Entre as principais barreiras estão heterogeneidade antigênica, ausência de alvos exclusivamente tumorais, dificuldade de infiltração no tecido, ambiente imunossupressor e perda funcional das células transferidas. Dessa forma, estratégias em investigação incluem CARs com circuitos lógicos, combinações com outras imunoterapias, modificação do metabolismo das células efetoras e administração regional. Esses avanços ainda precisam demonstrar benefício clínico consistente e segurança adequada antes de ampliar de forma substancial a indicação para tumores sólidos (CHEN et al., 2024).

As células CAR também começaram a ser investigadas fora da oncologia. Em doenças autoimunes graves mediadas por células B, a depleção profunda de clones B por CAR-T anti-CD19 tem produzido remissões em pequenas séries e estudos iniciais. Schett et al. (2024) destacam resultados em lúpus eritematoso sistêmico, miopatias inflamatórias, esclerose sistêmica e outras doenças, mas ressaltam que seleção de pacientes, toxicidades e durabilidade das respostas ainda precisam ser definidas em

estudos maiores. Nesse contexto, a terapia permanece em desenvolvimento e não deve ser interpretada como substituta universal das terapias imunomoduladoras disponíveis.

A terapia celular também pode ser combinada à engenharia genética antes da administração. Células progenitoras hematopoéticas autólogas podem ser modificadas para corrigir ou compensar defeitos genéticos, estratégia já aplicada a determinadas doenças monogênicas. Em hemoglobinopatias, por exemplo, edição gênica e adição gênica em células hematopoéticas possibilitam produzir um enxerto autólogo com função modificada, reduzindo o problema da disponibilidade de doadores alogênicos. Esses produtos ilustram a convergência entre terapia celular e terapia gênica e exigem acompanhamento prolongado para avaliar durabilidade e eventos tardios (BALLANTINE; TISDALE, 2025).

Para que uma terapia celular seja reproduzível, o processo de fabricação precisa ser considerado parte do próprio produto. Alterações na fonte celular, no meio de cultura, no tempo de expansão, no sistema de cultivo, na criopreservação ou no transporte podem modificar viabilidade, fenótipo e atividade biológica. Lee e Chang (2024) destacam que fabricação em condições de boas práticas, controle de matérias-primas e validação das etapas são componentes essenciais da tradução clínica. Isso diferencia produtos celulares de moléculas farmacológicas mais simples, nas quais a composição química final pode ser caracterizada de maneira mais direta.

Os ensaios de potência são especialmente importantes porque procuram demonstrar que o lote apresenta a atividade biológica relacionada ao mecanismo de ação pretendido. Dependendo do produto, essa avaliação pode incluir citotoxicidade, secreção de mediadores, capacidade proliferativa, diferenciação, atividade metabólica ou outras funções específicas. Capelli et al. (2023) ressaltam que um único marcador de superfície raramente é suficiente para representar a função de um produto celular complexo. A estratégia de controle precisa, portanto, combinar atributos de identidade, pureza, segurança e função em um painel coerente com o mecanismo terapêutico.

A segurança precisa ser avaliada em curto e longo prazo. Entre os riscos estão contaminação microbiológica, alteração cromossômica, formação tumoral, diferenciação inadequada, imunogenicidade, trombose, inflamação sistêmica e atividade fora do tecido-alvo, dependendo do produto. Em células geneticamente modificadas, também é necessário considerar características do vetor ou da edição realizada. Produtos derivados de células pluripotentes requerem atenção específica à presença de células indiferenciadas residuais, enquanto produtos imunes exigem avaliação de

ativação excessiva e reconhecimento de tecidos não alvo (DHAIBAN et al., 2025; KIRKEBY; MAIN; CARPENTER, 2025).

O desenvolvimento clínico de terapias celulares exige ainda definir dose e via de administração. Ao contrário de fármacos que podem ser distribuídos de maneira relativamente previsível pelo organismo, células transferidas podem ser retidas em determinados órgãos, migrar, proliferar, morrer rapidamente ou estabelecer enxertos persistentes. A via intravenosa, intratecidual, intra-arterial ou intracavitária altera biodistribuição e exposição. Tecnologias de biomateriais, encapsulamento e sistemas de liberação vêm sendo estudadas para proteger células, aumentar retenção local e modular o microambiente, mas esses sistemas acrescentam novas variáveis de fabricação e segurança (WANG et al., 2024).

Questões de acesso e custo também possuem importância prática. Produtos autólogos personalizados requerem centros especializados, logística coordenada e acompanhamento intensivo, enquanto produtos alogênicos dependem de bancos celulares, padronização e controle de compatibilidade. Wang et al. (2024) observam que variabilidade do material inicial, parâmetros de processo pouco compreendidos e cadeias logísticas complexas contribuem para custo elevado e variabilidade entre lotes. O aumento de escala precisa ocorrer sem alterar atributos biológicos fundamentais do produto.

No Brasil, a regulação acompanha o ciclo de vida desses produtos desde ensaios clínicos até registro e monitoramento pós-comercialização. A página pública da Anvisa atualizada em 2026 apresenta produtos de terapia avançada registrados que incluem terapias gênicas e terapias celulares geneticamente modificadas, demonstrando que a categoria regulatória é mais ampla do que terapia celular isoladamente (ANVISA, 2026). O registro pode envolver compromissos de apresentação de dados adicionais de efetividade e segurança, particularmente quando persistem incertezas de longo prazo. Como o status regulatório pode mudar, listas de produtos devem ser consultadas diretamente nas fontes oficiais em vez de serem tratadas como permanentes.

Aspectos éticos variam conforme a fonte celular e a intervenção realizada. Células embrionárias envolvem questões relacionadas à origem do material; produtos alogênicos exigem consentimento e rastreabilidade de doadores; terapias geneticamente modificadas demandam avaliação de riscos tardios e acompanhamento prolongado. Também devem ser considerados justiça de acesso, custos e comunicação de incertezas. O caráter tecnologicamente complexo da terapia não reduz a necessidade

de evidência clínica comparativa nem justifica oferecer intervenções experimentais como tratamentos comprovados.

As terapias celulares apresentam graus diferentes de maturidade clínica. O transplante hematopoiético é uma modalidade estabelecida para indicações específicas; células CAR-T constituem terapias aprovadas para determinadas neoplasias hematológicas; produtos derivados de células pluripotentes já alcançaram ensaios clínicos em diferentes doenças, mas muitos permanecem em avaliação; e diversas aplicações de MSCs continuam experimentais ou apresentam eficácia variável. A interpretação adequada exige distinguir plausibilidade biológica, resultado pré-clínico, sinal de eficácia em estudo inicial e benefício comprovado em ensaios controlados.

A trajetória das terapias celulares sintetiza os principais conceitos desenvolvidos ao longo desta obra. A composição e o metabolismo determinam a viabilidade das células produzidas; enzimas e vias de sinalização regulam sua função; ciclo celular e estabilidade genômica condicionam segurança; células-tronco e reprogramação fornecem fontes celulares; e microscopia e técnicas moleculares permitem caracterização e controle de qualidade. A aplicação clínica depende da integração desses conhecimentos com fabricação reprodutível, avaliação de risco, regulação e demonstração de eficácia, estabelecendo a conexão entre fundamentos de biologia celular e biotecnologia aplicada à saúde.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Terapias avançadas. Brasília, DF: Anvisa, 2025. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas. Acesso em: 27 set. 2026.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Documentos dos registros: produtos de terapias avançadas. Brasília, DF: Anvisa, 2026. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas/ensaios-clinicos-autorizados/documentos-registros. Acesso em: 27 set. 2026.

BALLANTINE, J.; TISDALE, J. F. Gene therapy for sickle cell disease: recent advances, clinical trials and future directions. Cytotherapy, v. 27, n. 7, p. 826-834, 2025. DOI: 10.1016/j.jcyt.2024.11.006.

CAPELLI, C. et al. Potency assays and biomarkers for cell-based advanced therapy medicinal products. Frontiers in Immunology, v. 14, 1186224, 2023. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1186224.

DHAIBAN, S.; CHANDRAN, S.; NOSHI, M.; SAJINI, A. A. Clinical translation of human iPSC technologies: advances, safety concerns, and future directions. Frontiers in Cell and Developmental Biology, v. 13, 1627149, 2025. DOI: 10.3389/fcell.2025.1627149.

DIORIO, C.; TEACHEY, D. T.; GRUPP, S. A. Allogeneic chimeric antigen receptor cell therapies for cancer: progress made and remaining roadblocks. Nature Reviews Clinical Oncology, v. 22, p. 10-27, 2025. DOI: 10.1038/s41571-024-00959-y.

ELMARASI, M. et al. CAR-T cell therapy: efficacy in management of cancers, adverse effects, dose-limiting toxicities and long-term follow up. International Immunopharmacology, v. 135, 112312, 2024. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112312.

KIRKEBY, A.; MAIN, H.; CARPENTER, M. Pluripotent stem-cell-derived therapies in clinical trial: a 2025 update. Cell Stem Cell, v. 32, n. 1, p. 10-37, 2025. DOI: 10.1016/j.stem.2024.12.005.

LEE, N. K.; CHANG, J. W. Manufacturing cell and gene therapies: challenges in clinical translation. Annals of Laboratory Medicine, v. 44, n. 4, p. 314-323, 2024. DOI: 10.3343/alm.2023.0382.

CHEN, T.; WANG, M.; CHEN, Y.; LIU, Y. Current challenges and therapeutic advances of CAR-T cell therapy for solid tumors. Cancer Cell International, v. 24, 133, 2024. DOI: 10.1186/s12935-024-03315-3.

LOREN, A. W. et al. Hematopoietic cell transplantation, version 3.2025, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, v. 23, n. 10, e250047, 2025. DOI: 10.6004/jnccn.2025.0047.

LU, W.; ALLICKSON, J. Mesenchymal stromal cell therapy: progress to date and future outlook. Molecular Therapy, v. 33, n. 6, p. 2679-2688, 2025. DOI: 10.1016/j.ymthe.2025.02.003.

REICHMAN, T. W. et al. Stem cell-derived, fully differentiated islets for type 1 diabetes. New England Journal of Medicine, v. 393, n. 9, p. 858-868, 2025. DOI: 10.1056/NEJMoa2506549.

SAWAMOTO, N. et al. Phase I/II trial of iPS-cell-derived dopaminergic cells for Parkinson's disease. Nature, v. 641, p. 971-977, 2025. DOI: 10.1038/s41586-025-08700-0.

SCHETT, G. et al. Advancements and challenges in CAR T cell therapy in autoimmune diseases. Nature Reviews Rheumatology, v. 20, n. 9, p. 531-544, 2024. DOI: 10.1038/s41584-024-01139-z.

SHI, M. et al. In vivo manufacture and manipulation of CAR-T cells for better druggability. Cancer and Metastasis Reviews, 2024. DOI: 10.1007/s10555-024-10185-8.

WANG, B. et al. Interfacing data science with cell therapy manufacturing: where we are and where we need to be. Cytotherapy, v. 26, n. 9, p. 967-979, 2024. DOI: 10.1016/j.jcyt.2024.03.011.

WANG, L. L.-W. et al. Designing drug delivery systems for cell therapy. Nature Reviews Bioengineering, v. 2, p. 944-959, 2024. DOI: 10.1038/s44222-024-00214-0.

YAMSHON, S. et al. Safety and toxicity profiles of CAR T cell therapy in non-Hodgkin lymphoma: a systematic review and meta-analysis. Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, v. 24, n. 6, p. e235-e256.e2, 2024. DOI: 10.1016/j.clml.2024.02.007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os capítulos desta obra mostram que a biotecnologia celular depende da integração entre conhecimento estrutural, bioquímico e molecular. A organização das células, sua composição química, a atividade enzimática e os processos de conversão de energia constituem uma base necessária para compreender proliferação, diferenciação, adaptação e resposta a alterações ambientais ou patológicas.

O controle do ciclo celular e a biologia das células-tronco demonstram como proliferação, autorrenovação e diferenciação são reguladas em tecidos normais e como esses processos podem ser explorados experimentalmente. A reprogramação celular, os organoides e outros modelos derivados de células humanas ampliaram a capacidade de investigar mecanismos de doença e testar intervenções, mas sua utilização exige atenção à estabilidade genética, ao fenótipo celular e às limitações de cada sistema.

A microscopia e as técnicas moleculares complementam-se na investigação celular. Métodos de imagem permitem determinar localização, morfologia e dinâmica de estruturas, enquanto PCR, sequenciamento, transcriptômica, proteômica e outras abordagens fornecem informações sobre composição e atividade molecular. A interpretação adequada desses dados depende do controle de qualidade das amostras, do desenho experimental e da integração entre diferentes níveis de análise.

As aplicações discutidas nos capítulos finais evidenciam a relação direta entre biologia celular e saúde. Patógenos utilizam receptores, membranas, citoesqueleto, vias de sinalização e organelas da célula hospedeira para estabelecer infecção, enquanto terapias celulares procuram manipular células de forma controlada para restaurar ou modificar funções biológicas. Dessa forma, os avanços da biotecnologia celular devem ser avaliados em conjunto com evidências de eficácia, segurança, reprodutibilidade e qualidade do produto ou método utilizado.

Em conjunto, a obra apresenta a célula como unidade de análise experimental e também como componente de estratégias diagnósticas e terapêuticas. A aplicação responsável desses conhecimentos exige atualização contínua, integração entre pesquisa básica e clínica e interpretação crítica das evidências, especialmente em áreas nas quais novas tecnologias são incorporadas rapidamente.

Pamella Fukuda de Castilho
Cleison da Rocha Leite
João Andrade
Fernanda Galvão

conhecimentolivre.org/home
contato@conhecimentolivre.org
editoraconhecimentolivre

PROCESSOS CELULARES E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

EDITORA CONHECIMENTO LIVRE