

LÍNGUA PORTUGUESA

TEXTO – COMO PREVENIR DOENÇAS GENÉTICAS

Marcello Valle

Para alguns casais, gerar uma criança é uma decisão ética. Alguns são portadores de doenças genéticas e temem que seus filhos sofram do mesmo problema. São problemas como hemofilia, distrofia muscular, anemia falciforme e alterações ligadas ao fator Rh. Entretanto, há uma técnica que permite gerar bebês saudáveis. Trata-se do Diagnóstico Genético Pré-Implantação (ou PGD).

Essa técnica foi desenvolvida há uma década por pesquisadores londrinos e não foi bem recebida de imediato, pois criava impasses éticos. Via-se no PGD uma maneira de os pais controlarem o perfil genético e escolherem o sexo do futuro bebê.

Hoje, o PGD é totalmente aceito, inclusive no Brasil, e é uma forma precoce de diagnóstico pré-natal. É feito por meio de uma biópsia do embrião no seu terceiro dia de vida para detectar possíveis doenças. É um procedimento tecnicamente desafiador, que exige um bom entendimento de embriologia e biologia molecular.

O PGD associa métodos aplicados em reprodução assistida às técnicas de investigação genética. A biópsia do embrião inicial (entre seis e dez células) permite o estudo genético de uma única célula, possibilitando a transferência de embriões normais para as características testadas.

No Brasil, o Código de Ética do Conselho Federal de Medicina não permite a seleção sexual do embrião. Entretanto, especificamente no caso de haver doença genética ligada ao sexo (como hemofilia), é possível identificar os embriões masculinos e femininos, transferindo apenas o sexo que não tem possibilidade de ter a doença. O PGD é também indicado em casos de gravidez tardia, em especial nas gestantes acima de 35 anos. Quanto maior a idade, mais chance de dar à luz bebês com problema genéticos e de sofrer aborto espontâneo.

1. "Para alguns casais, gerar uma criança é uma decisão ética"; a forma de reescrever-se essa frase com alteração de seu sentido é:
 - (A) Para alguns casais, é uma decisão ética gerar uma criança;
 - (B) Gerar uma criança, para alguns casais, é uma decisão ética;
 - (C) É uma decisão ética, para alguns casais, gerar uma criança;
 - (D) É uma decisão ética gerar uma criança para alguns casais;
 - (E) Gerar uma criança é uma decisão ética, para alguns casais.
2. Se a decisão é "ética" ele interfere com valores:
 - (A) econômicos;
 - (B) políticos;
 - (C) morais;
 - (D) religiosos;
 - (E) sociais.
3. "Essa técnica foi desenvolvida há uma década por pesquisadores londrinos e não foi bem recebida de imediato, pois criava impasses éticos. Via-se no PGD uma maneira de os pais controlarem o perfil genético e escolherem o sexo do futuro bebê"; o comentário INCORRETO sobre esse segmento do texto é:
 - (A) a técnica aludida é a do PGD;
 - (B) a técnica vem sendo desenvolvida por dez anos;
 - (C) o impasse ético aludido é o do controle genético;
 - (D) escolher o sexo do futuro bebê não é visto como um fato positivo;
 - (E) a técnica do PGD demorou um pouco a ser aceita.
4. O PGD é "uma forma precoce de diagnóstico pré-natal"; isso significa que o PGD:
 - (A) ainda não está totalmente desenvolvido;
 - (B) identifica bem cedo problemas do embrião;
 - (C) é feito com a finalidade de antecipar o nascimento do bebê;
 - (D) indica problemas do bebê pouco antes do nascimento;
 - (E) alerta para o caso de o bebê nascer antes do momento previsto.
5. "É um procedimento tecnicamente desafiador"; esta afirmação se justifica porque:
 - (A) o PGD exige bom preparo dos profissionais;
 - (B) é um procedimento ainda bastante novo;
 - (C) se trata de um procedimento não totalmente conhecido;
 - (D) a técnica deve ser adquirida em tempo recorde;
 - (E) o PGD é realizado com risco de morte da paciente grávida.
6. "o Código de Ética do Conselho Federal de Medicina não permite a seleção sexual do embrião"; a forma em negrito equivale à forma "proíbe". A alternativa em que a equivalência apontada está ERRADA é:
 - (A) não trabalha aos domingos = descansa aos domingos;
 - (B) não aceita trabalho pesado = recusa trabalho pesado;
 - (C) não intervém na briga = participa da briga;
 - (D) não falou diante do juiz = emudeceu diante do juiz;
 - (E) não sabe a verdade = ignora a verdade.
7. "aborto espontâneo", referido na última linha do texto, é aquele que:
 - (A) ocorre sem que tenha sido provocado;
 - (B) é causado por medicamentos específicos;
 - (C) é fruto da vontade da gestante;
 - (D) acontece em casos de perigo de vida para a gestante;
 - (E) é provocado exclusivamente pelo próprio embrião.

8. "espontâneo" é palavra grafada com S; a alternativa abaixo que mostra uma palavra erradamente grafada é:
- (A) misto;
 - (B) sesta;
 - (C) estender;
 - (D) esplêndido;
 - (E) estinguir.
9. O principal objetivo deste texto deve ser:
- (A) causar interesse nos leitores pela seleção do sexo dos bebês;
 - (B) criticar certas posições retrógradas de nossas autoridades médicas;
 - (C) informar os leitores sobre questões médicas;
 - (D) analisar questões sobre o ponto de vista social;
 - (E) provocar suspense por meio de ocultamento de dados.
10. "Hoje o PGD é totalmente aceito, inclusive no Brasil"; esta frase significa que o PGD é aceito:
- (A) em todos os países, até mesmo no Brasil;
 - (B) sem restrições, mesmo no Brasil;
 - (C) em todos os lugares, exceto no Brasil;
 - (D) de forma ampla e em todos os países, até no Brasil;
 - (E) no Brasil, mesmo que não totalmente.

MICROSCOPIA

11. Ácidos nucleicos, DNA e RNA, podem ser detectados por hibridização *in situ*, utilizando-se sondas de oligonucleotídeos sintéticos conjugadas com marcadores imunológicos, como biotina ou digoxigenina. Os híbridos são revelados por reações imunocitoquímicas, permitindo a localização celular de gens específicos ou as transcrições gênicas. Analise as seguintes afirmativas:

I- A temperatura de hibridização depende da composição de bases da sonda, concentração de sais e formamida no tampão;

II- As condições de estringência variam de acordo com a sonda utilizada. A temperatura de hibridização será menor em sondas com grande quantidade de GC;

III- Altas concentrações da sonda e condições de baixa estringência podem resultar em reações não específicas;

IV- Dextran sulfato é amplamente utilizado para concentrar a sonda e aumentar a velocidade de hibridização.

Das afirmativas acima estão corretas:

- (A) apenas I, II e IV;
- (B) apenas I e IV;
- (C) apenas II e III;
- (D) apenas I, III e IV;
- (E) apenas I e II.

12. Técnicas histoquímicas são utilizadas para revelação de elementos teciduais e celulares. Os corantes utilizados para a visualização de organelas como o complexo de Golgi, mitocôndrias e DNA, respectivamente, são:

I- Técnica de Polak (impregnação metálica) Aoyama (impregnação pela prata) e coloração de Feulgen;

II- Aoyama (impregnação pela prata), técnica de Polak (impregnação metálica) e coloração de Feulgen;

III. Coloração de Feulgen, Técnica de Polak (impregnação metálica) e Aoyama (impregnação pela prata).

Assinale:

- (A) somente I e III estão corretas;
- (B) somente a II está correta;
- (C) somente a III está correta;
- (D) somente I e II estão corretas;
- (E) todas estão corretas.

13. De acordo com o comportamento de determinados corantes, sua cor original pode ou não ser alterada frente a determinados constituintes celulares. Por exemplo, na ortocromasia os corantes mantêm sua cor original na estrutura corada, enquanto na metacromasia a cor do corante é alterada durante a sua interação com algumas estruturas celulares. Assinale os tipos celulares em que ocorre a metacromasia:

I- coloração de mastócitos pelo azul de Toluidina;

II- coloração de macrófagos e monócitos pela hematoxilina;

III- coloração de fibroblastos pelo azul de Toluidina;

IV- coloração de hepatócitos pela hematoxilina e eosina.

- (A) somente II e III estão corretas;
- (B) somente a IV está correta;
- (C) somente a I está correta;
- (D) somente a III está correta;
- (E) todas estão corretas.

14. As técnicas histoquímicas permitem a localização, ao microscópio de luz, de componentes químicos específicos que compõem as células e tecidos. Para a demonstração da enzima Acetilcolinesterase (AChE) presente em fibras nervosas do sistema nervoso autônomo é necessário que ocorra a seguinte reação:

I- a enzima AChE hidrolisa o substrato, em citrato e tiocolina. O acetato reage com o ferricianeto, reduzindo a ferrocianeto e combina-se com o cobre formando o ferrocianeto cúprico;

II- a enzima AChE hidrolisa o substrato, em acetato e tiocolina. A tiocolina reage com o ferricianeto, o reduz a ferrocianeto que por sua vez, combina-se com o cobre formando o ferrocianeto cúprico;

III- a enzima AChE hidrolisa o substrato, em acetato e tiocolina. O acetato reage com o ferricianeto, o reduz a ferrocianeto que por sua vez combina-se com o cobre formando o ferrocianeto cúprico;

- (A) somente II e III estão corretas;
- (B) somente a II está correta;
- (C) somente a I está correta;
- (D) somente a III está correta;
- (E) todas estão corretas.

15. A fixação constitui um dos processos fundamentais no exame histológico de organismos animais e vegetais. Uma fixação racional dependerá de um conhecimento prévio das propriedades físicas e químicas dos constituintes a serem preservados e suas interações com as substâncias químicas fixadoras. Além destes fatores, considere a(s) alternativa(s) abaixo:

I- a natureza do tecido a ser fixado;

II- o tamanho do espécime não precisa ser levado em conta, devido a boa penetração de todos os tipos de fixadores;

III- a natureza patológica, considerando-se a estrutura tissular e o grau de eficiência da fixação necessária;

IV- a coloração a ser empregada, sabendo-se que pode ser influenciada pela fixação.

- (A) I, III e IV estão corretas;
- (B) somente a III e IV estão corretas;
- (C) somente a II está correta;
- (D) somente a II, III estão corretas;
- (E) todas estão corretas.

16. Para o estudo das partes moles dos tecidos ricos em sais de cálcio, tais como osso, dente e cartilagem calcificada, é necessária a remoção destes componentes antes da microtomia. Em que etapa do processamento para inclusão em parafina é feita a descalcificação:

- (A) entre a desidratação e clarificação;
- (B) logo após a clarificação;
- (C) entre a fixação e a desidratação;
- (D) entre a clarificação e a infiltração;
- (E) antes da clarificação.

17. Nos diversos tipos de tecidos conjuntivos, colorações específicas são utilizadas para a visualização de fibras colágenas (tipos I e II), fibras reticulares e fibras elásticas. Determine na seqüência abaixo os métodos de coloração destes componentes de matriz extracelular:

I- Weigert, Reticulina de Gomori, e Tricrômico de Mason;

II- Reação de Feulgen, Tricrômico de Gomori e Reação de PAS;

III- Tricrômico de Masson, reticulina de Gomori e Weigert;

IV- Reticulina de Gomori, Reação de PAS e Tricrômico.

(A) somente a II e IV estão corretas.

(B) somente a II e III estão corretas.

(C) somente a III está correta.

(D) somente a I está correta.

(E) todas estão corretas.

18. Para determinação da fenotipagem celular presente em lesões de pacientes com Leishmaniose tegumentar, os fragmentos da biópsia de pele foram congelados em Tissue Tek e processados para identificação de antígenos específicos pelo método de imunofluorescência indireta.

Sobre os procedimentos adotados avalie as afirmativas:

I- Detecção de macrófagos teciduais pelo anticorpo anti-F4/80;

II- Detecção de células musculares pelo anti-corpo anti-desmina;

III- Detecção de mastócitos pelo anticorpo anti-fibrina;

IV- Detecção de linfócitos com anticorpo anti-CD4 e anti-CD8.

Assinale:

(A) apenas I e III estão corretas;

(B) apenas I, II e IV estão corretas;

(C) apenas a III está correta;

(D) apenas III e IV estão corretas;

(E) todas as afirmativas estão corretas.

19. Visando preservar antígenos localizados intracelularmente, a fixação deve ser feita com baixa concentração de glutaraldeído e inclusão em resina hidrófila. Identifique os protocolos que devem ser usados para a localização de filamentos de actina em fibroblastos.

I- Fixação com 3% de glutaraldeído, 4% de paraformaldeído e ácido picrico em PBS, pós-fixação em 1% de tetróxido de ósmio e inclusão em Lowicryl K11M;

II- Fixação com 0,5% de glutaraldeído, 4% de paraformaldeído e ácido picrico em 0,1 M de tampão cacodilato de sódio, pH 7.2 e incluído em Lowicryl K11M.

III- Fixação com 2% de glutaraldeído em PBS, pós-fixação em 1% de tetróxido de ósmio e inclusão em Poly-Bed 812;

IV- Fixação com 0,1% de glutaraldeído, 4% de paraformaldeído e ácido picrico em 0,1 M tampão cacodilato de sódio, pH 7.2 e inclusão em Lowicryl K11M;

(A) apenas I e IV estão corretos;

(B) apenas II e IV estão corretos;

(C) apenas III está correto;

(D) apenas III e IV estão corretos;

(E) todas as afirmativas estão corretos.

20. A microscopia de varredura laser confocal apresenta as seguintes características:

I. Óptica de alta resolução, com lentes objetivas planoapocromáticas de grande abertura numérica;

II. Limita a profundidade de campo.

III. Sistema de condução e detecção de luz, equipado com fotomultiplicadores mono e policromáticos;

IV. Obtenção de Imagens Multidimensionais;

V. Geração de imagens por luz transmitida, refletida e emitida, a partir da iluminação por varredura a laser;

(A) somente I e III estão corretas;

(B) somente a II, III e V estão corretas;

(C) somente a I, III, IV e V estão corretas;

(D) todas estão corretas;

(E) somente I, II e V estão corretas.

21. O objetivo da iluminação no microscópio de varredura laser confocal é produzir e manter a integridade de uma área iluminada no espécime analisado, com difração limitada, em determinado plano focal. Para que os lasers sejam ideais como fonte de iluminação, estes devem apresentar:

I- altíssimo índice de coerência espacial e temporal entre as ondas;

II- perfil gaussiano;

III- monocromaticidade e pequena divergência dos raios constituintes do feixe;

IV- emissão não polarizada;

V- grande intensidade de brilho

(A) somente I, II, III e V estão corretas;

(B) somente I, II e V estão corretas;

(C) somente I, III e IV estão corretas;

(D) todas estão corretas;

(E) somente I, II e III estão corretas.

22. O microscópio de varredura laser confocal NÃO apresenta a seguinte vantagem sobre o microscópio de fluorescência convencional:

- (A) processamento computacional associado à óptica infinita, permitindo grandes aumentos na tela do computador até reconstruções tridimensionais;
- (B) permite o uso de glutaraldeído como fixador das células, pois são autofluorescentes, ideal para ensaios de imunomarcção;
- (C) possibilidade de superposição da imagem obtida com luz transmitida, por exemplo, por DIC, gerando a imagem tecidual ou celular onde o fluoróforo está localizado;
- (D) utilização de vários fluoróforos, com espectro de excitação e/ ou emissão diferentes, possibilitando reconstruções tridimensionais;
- (E) óptica confocal, com iluminação por laser, fornecendo maior nitidez à imunofluorescência e opção de obter secções ópticas.

23. Sobre a microscopia óptica avalie os fatores que determinam a qualidade da imagem e a resolução:

I- abertura numérica da objetiva;

II- lentes com resíduos de óleo de imersão e lâminas com impressões digitais;

III- lamínulas de espessura de 0,17mm para uso com objetivas de grande abertura sem óleo de imersão;

IV- excesso de meio de montagem aumentando a espessura da lamínula.

- (A) somente I e III estão corretas;
- (B) somente I, II e IV estão corretas;
- (C) somente I, II e III estão corretas;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente I e IV estão corretas.

24. O processamento de material biológico para microscopia eletrônica envolve o uso de soluções voláteis. Assim, todo o procedimento deve ser realizado em _____, utilizando-se equipamentos de proteção _____.

As lacunas são corretamente preenchidas por:

- (A) cabine de biossegurança NB2 vertical – individual;
- (B) capela de exaustão – coletivo;
- (C) cabine de biossegurança NB2 horizontal - coletivo;
- (D) cabine de biossegurança NB3 – coletivo;
- (E) capela de exaustão – individual.

25. Objetivas são responsáveis pela formação da imagem primária e determinam a resolução da imagem/qualidade da imagem no microscópio. As objetivas podem ser corrigidas para diferentes artefatos ópticos como astigmatismo, distorção geométrica, curvatura do campo e aberrações esféricas e cromáticas. Considerando-se os diferentes tipos de objetivas, assinale a afirmativa INCORRETA:

- (A) objetivas acromáticas são corrigidas para aberração cromática axial em dois comprimentos de onda (azul – 486nm e vermelho – 655nm);
- (B) objetivas cromáticas são corrigidas para aberração esférica na cor verde (546nm);
- (C) objetivas planas são corrigidas para curvatura do campo e apresentam baixa distorção;
- (D) objetivas de fluoreto, corrigidas para aberrações cromáticas e esféricas, apresentam menor resolução e contraste do que objetivas acromáticas;
- (E) objetivas apocromáticas apresenta níveis de correção cromática e esférica superiores as objetivas de fluoreto;

26. Microscopias de contraste de fase e contraste de interferência diferencial (DIC) são técnicas complementares, capazes de produzir imagens com elevado contraste em material biológico não corado. As características específicas desses microscópios são:

I- uma vantagem do contraste de interferência diferencial sobre o contraste de fase é a possibilidade de produzir excelentes imagens com espécimes relativamente espessos, além de indicar a topografia do material, como uma pseudo-tridimensional estrutura;

II- o sistema de interferência Normaski consiste de um polarizador, um prisma Wollaston abaixo do condensador e um analisador acima deste prisma;

III- a microscopia de contraste de fase é especialmente útil no exame da estrutura e de movimento de organelas maiores como o núcleo e mitocôndrias de tecidos vivos, transparentes e não-corados. Ela gera uma imagem com diferentes graus de obscuridade ou luminosidade.

Assinale a(s) alternativa(s) correta(s):

- (A) apenas I e II estão corretas;
- (B) apenas II e III estão incorretas;
- (C) apenas a II está correta;
- (D) apenas a I está incorreta;
- (E) todas estão corretas.

27. No tecido conjuntivo podemos encontrar colágeno Tipos I, II e III. A marcação diferenciada pode ser feita utilizando como corante o picosírius ou *Sirius red*, dependendo de um pré-tratamento com ácido fosfomolibdico. Para a visualização destas estruturas deve ser usada:

- I- Microscopia de Luz Polarizada
- II- Microscopia de Luz Transmitida
- III- Microscopia de contraste diferencial interferencial
- IV- Microscopia de contraste de fase.

- (A) apenas a II está correta;
- (B) apenas III e IV estão corretas;
- (C) apenas a III está correta;
- (D) apenas I está correta;
- (E) todas estão corretas.

28. Uma espécie de *Leishmania* foi transfectada com o gene da proteína fluorescente verde (*green fluorescent protein-GFP*). Esses parasitas foram usados para interagir com macrófagos peritoneais de camundongos e posterior avaliação da infecção destas células por metodologias conhecidas. Dentre as opções abaixo, escolha a que melhor se adapta a este experimento:

I- Macrófagos aderidos em lamínulas foram infectados e após 24h as células foram fixadas com glutaraldeído. Em seguida, processadas para microscopia de varredura;

II- Macrófagos aderidos em lamínulas foram infectados e após 24h as células foram fixadas com formaldeído. Em seguida, processadas para microscopia confocal;

III- Macrófagos aderidos em lamínulas foram infectados e após 24hs as células foram fixadas com paraformaldeído. Em seguida, processadas para microscopia de fluorescência;

IV- Macrófagos aderidos em lamínulas foram infectados e após 24hs as células foram fixadas com glutaraldeído. Em seguida, processadas para microscopia de contraste de fase.

Assinale:

- (A) apenas a II está correta;
- (B) apenas III e IV estão corretas;
- (C) apenas a II e III estão corretas;
- (D) apenas I está correta;
- (E) todas estão corretas.

29. Para fazer uma imunomarcação alguns cuidados devem ser tomados:

I- Utilizar sempre a concentração do anticorpo recomendado pelo fabricante;

II- Não fazer NUNCA lavagens prolongadas (possibilidade de perda do antígeno!).

III- Antes do processamento observar a qualidade das suas células (viabilidade e idade) e procurar conhecer a sensibilidade do seu antígeno para usar o fixador certo.

IV- Só poderá fazer dupla marcação ao mesmo tempo se um anticorpo for policlonal e o outro monoclonal, podendo assim juntar os anticorpos numa mesma solução.

- (A) somente I e III estão corretas;
- (B) somente II, III e IV estão corretas;
- (C) somente a III está correta;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente I, II e IV estão corretas.

30. Um processamento de material biológico fora dos padrões de qualidade para microscopia eletrônica de varredura, pode gerar os seguintes problemas durante a sua observação:

I- Imagens instáveis e com deformações;

II- Imagens com excesso de ruído e com a baixa condutividade do material em função de um revestimento insatisfatório;

III- Imagens desfocalizadas por causa de uma fixação com alta osmolaridade.

IV- Imagens com material extraído ou rompido devido a uma desidratação brusca durante a secagem pelo ponto crítico.

- (A) apenas I, II e IV estão corretas;
- (B) apenas I e IV estão corretas;
- (C) apenas II está correta;
- (D) apenas IV está correta;
- (E) todas estão corretas.

DIAGNÓSTICO POR MICROSCOPIA

31. Algumas substâncias, utilizadas como corantes para microscopia óptica convencional, emitem luz quando estimuladas por radiação de determinado comprimento de onda. Essa propriedade tem aplicação em microscopia de varredura laser confocal pela geração de imagens refletidas, à semelhança dos fluorocromos. Os corantes que apresentam essa propriedade:

- I. eritrosina
- II. azul de Evans e azul de toluidina
- III. azul de Evans e sulfato de berberina
- IV. hematoxilina (quando estimulada com laser de argônio (488nm) e com filtro de emissão na faixa 515-565).

- (A) apenas I, II e IV;
- (B) apenas I e IV;
- (C) apenas II e III;
- (D) apenas I e III;
- (E) apenas I e II.

32. Análise a(s) afirmativa(s) corretas:

I. Imunomarcagem com enzimas como a peroxidase conjugada a anticorpo, pode ser utilizada na microscopia confocal possibilitando explorar os recursos da óptica confocal, como a reconstrução tridimensional;

II. Metais como o ouro ou a prata são utilizados em microscopia confocal, por refletirem o laser;

III. A luz refletida pela reticulina de Gomori em microscopia confocal é obtida pela excitação de moléculas;

IV. A fim de aumentar a intensidade de sondas marcadas com ouro o uso de técnicas à base de sais de prata é um dos recursos na microscopia confocal.

- (A) apenas I e II;
- (B) apenas I e IV;
- (C) apenas II e IV;
- (D) todas estão corretas;
- (E) apenas II e III.

33. Considere as afirmativas abaixo com relação à especificidade de alguns corantes empregados em microscopia confocal:

I. O picosirius ou *Sirius red* apresenta propriedade para coloração de corpúsculos lipídicos;

II. Azul de Evans corante vital, utilizado para estudos in vivo, marca fibras elásticas da pele ou de parede de artérias;

III. Romanovsky-Giemsa revela a cromatina nuclear de células sangüíneas humanas e dá destaque para a membrana;

Estão corretas:

- (A) apenas a I.
- (B) apenas a III;
- (C) apenas a II;
- (D) apenas I e III;
- (E) todas estão corretas.

34. Os processos de interação do feixe de elétrons com a matéria geram sinais utilizados em microscopia eletrônica de varredura. Sobre eles avalie as afirmativas:

I. *raios X*: para identificar e quantificar os elementos químicos presentes;

II. *elétrons secundários*: de baixa energia, 50 eV, emergem de uma profundidade de 100 a 200 Å, dependem da topografia da superfície da amostra e apresentam imagem com boa profundidade de foco;

III. *elétrons retroespalhados*: apresentam imagem com maior resolução que os elétrons secundários; e emergem de uma profundidade entre 300 e 400 Å. Têm energia alta, podendo ser aproximadamente igual à do feixe incidente;

IV. *elétrons absorvidos*: correspondem à fração dos elétrons primários que perdem toda sua energia na amostra, constituindo a chamada corrente da amostra.

- (A) somente I, II e IV estão corretas;
- (B) somente II e III estão corretas;
- (C) somente IV está correta;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente II e IV estão corretas.

35. O microscópio eletrônico de varredura de baixo vácuo apresenta as seguintes vantagens:

I. análise de espécime não condutivos e condutivos;

II. o material pode ser analisado sem revestimento com metais, evitando alterar a amostra, com ampla aplicação em paleontologia e arqueologia;

III. apresenta as mesmas vantagens que o microscópio eletrônico de varredura ambiental;

IV. material biológico após fixação pode ser analisado direto no microscópio, sem desidratação pelo ponto crítico.

- (A) somente IV está correta;
- (B) somente II, III e IV estão corretas;
- (C) somente I, II e IV estão corretas;
- (D) somente I e III estão corretas;
- (E) todas estão corretas.

36. Aplicações do microscópio eletrônico de varredura ambiental:

I. *na área farmacêutica* – exame de propriedades físico-químicas dinâmicas, como desintegração e dissolução de drogas para o estudo dos mecanismos de liberação de drogas;

II. *na cosmética* – por exemplo, nos processos de hidratação de fios de cabelo por cremes e xampus;

III. *na entomologia* - observação de insetos vivos;

IV. *na química* – observação de reações químicas, como cristalização de sais.

- (A) somente III está correta;
- (B) somente I e II estão corretas;
- (C) somente I e III estão corretas;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente I, II e IV estão corretas.

37. Algumas perturbações da imagem são observadas durante a análise de material em microscopia eletrônica de varredura, como imagens sem foco, sem contraste, instáveis, de má qualidade, com ruídos, extremidades denteadas ou ainda, deformadas ou distorcidas. As possíveis causas podem ser:

- I. A interação entre o espécime e o feixe de elétrons;
- II. Condições de ajuste do microscópio;
- III. A preparação do espécime;
- IV. O próprio instrumento apresentando defeito.

- (A) apenas I, II e IV;
- (B) apenas I e IV;
- (C) apenas II e III;
- (D) apenas I, III e IV;
- (E) I, II, III e IV.

38. A criofixação é um processo de solidificação do material biológico por congelamento que tem por objetivo, dentre outros fatores, o deslocamento mínimo de seus componentes. Esse processo apresenta as seguintes características:

- I. Permite estudos morfológicos como no estado "in vivo";
- II. Permite estudos da distribuição de ions celulares, como no estado "in vivo";
- III. Não evita a formação de artefatos (retração e dilatação das células).
- IV. Fornece uma interpretação mais racional, sem interações químicas e sem extração;
- V. Permite avaliar processos fisiológicos, pois podem ser interrompidos a qualquer tempo;

- (A) somente I e IV estão corretas;
- (B) somente II está correta;
- (C) somente I, II e IV estão corretas;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente II e III estão corretas.

39. Diante da necessidade de um diagnóstico morfológico rápido de um tecido, a melhor opção de processamento do material biológico é:

- (A) ultra-estrutural para microscopia eletrônica de varredura;
- (B) imunofluorescência para microscopia de varredura laser confocal;
- (C) crio-técnicas;
- (D) fixar, corar e observar por microscopia de luz normal;
- (E) nenhuma das respostas acima.

40. Um grande repertório de técnicas tem sido empregado na tentativa de preservar o tecido nas mesmas condições encontradas no organismo vivo em atividade. Com relação à fixação química os fatores que restringem a aplicação dessa técnica são:

- I. a manutenção das propriedades de moléculas quando interagem com agentes químicos;
- II. a redistribuição e extração de substâncias difusíveis nas células;
- III. as ligações cruzadas de macromoléculas pela fixação química provocando a solidificação de constituintes líquidos;
- IV. a introdução de artefatos causados pelos métodos químicos convencionais;

- (A) somente I e II estão corretas;
- (B) somente II está correta;
- (C) somente I, e IV estão corretas;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente II, III e IV estão corretas.

41. Vários métodos têm sido desenvolvidos e amplamente aplicados em imunocitoquímica para a localização de antígenos de superfície usando anticorpos e marcadores eletrondensos ou fluoróforos. A aplicação de técnicas de congelamento rápido tem ampla aceitação devido à excelente preservação dos tecidos. Avalie as afirmativas:

I. O tecido é fixado com 4% de paraformaldeído, em seguida imerso em 2,3 M de sacarose e congelado em nitrogênio líquido, obtido cortes e realizada a imunomarcação;

II. O tecido é fixado com 4% de glutaraldeído, em seguida imerso em 2,3 M de sacarose e congelado em nitrogênio líquido, obtido cortes e realizada a imunomarcação;

III. O tecido é fixado com 4% de glutaraldeído, em seguida imerso em 2,3 M de manose e congelado em nitrogênio líquido, obtido cortes e realizada a imunomarcação;

IV. O tecido é fixado com 4% de paraformaldeído, em seguida imerso em 2,3 M de manose e congelado em nitrogênio líquido, obtido cortes e realizada a imunomarcação

- (A) apenas a I está correta;
- (B) apenas III e IV estão corretas;
- (C) apenas a III está correta;
- (D) apenas III e IV estão corretas;
- (E) todas as afirmativas estão corretas.

42. Na microscopia de varredura laser confocal o diâmetro do "Pinhole" determina:

I. A Intensidade da fluorescência, por exemplo se estiver muito aberto, irá permitir a passagem de sinais que não estejam exatamente no mesmo plano focal, diminuindo a resolução.

II. resolução máxima no plano xy (lateral) = 500-800 nm

III. Resolução no eixo "z" (espessura da secção óptica)

IV. resolução máxima em "z" (profundidade) = 380-400 nm

- (A) somente I e III estão corretas;
- (B) somente I, III e IV estão corretas;
- (C) todas estão corretas;
- (D) somente I, II e III estão corretas;
- (E) somente II e IV estão corretas.

43. Para diagnóstico da presença de determinado antígeno na superfície de uma célula, as opções de processamento desse material para fluorescência são:

I. imunomarcacão com as células vivas e posterior fixação;

II. incubação com o anticorpo após fixação das células com glutaraldeído e observação por fluorescência ou por microscopia de varredura laser confocal;

III. congelamento das células, imunomarcacão e posterior observação por microscopia de contraste de fase;

IV. processamento em historresina e posterior imunomarcacão para observação por microscopia de fluorescência.

- (A) somente III está correta;
- (B) somente II está correta;
- (C) somente I e IV estão corretas;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente I, II e IV estão corretas.

44. Para diagnóstico pós-emblocamento da presença de um determinado antígeno no tecido, os procedimentos técnicos que deveriam ser evitados são:

I. fixação com ósmio

II. fixação com altas concentrações de glutaraldeído

III. emprego de resinas Epoxy para emblocamento do material

IV. fixação física por congelamento rápido

- (A) apenas I e III;
- (B) apenas I;
- (C) apenas II;
- (D) Apenas III;
- (E) apenas IV.

45. Lectinas são glicoproteínas que reconhecem com grande especificidade açúcares. Um pesquisador propõe a um tecnologista uma pesquisa para identificar a participação de galactose no mecanismo de reconhecimento celular entre um microorganismo e uma célula. Os parâmetros que o tecnologista deverá considerar para o desenho experimental proposto são:

I. Se o ensaio for realizado com células vivas, a incubação com a lectina poderá ser feita pela conjugação da lectina marcada com peroxidase, sua revelação com diaminobenzidina após a fixação e análise por microscopia de luz convencional;

II. Pesquisar as lectinas que apresentam especificidade para galactose, estabelecer a concentração de uso, através de ensaios prévios e se certificar de que disponha do açúcar para os ensaios de competição visando o controle do experimento. Outro controle será empregar um tecido ou célula que sabidamente expressam galactose na sua superfície.

III. A seleção da lectina implica saber se esta reconhece, além da galactose, outro açúcar. Caso positivo, desenvolver ensaios experimentais com os dois açúcares, como controle da reação, a fim de evitar interpretação equivocada.

IV. O principal cuidado deverá estar relacionado com o tipo de microscopia que o material será analisado.

- (A) somente I e III estão incorretas;
- (B) somente a II está incorreta;
- (C) somente a IV está incorreta;
- (D) somente II e III estão incorretas;
- (E) todas estão incorretas.

46. O(s) melhor(es) recurso(s) para analisar células vivas é(são):

I. microscopia de contraste de fase;

II. microscopia de contraste de interferência diferencial;

III. microscopia confocal;

IV. vídeo-microscopia;

- (A) somente I e III estão corretas;
- (B) somente II está correta;
- (C) somente IV está correta;
- (D) todas estão corretas;
- (E) somente II e IV estão corretas.

47. Uma microscopia correlativa para evidencição de microtúbulos em uma célula de mamífero poderia ser aplicada quando:

I. O material é incubado com anticorpo, revelado com um segundo anticorpo conjugado a um fluoróforo e a análise será feita por fluorescência. Paralelamente, o material é incubado com o anticorpo e revelado pelo segundo anticorpo conjugado a ouro coloidal para análise por microscopia eletrônica de transmissão;

II. Incubação do material com anticorpo e a revelação realizada com o segundo anticorpo marcado com ouro coloidal e processado paralelamente como de rotina para microscopia eletrônica de varredura e transmissão;

III. O material deverá ser previamente permeabilizado para penetração do anticorpo, seguido do processamento para microscopia de fluorescência e para microscopia eletrônica de transmissão a revelação da proteína será feita em cortes ultra-finos, após emblocamento em resinas hidrofílicas.

Assinale:

- (A) somente I e III estão corretas;
- (B) somente II está correta;
- (C) somente III está correta;
- (D) somente II e III estão corretas;
- (E) todas estão corretas.

48. O emprego de fotoativação e fotoconversão como ferramenta de estudo de diferentes eventos biológicos, incluindo migração celular e via endocítica, têm contribuído para o esclarecimento de moléculas envolvidas nestes processos. Baseando-se no conhecimento conceitual, avalie as vantagens e aplicações destes métodos:

I- Cromóforos protéicos são opticamente convertidos de uma medida de emissão fluorescente para outra, processo denominado fotoconversão;

II- Proteína fluorescente verde (GFP) derivada de *Aequorea victoria* é ativada predominantemente na região espectral ultra-violeta;

III- A ativação da molécula não pode ser temporalmente e espacialmente controlada devido ao rápido declínio da fluorescência pela sua exposição a luz;

IV- Cromóforos protéicos podem ser ativados para iniciar emissão fluorescente de um estado quiescente, processo denominado fotoativação;

Assinale:

- (A) apenas II e III estão corretas;
- (B) apenas I e IV estão corretas;
- (C) apenas I, II e IV estão corretas;
- (D) apenas II, III e IV estão corretas;
- (E) todas estão corretas.

49. Avanços recentes em nanotecnologia introduziram uma nova classe de marcadores fluorescentes, os nanocristais semicondutores (Quantum Dots). Esses marcadores apresentam propriedades ópticas e espectroscópicas únicas que permitem sua ampla utilização em biotecnologia molecular e bioengenharia. Considerando-se as vantagens da utilização deste fluoróforo inorgânico, analise as seguintes afirmativas:

I. Quantum Dot apresenta alta fotoestabilidade e maior brilho do que corantes orgânicos;

II. O diâmetro e composição do nanocristal permite a seleção do comprimento de onda da luz emitida, variando da ultra-violeta a região infra-vermelho do espectro eletromagnético;

III. Diferentemente de corantes orgânicos convencionais, quantum Dots podem ser excitados por uma variedade de espectro de comprimento de onda.

IV. Uma única fonte de luz pode ser usada para excitação simultânea de diferentes tamanhos de quantum dots.

Assinale:

- (A) apenas I e III estão corretas;
- (B) apenas II e III estão corretas;
- (C) apenas II está correta;
- (D) apenas II e IV estão corretas;
- (E) todas estão corretas.

50. Técnicas de fluorescência são amplamente utilizadas para a visualização de estruturas em tecidos e células. Anticorpos específicos marcam as moléculas alvo e para serem visualizadas, o espécime deve ser incubado com um anticorpo secundário complexado a um fluorocromo. A marcação de três tipos de moléculas na célula será feita com fluorocromos que apresentem diferentes comprimentos de onda, emitindo assim cores diversificadas. Tendo como base estas informações, identifique quais os fluorocromos indicados para este protocolo:

I. FITC, isotiocianato de fluoresceína (TRITC) e *Texas Red*;

II. PeCP, FITC e r-ficoeritrina (PE);

III. *Texas Red*, r-ficoeritrina (PE) e isotiocianato de fluoresceína (TRITC);

IV. PeCP, isotiocianato de fluoresceína (TRITC) e *Texas Red*.

- (A) Apenas a II está correta;
- (B) Apenas III e IV estão corretas;
- (C) Apenas a III está correta;
- (D) Apenas IV está correta;
- (E) Todas as afirmativas estão corretas.