

## 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 biopsia 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 pícrico 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 pícrico 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 pícrico 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- laminulas 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 fosfomolibdídico. 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 laminulas foram infectados e após 24h as células foram fixadas com glutaraldeído. Em seguida, processadas para microscopia de varredura;
- II- Macrófagos aderidos em laminulas foram infectados e após 24h as células foram fixadas com formaldeído. Em seguida, processadas para microscopia confocal;
- III- Macrófagos aderidos em laminulas foram infectados e após 24hs as células foram fixadas com paraformaldeído. Em seguida, processadas para microscopia de fluorescência;
- IV- Macrófagos aderidos em laminulas 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.

**MICROSCOPIA ELETRÔNICA**

31. Os métodos citoquímicos ultra-estruturais utilizados para identificação de carboidratos podem ser classificados como:

- I. Os que se utilizam dos carboidratos que apresentam hidroxilas vicinais susceptíveis a oxidação por ácido periódico.
- II. Os que exploram o caráter ácido de alguns carboidratos como o ácido urônico que confere um caráter aniônico aos complexos moleculares.
- III. Os que se baseiam no uso de enzimas específicas previamente marcadas, com posterior visualização dos sítios de ligação;
- IV. Os que se baseiam na sua associação a grupamentos carregados positivamente (ligações eletrostáticas) como o alcian blue, vermelho de rutênio e ferro coloidal.

Estão corretas as afirmativas:

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

32. A contração negativa é um dos métodos para a visualização por microscopia eletrônica de transmissão de pequenas partículas em suspensão, como macromoléculas, partículas virais, bactérias e micoplasmas, que consiste do emprego de:

- I. qualquer metal pesado
- II. solução de PTA – ácido fosfotúngstico
- III. Molibdato de amônia na concentração de 2% a 4% em água.
- IV. Acetato de uranila na concentração de 2% a 4% em água

Estão corretas as afirmativas:

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

33. Em microscopia eletrônica de varredura convencional, os espécimes biológicos que geralmente não são resistentes ao calor, são facilmente danificados pelo feixe de elétrons. Para evitar este dano, alguns cuidados devem ser tomados:

- I. usar baixa aceleração de voltagem;
- II. diminuir a intensidade do feixe eletrônico;
- III. encurtar o tempo de exposição;
- IV. fotografar escaneando áreas grandes com baixa ampliação;
- V. controlar a espessura do revestimento do metal na superfície do espécime.

Estão corretas as afirmativas:

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

34. Alguns fatores modificam o contraste na imagem no microscópio eletrônico de transmissão e por consequência o produto final da imagem obtida, a saber:

- I. Abertura da Objetiva: Quando o objeto tem baixo contraste, pode-se passar para a abertura de 120 mm e, ao contrário, para objetos de alto contraste, utilizamos as de menor diâmetro (60 ou 30 mm);
- II. Potencial de Aceleração: Quando mais alto o potencial, menor o contraste;
- III. Espessura do Corte: Dentro de intervalos razoáveis, o contraste diminui com a espessura do corte;
- IV. Incorporação de Metais Pesados: A dispersão de elétrons é tanto maior quanto mais considerável for a concentração de elementos de alto número atômico numa dada região do objeto;
- V. Contraste no Microscópio: dependente da aceleração de voltagem mais baixa; adição de diafragmas para reduzir a perda de elétrons e o emprego de filamentos especiais que possibilitam o aumento de diferenças de tonalidade no ecran.

Estão corretas as afirmativas:

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

35. Na microscopia eletrônica de varredura, a profundidade de campo e a resolução podem variar de acordo com:

- (A) menor abertura da objetiva, promovendo menor profundidade de campo e alta resolução;
- (B) curta distância de trabalho, promovendo pequena profundidade de campo e alta resolução;
- (C) longa distância de trabalho, promovendo menor profundidade de campo e baixa resolução;
- (D) maior abertura da objetiva promovendo maior profundidade de campo e mais alta resolução;
- (E) menor abertura da objetiva, promovendo menor profundidade de campo e baixa resolução.

36. Para aumentar o contraste da preparação para microscopia eletrônica de transmissão se pode recorrer à técnica de:

- (A) adicionar o citrato de chumbo à solução de fixação;
- (B) adicionar o acetato de uranila à solução de glutaraldeído;
- (C) após a fixação, tratar o material por 1 hora com 2% de acetato de uranila em água;
- (D) adicionar o acetato de uranila à solução de ósmio;
- (E) adicionar o nitrato de chumbo à solução de desidratação.

37. Um pesquisador resolveu utilizar microscopia correlativa para definir a localização de um antígeno no tecido epitelial de mamíferos. Os possíveis recursos empregados são:

- I. microscopia interferencial e imunofluorescência;
- II. imunofluorescência e imunocitoquímica ultra-estrutural;
- III. histologia convencional e citoquímica ultra-estrutural;
- IV. contraste de fase e imunofluorescência.

Estão corretas as afirmativas:

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

38. A citoquímica ultra-estrutural para detecção de lipídeos emprega os seguintes métodos:

- I. O tampão imidazol na pós-fixação, por sua interação com o ósmio, aumentando a contrastação das inclusões lipídicas;
- II. 4% de glutaraldeído diluído em 0,1M de tampão imidazol, pH 7,5;
- III. 2% de tetróxido de ósmio dissolvido em 2% de tampão imidazol, pH 7,5 por 30 minutos;
- IV. O tetróxido de ósmio em alta concentração, para sua melhor ligação aos ácidos graxos insaturados

Estão corretas as afirmativas:

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

39. Para melhorar a visualização do retículo endoplasmático e dos sistemas membranares, utiliza-se:

- I. tampão tris durante a fixação primária;
- II. a técnica introduzida por Forbes (1977) adicionando-se cálcio às soluções fixadoras e 0,8% de ferrocianeto de potássio ao ósmio;
- III. adicionando-se ferrocianeto de potássio ao glutaraldeído;
- IV. somente adicionando-se 5mM de cloreto de cálcio a todas as soluções de fixação.

A(s) afirmativa(s) correta(s) é/são somente:

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

40. Um dos fenômenos observados com maior frequência no microscópio eletrônico é o astigmatismo, causado principalmente pela contaminação.

I. A diminuição da contaminação é contornada pelo uso de nitrogênio líquido, resfriando as superfícies metálicas, atraindo assim os depósitos que originam a contaminação;

II. O único recurso para diminuir o astigmatismo é limpar ou trocar a objetiva;

III. A contaminação obscurece os detalhes finos da amostra, provoca o astigmatismo e aumenta a aberração cromática.

IV. Pode ser gerado na atmosfera rarefeita do interior da coluna, onde há moléculas orgânicas, como vapor, óleo das bombas de vácuo ou gordura dos dedos. Essas moléculas são decompostas pelo bombardeamento dos elétrons, formando resíduos de carvão, contaminando a amostra e as aberturas das lentes.

Estão corretas as afirmativas:

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

41. Elementos de alto peso atômico têm sido utilizados como contrastantes em microscopia eletrônica de transmissão. Considere as afirmativas a seguir:

I. As substâncias devem atuar combinando-se com componentes específicos da célula e não reagir com o metal constituinte das grades;

II. Contrastar uniformemente;

III. Ser estável à temperatura ambiente;

IV. Os melhores contrastantes são o acetato de uranila e citrato de chumbo;

V. O chumbo evidencia os ribossomos e cristas mitocondriais, enquanto a uranila, as desoxirribonucleoproteínas.

Estão corretas as afirmativas:

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

42. Para uma imunolocalização ultra-estrutural algumas precauções devem ser tomadas:

- I. analisar inicialmente, o material por imunofluorescência para indicação da presença e localização do antígeno;
- II. partículas de ouro não devem ser observadas nas superfícies (resina ou suporte das grades) imediatamente adjacentes ao material;
- III. examinar o material sem pós-contrastação, para interpretação segura da morfologia do tecido, analisando o material em alta aceleração de voltagem;
- IV. experimentos controle sem o anticorpo primário, para demonstrar a especificidade da marcação;
- V. contrastação prolongada pode dificultar a associação do marcador com estruturas específicas, particularmente quando observadas em baixo aumento.

Estão corretas as afirmativas:

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

43. O emprego inadequado de métodos de fixação de diferentes sistemas biológicos pode gerar alterações estruturais, consideradas artefatos. A preservação ultra-estrutural é essencial para análise do material por microscopia eletrônica de transmissão, considerando-se que:

- I. A criofixação, método de congelamento rápido e super-rápido, permite a vitrificação do tecido, gerando artefatos pela formação de cristais de gelo;
- II. A osmolaridade da solução fixadora não influencia na ultra-estrutura;
- III. O emprego de fixadores aditivos, que não apresentam ação coagulante, permite a estabilização estrutural de proteínas;
- IV. A fixação química com aldeídos permite a preservação de membranas celulares por sua reação com fosfolípidos.

Estão corretas as afirmativas:

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

44. Para obter a preservação ultra-estrutural de um fragmento de tecido, um técnico utilizou diferentes agentes fixadores (etanol e aldeídos, p. ex., formalina e glutaraldeído) antes do procedimento de pós-fixação, desidratação e inclusão em Epon. Ao analisar as amostras ao microscópio eletrônico de transmissão foi possível observar que:

- I. A preservação de estruturas celulares foi superior quando os fixadores não aditivos foram utilizados;
- II. A fixação com etanol, que coagula proteínas, alterou sua configuração, resultando na perda da integridade de estruturas celulares;
- III. Após fixação com glutaraldeído ocorreu uma excelente preservação ultra-estrutural;
- IV. A fixação com formalina causou extração de grande parte do material do citosol e de membranas da célula, devido à presença de metanol.

Das afirmativas acima são corretas:

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

45. O veículo de fixação (agente tampão), característica físico-química do fixador, a textura do tecido e a temperatura de fixação podem influenciar na velocidade de penetração do fixador. Sabendo-se que ocorre uma rápida penetração do fixador quando são utilizados veículos hipertônicos, escolha entre as soluções abaixo, a que apresenta maior velocidade de penetração a 4°C.

- (A) 2,5% de glutaraldeído em 0,05M de tampão fosfato de sódio contendo 2,5mM  $\text{CaCl}_2$ , pH 7,2;
- (B) 2,5% de glutaraldeído em 0,1M de tampão cacodilato de sódio contendo 3,5% de sacarose, pH 7,2;
- (C) 2,5% de glutaraldeído em 0,05M de tampão TRIS-HCl pH 7,0;
- (D) 1% tetróxido de ósmio em tampão TRIS-maleato 0,1M pH 7,3;
- (E) 2,5% de glutaraldeído em 0,05M de tampão fosfato de sódio contendo 2,5mM  $\text{CaCl}_2$ , pH 7,2.

46. A análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de determinada espécie de hemiptera, na fase adulta, revelou diferentes tipos de cerdas nos segmentos da antena. Considerando-se as etapas de processamento deste material:

I. O revestimento do espécime com ouro prejudicou a resolução do material, pelo aumento da condutividade da superfície da amostra;

II. A fixação química e vaporização com tetróxido de ósmio neste material garantiram a alta condutividade de elétrons e melhor nitidez da imagem;

III. A fixação por métodos físicos como secagem ao ar e o revestimento com ouro aumentaram a condutividade da superfície do espécime, possibilitando a aquisição de imagens com alta resolução.

IV. Cola de prata coloidal e fita adesiva são freqüentemente utilizadas na montagem do espécime no suporte da amostra do MEV.

Estão corretas as afirmativas:

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

47. A imunocitoquímica ultra-estrutural tem sido amplamente aplicada na detecção de macromoléculas em amostras biológicas. Fixação com aldeídos e inclusão em resinas hidrofílicas, como Lowicryl K4M, permitem a manutenção da antigenicidade do material e boa preservação ultra-estrutural. Assinale a alternativa correta:

- (A) a especificidade do anticorpo primário é fundamental para reduzir reações inespecíficas, evitando informações equivocadas sobre a localização do antígeno investigado;
- (B) a utilização de controles negativos, como soro homólogo, pré-imune ou omissão do anticorpo conjugado com CY3, permite a confirmação da localização específica de macromoléculas.
- (C) agentes bloqueadores, como cloreto de amônio ou glicina, impedem a ligação inespecífica de anticorpos evitando a ligação de grupamentos OH na região N-terminal de proteínas;
- (D) a técnica de imunocitoquímica pré-inclusão não revela a presença de antígenos localizados na membrana plasmática;
- (E) altas concentrações de glutaraldeído favorecem o reconhecimento do complexo antígeno-anticorpo.

48. Com base no conhecimento sobre a interação do feixe de elétrons com a matéria para a formação da imagem em microscopia eletrônica de transmissão e varredura:

I. Imagens espectroscópicas são obtidas pela seleção de elétrons de perda de energia, permitindo o mapeamento de elementos da amostra por microscopia eletrônica de transmissão;

II. A imagem obtida em microscopia eletrônica de varredura é formada pela captura de elétrons primários;

III. Elétrons elásticos conferem contraste ao espécime observado por microscopia eletrônica de varredura;

IV. Elétrons transmitidos são responsáveis pela formação da imagem no microscópio eletrônico de transmissão.

Das afirmativas acima são 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.

49. A detecção de enzimas hidrolíticas por métodos citoquímicos baseia-se na interação enzima-substrato, sendo o resultado da atividade enzimática visualizado pela combinação do produto de hidrólise do substrato com o agente de captura, gerando um precipitado insolúvel. Considerando-se a revelação de enzimas por microscopia eletrônica, assinale a alternativa INCORRETA:

- (A) recomenda-se uma prévia fixação branda do espécime biológico com uma solução de 1% de glutaraldeído e 1% de paraformaldeído por tempos curtos. O meio de incubação contendo o substrato específico da enzima, o agente de captura e os íons ativadores deverá estar no pH específico da atividade enzimática;
- (B) a confiabilidade dos resultados deve-se ao uso de controles adequados que permitam comprovar a identidade da enzima analisada, por exemplo, omissão do substrato não específico ou íons ativadores e adição de inibidores não específicos ou substratos não específicos da enzima.
- (C) a precipitação de um metal pesado, dos agentes de captura, o  $CeCl_3$  ou  $Pb(NO_3)_2$ , ocorre no sítio da atividade da enzima;
- (D) a revelação de fosfatase alcalina ocorre em pH 9,0, sendo o substrato da enzima  $\beta$ -glicerofosfato e os inibidores específicos L tetramisole ou levamisole;
- (E) a vantagem do uso de cloreto de cério como agente de captura é a formação de um depósito eletrondenso delgado e homogêneo, tornando evidente a localização da enzima.

50. Considerando-se os diferentes métodos ultra-estruturais para detecção de carboidratos, assinale a alternativa INCORRETA:

- (A) o método de Thiéry, realizado em cortes ultra-finos, permite a detecção de carboidratos localizados na matriz extracelular, na superfície e no interior de células;
- (B) os métodos de vermelho de rutênio e ferro coloidal permitem a detecção de glicoconjugados na superfície celular;
- (C) lectinas conjugadas com partícula de ouro coloidal permitem a detecção de carboidratos em cortes ultrafinos de material biológico incluído em Lowicryl;
- (D) o método de detecção de carboidratos com imidazol deve ser realizado após fixação com glutaraldeído;
- (E) a ferritina cationizada pode ser utilizada na incubação de células vivas ou fixadas.