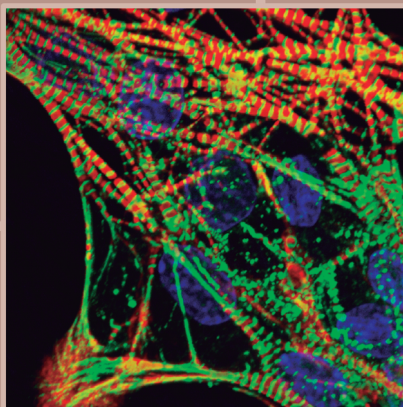
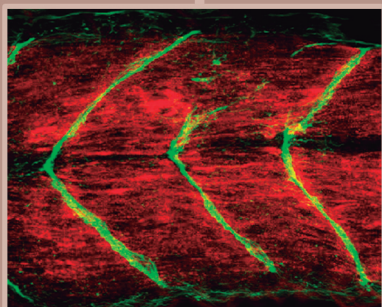
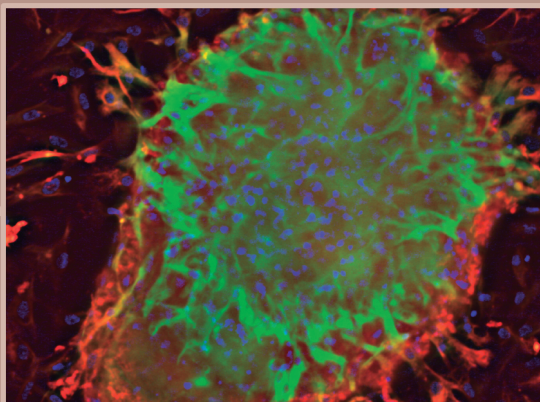
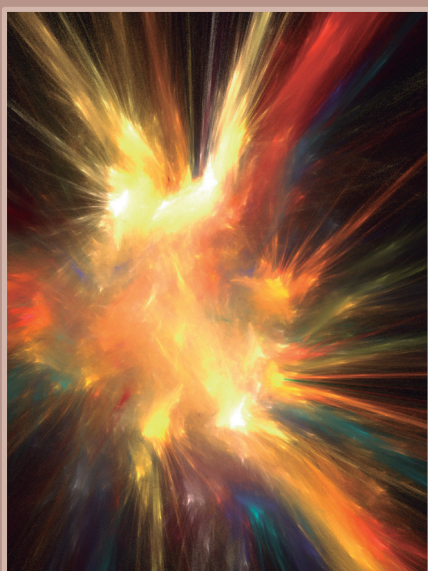


Conferências da Cátedra Fernando de Souza Barros do Colégio Brasileiro
de Altos Estudos da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Imagens dos Mundos Reais e Imaginários

Catedrático: Adalberto Vieyra

Organizadores: Profa. Cláudia Mermelstein
e Prof. Manoel Luis Costa





IMAGENS DOS MUNDOS REAIS E IMAGINÁRIOS

Conferências da Cátedra Fernando de Souza
Barros do Colégio Brasileiro de Altos Estudos da
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Catedrático

Adalberto Vieyra

Organização

Profa. Cláudia Mermelstein

Prof. Manoel Luis Costa

Rio de Janeiro • 2024

LUZERNÁ


Entre em acasocultural.com/mundos para acessar o portal de referências digitais deste livro. Lá você encontrará links para diversos conteúdos abordados no livro, além dos vídeos para cada uma das aulas aqui transcritas.

PREFÁCIO

Ana Célia Castro

Quando o professor Adalberto Vieyra apresentou sua proposta para o Ciclo de Conferências e Exposição — Imagens dos Mundos Reais e Imaginários: dos Átomos às Catedrais Passando pela Mente —, fiquei encantada e senti uma grande emoção ao perceber que a disciplina, a belíssima exposição de imagens no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) e no Colégio Brasileiro de Altos Estudos (CBAE), e agora este livro, captaram a essência da proposta interdisciplinar e transversal — da ciência, a medicina, a psicologia, até a arte, a arquitetura, a sociologia e a política —, ilustrando o impacto transformativo das imagens e sons na percepção humana e na exploração dos seus múltiplos campos do conhecimento.

As imagens não são o imaginário, mas ajudam a melhor percebê-lo, recriando uma metarrealidade que é essencial para os desdobramentos na fronteira do conhecimento — seja para resolver problemas complexos, para explorar o potencial de novas formas de comunicação e de ensino, seja para captar o encantamento da expressão artística.

A escolha do tema “imagens” revelou o seu poder mágico e a sua capacidade de ressignificar e captar a essência dos temas que foram tratados, que vão desde a evolução histórica da imagem à microscopia na biologia celular e seus avanços futuros, ao papel das imagens no estudo de doenças crônicas, à matemática dos fractais, à astronomia, às imagens da nação e à interação entre ciência e sociedade. Foram particularmente desconcertantes os temas das funções cerebrais do pensamento e das emoções vistas pela ressonância magnética nuclear, das imagens e do mundo psicodélico, da plasticidade do cérebro que aprende, e das imagens da música, da pintura, e da loucura.

O professor Adalberto em parceria com os professores Cláudia Mermelstein e Manoel Luis Costa eternizam, com a transcrição das aulas e palestras para a organização do livro da Cátedra, essa explosão de conhecimentos e das suas múltiplas representações, sendo uma delas a que ocorre por meio das *imagens*.

Este é um convite, quase uma intimação, a aventurar-se nesta jornada de descobertas, que será inspiradora e semeará a curiosidade da busca permanente de novos horizontes.

INTRODUÇÃO

Adalberto Vieyra

Durante o ano de 2019, o Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) começou a se preparar para a celebração de uma efeméride: o Bicentenário da Independência do Brasil em 2020. Em março de 2020, começando a longa noite da pandemia, o CENABIO passou a idealizar uma maneira original de celebração que fosse capaz de congregiar as pessoas de maneira híbrida, respeitando as medidas de isolamento. É importante recordar que, ao longo de 2020, o CENABIO destacou-se como um referencial em estudos da ultraestrutura do SARS-CoV-2 por ressonância magnética nuclear (NMR), sendo o único no Hemisfério Sul a integrar a Rede Mundial NMR Covid-19. Além disso, foi também um referencial em mecanismos de lesão provocados pelo vírus. Em 2021, em face do progresso dessas iniciativas, o CENABIO ingressou no mundo da criomicroscopia eletrônica. Essa abordagem, desenvolvida centralmente em seus diferentes aspectos por Jacques Dubochet, Joachim Frank e Richard Henderson — contemplados em 2017 com o Prêmio Nobel de Química —, foi a que permitiu obter as primeiras imagens do SARS-CoV-2. A criomicroscopia eletrônica tornou-se realidade na UFRJ no início de novembro de 2023.

Formas de representação e de registro de processos e mecanismos estudados nesses projetos e iniciativas são as *imagens*, de características e formas variadas, que se multiplicam a cada dia. Em torno dessas *imagens*, cartões de visita que apresentam a vida do CENABIO como Centro Nacional Multiusuários, foi inicialmente pensada uma proposta de Cátedra que seria apresentada ao Colégio Brasileiro de Altos Estudos (CBAE) da UFRJ para a celebração. Idealizou-se uma série de conferências, proferidas por especialistas ao longo de 2022, como forma de apresentar as imagens de atividades desenvolvidas e de fenômenos estudados pelos usuários do

CENABIO no cenário da ciência mundial, como contribuição para comemorar o Bicentenário da Independência.

Essa realização foi possível porque, à medida que 2021 avançou, uma nova ideia foi surgindo e adquirindo contornos cada vez mais nítidos entre os integrantes do corpo social do CENABIO. Estimulado pela iniciativa do Instituto de Futuros, que começou a ser construída pelo CBAE, o CENABIO foi delineando uma nova proposta que pode ser resumida e caracterizada pelas perguntas: por que não apresentar as imagens do CENABIO junto às que emergem de outros saberes cultivados na UFRJ? Por que não interagir com outras Cátedras? Por que não trazer figuras de renome acadêmico de outros lugares?

Desde o início, tornou-se claro — o que gerou uma situação de difíceis escolhas — que não seria possível incluir num amplo caleidoscópio de imagens aquelas representativas de todos os campos de saberes cultivados numa instituição como a UFRJ. Mas, aos poucos, foi sendo desenhada uma aquarela de imagens capaz de incluir a ciência, as artes, as letras, o processo social de criação de uma identidade nacional; e, por que não, as imagens do cosmos? Por que não também a fotografia e o cinema, paradigmas da veiculação de imagens entre o grande público?

Apresentaremos a seguir uns poucos exemplos que ilustram a construção dessa diversidade oferecida de forma híbrida por meio do CBAE em 2022, reconhecendo, como uma limitação deste texto, que esta introdução não antecipa a riqueza de todos. A escolha dos exemplos teve como critério contemplar os dois conferencistas internacionais e incluir quatro dos conferencistas externos às ciências da vida.

A abertura com Kurt Wüthrich — ganhador do Prêmio Nobel de Química em 2002 por suas contribuições para a obtenção de imagens de macromoléculas por ressonância magnética nuclear e membro de um dos dois Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia ancorados no CENABIO — mostrou também a caminhada de fundação do CENABIO desde o final dos anos 1990 até sua criação pelo Conselho Universitário da UFRJ em 2013. Angus Kirkland, da Universidade de Oxford, contribuiu com imagens de átomos e moléculas de materiais “inanimados”, demonstrando, entretanto, que elas são como as imagens encontradas no mundo das ciências da vida, e antecipando com elas sua visão dos horizontes da microscopia nos próximos 50 anos.

Marco Lucchesi, ex-presidente da Academia Brasileira de Letras, trouxe reminiscências de fractais na literatura, e especialmente na poética. Ronal Silveira, da Escola de Música da UFRJ, trouxe trechos de sua tese de doutorado *Aurora para piano e orquestra de Almeida Prado e a metáfora do amanhecer* (2010) e, a partir dela, apresenta alguns aspectos composicionais da música, como melodia, harmonia e ritmo, que têm força comunicativa através de sugestões metafóricas para causar impressões imagéticas nos ouvintes. Helio Jaques Rocha Pinto, do Observatório de Valongo (UFRJ), trilhou, 55 anos depois, o caminho inverso daquele da sonda Voyager — que continua levando 115 imagens destinadas a mostrar a diversidade da vida e da cultura na Terra para os confins do Universo —, apresentando-nos as imagens do mundo infinito que o homem sempre contemplou (e interpretou). Elisa Pereira Reis, inspirada na célebre frase de Ernest Renan “une nation c’est le plébiscite de tous les jours”, pronunciada numa conferência na Sorbonne em 1882 intitulada “Qu’est-ce qu’une nation?”, apresentou suas reflexões acerca dos tempos que vivemos na conferência intitulada “A nação como imagem recriada”.

Este livro nos proporciona, além de seminal revisão por Kurt Wüthrich, imagens representativas daquelas que foram utilizadas e apresentadas no rico e inesquecível ciclo de conferências idealizado pela Cátedra Fernando de Souza Barros do CBAE/UFRJ no longo ano de 2022.

Rio de Janeiro, fevereiro de 2024.

SUMÁRIO

Prefácio	3
<i>Ana Célia Castro</i>	
Introdução.....	5
<i>Adalberto Vieyra</i>	
Aula 1.....	11
The History of the Nuclear Magnetic Resonance in the Context of Advances in Molecular Biology and Structural Biology <i>Kurt Wüthrich</i>	
Aula 2.....	56
As imagens da vida ao longo da história da humanidade <i>Cláudia Mermelstein e Manoel Luis Costa</i>	
Aula 3a.....	100
As imagens por ressonância magnética nuclear no mundo das moléculas das doenças crônicas e degenerativas: Alzheimer, Parkinson, câncer <i>Débora Foguel</i>	
Aula 3b.....	107
Imagens dos estados invisíveis <i>Fábio Ceneviva Almeida</i>	
Aula 4a.....	122
Perspectives on the Future of Microscopy Over the Next 50 Years <i>Angus Kirkland</i>	
Aula 4b.....	176
As imagens no mundo microscópico da pandemia de covid-19 <i>Lucio Ayres Caldas</i>	

Aula 5a	192
Imagens microscópicas do amor: as células do coração e sua contração	
<i>Tais Hanae Kasai Brunswick</i>	
Aula 5b	198
Imagens e ultrassons: as imagens sem luz	
<i>Debora Bastos Mello</i>	
Aula 6	218
A nação como imagem recriada	
<i>Elisa Pereira Reis</i>	
Aula 7a	226
Imagens do cérebro que muda	
<i>Rodrigo Jorge Vianna Barbosa</i>	
Aula 7b	234
A admirável natureza dos sentimentos humanos: desvendando as funções cerebrais, o pensamento e as emoções por ressonância magnética nuclear	
<i>Jorge Moll Neto</i>	
Aula 8a	244
Imagens e o mundo psicodélico	
<i>Livia Goto-Silva</i>	
Aula 8b	267
Imagens do cérebro que aprende	
<i>Roberto Lent</i>	
Aula 9a	280
As imagens da loucura	
<i>Antonio Egidio Nardi</i>	
Aula 9b	313
Sons e imagens na narrativa das metáforas musicais	
<i>Ronal Silveira</i>	
Aula 10a	329
Pintura e as imagens: conexões e afetividades através do campo poético	
<i>Martha Werneck e Lícius Bossolan</i>	

Aula 10b	360
As imagens no mundo da arquitetura <i>Andrea Queiroz Rego</i>	
Aula 11	390
A poética dos fractais <i>Marco Lucchesi</i>	
Aula 12	395
As imagens do universo e suas constelações <i>Helio Jaques Rocha Pinto</i>	
Aula 13a	416
A luminescência e a fluorescência nas imagens da vida <i>Isalira Peroba Rezende Ramos</i>	
Aula 13b	430
Imageamento por ressonância magnética <i>Fernanda Tovar-Moll</i>	
Organização	442
Transcrição	445



AULA 1

THE HISTORY OF THE NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE IN THE CONTEXT OF ADVANCES IN MOLECULAR BIOLOGY AND STRUCTURAL BIOLOGY

Palestrante: Kurt Wüthrich (Scripps Research)

Brownian motion, spin diffusion and protein structure determination in solution¹

Introduction

“för hans utveckling av kärnmagnetisk resonansspektroskopi för bestämning av biologiska makromolekyllers tredimensionella struktur i lösning” (official translation: “for his development of nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the three-dimensional structure of biological macromolecules in solution”); this is the citation in the Nobel Prize diploma that was handed to me on December 10, 2002. The present paper describes my recollections of key events on the way to atomic-resolution protein structure determination by NMR. Equally important NMR investigations of conformational polymorphisms and rate processes in biological systems, which complement structure determinations by NMR, X-ray crystallography and cryo-electron microscopy (cryo-EM), may be the focus of another historical account, which would cover seminal contributions by distinguished members of the NMR community that date

1 Este artigo foi traduzido e reproduzido com a permissão da Editora Elsevier, a partir do artigo originalmente publicado em 2021 pelo dr. Kurt Wüthrich na revista *Journal of Magnetic Resonance*, volume 331, “Brownian motion, spin diffusion and protein structure determination in solution”. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2021.107031>.

back more than two decades before the first structure determination of a globular protein by NMR in 1984 [1].

In the early days of NMR spectroscopy with biological macromolecules, from 1957 into the 1980s, only a few proteins were accessible for structural studies, either by X-ray crystallography or by NMR in solution, mainly because milligram quantities of the proteins had to be isolated and purified from natural sources. NMR spectroscopists were therefore bound to work mainly with those few proteins that were also subject to structure determination by X-ray crystallography. As a consequence, the global polypeptide folds in the protein crystal structures were extensively used to support the interpretation of NMR data recorded with the same proteins (for example, [2–4]). Limitations of then-available NMR techniques for structural studies of biological macromolecules were therefore often overlooked. I fully realized this situation in 1975 when writing a monograph, *NMR in Biological Research: Peptides and Proteins* [5]. From 1976 onward my group therefore re-oriented the search for a method of *de novo* protein structure determination by NMR in solution, on the one hand toward investigations of the spin physics under the regime of Brownian motion, and on the other hand to building molecular models along the lines that had contributed to success with protein structure determination by X-ray crystallography. Important guidance was obtained from discussions with Professor Jack Dunitz at the ETH Zürich [6], and from publications by Linus Pauling on polypeptide secondary structures [7] and by G.N. Ramachandran on sterically allowed local polypeptide conformations [8]. Throughout, we were in close contact with colleagues working in protein crystallography, in particular with Max Perutz, Robert Huber, Hans Deisenhofer, David Philips, Fred Richards, Tom Blundell, and Jane and David Richardson. Protein crystallography was years ahead of NMR for structural studies of biological macromolecules, and we benefited in key issues from their experience, in particular from the early efforts to refine [9] and classify [10] protein crystal structures.

Background from high school and universities

My education, leading to a Ph.D. degree, was pursued in Switzerland, which is my home country. I went to the Swiss version of “high school” at the Gymnasium Biel/Bienne from 1952 to 1957. Biel/Bienne is a bilingual city located at the outlet of a lake

(“Bielersee”/“Lac de Bienne”) at the foot of the Jura mountains. In my specialization, with a focus on mathematics, physics and chemistry, we were a small class of seven students, and our teachers were ambitious to change from the employment as teachers at the Gymnasium to a Chair in one of the Swiss Universities. The Gymnasium Biel/Bienne was closely attached to the Swiss Federal School of Sports in nearby Magglingen/Macolin, where we had free access to train in the company of the Swiss top athletes. During the Soccer World Cup 1954 we even enjoyed the presence of the Brazilian and Swiss National Teams, which had chosen to be accommodated in the sports school. Overall, a high level of teaching in the natural sciences was an ideal preparation for my university studies, and the Gymnasium education also instilled in me a love of the French language and culture, and a keen interest in competitive sports.

At the University of Bern I obtained a “Licentiat” degree in physics after two years; this was followed by “Licentiat” degrees in mathematics in 1960 and in chemistry in 1962. Obtaining my degrees early made it possible to accept part-time teaching jobs already from 1959 to 1962, first teaching physics at the “Kantonsschule Solothurn” for one year, and then teaching chemistry in Biel/Bienne for two years. I still feel that teaching the subjects of my studies benefited me more than it did the high school students who listened to me. After the primary studies in chemistry, physics and mathematics at the University of Bern, I obtained a Ph.D. degree in inorganic chemistry and a degree in sports education (“Eidgenössisches Turn- und Sport-lehrerdiplom”) at the University of Basel. This unusual combination of graduate studies resulted from my slow way of deciding on what I really wanted to do with my life. My main interest was in sports, but I had by now realized that I was not sufficiently talented for success in high-level competition. I therefore changed my focus to sports education, with the prospect of a career as a high-school teacher in physical education and natural sciences. At the University of Basel, I started to follow the curriculum in sports education in the Spring of 1962; this included 25 to 30 h per week of personal training in a broad range of different sports, and lecture courses in human anatomy, physiology and hygiene at the medical school. By the Fall of 1962 I more and more felt an urge to include scientific research into my days. This required to choose between chemistry and physics, and between Basel and Bern. It all ended in a fortunate compromise when Professor Silvio Fallab accepted me as a graduate student in the Institute of Inorganic Chemistry at the University

of Basel. Since this was not a paid employment and I actually paid a tuition fee, I enjoyed complete freedom to share my time between the sports studies and the Ph.D. research. With great generosity, Professor Fallab also arranged that I could pursue most of my thesis work in the Physics Institute at the University of Basel, and I could thus continue to share the time among my multiple areas of interest. In February 1964 I obtained the Ph.D. degree and the degree in sports education. I then spent an additional year in Basel, part-time teaching gymnastics at the women's Gymnasium "Am Kohlenberg", and part-time as a postdoctoral fellow with Professor Fallab.

For the JMR community, my anecdotal way to magnetic resonance spectroscopy may be of interest. Within a few weeks after I joined the Fallab group at the Institute of Inorganic Chemistry, a junior faculty, Peter Hemmerich [11], organized an international workshop on "Modern Methods of Structural Chemistry". Among the speakers were Anders Ehrenberg, Bo Malmström and Tore Vännngard, who later-on organized the second International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS) in Stockholm and published a highly influential Proceedings volume from this meeting [12]. At the Basel workshop they presented their discovery of "blue copper proteins", which they analysed primarily with electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy [12]. I was intrigued by these findings and inquired about the possibility of including EPR experiments into my thesis work. Professor Fallab was informed that there was an EPR spectrometer installed in the Physics Institute across the street from his Institute. This expensive instrument had been purchased for a young star in the Physics Institute, Dr. Peter Diehl [13], and its use was shared with the Physics Division of the Ciba Company under the direction of Professor Heinrich Labhardt [14]. At the time of my inquiry, the instrument in the Physics Institute was standing idle, because Peter Diehl was on sabbatical leave and the Ciba Company had purchased their own EPR spectrometer. After a few days of intense training by a member of the Ciba Physics Department, Dr. Hans Loeliger [15], and with only minimal theoretical background, I started my magnetic resonance career. As I had full-time access to the Varian X-band EPR spectrometer, I soon collected a wealth of data in support of investigations on redox reactions with copper ions [15]; this included that I looked into the secrets behind the blue copper proteins [16]. Motivated by a literature search, I also started studies of

vanadyl complexes in solution, which present beautiful hyperfine structures [17].

As a postdoctoral fellow with Professor Robert E. (Bob) Connick at the University of California Berkeley, I combined EPR studies of vanadyl complexes with measurements of the hydration dynamics, using hydrogen, deuterium and oxygen-17 NMR [18,19], and we also studied very rapid water exchange in and out of the coordination sites on alkaline metal ions [20]. In addition to pursuing these experimental projects, I greatly benefited from the UC Berkeley environment to broaden my background education. I acquired a solid grasp of the theory of 3d-metal ions from working through the authoritative monograph by John Griffith [21] in the company of Alex von Zelewsky [22], a Swiss postdoctoral fellow with Bob Connick whose stay in Berkeley overlapped with mine. A broad basis in the theory of magnetic resonance resulted from intense work with the textbooks by Anatole Abragam [23] and Charles Slichter [24] in the “Connick Seminars”. I also acquired hands-on training in group theory and quantum mechanics by a heavy involvement with the homework for a physics graduate course by Professor Michael Tinkham, where we tested the problems section of his famous monograph on the subject [25]. When I started NMR studies of proteins at the Bell Telephone Laboratories in 1967, I thus had a solid background in quantum mechanics and group theory, and five years of hands-on experience with NMR- and EPR-spectrometers. In addition, from my sports activities I had a keen interest in oxygen uptake by the human organism, which turned out to provide important guidance for the selection of my initial research projects with proteins.

From metal ions to polypeptide chains

At the Bell Telephone Laboratories in Murray Hill, NJ (“Bell Labs”), I was hired by Dr. Robert G. (Bob) Shulman to use my inorganic chemistry background for investigations of the physical-chemical properties of protein-bound metal ions. One of the envisaged projects was to bind vanadyl ions into the active site of carboxypeptidase A, and to compare the interactions with hydration water and other small ligands in this macromolecular environment with my earlier studies of vanadyl complexes with small-molecule ligands [17–19]. This project did not go very far, because vanadyl ions could not compete with the natural zinc ion in the

carboxypeptidase A active site. Another project was started with a focus on function-related electronic states of the iron in myoglobin, hemoglobin and cytochrome *c*. These hemoproteins were among the less than ten proteins for which crystal structures were available in 1967. Because of my interest and practical experience with competitive sports, I was primarily interested in the oxygen uptake by hemoglobin and myoglobin; however, it was work with cytochromes *c* that had an important role in steering me toward the development of protein structure determination by NMR.

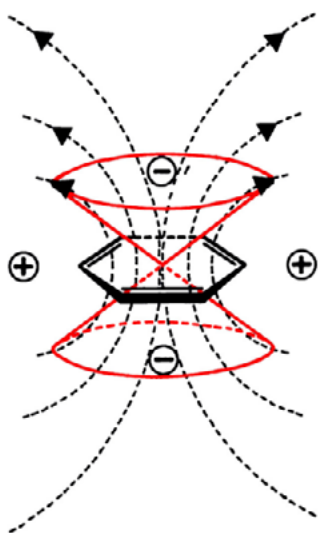
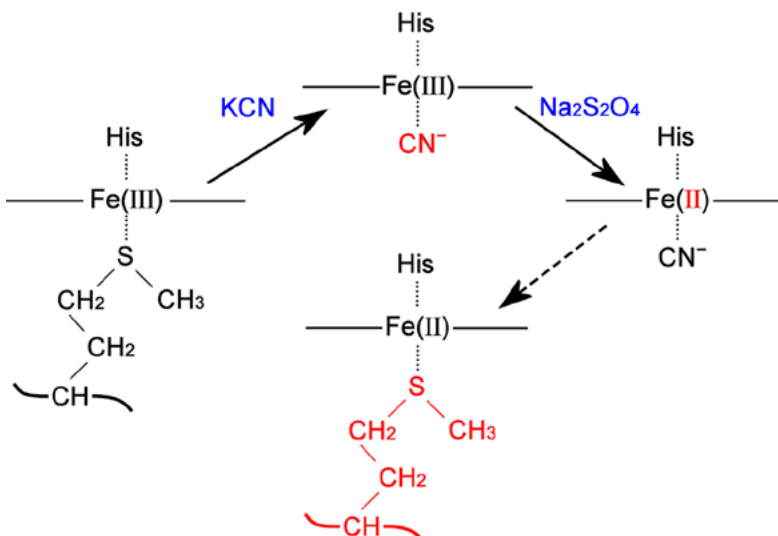


Fig. 1 – Local “ring current field” around aromatic rings in solution induced by an external, static magnetic field. The shape of the ring current field is indicated by the red double-cone and by broken magnetic-field lines. The minus-sign indicates that the NMR lines of hydrogen atoms located inside the cone in the three-dimensional protein structure are shifted “upfield”, and the plus sign indicates for atoms outside of the cone that the shifts are “downfield” (Figure taken from [26] with permission).

When I started to work with cytochrome *c*, my interest in polypeptide chains was limited to their providing ligands for metal ion complexation. Because of the fast electron spin relaxation of low spin ferric heme iron, ferricytochrome *c* shows a ^1H NMR spectrum with quite narrow paramagnetically shifted lines outside of the chemical shift range for diamagnetic compounds [4]. After I added potassium cyanide to ferricytochrome *c* solutions, these signals were at different chemical shifts, showing that the cyanide ion competed successfully with at least one of the natural iron ligands. I thus obtained the ferricytochrome *c* complex with cyanide at nearly 100% occupancy. In contrast, cyanide addition to ferrocytochrome *c* had no effect on the ^1H NMR spectrum, showing that the natural ligands in the ring current field (FIG. 1) of the heme group were not displaced by cyanide. In a redox reaction leading from the ferric to the ferrous state of the cyanide complex of cytochrome *c* (FIG.

2), I then observed a slow reaction that caused the appearance of new high-field resonance lines, which included a methyl resonance (FIG. 3); these had to originate from a natural ligand of the heme iron that had been replaced by cyanide in the ferric state (FIGS. 2 AND 3). From a textbook search for an amino acid that would bind to the heme iron and contain a methyl group, methionine was unambiguously identified as an axial ligand of the heme iron (FIG. 2; on this occasion I also learned my lesson and memorized the chemical structures of the 20 proteinogenic amino acids). Inspection of the crystal structure then showed that whereas an axially coordinated histidine (FIG. 2) was unambiguously identified, identification of the second axial ligand was beyond the resolution of 1968 X-ray crystallography; this ligand had initially been identified as a lysine side chain and subsequently been left unassigned [27]. It was at this moment that I got convinced that NMR could provide *de novo* protein structure determination in solution, possibly even at higher resolution than X-ray crystallography.

Fig. 2 – Three chemical reaction steps with cytochrome c that were used to identify methionine as one of the axial ligands of the heme iron [4]. The Roman numerals indicate the oxidation state of the heme iron, and His stands for the amino acid histidine. The solid and broken arrows indicate rapid and slow reaction steps, respectively. Colour code: black, heme iron with ligands, where the horizontal line through Fe represents a side view of the heme c ring (see FIG. 6 below); blue, chemicals added to the protein solution; red, new features resulting from the addition of these chemicals (Figure taken from [26] with permission).



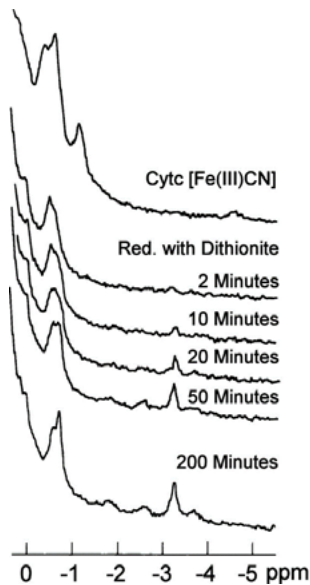


Fig. 3 – Changes with time in the high-field region of the 1D ¹H NMR spectrum of guanine cytochrome c after reducing the ferric cyanide complex (top trace) with dithionite (220 MHz, 9 °C, solvent ²H₂O) (Figure taken from [26] with permission).

For the hemoprotein projects at Bell Labs it was crucial that we were equipped with one of the first superconducting NMR spectrometers, a Varian-220 continuous wave (CW) instrument. When I joined the ETH Zürich in Switzerland in 1969, a similar spectrometer was available. I continued to work with hemoproteins, but also pursued NMR studies of oligopeptides and a very stable small protein, the basic pancreatic trypsin inhibitor (BPTI). While we made exciting observations on protein dynamics, there was little progress toward protein three-dimensional structure determination. A survey of the early literature on NMR studies with proteins [5] then convinced me that none of the approaches tried up to 1975 could lead to *de novo* protein structure determination. The early results obtained with cytochrome *c* had misled me to believe that *de novo* structure determination of proteins could be based on the variation of local micro-susceptibilities across globular proteins, in particular those caused by ring current fields near aromatic rings (FIG. 1) and by pseudo-contact shifts near paramagnetic ions. The 1975 literature search then opened my eyes for having overlooked the inherent ambiguities arising from the high symmetries of ring

current fields (FIG. 1), which had routinely been resolved by inspection of the crystal structures of the proteins that we worked with.

With NMR to structures of proteins in solution

NOE build-up for distance measurements

Using the homonuclear ^1H - ^1H Overhauser effect (NOE) for distance measurements in macromolecules undergoing Brownian motion was the key to protein structure determination. The NOE has been in use from the early 1960s for studies of small molecules in solution [28], which are under the regime of extreme motional narrowing [23,24,29]. The major limitation of these experiments is low sensitivity for signal detection. Therefore, the NOEs were recorded in steady-state, after a preirradiation period of typically several seconds. As Kalk and Berendsen pointed out in a nice theoretical treatise [30], distance information would not be available for proteins or other macromolecules in solution when using these experiments. Intuitively, one might also have expected that the sensitivity limitation would be even more severe for proteins than for small molecules. However, a paper by Solomon [29] showed already in 1955 that the intrinsic sensitivity for ^1H - ^1H -NOE observation in macromolecules is twice the sensitivity in small molecules.

In our laboratory an important advance was made when Professor Sidney L. Gordon of the Georgia Institute of Technology in Atlanta joined us for a sabbatical in 1977. Starting from a platform established by Dr. Regula Keller in my laboratory, he developed the one-dimensional transient NOE experiment and applied it with cytochrome *c* [31]. In these measurements, direct proton-proton Overhauser effects could be clearly separated from NOE intensity arising from spin diffusion, which is seen only after a lag time (FIGS. 4 AND 5). Applying the pre irradiation pulse (FIG. 5, inset) to the well-resolved signals at both ends of the spectrum, which are shifted to the usual positions by the ring current field of the diamagnetic heme group (FIGS. 1, 2, 6, 7), the one-dimensional transient NOE experiment worked beautifully for ferrocycytochrome *c* (FIG. 5), but its application for proteins at large was limited because of extensive signal overlap in one-dimensional ^1H NMR spectra. However, the time course of the NOE build-up revealed by the transient NOE

experiment provided a basis for the development of an alternative, the one-dimensional truncated-driven NOE (TOE) experiment [32]. TOE measurements correspond to the standard experiment used for small molecules [28], except that the pre irradiation had to be highly selective for work with crowded protein ^1H NMR spectra; applying the CW irradiation for variable short time periods was then used to record NOE build-up curves and thus monitor the unwanted contributions from spin diffusion [32].

Collecting TOE data with short pre-irradiation times resulted in the complete assignment of the substituents of the porphyrin ring in heme *c*, since the NOEs enabled a step-by-step walk around the heme group (FIGS. 6 AND 7) [33]; these assignments were obtained without reference to the cytochrome *c* crystal structure. The earlier assignments for the iron-bound methionine side chain [4] were also confirmed and further refined [33]. Using the same approach for studies of cytochrome b_5 , Regula Keller showed that the heme group in the crystal structure of this protein had to be rotated by 180° [34]. This correction of the structure was then confirmed by a new analysis of the crystallographic data. We were of course greatly encouraged by such “direct” indications that our approach for structure determination of globular proteins would indeed work out.

Fig. 4 – Schematic visualization of spin diffusion. After build-up of coherence on atom 1 at the start of a NOE measurement (vertical arrow), transfer of magnetization to the hydrogen atom 3, in the presence of additional hydrogen atoms (“2”), goes through two competing pathways. There is the “direct” NOE across the distance $r_{1,3}$, and additional NOE intensity results from two- or multiple-step spin diffusion *via* intervening hydrogen atoms; this contribution to the overall NOE builds up after a lag period and can thus be distinguished from the direct NOE.

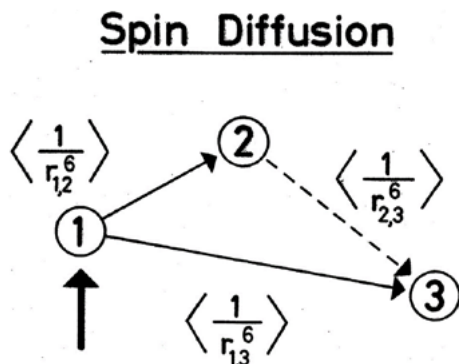
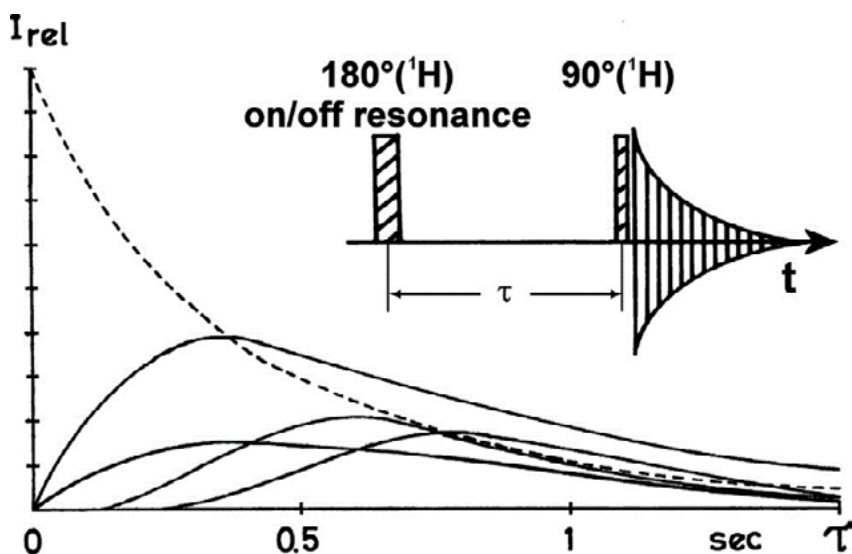


Fig. 5 – 1D transient ^1H - ^1H NOE measurements [31]. The inset in the upper right shows the experimental scheme used to record transient NOE spectra. A selective 180° radio-frequency pulse applied to the “pre-irradiated” ^1H NMR line is followed by a non-selective 90° observation pulse. The two pulses are separated by the mixing period, τ , and followed by signal acquisition. When working with the crowded spectra of proteins, we recorded the difference between two spectra obtained with the pre-irradiation 180° pulse applied on- and off-resonance, respectively. The major panel shows NOE build-up curves observed for horse ferredoxin. The relative intensities, I_{rel} , of the pre-irradiated resonance line (broken curve; the pre-irradiation pulse was applied to a methyl resonance near -3.0 ppm, see FIG. 7 below) and of lines experiencing NOEs (solid curves) are plotted versus the duration of the mixing period, τ (Figure taken from [26] with permission).



Solving the “phase problem” with sequence-specific NMR assignments

Having solved the problem of using ^1H - ^1H NOEs for distance measurements in globular proteins under the regime of spin diffusion, the next step toward protein structure determination was to assign the measured distances to distinct pairs of hydrogen atoms. We reckoned that any number of unassigned distance constraints could not lead to three-dimensional folds of a linear chain, whereas each assigned distance constraint defines a small or large loop that is closed by the observed short approach of two hydrogen atoms (FIG. 8). Working with small peptides at natural isotope distribution, Professor Vladimir Bystrov and coworkers at the Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry in Moscow had shown that the desired

assignments could be obtained with the use of heteronuclear scalar spin–spin couplings [35], which is reminiscent of what is done today with triple-resonance experiments; all other successes with resonance assignments in proteins depended on reference to the corresponding crystal structures [5]. Since proteins for structural studies had to be isolated from natural sources and contained natural abundance isotope distributions for carbon and nitrogen, the Bystrov approach could not be applied with proteins, because of the low sensitivity for NMR observation of the heteronuclear spin–spin couplings at natural isotope abundance.

Fig. 6 – Chemical structure of heme c, which is the prosthetic group in cytochromes c. The red arrows connect groups of hydrogen atoms in the covalent structure of heme c that are separated by a sufficiently short distance to be connected by ^1H – ^1H NOEs (Figure taken from [26] with permission).

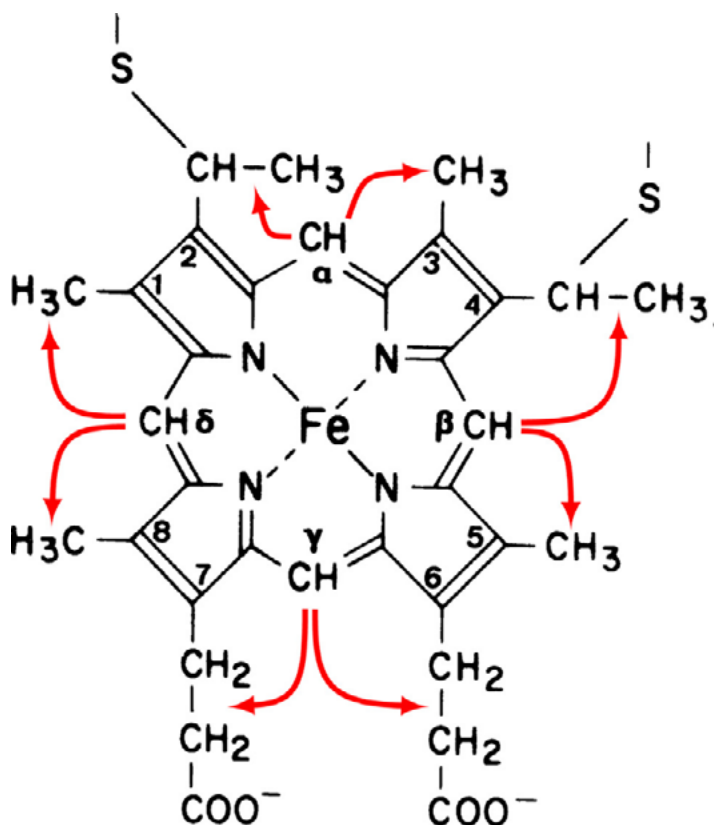


Fig. 7 – Bottom trace: 1D ^1H NMR spectrum of ferrocycytochrome c-551 from *Pseudomonas aeruginosa* [33]. Upper traces: three 1D truncated-driven ^1H - ^1H NOE difference spectra [32] obtained with selective pre-irradiation (indicated by arrows) on the hydrogen atoms β , α and δ (see FIG. 6), respectively (360 MHz, 35 °C, $^2\text{H}_2\text{O}$ -solution). The NOE peaks are identified with numbers indicating the substituents attached to the corresponding porphyrin ring carbons (FIG. 6) (Figure taken from [26] with permission).

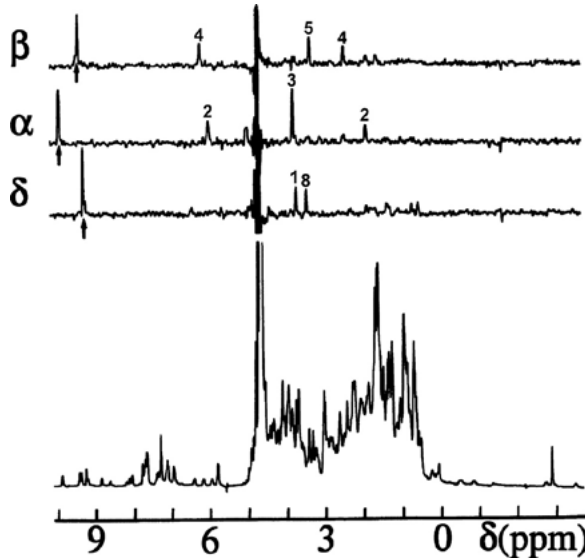
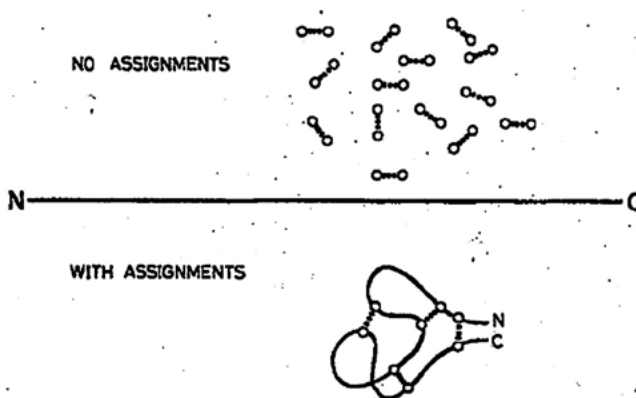


Fig. 8 – Information content of ^1H - ^1H NOEs in a polypeptide chain with and without sequence-specific resonance assignments. The polypeptide chain is represented by the horizontal line in the center. Pairs of polypeptide hydrogen atoms separated by a NOE-observable short distance are represented by circles connected by a solid line. With sequence-specific assignments, the NOEs enforce ring structures of variable lengths formed by the linear polypeptide chain.



In our laboratory, obtaining individual NMR assignments for distinct groups of hydrogen atoms in polypeptide chains with natural isotope abundance is advanced in two steps. First, a robust method was needed to connect two or several sequentially adjacent amino acid residues in polypeptide chains without prior knowledge of the three-dimensional structure. It turned out that the following strategy provided such “sequential assignments” (FIG. 9). Using 1D spin decoupling experiments to identify groups of hydrogen atoms that are related by sizeable ^1H – ^1H scalar spin–spin couplings (in practice: hydrogen atoms separated by at most three covalent bonds in the chemical structure of the polypeptide fragment considered; as shown in FIG. 9, this occurs only within individual amino acid residues), we identified the proton spin systems of individual amino acid residues. Systematic investigations of the sterically allowed dipeptide fragments [8,36] then showed for all polypeptide conformations, that at least one ^1H – ^1H distance between sequentially neighboring residues is sufficiently short for detection by ^1H – ^1H NOEs (FIG. 9). Assignments for polypeptide segments of two to five amino acid residues in the protein BPTI were thus obtained with one-dimensional NOE experiments [37].

Considering that small proteins of 50 to 100 amino acid residues contain multiple copies of most or all of the twenty different proteinogenic amino acids, it is not *a priori* straightforward to assign sequentially connected peptide segments of two to five residues to discrete positions in the amino acid sequence. A statistical analysis of the amino acid sequences in small globular proteins then showed that repetition of identical tripeptides is very rare, and that repetition of tetrapeptide or pentapeptide segments is essentially absent. In fortunate situations, such as the *lac* repressor headpiece, a dense network of sequence-specific assignments was obtained even on the level of dipeptide segments (FIG. 10); knowing the sequence of amino acid residues between these “dipeptide anchors”, the gaps could then quite readily be closed by additional “targeted” NOE experiments. Using 1D ^1H NMR experiments, sequence-specific assignments for the protein BPTI were obtained for the polypeptide segments with amide protons that exchanged sufficiently slowly to be observable in $^2\text{H}_2\text{O}$ solution (FIG. 11) [37]. For NMR structure determination, obtaining sequence specific assignments for the polypeptide chains in globular proteins corresponded for us to the introduction of heavy-atom clusters into proteins for solving

the phase problem in the initial protein structure determinations by X-ray crystallography.

Fig. 9 – Sequential ^1H NMR assignment of proteins. The drawing shows the chemical structure of a –valine–alanine– dipeptide segment in a polypeptide chain. The dotted lines connect groups of hydrogen atoms that are separated by at most three chemical bonds and can therefore be connected using scalar ^1H – ^1H couplings. The broken arrows link pairs of hydrogen atoms in neighbouring amino acid residues that are separated by short through-space distances, $d_{\alpha\text{N}}$ and d_{NN} , and can therefore be connected by “sequential NOEs” (Figure taken from [26] with permission).

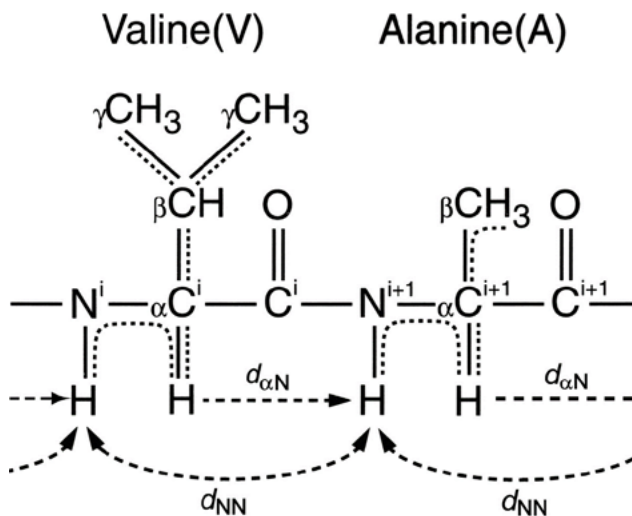


Fig. 10 – Amino acid sequence of the *E. coli lac* repressor headpiece with identification of unique amino acid residues (arrows) and unique dipeptide segments (large letters). These residues and dipeptide segments served as “anchors” for obtaining sequence-specific ^1H NMR assignments (see text; attentive readers will notice that there are additional unique dipeptide segments in this polypeptide sequence).

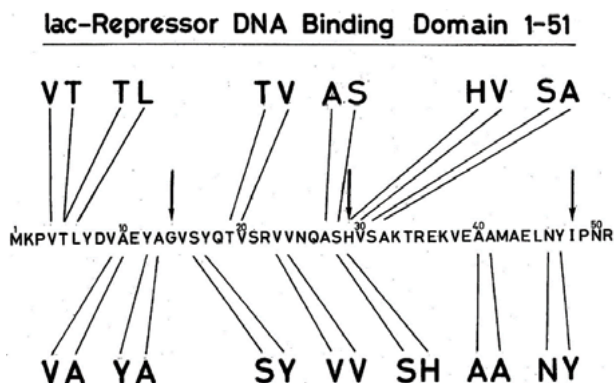
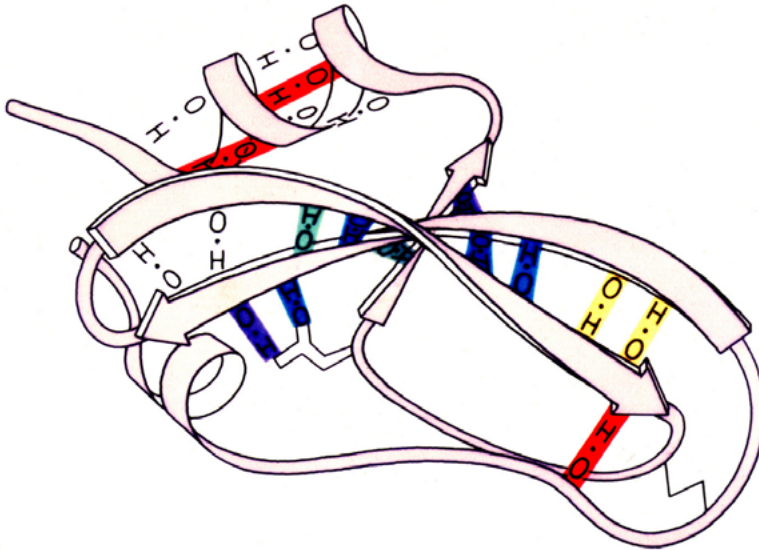


Fig. 11 – Sequence-specific resonance assignments for BPTI that were obtained using 1D ^1H NMR experiments in $^2\text{H}_2\text{O}$ solution [37]. The polypeptide backbone in the crystal structure [9] is shown in a ribbon presentation, and the assigned residues are identified by the colored hydrogen bonds with their amide protons. The colour code indicates variations among the slow exchange rates of the amide protons with the solvent; blue indicates slowest exchange, and red the fastest exchange that allowed assignments in $^2\text{H}_2\text{O}$ solution (drawing by Jane Richardson; Figure taken from [26] with permission).



With distance geometry and NMR data to protein structures in solution

In 1978 a mathematical physicist, Dr. Werner Braun, joined my team with the goal to develop mathematical tools that would enable the calculation of three-dimensional protein structures from distance constraints that could be measured by NMR. By a fortunate coincidence, Professor Nobuhiro Go from Kyushu University in Japan joined us for a sabbatical in 1979, and he worked with Werner Braun on devising software that could provide the desired structure calculations. The starting platform was Professor Go's earlier work on the ring closure condition in cyclic peptides, which was started during a visit in the laboratory of Professor Harold Scheraga at Cornell University [38], and studies on the use of distance geometry for protein structure calculations by the Crippen and Kuntz laboratories at UC San Francisco [39,40]. The problem to be solved was to compute three-dimensional protein structures from incomplete sets of ^1H - ^1H distance constraints shorter than about 5.0 Å, as they

can be collected by NMR. Using metric matrix distance geometry, we had to answer the following question: given upper limits and lower limits for the distances between N atoms, what are the conformations that are compatible with these distance constraints? In a polypeptide chain the upper and lower limits for the distances between covalently linked atoms are given by standard geometries for the amino acid residues. For non-bonding interactions, the lower limits are the sum of the van der Waals atomic radii, and the upper limits are obtained from the NOE measurements. In 1980 these calculations were at the limit of the most powerful computers available to us, since from the start we included all heavy atoms of the amino acid side chains; in this way we made sure that the aforementioned lower bounds would be accurately represented. This strategy was based on observations with model building, which revealed that each upper distance constraint measured by NMR generates multiple lower distance constraints, due to the close approach of atom groups imposed by the NOE data. By initially using a target function that enforced only the NOE and von der Waals distance constraints, we wanted to demonstrate that our structures were indeed the result of the NMR measurements and did not depend on refined energy minimization force fields.

The combined use of NMR spectroscopy and distance geometry was first applied for a structure determination of a nonapeptide fragment of the polypeptide hormone glucagon in perdeuterated dodecylphosphocholine (DPC) micelles [41]. This study yielded a similar result as obtained in present-day NMR structure determinations. From the residual error function value we could judge whether or not an individual distance geometry calculation converged and the resulting structure satisfied the input distance constraints. In contrast, there was no easy way to evaluate whether the input of NMR data was sufficient to result in a unique structure. We therefore decided to repeat the structure calculation with different boundary conditions; close similarity among the bundle of conformers thus obtained was then used as a criterion for accepting that the experimental data are sufficient to define a unique structure. Because of the limited computer facilities, the result in this very first report was presented as a bundle of only three conformers from three converged distance geometry calculations [41].

In 1982, Dr. Timothy Havel joined my group at the ETH Zürich to explore the use of the EMBED algorithm in our NMR environment.

EMBED is a program for the calculation of three-dimensional protein structures from interatomic distances, which had resulted from Tim's Ph.D. studies at UC San Francisco [42,43]. At around the same time, Werner Braun left my laboratory for a postdoctoral assignment with Professor Go at Kyushu University in Japan. During the following years, two different distance geometry procedures were developed, DISMAN by Braun and Go in Japan [44], and DISGEO by Timothy Havel in Zürich [45]. When Werner Braun rejoined my group in 1986, we applied DISMAN and DISGEO independently for structure calculations of the protein BPTI; comparison of the results showed that protein structure determination from NMR data was robust also in the sense that identical results were obtained when using different computational routines [46].

To further explore the robustness of the method, we tested the impact of a range of input variations on protein structure determination with distance geometry calculations. The most important decision was to analyze the NOE data in terms of upper distance constraints rather than by quantitative distance measurements. Depending on the signal intensity, the NOEs would correspond to upper distance limits of 3.0 Å, 4.0 Å, or 5.0 Å [47]. Another important decision for the preparation of the input for structure calculations was the treatment of groups of hydrogen atoms that could not be individually observed in the NMR spectra; examples are the methyl groups, the isopropyl groups and the symmetry related pairs of ring hydrogen atoms of phenylalanine and tyrosine. To solve this problem, pseudo-atom positions were defined to which NOE constraints could be referenced [48]. Once software had been written that could evade local minima and result in global convergence of a protein structure calculation [45], we tested these arbitrary decisions with data sets derived from high resolution crystal structures of small proteins. In these test runs we also systematically investigated the impact of variable completeness of the set of distance constraints used in the input. Overall, we could thus demonstrate that the metric matrix distance geometry approach is robust with regard to the interpretation of the NOEs as upper distance constraints and the use of pseudoatoms; the sets of distance constraints could be reduced well below those obtained by NMR, provided that the remaining constraints were distributed over the entire polypeptide chain [47].

The test runs with input data derived from crystal structures confirmed the earlier finding [41] that converged structure

calculations yielded a correct solution of the geometric problem to find structures that satisfied the distance constraints; this, could now be further evaluated by comparison with the crystal structure from which the constraints had been derived. However, we still did not have a generally valid criterion to decide whether with the input from NOE experiments, convergence of the distance geometry calculation yielded a correct structure. We therefore retained the earlier working hypothesis [41] to repeat the structure calculation with variable boundary conditions. At this early stage only about one in five structure calculations resulted in global convergence, as judged by the residual value of the target function; if all converged structure calculations yielded similar results, we assumed that we had determined a unique structure.

Two-dimensional NMR

The development of 2D NMR with biological macromolecules, which resulted from a collaboration with Professor Richard R. Ernst, made protein structure determination by NMR a viable method of structural biology. This work was pursued in a most invigorating environment, since magnetic resonance spectroscopy was a very important part of physics and chemistry research at the ETH Zürich and the University of Zürich; in the 1970s, NMR was represented by more than ten full professors. There was also the rapidly evolving Bruker-Spectrospin company, which has its origins in a spin-off of the ETH Zürich based on pioneering work by Professors Hans H. Günthard and Hans Primas at the Laboratory of Physical Chemistry.

Richard Ernst and I first met in person on October 1, 1969, when I returned from my employment at Bell Telephone Laboratories to Switzerland and reported for work at the ETH Zürich. I was formally a member of the Institute of Molecular Biology and Biophysics. Since there was a delay with the construction of a home for this new institute, Professor Günthard had arranged for me to have a workplace and access to NMR instrumentation in the Laboratory of Physical Chemistry. Richard Ernst was in charge of a superconducting NMR spectrometer operating at 220 MHz, which had been installed shortly before my arrival as a service facility for the chemistry laboratories of the ETH Zürich and the University of Zürich. I was one of the users of the 220 MHz spectrometer, and initially the contacts with Richard Ernst were mainly focused

on optimizing the operation of this CW instrument. In the Fall of 1970 I moved from the Laboratory of Physical Chemistry in the city center to a new building of the Hönggerberg campus of the ETH Zürich, where my laboratory was equipped with 60 MHz and 100 MHz NMR spectrometers and an X-band EPR spectrometer. During the following years, my group continued to make extensive use of the 220 MHz spectrometer, and we met almost weekly with Richard Ernst and members of his team. Attendance at the Ernst lecture course on “Advances in Magnetic Resonance” was a must for all graduate students and postdoctoral fellows in my group, and there were occasional joint group seminars. In collaboration with Professor Joachim Seelig of the University of Basel, Richard and I then organized the 1974 ICMRBS in Kandersteg; we also took the initiative to organize a first “Swiss NMR Symposium”, which has become a bi-annual event. At the 1974 ICMRBS, Richard Ernst presented the first two-dimensional NMR experiments, and his group followed this up with key developments in 2D NMR with small molecules [49].

A joint research project with Richard Ernst was funded in 1976 under the auspices of the Swiss Commission for Technology and Innovation (“Kommission für Technologie und Innovation **KTI**”). In hindsight it is interesting that the Swiss National Science Foundation, which supports “basic research”, transferred our project to the KTI, which supports “applied research” in collaboration with industry. Our industry partner was the nearby Bruker-Spectrospin company. By then, our research groups had individually grown from modest beginnings to sizes of about 20 scientists each. Quite Independent of the other activities in our research groups, this new venture was dedicated to transforming multidimensional NMR from an intellectually exciting breakthrough [49] to a technique that could be used in structural biology as well as in chemistry. Small teams of Richard Ernst, Kuniaki Nagayama, Peter Bachmann and myself during the first three years, and Richard Ernst, Anil-Kumar, Gerhard Wider, who was at the time one of my graduate students, and myself for an additional year, developed the ability of recording homonuclear 2D ^1H NMR spectra with large data matrices (FIG. 12). Four key experiments, 2D spin-echo-correlated spectroscopy (SECSY) [50], 2D correlated spectroscopy (COSY) [51], 2D nuclear Overhauser spectroscopy (NOESY) [52] and 2D fold-over-corrected correlated spectroscopy (FOCSY) [51,53], enabled the collection of the data needed for the

initial protein structure determinations. The software developed in this project was written for the dedicated computers that were part of Bruker Instruments; they were distributed by Bruker-Spectrospin to their customers, initially without any adaptations. A key experiment for protein structure determination was the measurement of NOE build-up rates with $[^1\text{H},^1\text{H}]$ -NOESY [55]. This experiment (FIG. 13) combined the experience from 2D exchange spectroscopy (EXSY) in the Laboratories of Professor Jean Jeener at the Université Libre de Bruxelles and of Richard Ernst [54], our experience with one-dimensional NOE experiments [31,32], and the ability to record 2D $[^1\text{H},^1\text{H}]$ -NOESY experiments with large data matrices [50–53]. With this approach, we could now efficiently measure ^1H – ^1H distances in macromolecules in solution.

We faced some practical difficulties during the four years of this project, which would not need to be considered today. First, the data matrices generated by high-resolution 2D ^1H NMR experiments at high fields were very large by the standards of the informatics equipment available in the late 1970s. To overcome this difficulty, folded versions of all the 2D NMR experiments were devised. Once improved computer equipment became available, interest was lost in the folded experiments, for example, SECSY and FOCSSY. Second, once the software was ready to record initial spectra, we discovered that the homogeneity of the radiofrequency pulses was insufficient for homonuclear 2D ^1H NMR, and new hardware (initially “cavity probeheads”) was then developed at Bruker-Spectrospin; this illustrates the continuous important contributions of the industry partner in the 2D NMR project. Third, the lines in the two-dimensional data sets were very broad, and useful frequency-domain spectra were obtained only after extensive data handling, primarily with sinusoidal window functions [56] and symmetrization [57].

Fig. 12 – 2D [$^1\text{H},^1\text{H}$]-NOE spectroscopy ([$^1\text{H},^1\text{H}$]-NOESY). A stacked plot representation of a spectrum of the protein BUSI is shown (500 MHz, 45 °C, H_2O -solution) (Figure taken from [26] with permission).

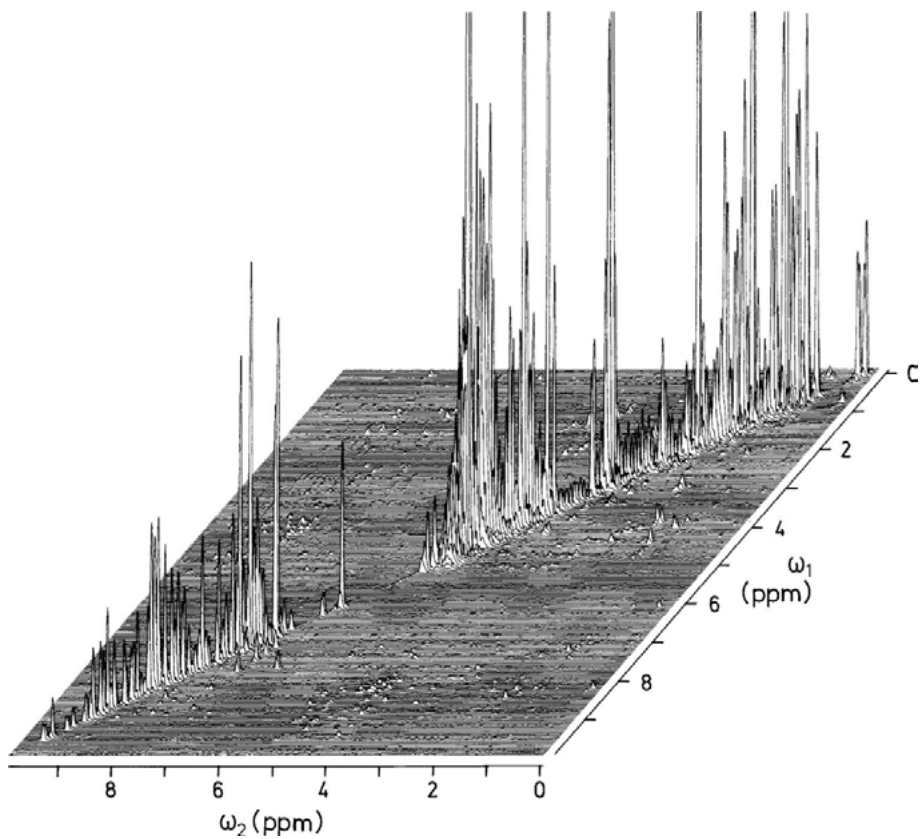
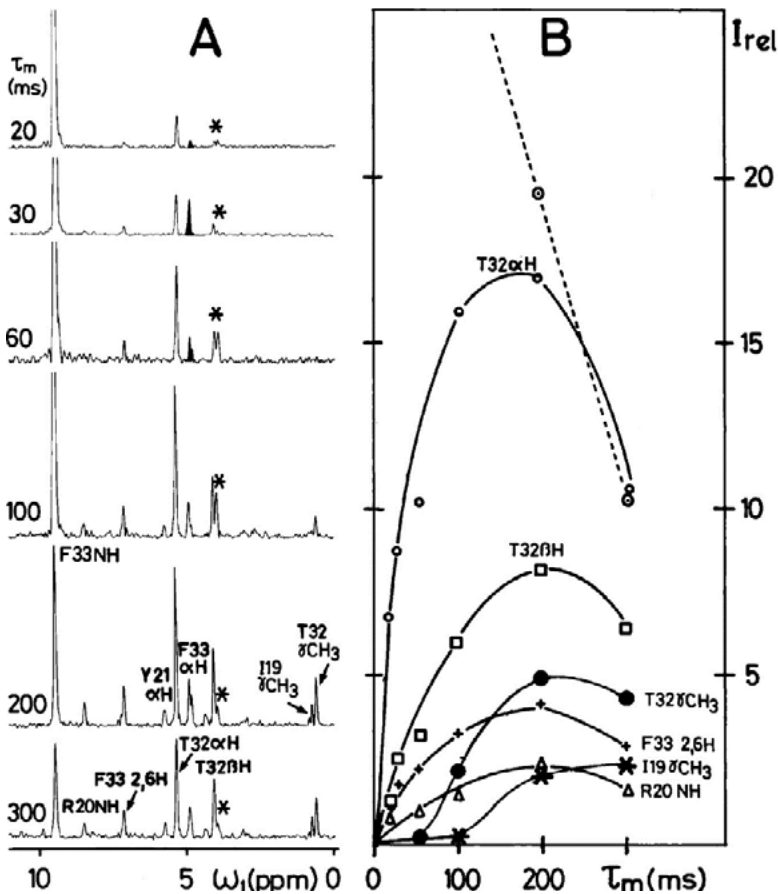


Fig. 13 – Measurement of NOE build-up curves using 2D [$^1\text{H},^1\text{H}$]-NOESY experiments. (A) Six NOESY spectra of BPTI recorded with different mixing times, as indicated on the left. The same 1D cross-section along the ω_1 frequency axis through the diagonal peak of the Phe 33 amide proton is plotted for each spectrum. (B) NOE build-up curves obtained from the analysis of the data in (A). Relative peak intensities are plotted versus the mixing time, τ_m ; the broken line represents the decay of the magnetization on the diagonal peak of the Phe 33 amide proton, and the solid lines show the evolution with τ_m of the NOESY cross peaks of nearby hydrogens in the BPTI structure (Figure taken from [26] with permission).

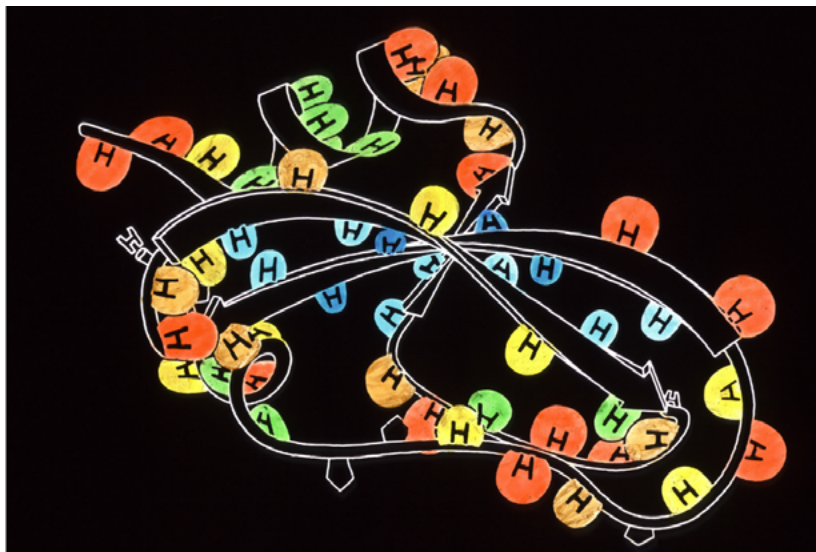


Protein structures from homonuclear 2D ¹H NMR and distance geometry

As described in the preceding sections, the strategy for *de novo* protein structure determination by NMR in solution was generated on the basis of one-dimensional ¹H NMR experiments, but it was the introduction of 2D ¹H NMR that made protein structure determination in solution a viable method. The impact of 2D NMR is readily seen from comparison of the FIGS. 11 and 14. The sequence-specific resonance assignments for BPTI obtained with 1D ¹H NMR (FIG. 11) were limited to the amino acid residues with the most slowly exchanging amide protons in this outstandingly stable protein. For all other residues, the amide protons had been exchanged with deuterium. The residual spectrum in the amide proton region was sufficiently well resolved for the application of selective pre-irradiation in TOE experiments [32]. In contrast, 2D ¹H NMR experiments were recorded in H₂O solution, and almost complete (see below) sequence-specific resonance assignments were obtained for BPTI. These then enabled us to collect a sufficient number of NOE distance constraints for the calculation of the three-dimensional structure [46].

By the end of 1980, the four homonuclear 2D ¹H NMR experiments COSY, SECSY, FOCSSY and NOESY were available for use by all scientists in my group, and we obtained sequence-specific resonance assignments for numerous small proteins (for example, [58–64]). In 1982 we published four consecutive papers in the *Journal of Molecular Biology*, with the introductory title “Sequential Resonance Assignments as a Basis for Determination of Spatial Protein Structures by High Resolution Proton Nuclear Magnetic Resonance” and a total volume of 77 pages. The four publications describe the foundations for obtaining sequence-specific resonance assignments and describe complete sets of resonance assignments for BPTI and for glucagon bound to DPC micelles [65–68]. Having thus solved the NMR assignment problem, a structure of micelle-bound glucagon was completed [69] (see below), but it took two more years for the development of improved algorithms and their implementation for distance geometry calculations [44,45,47] that could yield the first complete structure determination of a globular protein, bull seminal protease inhibitor (BUSI) [1].

Fig. 14 – Sequence-specific resonance assignments for BPTI obtained using 2D ^1H NMR experiments. Assigned residues are identified by colored shapes around their amide protons. The colour code indicates variable amide proton exchange rates, with blue indicating slowest exchange, and yellow and red identifying amide protons that could be observed only in H_2O solution (drawing by Jane Richardson; Figure taken from [26] with permission).



During the last phase of the methods development for protein structure determination by NMR in solution, from 1981 to 1985, we worked with glucagon bound to DPC micelles, BPTI, BUSI and metallothionein (MT). However, these four years were full of excitement, and there were many additional projects ongoing. Intense work, mostly in collaboration with Richard Ernst, was focused on new NMR methodology. Numerous scientists of the Ernst and Wüthrich research teams now contributed to these projects, in addition to the single postdoctoral associate that we could hire on the joint grant. The new NMR experiments subsequently had important roles in continued improvement of multidimensional NMR for chemistry and structural biology, but with two important exceptions they did not bear on the initial structure determinations. The exceptions are the developments of heteronuclear ^{113}Cd - ^1H correlation spectroscopy [70] and of phase-sensitive COSY [71], which were crucial for the structure determination of metallothionein (see below).

The four “work horses” for the protein structure determination project had different important roles. The polypeptide hormone glucagon consists of a 29-residue polypeptide chain, which does

not adopt a globular fold. By attaching this polypeptide to fully deuterated DPC micelles, the molecule was under a similar regime of Brownian motions as small globular proteins, while it retained the comparatively simple spectrum corresponding to its small size. For this reason, an initial partial structure determination could be pursued with 1D ^1H NMR experiments [41]. With the use of 2D ^1H NMR, a complete structure was obtained in 1983 [69]. Thereby, the structure calculation could only be performed for multiple overlapping nonapeptide segments, which was the size limit for our initial distance geometry program [41]; while we considered that this “segmental” approach was viable for non-globular polypeptides, it was not applicable for globular proteins.

BPTI was used for most of the development work on 1D and 2D ^1H NMR spectroscopy as well as on structure calculation from NMR data. Since a high-resolution crystal structure was available [9], it was not an attractive candidate for documenting that *de novo* structure determination by NMR worked out. Furthermore, a tetrapeptide segment of the polypeptide chain was not represented in the NMR spectra. We eventually published the BPTI structure determination as a techniques paper [46]; the NMR structure was closely similar to the previously determined crystal structure [9]. A decade later we discovered that the missing NMR lines were broadened beyond detection by low-frequency intramolecular rate processes [72].

BUSI, the first protein for which an NMR structure was published [1], was provided to us by the laboratory of Professor Dana Cechova at the Czechoslovak Academy of Sciences in Prague, when Dr. Petr Strop from her group joined us as a postdoctoral fellow. This protein was a good candidate; while no crystal structure was available, we could compare our results with crystal structures of homologous proteins [1]. BUSI yielded high-quality NMR spectra that represented the entire polypeptide chain, and all steps of the structure determination went smoothly [1,63,73–75]. At the time we felt that it was important to document the application of the structure determination method developed using glucagon and BPTI with a new protein.

The metal-containing mammalian MT proteins have highly unusual amino acid sequences; the 62-residue polypeptide chain of the rabbit metallothionein contains only 12 different amino acids, including 20 cysteines, 9 alanines, 8 serines and seven lysines, which made the sequence-specific assignment a real challenge

[76,77]. Prior to our work with this protein, it had been known that mammalian MTs contain two metal clusters of, respectively, four and three Zn (II)-ions. In collaboration with Professor Jeremias Kägi of the University of Zürich, the zinc ions were replaced with ^{113}Cd . With the use of the aforementioned heteronuclear correlation experiment [70], a total of 28 coordinative bonds between the seven metal ions and the sulfur atoms of the 20 cysteines were identified, showing that the structure includes eight “bridging cysteines” that are bound to two metal ions. The three-dimensional fold of the polypeptide chain, which forms two flexibly linked globular domains, was then determined with the same approach that was used for the other proteins [78,79].

Results from protein structure determination by NMR solution

NMR determination of complete three-dimensional protein structures was initially a slow process, and obtaining intermediate results was an important lifeline. It turned out that ^1H NMR data of globular proteins can in straightforward ways be related to the amino acid sequence as well as to regular secondary polypeptide structures, such as helices and sheets, since these are both intimately linked with obtaining sequence-specific resonance assignments by ^1H NMR.

Regarding the primary structure, it was common during the early applications of the sequential assignment method that we detected errors in amino acid sequences that had been determined by chemical analysis of the polypeptide chains. The way to checking on the chemically determined amino acid sequence is readily apparent from FIGS. 9 AND 10. Once a network of sequencespecific assignments for short polypeptide segments had been obtained (FIG. 10), the intervening gaps were closed by NOE-guided walks along the chemically determined sequence (FIG. 9). Since the individual proteinogenic amino acids have different ^1H spin systems, deviations from the previously determined amino acid sequence would then become apparent. Typically, we would find between zero and five errors in proteins with sixty to eighty residues. During the first three decades of structural biology, X-ray crystallography has, in a similar way, contributed to amino acid sequence determination.

Sequential resonance assignments by ^1H NMR and the identification of regular secondary structures rely on the same ^1H NMR

data, so that the sequence-specific ^1H NMR assignment for the polypeptide chain in a globular protein results also in the identification of polypeptide segments that form regular secondary structures. Analysis of the ^1H – ^1H distances within pentapeptide segments of polypeptide chains revealed that in helices and sheets, respectively, different pairs of hydrogen atoms are related by short distances [36]. Uniform distance distributions along polypeptide segments of five or more amino acid residues therefore identify the presence of regular helical or sheet secondary structures (FIG. 15). Supplementary information is provided by the $^3J_{\text{HN}\alpha}$ spin–spin couplings. In FIG. 15 the locations of α -helices are identified from continuous runs of small $^3J_{\text{HN}\alpha}$ values and intense d_{NN} NOEs (FIG. 9), and independently from the presence of medium-range NOEs, which are seen only in helical structures.

In the early 1980s the presentation of the three-dimensional protein structures was still in development (for example, [80]), and the computer drawings shown here were prepared many years later (the hand-drawings by Jane Richardson in FIGS. 11 and 14 date from 1979 and 1981, respectively). As was discussed above, the results of NMR structure determinations were from the beginning presented as bundles of conformers superimposed for minimal root mean square distance (RMSD) of the backbone heavy atoms. The FIG. 16 shows the polypeptide backbone of the *Antennapedia* homeodomain, which has a well-defined central region and two disordered chain ends. While the structure determination shows that the chain ends are not well defined in the protein architecture, additional NMR experiments were needed to demonstrate that the chain ends are flexibly disordered. Similar observations can be made with BPTI in FIG. 17, where the polypeptide backbone and the interior amino acid side chains are well defined by the NMR data, whereas the solvent-accessible amino acid side chains on the protein surface and the polypeptide chain ends are poorly defined; again, additional studies showed that the disorder is highly dynamic. In presentations of the results from an NMR structure determination, one typically includes a representative single conformer from the bundle; as an illustration, FIG. 18 shows BUSI, which was the first complete NMR structure of a globular protein [1].

Fig. 15 – ^1H NMR data for sequence-specific resonance assignments and identification of regular secondary structures in the pheromone protein Er-1 from *Euplotes raikovii*. In the first row below the amino acid sequence, filled and empty circles identify small and big values of the spin-spin coupling constants $J_{\text{HN}\alpha'}$. $d_{\text{NN}'}$, $d_{\alpha\text{N}}$ and $d_{\beta\text{N}}$ are distances manifested by sequential NOEs (FIG. 9), where the thickness of the lines represents the intensity of the NOEs. Small values of the distances $d_{\alpha\text{N}}(i, i+3)$, $d_{\alpha\beta}(i, i+3)$ and $d_{\alpha\text{N}}(i, i+4)$ are observed by medium-range NOEs linking the given atom types between residues spaced by 3 or 4 sequence positions; in the drawing the observation of medium-range NOEs is represented by horizontal lines. The locations of three α -helices identified by the NMR data are indicated at the bottom (Figure taken from [26] with permission).

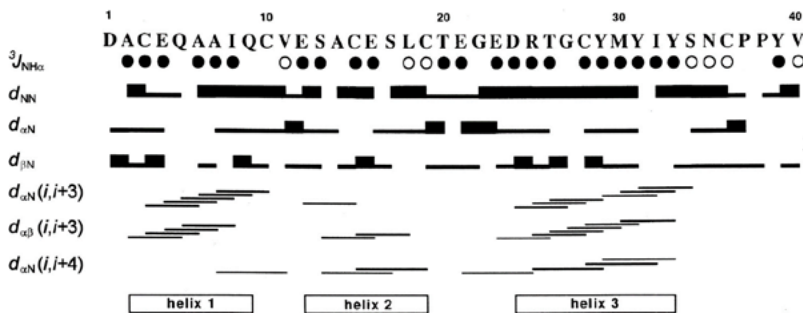


Fig. 16 – NMR structure of the *Antennapedia* homeodomain. A bundle of 20 superimposed conformers represents the polypeptide backbone. For the polypeptide segment 7–59 the tight fit of the bundle indicates that the structure is defined with high precision, whereas the two chain ends are disordered (Figure taken from [26] with permission).

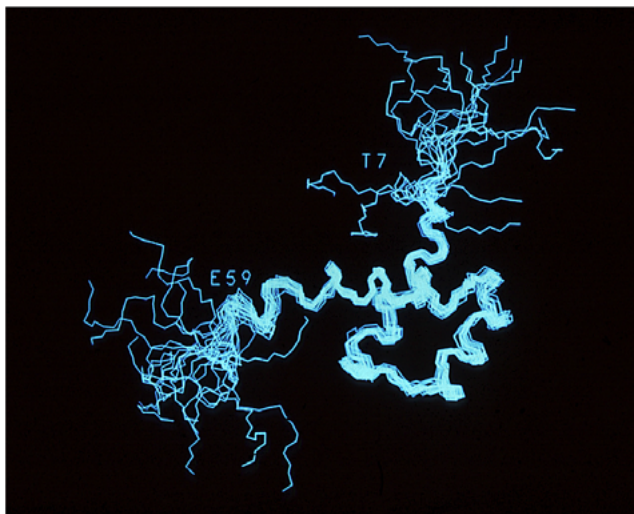


Fig. 17 – All-heavy atom visualization of the NMR structure of BPTI represented by a bundle of 20 conformers superimposed for best fit of the polypeptide backbone. The polypeptide backbone is green, core side-chains are blue, and solvent-accessible surface side-chains are red (Figure taken from [26] with permission).

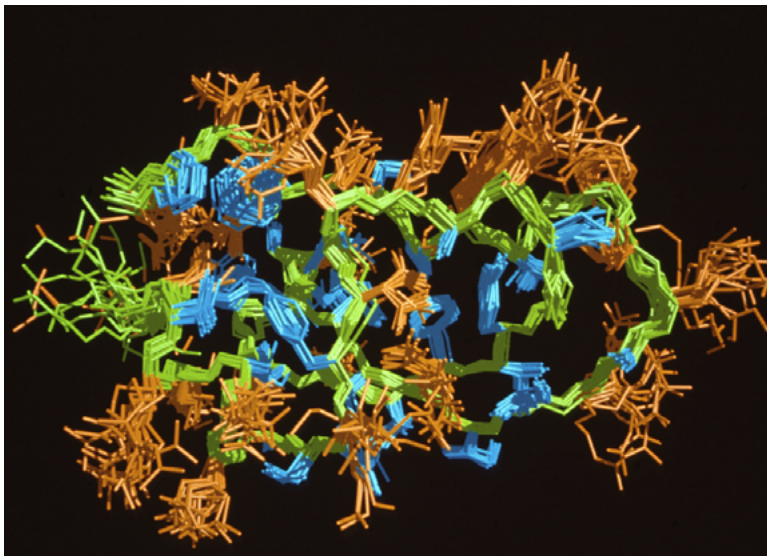
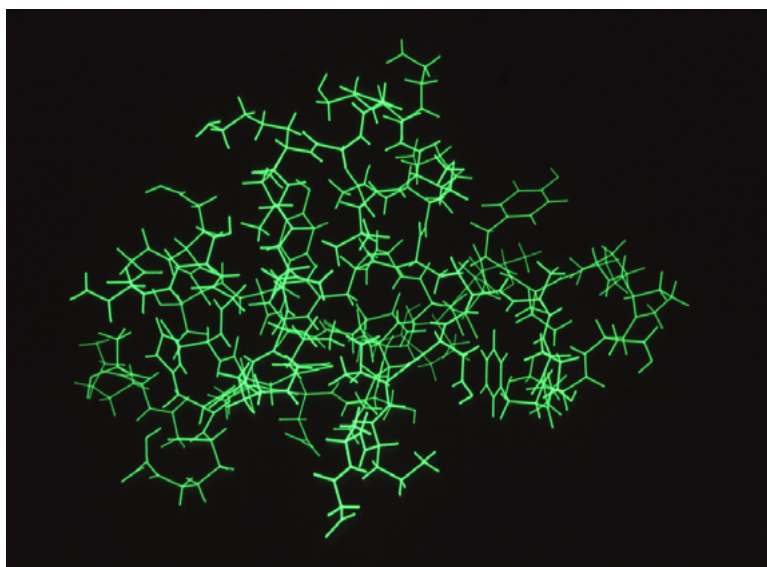


Fig. 18 – The NMR structure of BUSI published in 1985 [1] is represented by the “best” conformer out of a bundle of results from converged structure calculations as in FIG. 17 (Figure taken from [26] with permission).



Introducing NMR structures to the structural biology community

In the summer of 1985 I faced heavy criticism after presentations of the first two NMR structures of globular proteins in congresses and universities in Europe and the USA. The structural biology establishment of the mid-1980s was convinced that it was *a priori* not possible to get an atomic-resolution image of a protein in solution at ambient temperature, where it is under the regime of Brownian motion, i.e., undergoing stochastic translational and rotational movements at frequencies of about 10^8 sec^{-1} ; most of the colleagues working with protein crystals had not appreciated that NMR structure determination in solution is based on measurements of scalar parameters that are invariant under translational and rotational motions. We had proudly taken the close fit of our NMR structure of BUSI with the crystal structure of a homologous protein in the protein data bank (PDB) as yet another proof that the NMR method worked [1]. For others, it raised doubts on whether we really presented a structure based solely on NMR data.

With metallothionein (MT), an additional problem surfaced: at Yale University, an NMR structure of rat MT was presented to me that was widely different from our rabbit MT structure, and at the University of Pittsburgh I was introduced to a crystal structure of rat MT that was completely different from our NMR structure [81]. Rabbit MT and rat MT have nearly identical amino acid sequences, which include the 20 cysteines in identical sequence positions, and they both bind seven divalent metal ions, Zn(II) and/or Cd(II). Among 28 metal–cysteine coordinative bonds, which include 8 “bridging cysteines”, 21 bonds were different between this crystal structure and our NMR structure (they were yet different in the NMR structure at Yale). For many (not for all; for example, one of the early champions of protein crystallography, Professor Frederic M. Richards at Yale University, outspokenly supported our structure) this demonstrated that the NMR approach was not able to determine a three-dimensional protein structure *de novo*. After learning in Pittsburgh about the crystal structure of rat MT, I called Gerhard Wagner in Zürich to re-check the NMR assignments on which our structure determination was based. As mentioned above, the unusual amino acid composition made sequence-specific NMR assignments for this small protein a real challenge. After several hour-long telephone calls out of my hotel room, with both of us staring at the original data (of which I had carried a copy with me), we found that there were no errors. Gerhard felt deeply insulted by my

having even considered the possibility of him having made mistakes; it was a hard test for our long-standing friendship. Second, an editor of *Science* decided that the crystal structure of rat MT must be correct, because “crystallography was a proven method for protein structure determination” [81]. We were left with difficult interactions with editors and reviewers, which resulted in long delays of the publication describing our structure determination of rabbit MT [79]. Before our structure of rabbit MT was accepted for publication, we had to demonstrate that the NMR structure was not an artefact of the reconstitution needed to replace the Zn(II) ions with the NMR-active ^{113}Cd [82]. We also had to determine the NMR structure of rat MT and show that it is different from its crystal structure [81] and nearly identical to the rabbit NMR structure [83,84]. Finally, the crystal structure was re-determined in the early 1990s. In a joint publication with two authors of the *Science* paper that presented the original, misleading crystal structure [81], we reported that the new crystal structure was identical to the NMR structure that we had determined in 1985 [85]; this paper was eventually published in PNAS, because the editor of *Science* refused to publish this story, which corrects an earlier erroneous *Science* paper [81] that was never retracted.

As an immediate reaction to a lecture on the BUSI NMR structure, Professor Robert Huber at the Max Planck Institute for Biochemistry in Martinsried suggested in the summer of 1984 that we determine a novel protein structure in parallel by crystallography and by NMR, with the aim of comparing the two structures and thus get an “unambiguous proof” of whether the NMR method could provide *de novo* atomic-resolution protein structures. The company Hoechst AG provided each one of us with 100 g (*sic!*) of the α -amylase inhibitor Tendamistat. Dr. Allen Kline, who had just joined my team, agreed to accept this challenge. After selecting the best out of several hundred solution conditions for the NMR experiments, we published a complete description of the secondary structure on January 2, 1985. This included subtle details, such as the identification of β -bulges [10] in the otherwise regular β -sheets [86]. This encouraging result provided the basis for the complete NMR structure determination, which was available before Tendamistat could be crystallized [87,88]. Once the crystal structure was also available, it turned out that the two structures were identical in the global fold as well as in subtle local structural traits [89], and the X-ray structure of Tendamistat was eventually redetermined with a molecular replacement approach that used the NMR structure

to solve the phase problem [90]. At this point, protein structure determination by NMR in solution got quite generally accepted, and we also learned through the grapevine that a new crystal structure determination of rat MT was started (see above and [85]). The editor of the *Journal of Molecular Biology*, Dr. Sydney Brenner, added the following comment at the end of the 50-page paper on the Tendamistat NMR structure determination [88]: “*We have taken the step of publishing this paper with full supporting data since it is the first high resolution structure worked out in detail by 2-D NMR. We therefore think that in this one instance everything should be published in full, but it does not set a precedent, since it is hoped that in the future, such supporting data can be deposited in a data bank, as is the practice in X-ray protein crystallography.*”

Afterthoughts

While the above quotation of Dr. Sydney Brenner is a fitting conclusion for a historical account of the introduction of protein structure determination by NMR in solution to the 1980s structural biology community, the reviewers kindly suggested that I should add a few sentences to place the history piece in a wider frame of reference. Here is my response.

On June 17, 2021, at 16:00 h CEST, the Protein Data Bank (PDB) listed 13,415 NMR structures that have been deposited since 1985. These entries document the wide range of front-line biological and biomedical research that has been advanced by NMR structure determination of proteins, nucleic acids and higher-order supramolecular assemblies. From the mid-1980s, biological and biomedical applications became the principal line of research also in my laboratory; these applications then continuously motivated methods developments to respond to new, application-based demands. In collaborations with friends and colleagues who contributed the expert biochemistry of their projects, we addressed widely different areas; to name just a few, we studied differentiation in higher organisms [91,92], immune suppression [93,94], prion proteins and prion diseases (transmissible spongiform encephalopathies such as Creutzfeldt-Jacob disease in humans and “mad cow disease” in cattle) [95–97], signaling by pheromones [98–101], and information transfer across cell membranes by G protein-coupled receptors (GPCRs) [102,103]. Some of our early structure determinations were successful competitions with X-ray crystallography; examples

are the *Antennapedia* homeodomain [91] and the prion protein [95], which both had for many years resisted attempts at crystal structure determination. With time, complementing of macromolecular structures determined by other methods has become the main focus of our work [94,104,105], which includes integrative projects under the auspices of structural genomics programs [106–109].

In addition to telling us about the impact of NMR structure determination of biological macromolecules on biochemical, biological and biomedical research, the 13,415 listings of NMR structures in the PDB are a testimony of the wealth of methods developments that have been added to each step of the protocol for protein structure determination by NMR. This includes new biochemistry for the sample preparation, new concepts in NMR spectroscopy, and overwhelming advances in computer hardware and software. It is a great pleasure for me to follow the continuing advances in NMR methods and their impact on the front-lines of natural sciences and human medicine.

Declaration of Competing Interest

The author declares that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

It is a pleasure to acknowledge the generosity of the ETH Zürich in honoring the “Lex Wüthrich”, and to Scripps Research for support through the endowment of the Cecil H. and Ida M. Green Chair of Structural Biology. My special thanks go to Mrs. June Long at Scripps Research, and to Mrs. Isabelle Allen and Mr. Rudolf Bauman at the ETH Zürich for expert technical support.

REFERENCES

- [1] M.P. Williamson, T.F. Havel, K. Wüthrich, Solution conformation of proteinase inhibitor IIA from bull seminal plasma by ^1H nuclear magnetic resonance and distance geometry, *J. Mol. Biol.* 182 (2) (1985) 295–315.
- [2] C.C. McDonald, W.D. Phillips, Manifestations of the tertiary structures of proteins in high-frequency nuclear magnetic resonance, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (24) (1967) 6332–6341.
- [3] C.C. McDonald, W.D. Phillips, S.N. Vinogradov, Proton magnetic resonance evidence of methionine-iron coordination in mammalian-type ferrocytochrome c, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 36 (1969) 442–449.
- [4] K. Wüthrich, High resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of cytochrome c, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 63 (1969) 1071–1078.
- [5] K. Wüthrich, *NMR in Biological Research: Peptides and Proteins*, North Holland, Amsterdam, 1976.
- [6] J.D. Dunitz, Pauling's left-handed α -helix, *Angew. Chem. Int. Ed.* 40 (2001) 4167–4173.
- [7] L. Pauling, R.B. Corey, H.R. Branson, The structure of proteins: two hydrogenbonded helical configurations of the polypeptide chain, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 37 (1951) 205–211.
- [8] G.N. Ramachandran, V. Sasisekharan, Conformation of polypeptides and proteins, *Adv. Protein Chem.* 23 (1968) 283–437.
- [9] J. Deisenhofer, W. Steigemann, Crystallographic refinement of the structure of bovine pancreatic trypsin inhibitor at 1.5 Å resolution, *Acta Cryst.* B31 (1975) 238–250.
- [10] J. Richardson, The anatomy and taxonomy of protein structure, *Adv. Protein Chem.* 34 (1981) 167–339.
- [11] P. Hemmerich, D.V. Dervartanian, C. Veeger, J.D.W. Van Voorst, Evidence from electron-spin-resonance spectra for metal chelation shifting flavinleucoflavin equilibria towards radical state, *Biochim. Biophys. Acta.* 77 (1963) 504–506.
- [12] A. Ehrenberg, B.G. Malström, T. Vänngård (Eds.), *Magnetic Resonance in Biological Systems*, Pergamon Press, New York, 1967.

- [13] R.A. Ogg, P. Diehl, Nuclear magnetic resonance studies of coordinate complex formation by boron trifluoride, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 8 (1958) 468–475.
- [14] G.H. Wagnière, H. Labhardt, On the evaluation of some dipole velocity integrals, *J. Chem. Phys.* 19 (1963) 2386.
- [15] K. Wüthrich, H. Loeliger, S. Fallab, Elektronenspinresonanzmessungen zur Untersuchung von Kinetik und Mechanismus von Cu^{2+} -katalysierten Reaktionen, *Experientia* 20 (1964) 599–601.
- [16] K. Wüthrich, Über die Elektronenspinresonanzspektren einiger Cu^{2+} -Komplexe in wässriger Lösung, *Helv. Chim. Acta* 49 (1966) 1400–1406.
- [17] K. Wüthrich, Elektronenspinresonanz-Untersuchungen von VO^{2+} -Komplexverbindungen in wässriger Lösung II, *Helv. Chim. Acta* 48 (1965) 1012–1017.
- [18] K. Wüthrich, R.E. Connick, Nuclear magnetic resonance relaxation of oxygen-17 in aqueous solutions of vanadyl perchlorate and the rate of elimination of water molecules from the first coordination sphere, *Inorg. Chem.* 6 (1967) 583–590.
- [19] K. Wüthrich, R.E. Connick, Nuclear magnetic resonance studies of the coordination of vanadyl complexes in solution and the rate of elimination of coordinated water molecules, *Inorg. Chem.* 7 (1968) 1377–1388.
- [20] R.E. Connick, K. Wüthrich, ^{17}O nuclear magnetic relaxation in aqueous solutions of diamagnetic metal ions, *J. Chem. Phys.* 51 (10) (1969) 4506–4508.
- [21] J.S. Griffith, *The Theory of Transition-Metal Ions*, Cambridge University Press, UK, 1964.
- [22] A. von Zelewsky, ^{195}Pt -Kernresonanz in Pt^{II} - und Pt^{IV} -Verbindungen, *Helv. Chim. Acta* 51 (1968) 803–807.
- [23] A. Abragam, *The Principles of Nuclear Magnetism*, Clarendon Press, Oxford, 1961.
- [24] C.P. Slichter, *Principles of Magnetic Resonance, with Examples from Solid State Physics*, Harper and Row, New York, 1963.
- [25] M. Tinkham, *Group Theory and Quantum Mechanics*, McGraw-Hill, New York, 1964.

- [26] K. Wüthrich, NMR studies of structure and function of biological macromolecules, in: T. Frängsmyr, B. Lundeberg (Eds.), *Les Prix Nobel 2002*, Almquist and Wiksell International, Stockholm, Sweden, 2003.
- [27] R.E. Dickerson, I. Geis, *The Structure and Action of Proteins*, McGraw-Hill, New York, 1969.
- [28] J.H. Noggle, R.E. Schirmer, *The Nuclear Overhauser Effect*, Academic Press, New York, 1971.
- [29] I. Solomon, Relaxation processes in a system of two spins, *Phys. Rev.* 99 (1955) 559–565.
- [30] A. Kalk, H.J.C. Berendsen, Proton magnetic relaxation and spin diffusion in proteins, *J. Magn. Reson.* 24 (3) (1976) 343–366.
- [31] S.L. Gordon, K. Wüthrich, Transient proton–proton Overhauser effects in horse ferrocyclochrome c, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (22) (1978) 7094–7096.
- [32] G. Wagner, K. Wüthrich, Truncated driven nuclear Overhauser effect (TOE): a new technique for studies of selective ^1H – ^1H Overhauser effects in the presence of spin diffusion, *J. Magn. Reson.* 33 (3) (1979) 675–680.
- [33] R.M. Keller, K. Wüthrich, Evolutionary change of the heme c electronic structure: ferricytochrome c-551 from *Pseudomonas aeruginosa* and horse heart ferricytochrome c, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 83 (1978) 1132–1139.
- [34] R.M. Keller, K. Wüthrich, Structural study of the heme crevice in cytochrome b5 based on individual assignments of the ^1H NMR lines of the heme group and selected amino acid residues, *Biochim. Biophys. Acta* 621 (1980) 204–217.
- [35] V.V. Okhanov, V.A. Afanas'ev, V.F. Bystrov, Assignment of polypeptide ^1H and ^{13}C signals according to the amino acid sequence by multifrequency heteronuclear decoupling, *J. Magn. Reson.* 40 (1) (1980) 191–195.
- [36] K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, New York, 1986.
- [37] A. Dubs, G. Wagner, K. Wüthrich, Individual assignments of amide proton resonances in the proton NMR spectrum of the basic pancreatic trypsin inhibitor, *Biochim. Biophys. Acta* 577 (1979) 177–194.

- [38] N. Go, H.A. Scheraga, Ring closure and local conformational deformations of chain molecules, *Macromolecules* 3 (2) (1970) 178–187.
- [39] G.M. Crippen, A novel approach to calculation of conformation: distance geometry, *J. Comp. Physics* 24 (1977) 96–107.
- [40] I.D. Kuntz, G.M. Crippen, P.A. Kollman, Application of distance geometry to protein tertiary structure calculations, *Biopolymers* 18 (1979) 939–957.
- [41] W. Braun, C. Bösch, L.R. Brown, N. Gö, K. Wüthrich, Combined use of proton–proton Overhauser enhancements and a distance geometry algorithm for determination of polypeptide conformations: application to micelle-bound glucagon, *Biochim. Biophys. Acta* 667 (1981) 377–396.
- [42] T.F. Havel, I.D. Kuntz, G.M. Crippen, The combinatorial distance geometry method for the calculation of molecular conformation. I. A new approach to an old problem, *J. Theor. Biol.* 104 (3) (1983) 359–381.
- [43] T.F. Havel, I.D. Kuntz, G.M. Crippen, The theory and practice of distance geometry, *Bull. Math. Biology* 45 (1983) 665–720.
- [44] W. Braun, N. Gö, Calculation of protein conformations by proton–proton distance constraints. A new efficient algorithm, *J. Mol. Biol.* 186 (3) (1985) 611–626.
- [45] T.F. Havel, K. Wüthrich, A distance geometry program for determining the structures of small proteins and other macromolecules from nuclear magnetic resonance measurements of intramolecular ^1H – ^1H proximities in solution, *Bull. Math. Biol.* 46 (1984) 673–698.
- [46] G. Wagner, W. Braun, T.F. Havel, T. Schaumann, N. Gö, Kurt Wüthrich, Protein structures in solution by nuclear magnetic resonance and distance geometry: the polypeptide fold of the basic pancreatic trypsin inhibitor determined using two different algorithms, *DISGEO* and *DISMAN*, *J. Mol. Biol.* 196 (3) (1987) 611–639.
- [47] T.F. Havel, K. Wüthrich, An evaluation of the combined use of nuclear magnetic resonance and distance geometry for the determination of protein conformations in solution, *J. Mol. Biol.* 182 (2) (1985) 281–294.
- [48] K. Wüthrich, M. Billeter, W. Braun, Pseudo-structures for the 20 common amino acids for use in studies of protein conformations by measurements of intramolecular proton–proton distance

constraints with nuclear magnetic resonance, *J. Mol. Biol.* 169 (4) (1983) 949–961.

[49] L. Müller, A. Kumar, R.R. Ernst, Two-dimensional carbon-13 NMR spectroscopy, *J. Chem. Phys.* 63 (12) (1975) 5490–5491.

[50] K. Nagayama, K. Wüthrich, R.R. Ernst, Two-dimensional spin echo correlated spectroscopy (SECSY) for ^1H NMR studies of biological macromolecules, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 90 (1979) 305–311.

[51] K Nagayama, Anil Kumar, K Wüthrich, R.R Ernst, Experimental techniques of two-dimensional correlated spectroscopy, *J. Magn. Reson.* 40 (2) (1980) 321–334.

[52] Anil-Kumar, R.R. Ernst, K. Wüthrich, A two-dimensional nuclear Overhauser enhancement (2D NOE) experiment for the elucidation of complete proton–proton cross-relaxation networks in biological macromolecules, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 95 (1980) 1–6.

[53] G Wider, S Macura, Anil Kumar, R.R Ernst, K Wüthrich, Homonuclear twodimensional ^1H NMR of proteins: experimental procedures, *J. Magn. Reson.* 56 (2) (1984) 207–234.

[54] J. Jeener, B.H. Meier, P. Bachmann, R.R. Ernst, Investigation of exchange processes by two-dimensional NMR spectroscopy, *J. Chem. Phys.* 71 (11) (1979) 4546–4553.

[55] Anil Kumar, G. Wagner, R.R. Ernst, K. Wüthrich, Buildup rates of the nuclear Overhauser effect measured by two-dimensional proton magnetic resonance spectroscopy: implications for studies of protein conformation, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (13) (1981) 3654–3658.

[56] A. De Marco, K. Wüthrich, Digital filtering with a sinusoidal window function: an alternative technique for resolution enhancement in FT NMR, *J. Magn. Reson.* 24 (2) (1976) 201–204.

[57] R Baumann, G Wider, R.R Ernst, K Wüthrich, Improvement of 2D NOE and 2D correlated spectra by symmetrization, *J. Magn. Reson.* 44 (2) (1981) 402–406.

[58] K. Nagayama, K. Wüthrich, Systematic application of two-dimensional ^1H nuclear magnetic resonance techniques for studies of proteins 1: combined use of spin-echo-correlated spectroscopy and J-resolved spectroscopy for the identification of complete spin systems of non-labile protons in amino acid residues, *Eur. J. Biochem.* 114 (1981) 365–374.

- [59] G. Wagner, Anil Kumar, K. Wüthrich, Systematic application of twodimensional ^1H nuclear magnetic resonance techniques for studies of proteins 2: combined use of correlated spectroscopy and nuclear Overhauser spectroscopy for sequential assignments of backbone resonances and elucidation of polypeptide secondary structures, *Eur. J. Biochem.* 114 (1981) 375–384.
- [60] L.R. Brown, K. Wüthrich, Melittin bound to dodecylphosphocholine micelles: ^1H NMR assignments and global conformational features, *Biochim. Biophys. Acta* 647 (1981) 95–111.
- [61] A.S. Arseniev, G. Wider, F.J. Joubert, K. Wüthrich, Assignment of the ^1H nuclear magnetic resonance spectrum of the trypsin inhibitor E from *Dendroaspis polylepis polylepis*: two-dimensional nuclear magnetic resonance at 500 MHz, *J. Mol. Biol.* 159 (2) (1982) 323–351.
- [62] R.V. Hosur, G. Wider, K. Wüthrich, Sequential individual resonance assignments in the ^1H nuclear magnetic resonance spectrum of cardiotoxin V^{II} 2 from *Naja mossambica mossambica*, *Eur. J. Biochem.* 130 (1983) 497–508.
- [63] P. Štrop, G. Wider, K. Wüthrich, Assignment of the ^1H nuclear magnetic resonance spectrum of the proteinase inhibitor IIA from bull seminal plasma by two-dimensional nuclear magnetic resonance at 500 MHz, *J. Mol. Biol.* 166 (4) (1983) 641–665.
- [64] E.R.P. Zuiderweg, R. Kaptein, K. Wüthrich, Sequence-specific resonance assignments in the ^1H nuclear magnetic resonance spectrum of the lac repressor DNA-Binding domain 1–51 from *Escherichia coli* by twodimensional spectroscopy, *Eur. J. Biochem.* 137 (1983) 279–292.
- [65] K.Wüthrich, G.Wider, G.Wagner,W. Braun, Sequential resonance assignments as a basis for determination of spatial protein structures by high resolution proton nuclear magnetic resonance, *J. Mol. Biol.* 155 (3) (1982) 311–319.
- [66] M. Billeter, W. Braun, K. Wüthrich, Sequential resonance assignments in protein ^1H nuclear magnetic resonance spectra: computation of sterically allowed proton–proton distances and statistical analysis of proton– proton distances in single crystal protein conformations, *J. Mol. Biol.* 155 (1982) 321–346.
- [67] G. Wagner, K. Wüthrich, Sequential resonance assignments in protein ^1H nuclear magnetic resonance spectra: basic pancreatic trypsin inhibitor, *J. Mol. Biol.* 155 (3) (1982) 347–366.

- [68] G. Wider, K.H. Lee, K. Wüthrich, Sequential resonance assignments in protein ^1H nuclear magnetic resonance spectra: glucagon bound to perdeuterated dodecylphosphocholine micelles, *J. Mol. Biol.* 155 (3) (1982) 367–388.
- [69] W. Braun, G. Wider, K.H. Lee, K. Wüthrich, Conformation of glucagon in a lipid–water interphase by ^1H nuclear magnetic resonance, *J. Mol. Biol.* 169 (4) (1983) 921–948.
- [70] M.H. Frey, G. Wagner, M. Vašák, O.W. Sørensen, D. Neuhaus, E. Wörgötter, J.H. R. Kägi, R.R. Ernst, K. Wüthrich, Polypeptide metal cluster connectivities in metallothionein-2 by novel ^1H – ^{113}Cd heteronuclear two-dimensional NMR experiments, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 6847–6851.
- [71] D. Marion, K. Wüthrich, Application of phase sensitive two-dimensional correlated spectroscopy (COSY) for measurements of ^1H – ^1H spin–spin coupling constants in proteins, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 113 (1983) 967–974.
- [72] G. Otting, E. Liepinsh, K. Wüthrich, Disulfide bond isomerization in BPTI and BPTI(G36S): an NMR study of correlated mobility in proteins, *Biochemistry* 32 (14) (1993) 3571–3582.
- [73] P. Štřop, K. Wüthrich, Characterization of the proteinase inhibitor IIA from bull seminal plasma by ^1H nuclear magnetic resonance: stability, amide proton exchange and mobility of aromatic residues, *J. Mol. Biol.* 166 (4) (1983) 631–640.
- [74] P. Štřop, D. Čechova, K. Wüthrich, Preliminary structural comparison of the proteinase isoinhibitors IIA and IIB from bull seminal plasma based on individual assignments of the ^1H nuclear magnetic resonance spectra by two-dimensional nuclear magnetic resonance at 500 MHz, *J. Mol. Biol.* 166 (4) (1983) 669–676.
- [75] M.P. Williamson, D. Marion, K. Wüthrich, Secondary structure in the solution conformation of the proteinase inhibitor IIA from bull seminal plasma by nuclear magnetic resonance, *J. Mol. Biol.* 173 (3) (1984) 341–359.
- [76] D. Neuhaus, G. Wagner, M. Vašák, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, ^{113}Cd – ^1H spin–spin couplings in homonuclear ^1H correlated spectroscopy of metallothionein: identification of the cysteine ^1H spin systems, *Eur. J. Biochem.* 143 (1984) 659–667.
- [77] G. Wagner, D. Neuhaus, E. Wörgötter, M. Vašák, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Sequence-specific ^1H NMR assignments in rabbit liver metallothionein-2, *Eur. J. Biochem.* 157 (1986) 275–289.

- [78] W. Braun, G. Wagner, E. Wörgötter, M. Vašák, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Polypeptide fold in the two metal clusters of metallothionein-2 by nuclear magnetic resonance in solution, *J. Mol. Biol.* 187 (1) (1986) 125–129.
- [79] A. Arseniev, P. Schultze, E. Wörgötter, W. Braun, G. Wagner, M. Vašák, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Three-dimensional structure of rabbit liver [Cd₇]-metallothionein-2a in aqueous solution determined by nuclear magnetic resonance, *J. Mol. Biol.* 201 (3) (1988) 637–657.
- [80] P. Schultze, K. Wüthrich, Display algorithm for space filling molecular models using a video array processor, *J. Mol. Graphics* 4 (2) (1986) 108–111.
- [81] W.F. Furey, A.H. Robbins, L.L. Clancy, D.R. Winge, B.C. Wang, C.D. Stout, Crystal structure of Cd, Zn metallothionein, *Science* 231 (1986) 704–710.
- [82] M. Vašák, E. Wörgötter, G. Wagner, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Metal coordination in rat liver metallothionein-2 prepared with or without reconstitution of the metal clusters, and comparison with rabbit liver metallothionein-2, *J. Mol. Biol.* 196 (3) (1987) 711–719.
- [83] E. Wörgötter, G. Wagner, M. Vašák, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Sequence-specific ¹H NMR assignments in rat liver metallothionein-2, *Eur. J. Biochem.* 167 (1987) 457–466.
- [84] P. Schultze, E. Wörgötter, W. Braun, G. Wagner, M. Vašák, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Conformation of [Cd₇]-metallothionein-2 from rat liver in aqueous solution determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy, *J. Mol. Biol.* 203 (1) (1988) 251–268.
- [85] W. Braun, M. Vašák, A.H. Robbins, C.D. Stout, G. Wagner, J.H.R. Kägi, K. Wüthrich, Comparison of the NMR solution structure and the X-ray crystal structure of rat metallothionein-2, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992) 10124–10128.
- [86] A.D. Kline, K. Wüthrich, Secondary structure of the α -amylase polypeptide inhibitor Tendamistat from *Streptomyces tendae* determined in solution by ¹H nuclear magnetic resonance, *J. Mol. Biol.* 183 (1985) 503–507.
- [87] A.D. Kline, W. Braun, K. Wüthrich, Studies by ¹H nuclear magnetic resonance and distance geometry of the solution conformation of the α -amylase inhibitor Tendamistat, *J. Mol. Biol.* 189 (1986) 377–382.
- [88] A.D. Kline, W. Braun, K. Wüthrich, Determination of the complete three-dimensional structure of the α -amylase inhibitor

Tendamistat in aqueous solution by nuclear magnetic resonance and distance geometry, *J. Mol. Biol.* 204 (1988) 675–724.

[89] M. Billeter, A.D. Kline, W. Braun, R. Huber, K. Wüthrich, Comparison of the high-resolution structures of the α -amylase inhibitor Tendamistat determined by nuclear magnetic resonance in solution and by X-ray diffraction in single crystals, *J. Mol. Biol.* 206 (1989) 677–687.

[90] W. Braun, O. Epp, K. Wüthrich, R. Huber, Solution of the phase problem in the X-ray diffraction method for proteins with the nuclear magnetic resonance solution structure as initial model, *J. Mol. Biol.* 206 (4) (1989) 669–676.

[91] Y.Q. Qian, M. Billeter, G. Otting, M. Müller, W.J. Gehring, K. Wüthrich, The structure of the *Antennapedia* homeodomain determined by NMR spectroscopy in solution: comparison with prokaryotic repressors, *Cell* 59 (3) (1989) 573–580.

[92] G. Otting, Y.Q. Qian, M. Billeter, M. Müller, M. Affolter, W.J. Gehring, K. Wüthrich, Protein–DNA contacts in the structure of a homeodomain–DNA complex determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy in solution, *EMBO J.* 9 (10) (1990) 3085–3092.

[93] C. Weber, G. Wider, B. Von Freyberg, R. Traber, W. Braun, H. Widmer, K. Wüthrich, The NMR structure of cyclosporin A bound to cyclophilin in aqueous solution, *Biochemistry* 30 (26) (1991) 6563–6574.

[94] J. Kallen, C. Spitzfaden, M.G.M. Zurini, G. Wider, H. Widmer, K. Wüthrich, M.D. Walkinshaw, Structure of human cyclophilin and its binding site for cyclosporin A determined by X-ray crystallography and NMR spectroscopy, *Nature* 353 (1991) 276–279.

[95] R. Riek, S. Hornemann, G. Wider, M. Billeter, R. Glockshuber, K. Wüthrich, NMR structure of the mouse prion protein domain PrP(121–231), *Nature* 382 (1996) 180–182.

[96] R. Riek, S. Hornemann, G. Wider, R. Glockshuber, K. Wüthrich, NMR characterization of the full length recombinant murine prion protein, *mPrP* (23–231), *FEBS Lett.* 413 (1997) 282–288.

[97] B. Christen, F.F. Damberger, D.R. Pérez, S. Hornemann, K. Wüthrich, Structural plasticity of the cellular prion protein and implications in health and disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110 (2013) 8549–8554.

- [98] P. Luginbühl, M. Ottiger, S. Mronga, K. Wüthrich, Structure comparison of the pheromones *Er-1*, *Er-10*, and *Er-2* from *Euplotes raikovi*, *Prot. Sci.* 3 (9) (1994) 1537–1546.
- [99] G. Di Giuseppe, F. Erra, F. Dini, C. Alimenti, A. Vallesi, B. Pedrini, K. Wüthrich, P. Luporini, Antarctic and arctic populations of the ciliate *Euplotes nobilii* show common pheromone-mediated cell–cell signaling and cross-mating, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108 (2011) 3181–3186.
- [100] R. Horst, F. Damberger, P. Luginbühl, P. Güntert, G. Peng, L. Nikonova, W.S. Leal, K. Wüthrich, NMR structure reveals intramolecular regulation mechanism for pheromone binding and release, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 14374–14379.
- [101] E. Michel, F.F. Damberger, Y. Ishida, F. Fiorito, D. Lee, W.S. Leal, K. Wüthrich, Dynamic conformational equilibria in the physiological function of the *Bombyx mori* pheromone-binding protein, *J. Mol. Biol.* 408 (5) (2011) 922–931.
- [102] J.J. Liu, R. Horst, V. Katritch, R.C. Stevens, K. Wüthrich, Biased signaling pathways in β_2 -adrenergic receptor characterized by ^{19}F -NMR, *Science* 335 (2012) 1106–1110.
- [103] M.T. Eddy, M.-Y. Lee, Z.-G. Gao, K.L. White, T. Didenko, R. Horst, M. Audet, P. Stanczak, K.M. McClary, G.W. Han, K.A. Jacobson, R.C. Stevens, K. Wüthrich, Allosteric coupling of drug binding and intracellular signaling in the A_{2A} adenosine receptor, *Cell* 172 (1-2) (2018) 68–80.
- [104] S. Chen, M. Lu, D. Liu, L. Yang, C. Yi, L. Ma, H. Zhang, Q. Liu, T.M. Frimurer, M. W. Wang, T.W. Schwartz, R.C. Stevens, B. Wu, K. Wüthrich, Q. Zhao, Human substance P receptor binding mode of the antagonist drug aprepitant by NMR and crystallography, *Nat. Commun.* 10 (2019) 638–646.
- [105] I. Shimada, T. Ueda, Y. Kofuku, M.T. Eddy, K. Wüthrich, GPCR drug discovery: integrating solution NMR data with crystal and cryo-EM structures, *Nat. Rev. Drug Disc.* 18 (2019) 59–82.
- [106] K. Wüthrich, NMR in a crystallography-based high-throughput protein structure-determination environment, *Acta Cryst. F* 66 (2010) 1365–1366.
- [107] P. Serrano, B. Pedrini, M. Geralt, K. Jaudzems, B. Mohanty, R. Horst, T. Herrmann, M.-A. Elsliger, I.A. Wilson, K. Wüthrich, Comparison of NMR and crystal structures highlights conformational isomerisms in protein active sites, *Acta Cryst. F* 66 (2010) 1393–1405.

[108] R. Stevens, V. Cherezov, V. Katritch, R. Abagyan, P. Kuhn, H. Rosen, K. Wüthrich, The GPCR network: a large-scale collaboration to determine human GPCR structure and function, *Nat. Rev. Drug Discovery* 12 (2013) 1–10.

[109] P. Serrano, S.K. Dutta, A. Proudfoot, B. Mohanty, L. Susac, B. Martin, M. Geralt, L. Jaroszewski, A. Godzik, M. Elsliger, I.A. Wilson, K. Wüthrich, NMR in structural genomics to increase structural coverage of the protein universe, *FEBS J.* 283 (21) (2016) 3870–3881.

AULA 2

AS IMAGENS DA VIDA AO LONGO DA HISTÓRIA DA HUMANIDADE

**Palestrantes: Cláudia Mermelstein
e Manoel Luis Costa** (*ICB e CENABIO/UFRJ*)

(*Transcrição: Wanessa Jiaxin Su Wu*)

PRIMEIRA PARTE (CLÁUDIA MERMELSTEIN)

Em primeiro lugar, eu queria agradecer ao professor Adalberto Vieyra pelo convite para participar da Cátedra de Fernando Souza de Barros. Esta palestra é sobre temas especiais para mim, que trabalho com microscopia, biologia celular e imagens. Mas não posso deixar de falar que realmente foi um desafio preparar esta apresentação, porque ela saiu da minha zona de conforto, onde em geral apresento os resultados de pesquisa do meu laboratório. Neste caso, eu tive que preparar uma apresentação valorizando mais as imagens. Falarei de biologia celular e sua relação com microscopia. A imagem mostrada na FIGURA 1 é de um resultado produzido pelo meu grupo de pesquisa e mostra uma cultura de células musculares vista por microscopia de fluorescência. Esta imagem é não só informativa, em termos científicos, como é muito bonita, e por isso eu a selecionei. Abordarei a microscopia óptica e a eletrônica, e como a história da biologia celular se confunde com a história da microscopia ao longo dos tempos. Então vou mostrar como a biologia celular impulsiona a microscopia, levando ao avanço de técnicas e procedimentos, e vice-versa, como a microscopia também leva ao avanço da biologia celular. Abordarei algumas questões de

microscopia relacionadas à resolução espacial, temporal, e à tridimensionalidade.

Figura 1 – Células de músculo esquelético de embrião de galinha (*Gallus gallus*) crescidas em cultura *in vitro* e marcadas com as sondas fluorescentes MitoTracker (que marca mitocôndrias em verde) e Dapi (que marca os núcleos em azul). As setas apontam para um miofibrilo.

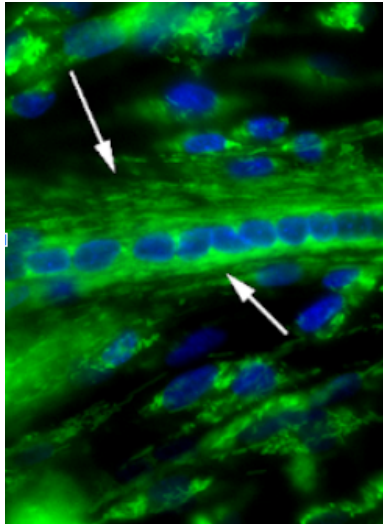


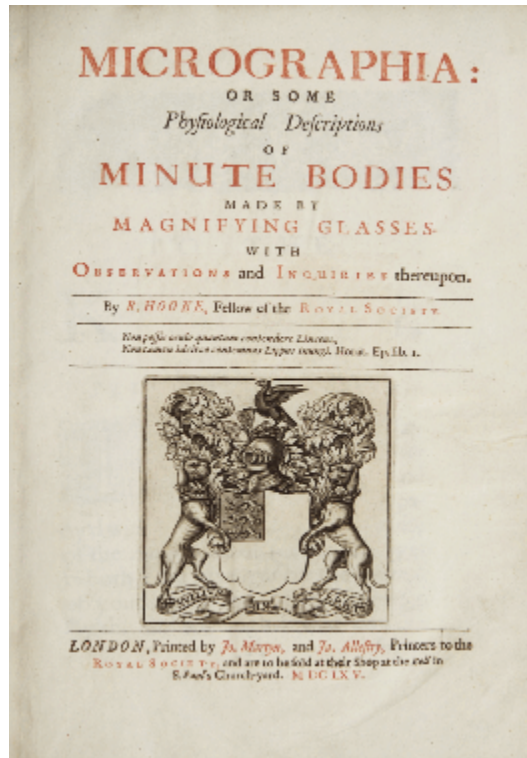
Figura 2 – Reprodução de um aparato óptico que teria sido criado pelo holandês Zacharias Janssen



Começarei com a história da microscopia, e, para tal, falarei de algumas personalidades que foram muito importantes em cada descoberta. Começo falando de Zacharias Janssen (1580-1632) e Hans Lippershey (1572-1619), responsáveis pela invenção dos primeiros microscópios compostos (FIGURA 2). Eles eram vizinhos em Middelburg, na Holanda, e ambos faziam óculos. Havia uma disputa

entre eles para ver quem conseguia desenvolver as melhores lentes. Esse tipo de disputa pode levar a avanços muito importantes, e nesse caso levou ao avanço da ciência com o desenvolvimento de um [microscópio](#) composto. O interessante é que não se tem registros exatos de qual dos dois teria sido o responsável por essa invenção. Além deles, também existem relatos de que Galileu Galilei (1564-1642), no mesmo período, teria sido responsável pelo desenvolvimento dos primeiros microscópios. Também não posso deixar de falar de Robert Hooke (1635-1703), um inglês que igualmente participou do aperfeiçoamento dos primeiros microscópios. No entanto, o importante é que ele fez uma série de observações muito detalhadas que geraram um livro, chamado de [Micrographia](#), onde se encontram desenhos de formigas, pulgas, larvas de mosquitos, entre outros animais, e todos em uma qualidade impressionante (FIGURA 3). Interessante que Hooke foi muito além de ter sido um dos primeiros inventores do microscópio; ele simplesmente participou de toda a reconstrução de Londres após o grande incêndio que aconteceu em 1666. Ele participou dessa reconstrução da cidade como arquiteto. Ele tinha habilidades em diferentes áreas do conhecimento, como matemática, física, arquitetura e desenho. Podemos considerar que esse é o momento da história no qual se iniciam as descrições microscópicas da morfologia de animais e plantas de forma muito detalhada e precisa. Descrições morfológicas anteriores não tinham esse nível de cuidado e detalhamento. Neste momento, começa a existir a preocupação de se descrever cientificamente o que está sendo visto ao microscópio. Uma das curiosidades sobre Robert Hooke é que jamais foi encontrado algum retrato pintado de seu rosto àquela época. Há quem diga que os seus retratos teriam sido destruídos por Isaac Newton (1643-1727) quando assumiu a Royal Society of London, por conta da disputa entre os dois em relação à autoria de uma série de invenções e descobertas. O fato é que não existe até hoje um registro de como ele era.

Figura 3 – Capa de um exemplar do livro *Micrographia* escrito pelo inglês Robert Hooke



Outro importante personagem no desenvolvimento e uso dos microscópios foi o holandês Anton van Leeuwenhoek (1632-1723). Acredita-se que ele tenha criado mais de 500 microscópios, mas infelizmente apenas dez ainda existem. Vários destes microscópios teriam sido derretidos porque eram feitos com ouro, prata ou cobre, e doados para a Royal Society of London (onde foram perdidos). Leeuwenhoek, na verdade, não fazia os desenhos do que ele observava ao microscópio. Por sua falta de habilidade, convidou outra pessoa para fazer os desenhos. De qualquer forma, são desenhos muito detalhados, e eu considero que no período que abrange Hooke e Leeuwenhoek começamos a ver o invisível, ou seja, começa-se a ver o que não se via antes. Por exemplo, espermatozoides não eram simplesmente vistos antes. É possível ver vários dos desenhos de Leeuwenhoek nesta [página](#) da internet. A ciência deu um enorme salto nesse período. Outra coisa muito curiosa é que Leeuwenhoek fazia desenhos diários de tudo o que ele observava ao microscópio. Esses desenhos foram reunidos e

publicados pela Royal Society of London. Desta forma, hoje em dia se sabe que ele fazia a maior parte das suas observações às terças e sextas-feiras, e não fazia nos outros dias da semana. Esses relatos sugerem que ele tinha outras ocupações.

Figura 4 – Esquema de um microscópio óptico composto, contendo objetivas e condensador

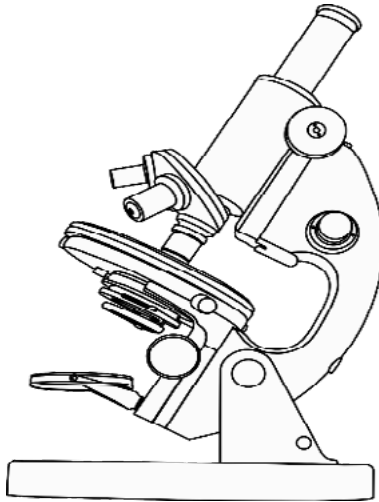
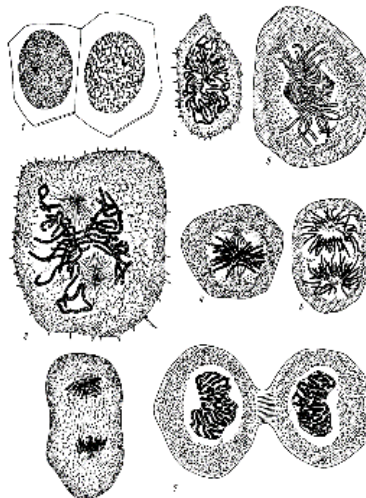


Figura 5 – Desenhos de células se dividindo (mitose), feitos pelo alemão Walther Flemming



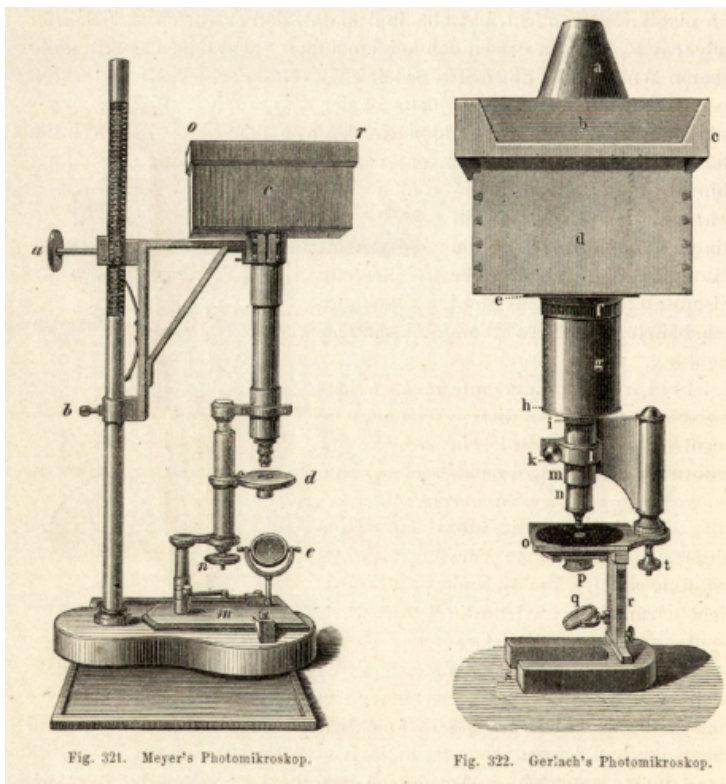
Então, finalizando essa parte da história da microscopia, podemos ver que Janssen, Lippershey, Galileu, Leeuwenhoek e Hooke participaram da invenção dos primeiros microscópios e do início das descrições morfológicas de seres vivos e materiais microscópicos. O século XVII foi muito importante na criação da microscopia, mas, ao longo dos séculos seguintes, os microscópios evoluíram em complexidade de uma forma impressionante, passando a ter diferentes peças, incluindo lentes objetivas, oculares, condensadores e fontes de iluminação (FIGURA 4). Apesar dessa complexidade, também existem hoje em dia microscópios relativamente simples e acessíveis ao grande público, que possibilitam a observação de detalhes de pequenos animais e plantas. Esses microscópios têm um papel muito importante na divulgação da ciência e em tornar a sociedade mais próxima da ciência, o que eu acho que é um dos nossos papéis como cientistas, e tentar mobilizar as pessoas para a questão da conservação da natureza.

Terminando essa curta introdução sobre a história da microscopia, eu passo agora para a célula. Como eu comentei no início, eu farei uma relação entre microscopia e biologia celular. Essas duas áreas dependem uma da outra e caminham juntas, a ponto de não ser possível separá-las. A história da biologia celular pode ser explicada com a teoria celular, que foi desenvolvida no século XIX por vários cientistas: Matthias Schleiden (1804-1881), Theodor Schwann (1810-1882) e Rudolf Virchow (1821-1902). Eles foram importantes porque desenvolveram três conceitos fundamentais na definição do que é uma célula: (I) “Todos os seres vivos são feitos de uma ou mais células”, (II) “A célula é a unidade básica de organização e estrutura dos organismos” e (III) “Células surgem de outras células”. Existem cerca de 200 tipos celulares diferentes nos seres humanos, incluindo as células musculares, ósseas, neuronais, epiteliais, entre outras.

Robert Hooke, a quem eu já me referi acima, fez observações ao microscópio de pedaços de cortiça de árvore, nas quais descreve unidades chamadas por ele de “celas” (em referência às celas de mosteiros). Essas unidades são as células, descritas por ele em desenhos. Interessante que, nesta época, tudo era registrado por esses cientistas em desenhos, já que não existia a fotografia. Desta forma, a impressão do pesquisador sobre o objeto observado ao microscópio e que seria descrito em um desenho tinha a interferência da subjetividade. Essa subjetividade viria a ser substituída por uma imagem mais próxima da realidade quando surge a fotografia. Alguns

desenhos feitos pelo cientista Edmund Beecher Wilson (1856-1939) mostram células muito simples, com o núcleo e algumas poucas organelas, o que é bastante diferente da complexidade que existe dentro de nossas células, que se conhece bem atualmente. O biólogo alemão Walther Flemming (1843-1905) fez desenhos de células em divisão, a partir de observações ao microscópio, em um nível de detalhe impressionante para a época e para o microscópio usado por ele. Ele descreve a cromatina (estrutura que contém o material genético das células) a partir de suas observações (FIGURA 5).

Figura 6 – Fotomicroscópios feitos por Meyer em 1852 (à esquerda) e por Gerlach em 1863 (à direita)



O surgimento da fotografia teve um impacto muito grande na microscopia. Vários cientistas estiveram envolvidos no desenvolvimento da fotomicrografia (FIGURA 6). Entre eles, podemos citar William Henry Fox (1800-1877), Joseph Bancroft Reade (1801-1870), Alfred Donné (1801-1878), Carl Zeiss (1816-1888), Joseph von Gerlach

(1820-1896), Gustav Theodor Fritsch (1838-1927) e Ernst Abbe (1840-1905). O artigo “The History of Photomicrography” (2011), de Normand Overney e Gregor Overney, descreve em detalhes os vários aparatos inventados para se tirar fotografias de espécimes em microscópios (Overney; Overney, 2011). Interessante observarmos que a fotografia, independente da microscopia, surgiu ao redor de 1840, e em 1852 já se havia adaptado a fotografia ao microscópio.

Como estou falando da fotografia, é importante se mencionar que a tecnologia é de fundamental importância para a ciência. A microscopia depende do avanço tecnológico, e, portanto, o avanço da biologia celular depende do avanço das novas tecnologias ligadas à microscopia. Existem vários trabalhos que relatam a ligação da tecnologia com a ciência. O artigo “The Impact of Technology on Light Microscopy” (Piston, 2009) descreve como a tecnologia é fundamental no desenvolvimento de novas fontes de luz, como laser e LED, novas câmeras fotográficas digitais, novos tipos de câmeras de vídeo, e computadores cada vez mais potentes para a análise de uma quantidade de resultados cada vez maior. Esses novos computadores permitem a realização da chamada microscopia quantitativa.

Eu também não poderia deixar de fazer referência aqui ao meu antigo orientador de mestrado e de doutorado no Instituto de Biofísica da UFRJ, o professor Carlos Chagas Filho, que foi o fundador do Instituto de Biofísica. Na autobiografia do dr. Chagas, ele cita o impacto da tecnologia e das novas metodologias para o desenvolvimento da pesquisa científica. Cito aqui dois desses seus comentários: “Criar o Instituto de Biofísica terá a função de implantar a pesquisa na Faculdade de Medicina e trazer para o nosso meio os métodos físicos” e “A microbiologia era uma ciência quase esgotada e que só poderia sobreviver quando a ela fossem aplicados os métodos que a biologia começava a absorver da física e da química. José da Costa Cruz (de Manguinhos, Fiocruz) falou-me da necessidade de encontrar sistemas que permitissem uma observação mais profunda da morfologia das bactérias”.

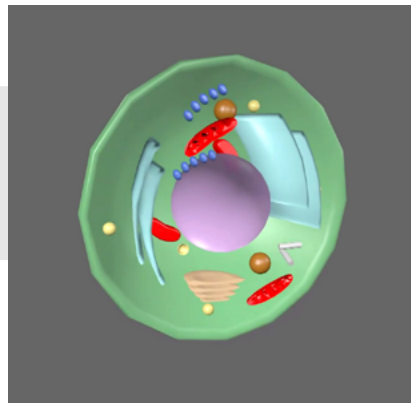
É muito importante chamarmos a atenção para o papel das sociedades científicas no desenvolvimento da ciência de uma forma geral, e da microscopia em particular. Cito aqui o exemplo da Royal Society of London, já que foi uma das primeiras sociedades científicas a serem criadas, em 1660. Entre os diferentes papéis das sociedades científicas, podemos citar a organização de pesquisadores em torno de determinados temas, divulgação científica para a comunidade

científica e para a sociedade, consolidação e fortalecimento de áreas da ciência, e criação de políticas públicas de apoio à ciência. O lema *Nullius in verba* [“A palavra não é suficiente”] da Royal Society (da qual Robert Hooke foi curador de experimentos) afirma a vontade de estabelecer a verdade no domínio dos fatos, baseando-se somente na experiência científica, e jamais na palavra de alguma autoridade. Esse lema, apesar de tão antigo, é extremamente atual. Isso é muito importante nos dias de hoje, em que vivemos numa onda de fake news, e às vezes é difícil diferenciar o que é verdadeiro do que não é.

Não apenas as sociedades científicas são importantes para o desenvolvimento da ciência. Quando falamos de microscopia, não podemos deixar de citar a importância dos centros de microscopia avançada que existem no mundo inteiro. Podemos citar, entre eles, o Woods Hole Marine Biological Laboratory (EUA) e o National Center for Microscopy and Imaging Research (EUA). Na UFRJ, nós temos o Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENA-BIO), que possui equipamentos de última geração na área de microscopia para pesquisa, além de ter um importante papel na formação de pessoal na área de imagens.

Antes de começar a descrever o histórico das descobertas da área de biologia celular, eu não poderia deixar de mencionar a histologia, que é o estudo dos tecidos biológicos. A biologia celular, que é o estudo das células (FIGURA 7), surgiu como um ramo da histologia. Uma série de pesquisadores, como Marcello Malpighi (1628-1694), Jan Evangelista Purkyně (1787-1869), Camillo Golgi (1843-1926) e Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), foram responsáveis pelo desenvolvimento de técnicas de coloração de corte de tecidos, como, por exemplo, a invenção do micrótomo. Para a análise de imagens de histologia, utiliza-se a técnica de microscopia óptica chamada microscopia de campo claro.

Figura 7 – Esquema de uma célula eucariótica com várias organelas, incluindo o núcleo, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, as mitocôndrias e os lisossomos



A primeira organela que eu vou descrever será o núcleo, que é a maior organela celular (tem cerca de 5 a 10 micrômetros) e por isso foi a

primeira a ser observada. Os primeiros relatos do núcleo foram feitos por Leeuwenhoek em eritrócitos do peixe salmão em 1710. Leeuwenhoek chamou os núcleos de “lumen”. Em 1833, Robert Brown (1773-1858) fez desenhos de células de plantas mostrando núcleos. Alguns anos depois, em 1882, Walther Flemming fez desenhos muito detalhados de células de glândulas salivares de mosquitos mostrando núcleos com cromossomos politênicos. A partir desses desenhos iniciais e simples, as pesquisas sobre a estrutura e função do núcleo celular evoluíram muito. Hoje, muitas técnicas são utilizadas para o estudo do núcleo, incluindo a microscopia eletrônica de transmissão e a microscopia óptica de fluorescência. Podemos destacar os estudos feitos com células vivas marcadas com proteínas nucleares fluorescentes, em que é possível se analisar, em tempo real, a estrutura e a função do núcleo ao longo do tempo e após o tratamento com diferentes substâncias. Hoje em dia, graças a essas técnicas de última geração de microscopia de fluorescência, sabemos que o núcleo se divide em domínios, ou territórios ou regiões. Cada cromossomo constitui um domínio separado do núcleo, que pode ser visualizado com marcadores fluorescentes específicos, com suas funções específicas. Entre as principais funções do núcleo estão o armazenamento e proteção do material genético, a regulação da transcrição e a da replicação do DNA, e o controle da troca de moléculas entre o núcleo e o citoplasma.

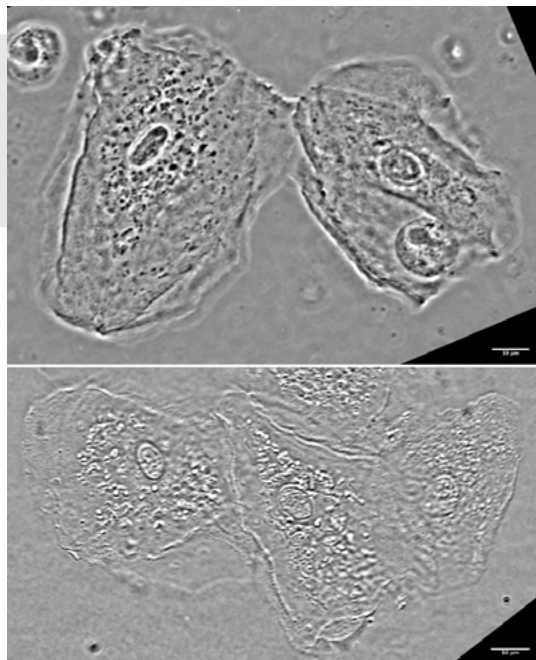
O complexo de Golgi é uma organela celular que foi descrita pelo italiano Camillo Golgi (1843-1926). Em 1876, Camillo Golgi fez marcações de células com nitrato de prata e visualizou esta organela (FIGURA 7) com a microscopia óptica de campo claro. Hoje conseguimos ver essa mesma organela em células vivas com marcadores fluorescentes específicos para o Golgi, assim como eu citei no caso do núcleo. A evolução do estudo do complexo de Golgi foi muito grande e, graças a técnicas como a microscopia de fluorescência, microscopia de células vivas, microscopia de transmissão e tomografia, sabemos que o Golgi é muito dinâmico e feito por uma série de cisternas empacotadas. O complexo de Golgi tem várias funções, entre as quais podem ser mencionadas o transporte e o empacotamento de vesículas contendo proteínas que irão para diferentes destinos celulares e extracelulares, e as modificações pós-traducionais de proteínas. Cada cisterna tem componentes moleculares diferentes (enzimas) responsáveis por diferentes modificações pós-traducionais de proteínas.

A estrutura da membrana plasmática foi descoberta pela microscopia eletrônica de transmissão (MET). Na MET, um feixe de

elétrons é emitido em direção a uma amostra ultrafina, interagindo com a amostra enquanto a atravessa e registrando numa imagem o resultado dessas interações. A MET teve um impacto muito grande no estudo dos primeiros modelos de membrana plasmática que foram descritos, como o modelo de Hugh Davson (1909-1996) e James Danielli (1911-1984). Em 1972, foi proposto, por Seymour Jonathan Singer (1924-2017) e Garth L. Nicolson (1943-), um novo modelo para explicar a estrutura da membrana plasmática. Esse modelo ficou conhecido por “modelo da bicamada lipídica” ou “modelo do mosaico fluido”. No modelo do mosaico fluido, as cabeças hidrofílicas dos fosfolipídios se orientam para fora (meio extracelular) e para dentro (citoplasma) da célula, enquanto as caudas hidrofóbicas dos fosfolipídeos se voltam para o interior da membrana. A membrana, assim como o núcleo e o complexo de Golgi, hoje é estudada por inúmeras técnicas, incluindo a microscopia de fluorescência de células vivas. A membrana plasmática é uma estrutura muito dinâmica, podendo emitir protusões e invaginações o tempo todo, sendo chamadas de lamelipódios, filopódios e microspikes (“microespinhos”). Essas protusões de membrana estão relacionadas à migração da célula e são muito estudadas no câncer, onde em que algumas células podem realizar metástase e migrar para a corrente sanguínea e para outros tecidos.

Figura 8 – Imagens de células epiteliais humanas visualizadas por contraste de fase (em cima) e contraste diferencial interferencial (embaixo). Barra de escala de 10 μm .

Técnicas de contraste podem ser usadas para a observação de células vivas ao microscópio óptico sem a necessidade de as células estarem coradas (como se usa na histologia) ou marcadas com alguma molécula fluorescente (como se usa na microscopia de fluorescência). As técnicas de contraste mais comuns



são o contraste de fase, o contraste interferencial diferencial (DIC) e a polarização (FIGURA 8). O contraste de fase foi desenvolvido pelo pesquisador Frits Zernike (1888-1966) e o DIC foi descrito por Georges Nomarski (1919-1997) e depois aperfeiçoado por Robert Day Allen (1927-1986). Embora essas técnicas não usem nenhum tipo de marcação ou corante, elas permitem a visualização de inúmeras estruturas e organelas celulares, como especializações de membrana plasmática, núcleo, mitocôndrias, vesículas e o citoesqueleto. O microscópio de contraste de fase consegue converter as mudanças de fase na onda de luz que passa por uma amostra transparente, de dimensões semelhantes às das células, em mudanças de brilho na imagem. Desta forma, células e estruturas transparentes passam a ser vistas. Essa técnica permite a visualização do transporte axonal de vesículas em axônios de neurônios. É possível se acompanhar vesículas com neurotransmissores se movendo em trilhos de microtúbulos ao longo do axônio. Esse movimento depende de energia (ATP) proveniente de proteínas (dineínas e quinesinas) que ligam os microtúbulos às vesículas. Tais técnicas de contraste têm um papel muito importante em estudos de células normais e em diferentes patologias. Por exemplo, podemos acompanhar por contraste de fase células tumorais crescidas em cultura *in vitro* numa placa de Petri. Essas células podem ser acompanhadas individualmente, ou seja, é possível observar como cada célula migra e como cada célula reage a diferentes tratamentos com diferentes drogas. Esse tipo de estudo com células vivas é muito informativo, e certamente mais fácil e melhor do ponto de vista ético do que estudos com animais.

A microscopia de contraste diferencial interferencial (DIC) se baseia na subtração de duas imagens ligeiramente deslocadas lateralmente. Isso aumenta o contraste em estruturas pequenas, e produz uma sensação de relevo, ao criar regiões mais claras e mais escuras na direção do deslocamento das imagens.

Estas técnicas de contraste são muito poderosas, porque permitem a análise de fenômenos biológicos em um ambiente controlado e simples de cultura. As células podem estar crescendo em um ambiente em duas dimensões (2D), quando as células crescem em uma única camada na placa de cultura, ou em três dimensões (3D), quando as células tridimensionalmente imitam um órgão ou tecido. O modelo de culturas 3D tem sido muito utilizado, por ser mais próximo da situação *in vivo* encontrada em organismos. Modelos de culturas 3D de minicorações têm sido muito utilizados na pesquisa

do comportamento de células cardíacas normais e patológicas frente a diferentes substâncias.

O contraste de fase também foi muito utilizado no estudo da autofagia que rendeu o Prêmio Nobel de Medicina em 2016 para o pesquisador japonês Yoshinori Ohsumi (1945-). A autofagia é um processo no qual células podem degradar os seus componentes de uma forma controlada. O dr. Ohsumi utilizou nos seus experimentos de autofagia os dois tipos de microscopia de contraste, o DIC e o contraste de fase, para caracterizar uma série de mutantes e genes relacionados à autofagia. Em seus artigos, ele descreve muitas das proteínas envolvidas na autofagia celular. O seu trabalho mostra a importância dessas técnicas de contraste em células vivas em que não se utilizam corantes e se pode obter um nível de informação muito grande.

Outra técnica de contraste é a microscopia de polarização, que se baseia na propriedade que alguns materiais têm de desviar o feixe de luz, o que se relaciona com sua estrutura cristalina. Um filtro polaroide (que só deixa passar a luz vibrando numa única direção) está localizado entre a fonte de luz e o espécime, e um segundo filtro polaroide, orientado a 90° em relação ao primeiro filtro, está localizado entre a lente objetiva e a ocular. Quando um espécime birrefringente (que desvia o plano de vibração da luz) é colocado entre os dois filtros, um pouco de luz passa pelo segundo polaroide. Materiais biológicos “cristalinos” são birrefringentes: microtúbulos, músculo estriado, colágeno, celulose etc. Exemplos de microscopia de polarização podem ser observados em videomicroscopias clássicas feitas pelo pesquisador Shinya Inoué (1921-2019) em 1995, onde é possível se ver em detalhes células vivas se dividindo por mitose. O dr. Inoué escreveu em 1997 o livro *Video Microscopy: the Fundamentals*, que é considerado um dos mais importantes na área de microscopia e videomicroscopia (Inoué; Spring, 1997). Em vídeos mais recentes, podemos acompanhar a mitose de células vivas em tempo real por microscopia de polarização. Inclusive, embriões inteiros de ouriços-do-mar ou da mosca de fruta *Drosophila melanogaster* podem ser analisados nesse tipo de microscopia, fornecendo importantes dados sobre as fases iniciais do desenvolvimento embrionário.

Uma técnica importante atualmente é a microscopia de fluorescência, que foi conjugada ao uso de anticorpos pelo pesquisador americano Albert Coons (1912-1978) no que é chamado de imunofluorescência. A fluorescência consiste na marcação de proteínas e outras moléculas das células com substâncias fluorescentes (os

fluorocromos ou fluoróforos). As cores que vemos dos fluorocromos no microscópio de fluorescência são decorrentes do fato de que cada fluorocromo é excitado em uma determinada faixa de comprimento de onda e emite luz em outra faixa de comprimento de onda (que é a que observamos). Pode-se marcar uma, duas, três ou mais proteínas/moléculas simultaneamente com diferentes cores (azul, verde e vermelho são as cores mais utilizadas) e observá-las em células vivas ou fixadas em um microscópio de fluorescência. Alguns pesquisadores já conseguiram marcar dez componentes celulares ao mesmo tempo, cada um com uma cor diferente. Desta forma, é possível se observar simultaneamente a localização de diferentes proteínas em um certo tecido/célula normal e compará-lo com o mesmo tecido em alguma condição patológica. O grupo de pesquisa que eu coordeno na UFRJ utiliza culturas de células musculares crescidas *in vitro* para estudar como se formam os músculos vertebrados. Essas células possuem um sistema contrátil extremamente organizado que permite que elas possam contrair. O sistema contrátil é formado por dezenas de proteínas, como a actina, miosina, alfa-actinina, desmina, troponina e tropomiosina. Podemos marcar essas diferentes proteínas com anticorpos ligados a fluorocromos e observar a sua localização. Pode-se também observar a fluorescência em células vivas transfectadas com o gene que codifica a proteína fluorescente verde GFP (proteína fluorescente verde). Em 2008, Roger Tsien (1952-2016), Osamu Shimomura (1928-2018) e Martin Chalfie (1947-) ganharam o Prêmio Nobel de Química pelo desenvolvimento e uso da GFP em células. O isolamento do gene da GFP abriu uma enorme janela de possibilidades de uso dessa proteína em experimentos com células vivas fluorescentes. Atualmente existem variantes da GFP de todas as cores que podemos imaginar, formando uma paleta de cores que tem nomes de frutas bem conhecidas, como cereja, banana, laranja e tangerina. Uma técnica chamada de Brainbow [arco-íris do cérebro] permite a marcação de tecido cerebral onde existem diferentes tipos de neurônios, com diferentes proteínas fluorescentes (com cores diferentes). Desta forma, diferentes populações de neurônios expressam combinações diferentes de proteínas fluorescentes, e assim o cérebro fica com diferentes cores em diferentes regiões. A microscopia de fluorescência é uma técnica muito poderosa do ponto de vista de resolução espacial e temporal, quando ela está associada a células vivas. Essa técnica permite o estudo da localização e função de diferentes proteínas ao mesmo tempo em uma determinada célula ou tecido. Um

exemplo de imunofluorescência associada à microscopia óptica de fluorescência é o estudo das alterações celulares que ocorrem em neurônios na doença de Alzheimer. Nessa patologia, ocorre a formação de placas de peptídeos beta-amiloides e de emaranhados da proteína do tipo TAU no citoplasma, o que afeta o funcionamento dos neurônios. A microscopia de fluorescência tem um papel muito importante nesses estudos, pois ela permite a visualização e comparação das placas e da TAU em neurônios normais e patológicos. Assim, é possível se testar substâncias com potencial de inibir a formação ou de destruir estas estruturas danosas aos neurônios.

A microscopia de fluorescência convencional, descrita acima, evoluiu para a microscopia tridimensional de fluorescência com a técnica confocal. Apesar de a microscopia confocal ter começado a ser utilizada em laboratório de pesquisa por volta de 1990, o primeiro microscópio confocal foi criado e patenteado em 1957 pelo pesquisador americano Marvin Minsky (1927-2016). A microscopia confocal é particularmente útil e adequada para o estudo de materiais espessos. A análise de fluorescência de materiais espessos na microscopia de fluorescência convencional é dificultada pela fluorescência oriunda de diferentes planos focais. É como se olhássemos uma bola fluorescente bem espessa; se olharmos um plano focal no meio da bola, haverá interferência de fluorescência vinda de cima e embaixo. Então, no microscópio confocal, nós analisamos um plano focal e tentamos excluir, usando um pequeno diafragma (*pinhole*), a interferência da luz de planos de cima e de baixo do foco. Com o microscópio confocal aumentamos a resolução no eixo Z da região de interesse. A microscopia confocal é utilizada em inúmeros tipos de materiais biológicos espessos, como embriões de peixe-zebra *Danio rerio*, embriões de *Drosophila melanogaster*, culturas 3D de células e cortes espessos de tecidos ou órgãos.

Agora passaremos para a microscopia óptica de fluorescência de super-resolução. Os três pesquisadores Eric Betzig (1960-), William Moerner (1953-) e Stefan Hell (1962-) desenvolveram essas metodologias e ganharam em 2014 o Prêmio Nobel de Química por este trabalho. Podemos ver que várias metodologias novas de microscopia renderam o Prêmio Nobel (de Medicina ou de Química) ao longo dos anos pelo seu impacto e importância para a ciência. No caso da microscopia de super-resolução, esses três pesquisadores desenvolveram uma série de técnicas que conseguiram ultrapassar o limite convencional de resolução de 0,2 μm da microscopia óptica,

estabelecido por Ernst Abbe em 1873, podendo chegar a uma resolução de 5 nm. Nas técnicas “convencionais” de microscopia óptica, como a luz se comporta como uma onda, existem interferências periódicas entre as ondas de luz que causam a perda de contraste numa fonte pontual de luz. Estas novas tecnologias permitiram um avanço enorme no estudo das células e dos tecidos normais e nas doenças. Estamos vendo o invisível, como eu descrevi o que Leeuwenhoek conseguiu ver nos seus primeiros microscópios. A microscopia do super-resolução é muito recente e tem vários subtipos, que são conhecidos pelas abreviações STED, SR-SIM, STORM, entre outras. Resumidamente, as três abordagens principais das microscopias de fluorescência de super-resolução são (I) interferência por iluminação estruturada “Structured Illumination” (SR-SIM), (II) alterações na iluminação “Stimulated Emission Depletion” (STED) e (III) microscopia de localização “Stochastic Optical Reconstruction” (STORM). Um dos exemplos interessantes do que a microscopia de super-resolução consegue em termos de aumento de resolução de imagens de fluorescência é a análise de microtúbulos do citoesqueleto, que antes eram vistos como filamentos contínuos, e agora podem ser vistas as unidades globulares formadas pelas proteínas tubulinas pela técnica de SR-SIM. Outro exemplo da super-resolução é a visualização de mitocôndrias mostrando não só a sua morfologia em detalhes, como também as redes que se formam nas células. Essas redes se interconectam e as mitocôndrias podem fundir e se separar de uma forma muito dinâmica.

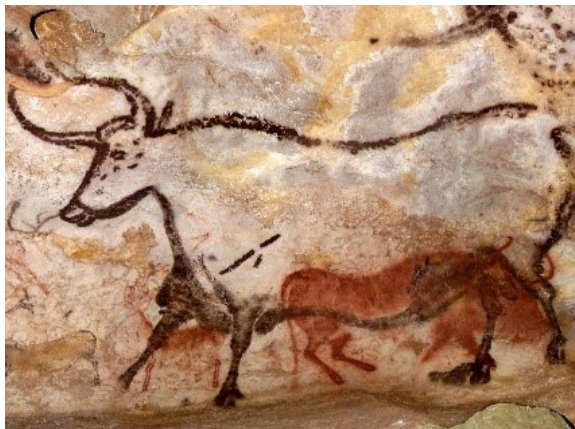
Encerro dizendo que muito ainda falta para se estudar, tanto em células normais como nas patológicas, mas os caminhos que as novas técnicas de microscopia estão trazendo para pesquisa são muito animadores. Certamente poderemos ver mais nas células do que vemos no momento. Portanto, teremos muito trabalho pela frente para entendermos as bases celulares de funcionamento das células, baseando-nos no binômio fundamental da microscopia e da biologia celular.

SEGUNDA PARTE (MANOEL LUIS COSTA)

Antes de tudo, agradeço ao professor Adalberto a provocação para que eu falasse sobre a *história das imagens da vida*. Nesta apresentação, primeiro vou comentar rapidamente sobre imagem em geral. Depois eu vou falar sobre como foi a evolução da imagem dos seres vivos e a imagem no que era antigamente chamado de arte. Em seguida, vou comentar sobre os limites do mundo visível, o uso científico das imagens e a descoberta do invisível. Depois falarei sobre as tecnologias atuais de imageamento dos seres vivos. Vou encerrar fazendo uma relação entre o momento que estamos vivendo, o fim da natureza e o papel que a imagem pode ter na preservação dela.

Começo com a definição de imagem da revista científica *The Imaging Science Journal*, da Real Sociedade de Fotografia Inglesa: “the term imaging is taken to mean: The recording and visualisation of information recorded from radiation of any kind, emitted from, reflected by, or otherwise affected by an object” [“Uma imagem é registro e a visualização de informação formada por radiação de qualquer tipo, emitida, refletida ou de alguma forma afetada por um objeto”]. Podemos colocar dentro disso todas as imagens de ressonância, de luz, pinturas etc. Um exemplo de imagem da vida é (uma fotografia de) um [auroque](#) pintado na caverna de Lascaux (FIGURA 1), na França. O auroque é um tipo de touro extinto, e não existe uma imagem “real” do auroque (apesar de algumas tentativas de recriar a raça).

Figura 1 – Auroque pintado na caverna de Lascaux, França



Falando rapidamente sobre a visão e o mecanismo de formação de imagens no cérebro, o nosso olho funciona a partir de células receptoras de luz, que são de dois tipos: os cones e os bastonetes (Overney; Overney, 2011). As células se distribuem no plano da imagem, focada pela lente dos olhos, ocupando todo o fundo da retina. A luz recebida por cada célula vai ser levada à área visual no cérebro, que vai gerar um “mapa” das luminosidades, que é a imagem. Existem três populações de cones, cada grupo sensível a comprimentos de ondas diferentes, e a interação entre a luz incidente em cada um desses tipos de células nos dá a percepção de cor.

Há outros tipos de células na retina, por exemplo, as células que vão dar a percepção de contraste. A definição do contraste é a diferença entre a quantidade de luz num ponto com a quantidade de luz no fundo. Percebemos melhor um ponto branco num fundo preto do que um ponto branco num fundo amarelo. A aplicação dessa regra da fisiologia ajuda a explicar o impacto visual de um vitral de uma catedral medieval, como a [Sainte-Chapelle](#) em Paris. Nestas imagens, vemos regiões opacas e regiões transparentes, o que, com uma iluminação pelo fundo, produz nos vitrais um contraste excelente.

Essa relação entre o contraste e visualização é demonstrada num gráfico com um aumento de contraste numa direção e aumento de frequência espacial na outra direção (FIGURA 2). Podemos perceber que linhas cada vez mais próximas precisam de mais contraste para serem visualizadas separadamente. No entanto, existem linhas que estão bastante afastadas, mas ainda assim não são bem percebidas. Isso acontece porque aquelas células que fazem a comparação entre o que cada uma das células da retina está vendo funcionam principalmente para a vizinhança local. Quando temos um objeto grande, ele não é mais percebido pela nossa retina como um contraste local e esse estímulo não é reforçado. Esse efeito no qual percebemos a imagem reforçando pequenas diferenças de contrastes pode ser simulado no computador (Piston, 2009). Essas células comparadoras da retina modificam a imagem de uma forma um pouco parecida como Vincent van Gogh (1853-1890) pintou na sua obra *Lírios*, que está localizada no Museu Van Gogh de Amsterdam, na Holanda (FIGURA 3). Ele pintou uma linha preta em volta de cada folha, que na verdade está repetindo um pouco essa sensação fisiológica de reforçar o contorno dos objetos.

Figura 2 – Gráfico relacionando a largura de linhas com o contraste, mostrando a capacidade de resolução da nossa visão

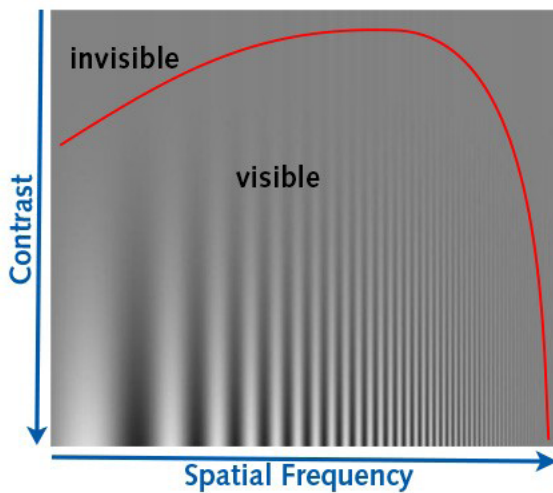


Figura 3 – *Lírios*, de Vincent van Gogh, no Museu van Gogh, em Amsterdam, Holanda



Passando ao que seria uma história da representação dos seres vivos, as primeiras imagens criadas pela humanidade que ainda existem são imagens de animais em cavernas e grutas, de mais ou menos 20.000-15.000 anos AEC (“antes da era comum”), e esculturas um pouco mais antigas. São imagens como das grutas de [Lascaux](#), na França, e de [Altamira](#), na Espanha (as hiperligações levam a belos modelos tridimensionais interativos). Navegando pelos modelos, é possível perceber que as imagens foram feitas numa protuberância da rocha, que as imagens têm relevo, e que esse relevo potencializa o impacto das imagens.

Com origem mais ou menos nessa época, ou um pouco mais antigas, foram encontradas algumas esculturas de seres vivos. Vale chamar a atenção ao fato de que estou chamando de “imagem” uma representação visual de um objeto, o que pode incluir uma representação tridimensional. São notáveis as esculturas de um [Löwenmensch](#) (“homem-leão”) de 40.000-35.000 anos AEC, na gruta Hohlenstein-Stadel, na Alemanha, atualmente exposta no Museu de Ulm, também na Alemanha, e a [Vênus de Willendorf](#), que foi achada na aldeia de Willendorf, na Áustria, e está exposta no Museu de História Natural de Viena, Áustria. Atualmente é possível, usando uma impressora 3D, fazer uma réplica bastante razoável, como a que fizemos com a ajuda do Henrique Veiga, do CENABIO da UFRJ. Mesmo com alguns limites de tamanhos, algumas falhas, e depois de uma pintura manual, ainda é impactante se ter em mãos algo produzido por outra pessoa há 30 mil anos. A escultura foi encontrada na Áustria, num extrato de 17 mil anos antes da época comum, mas pode ter sido produzida algum tempo antes disso. Uma análise do tipo de pedra usada sugere que ela foi feita no Lago de Garda, na Itália, a 800 km de onde foi encontrada. Só podemos nos espantar com a história e os caminhos percorridos pela escultura até ressurgir, a partir de um arquivo digital, numa máquina no Rio de Janeiro em 2022¹.

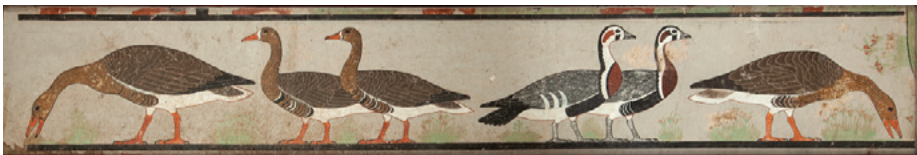
Vimos até agora algumas imagens da vida, mas qual era a intenção dessas representações? Provavelmente, apesar de sua enorme beleza para os padrões estéticos contemporâneos, não tinham intenção decorativa ou estética, mas talvez tivessem a finalidade de ajudar na caçada ou de se apoderar de algum bicho. Saltando no tempo para a representação animal no Egito, por exemplo, nas

1 Durante a conferência, circulamos entre a audiência uma cópia impressa em 3D da Vênus.

tumbas dos faraós, podemos argumentar, novamente, que a intenção não era estética, ou uma intenção artística no sentido contemporâneo convencional. A história contada por Christian Jacq no livro *A pedra da luz* (Jacq, 2000) sobre a decoração das tumbas é muito interessante. Ele fala da aldeia [Deir Almedina](#) [“lugar da verdade”] no Vale dos Reis, no Egito, por volta do ano 1200 AEC. Na aldeia, moravam exclusivamente artesãos especializados em fazer a escavação, a decoração, a pintura, os registros escritos etc. numa comunidade isolada, dedicada apenas para essa construção. Esse afastamento mostra como tal atividade era sagrada, separada do cotidiano da sociedade, e muito importante. Podemos ver o resultado de seu trabalho na [tumba de Menna](#), em Luxor, no Egito.

Essa representação sagrada nas imagens é extremamente ritualizada, simbólica. Podemos ver que as pessoas têm posturas muito padronizadas e codificadas, e nunca são visualizadas em qualquer ângulo ou postura. Por exemplo, o tamanho de cada figura é proporcional à sua importância. Os animais eram muito detalhados nas representações, que eram ao mesmo tempo muito codificadas e padronizadas. Na famosa imagem de [gansos da tumba de Nefermaat](#) (FIGURA 4), em Meidum, exposta no Museu Egípcio no Cairo, vemos belos animais, em poses típicas, mas de uma espécie que já se extinguiu.

Figura 4 – Tumba de Nefermaat exposta no Museu Egípcio no Cairo, Egito



Ao mesmo tempo que a pintura egípcia era muito padronizada, a escultura já era muito mais realista. Um exemplo é o belo [busto de Nefertiti](#), localizado no Museu Egípcio de Berlim, na Alemanha. Mais recentes são as esculturas gregas, representadas por lindas peças, como a [estátua de Laocoonte](#), que foi encontrada em Roma no ano 1500 e está no Museu do Vaticano, em Roma, na Itália. Tanto a escultura egípcia quanto a grega, posterior, são incrivelmente detalhadas e extremamente realistas. Ignorando o ponto de vista artístico ou o contexto histórico, focando apenas a questão do realismo da representação, pode-se dizer que essas esculturas são extremamente precisas.

Figura 5 – Cristo Pantocrator, na Catedral de Monreale na Sicília, Itália

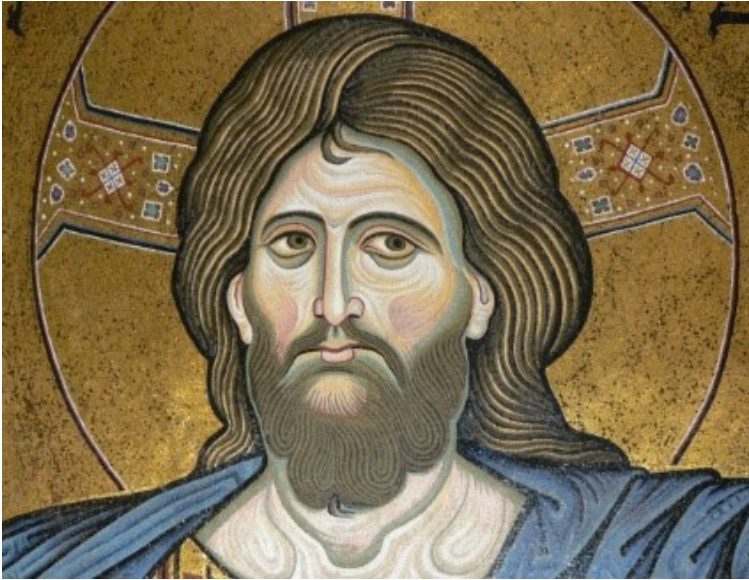


Figura 6 – Estudo de macacos por Antonio Pisanello, no Museu do Louvre, em Paris, França



Figura 7 – *O casal Arnolfini*, de Jan van Eyck, na National Gallery, em Londres, Inglaterra



Quando entramos na Idade Média, continuamos com a representação novamente tendo uma finalidade sagrada e ainda sendo padronizada, pouco realista. A figura de Cristo Pantocrator (FIGURA 5), pintada em 1200 na Catedral de Monreale, na Sicília, Itália, apresenta uma forma completamente padronizada, codificada. Essa maneira de representar era um imperativo da arte daquela época. Não era uma falta de conhecimento técnico, como podemos ver numa [ilustração](#) de um elefante que apareceu na Inglaterra (na *Chronica maiora II*, página 8), feita pelo padre beneditino Mateus de Paris (1200-1259). Ele escreveu livros e desenhou iluminuras, e registrou esse elefante com bastante precisão. Seus antecessores apenas não achavam em geral necessário ou não tinham liberdade para pintar elefantes, apenas motivos religiosos.

Um pouco depois, já na época do Renascimento, aumenta a liberdade de representar os seres vivos da arte. Aumenta também a apreciação da arte pela arte, e a arte passa a ser compreendida já não mais como uma representação sagrada. Por exemplo, este

estudo de macacos (FIGURA 6) feito em 1440 por Antonio Pisanello (1395-1455), localizado no Museu do Louvre, em Paris, na França, foi criado a partir da observação direta da natureza. Como antes a imagem era uma representação idealizada, não havia a necessidade de se estudar o animal a partir da natureza. As três imagens são “estudos”, trazendo a noção de que o pintor vai observar, estudar o que está vendo, e trabalhar para fazer o desenho cada vez mais próximo da realidade.

Os avanços técnicos que vão tornar as representações mais realistas continuam evoluindo, e na obra de Jan van Eyck (1390-1441) O casal Arnolfini (FIGURA 7), que está na National Gallery, em Londres, na Inglaterra, já é possível observar uma pintura com uma enorme capacidade de representação de detalhes. O destaque é a imagem de um espelho esférico no meio da cena, em que aparece a projeção dos personagens envolvidos na tela e do próprio pintor. Como o espelho é esférico, a imagem gerada foi cuidadosamente deformada para construir a representação mais perfeita possível. Esse tipo de detalhe era provavelmente obtido com a ajuda de instrumentos, como a câmera escura, que é um sistema de projeção bidimensional de uma imagem real tridimensional. A câmera escura foi usada, por exemplo, por Leonardo da Vinci (1452-1519) e Johannes Vermeer (1632-1675). Ela pode ser feita apenas com um pequeno furo numa caixa escura, ou com ajuda de lentes, que vão melhorar a definição da imagem e a captação de luz.

Figura 8 – *Santíssima Trindade*, de Masaccio, na igreja de Santa Maria Novella, em Roma, Itália

Um outro elemento que vai contribuir para o realismo da imagem na época do Renascimento é a definição progressiva das técnicas de perspectiva por Filippo Brunelleschi (1377-1446) em 1420.



Novamente, a dificuldade técnica a ser superada é a representação em duas dimensões de uma realidade tridimensional. As regras vão definir métodos para superação da dificuldade, com a definição do ponto de fuga situado na linha do horizonte. Podemos comparar duas imagens, uma de Giotto di Bondone (1267-1337) e a outra de Tommaso di Ser Giovanni di Simone, conhecido como Masaccio (1401-1428). Na pintura de Giotto *Cristo ante Caifás* (1305), da [Cappella degli Scrovegni](#), em Pádua, na Itália, podemos ver uma série de linhas no teto, representando algum tipo de perspectiva, de tridimensionalidade, ainda imperfeita. Já na pintura *Santíssima Trindade* (1427), de Masaccio (FIGURA 8), na igreja de Santa Maria Novella, em Roma, na Itália, podemos ver o domínio completo da técnica de representação.

Figura 9 – *A banhista*, de Jean-Auguste Dominique Ingres, no Museu do Louvre, em Paris, França

A capacidade técnica continua a aumentar o realismo, como vemos na pintura de Jean-Auguste Dominique Ingres (1780-1867) *A banhista* (FIGURA 9) — localizada no Museu do Louvre, em Paris, na França —, que tem textura e detalhe impressionantes. Também notamos uma grande preocupação da capacidade de representar a natureza no grupo fundado por Gustave Courbet (1819-1877), apropriadamente chamado de “realista”. O grupo não queria apenas pintar quadros que representassem um objeto de maneira muito fiel, mas também se preocupava em usar a natureza como assunto, pintando ao ar livre, como exemplificado no quadro [Bom dia, sr. Courbet](#), localizado no Museu Fabre, em Montpellier, na França.



Pouco depois, o impressionismo abandona a ideia de buscar o realismo no sentido da representação literal de uma paisagem ou objeto, mas vai buscar algum tipo de impressão, de característica do objeto. Por exemplo, como já comentei, van Gogh talvez estivesse, de alguma maneira, tentando representar algumas características que existem na nossa forma de visualizar um objeto. No quadro *Impressão: nascer do sol* (FIGURA 10), de Claude Monet (1840-1926), no Museu Marmottan, em Paris, existe uma representação de alguma sensação, uma “impressão” do nascer do sol. Não é uma representação “perfeita” de um objeto, mas uma representação de propriedades subjacentes ao objeto, provavelmente ligadas à forma como nossa visão funciona. Essa forma de representar a natureza dos impressionistas pode ser gerada por inteligência artificial a partir de “treinamento” com pinturas impressionistas, por um programa de computador. Podemos dizer que os impressionistas, ao buscar representar uma impressão, estão estabelecendo uma linguagem, uma codificação da realidade, que foi captada pelo programa de computador.

Figura 10 – *Impressão: nascer do sol*, de Claude Monet, no Museu Marmottan, em Paris, França



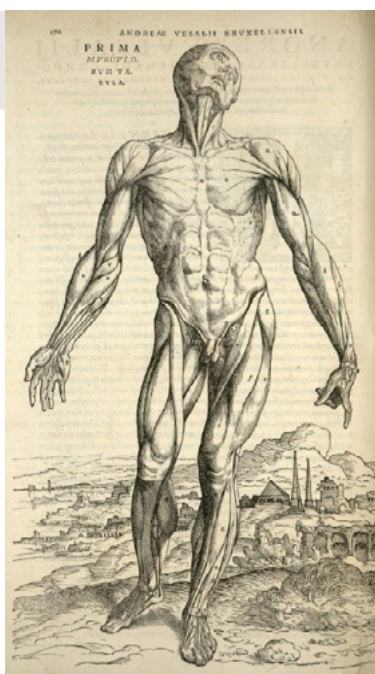
Seguindo uma narrativa de conquista do “realismo” na pintura, podemos especular quais são os rumos da arte. Um caminho é o [hiper-realismo](#), no qual a natureza é ainda mais real do que uma fotografia ou do que a própria realidade, como na pintura *Juanito*, de Jose Luis Corella (1959-), na National Portrait Gallery, em Londres,

na Inglaterra. Outro caminho é uma representação abstrata do Miró, *Pintura sobre fundo branco para a cela de um recluso* (1968), na Fundação Joan Miró, em Barcelona, na Espanha. Ele levou bastante tempo (uma vida inteira?) e investiu muito esforço para desenhar essa linha, mas o fato é que o desenho dele é uma linha num fundo branco, e é uma representação completamente abstrata de “objeto”, sem vínculo nenhum com a “realidade”.

Podemos dizer que na história existe um realismo progressivo na representação da natureza, mas que termina focando aspectos mais subjetivos da imagem. Em algum momento começou a se ver (melhor) o invisível. Podemos pensar em vários objetos ou características invisíveis. Um tipo de objeto “invisível” é a estrutura interna de pessoas, que só vão ser visualizáveis pela dissecação de cadáveres. Um artista e cientista que desenhou a anatomia humana foi Andreas Vesalius (1514-1564), na sua série de gravuras sobre *A fábrica do corpo humano* [*De Humani Corporis Fabrica*] (FIGURA 11). Outro foi Leonardo da Vinci, que, se não tem o didatismo de Vesalius, tem uma dimensão artística maravilhosa nos seus estudos de anatomia, como mostrado no livro *Leonardo da Vinci: anatomista*, de Martin Clayton e Ron Philo (Clayton; Philo, 2012).

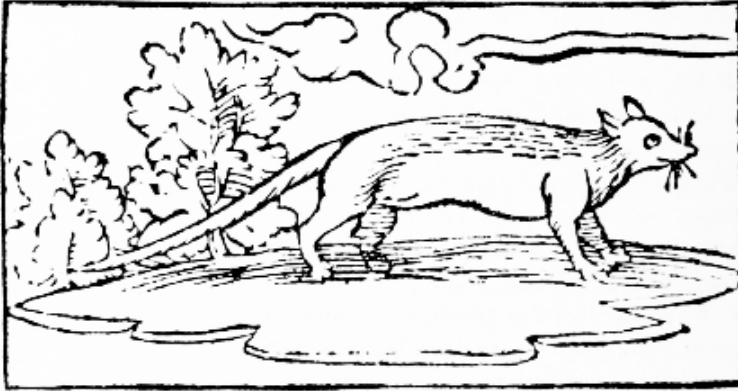
Figura 11 – Desenho do livro *A fábrica do corpo humano*, de Andreas Vesalius

Nem todos os animais eram conhecidos pela cultura europeia, na qual se baseia essa narrativa. Podemos dizer que a representação dos animais e plantas dos novos mundos, durante a época do descobrimento, em 1500, era a representação de uma natureza “invisível”. O Brasil, entre 1500 e 1650, foi visitado por André Thevet (1516-1590), Hans Staden (1525-1576) e Jean de Léry (1534-1611), que vão publicar relatos de suas viagens ao Brasil (Léry, 1578; Staden, 1557; Thevet, 1557). As gravuras de seus livros são os primeiros registros “científicos” de animais



como o “sariguê” (FIGURA 12) — gambá, no livro de Staden — ou frutas como o caju.

Figura 12 – Sariguê, no livro *Duas viagens ao Brasil* (1557), de Hans Staden



SERWOY. CAPUT XXXII.

Talvez o melhor exemplo de visualização do mundo invisível seja a descoberta dos micróbios pelo desenvolvimento dos microscópios, já relatada pela Cláudia. É difícil imaginar o impacto na percepção da natureza que a descoberta de seres microscópicos causou. Existe um paralelo entre a observação dos astros com telescópios por Galileu, o que expandiu a percepção do universo, e a observação do mundo por microscópios por Hooke e Leeuwenhoek. Mas no mundo microscópico que foi descoberto apareceram seres vivos, que se mexem e se reproduzem como nós. Ou seja, o desenvolvimento de técnicas de produção de imagens mudou a compreensão da própria vida. Para quem tiver interesse sobre o contexto da representação da natureza pelo que chamamos atualmente de “arte” e “ciência”, eu recomendo a leitura do livro *Eye of the Beholder*, de Laura J. Snyder, que é muito interessante (Snyder, 2016). Ela faz uma comparação entre o microscopista Anton von Leeuwenhoek e o pintor Johannes Vermeer, que eram vizinhos em Delft, na Holanda, e discute como eles se relacionavam com a imagem e a representação da natureza.

Esse mundo invisível vai ser apropriado pela ciência. Neste caso, estou definindo a ciência como o conjunto de regras definidas pela revolução científica de construção de um saber que tenta ser objetivo, testável e que busca regras naturais, não culturais. Essa é uma definição de ciência claramente limitada e errada, uma vez que a

própria existência de uma “revolução científica” é questionada, mas é uma distinção utilitária. Nesse sentido, a produção e a representação da imagem “científica” têm uma intenção diferente das intenções religiosas ou artísticas mencionadas anteriormente. Um exemplo interessante é uma ilustração científica (FIGURA 13) de Maria Sibylla Merian (1647-1717). Ela desenhou plantas e animais muitas vezes desconhecidos para a ciência com muito realismo. Ao mesmo tempo, ela incluiu no desenho muitas informações e foi a primeira a representar no mesmo desenho todas as fases de um inseto. Isso ajudou a estabelecer o conceito do processo de metamorfose, que ainda não era compreendido, pois não se tinha ideia de que era o mesmo animal que passava por essas várias fases. Ela também pintava a partir das observações coletadas em campo, e viajou até o Suriname, na América do Sul. O livro que ela publicou com suas observações não é apenas importante cientificamente, mas suas ilustrações são lindas.

Figura 13 – *Metamorfose em borboleta do Suriname*, de Maria Sibylla Merian

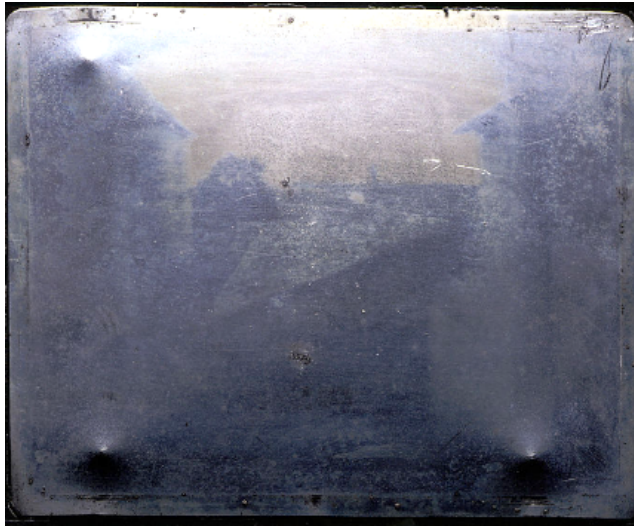
A representação dos seres vivos com ilustrações, desenhadas por artistas como Margaret Mee (1909-1988), continua como forma de produção científica, que também são belíssimas. Além da beleza estética, seus [desenhos](#) têm a preocupação de representar a ecologia, ao conter uma imagem de fundo que mostra onde uma orquídea tinha sido observada nas suas viagens à Amazônia.

Essa busca da representação mais realista possível vai culminar na fotografia. A ideia era inventar uma técnica de representação que não tivesse intervenção humana, com sua inerente subjetividade e sua interpretação. Quem foi o inventor da fotografia ainda é um tópico um pouco controverso. Joseph Nicéphore Niépce (1765-1833) fez uma fotografia pioneira, a [imagem](#) mais antiga da



qual se tem registro (FIGURA 14). O tempo de exposição do telhado da casa vizinha foi de oito horas para que ele conseguisse formar imagem. O conceito básico da fotografia é o uso de material fotosensível, muitas vezes grãos de prata, que são expostos à luz de uma imagem projetada por uma câmera obscura.

Figura 14 – Vista da janela em *Le Gras*, primeira fotografia preservada, de Joseph Nicéphore Niépce



Um dos pioneiros da fotografia foi Hercule Florence (1804-1879), que nasceu em Mônaco, na época parte da França, e veio ao Brasil, instalando-se em Campinas, São Paulo. Ele participou da expedição Langsdorff, que percorreu o Brasil do Rio de Janeiro até o rio Amazonas, durante a qual fez uns belos desenhos (e publicou um relato detalhado). Ele trabalhou com essa ideia de se fazer uma imagem automaticamente, e era amigo do farmacêutico e botânico Joaquim Correia de Melo, que sugeriu a ele o uso de nitrato de prata como material fotosensível. Ele fez então imagens de rótulos de remédios de seu amigo farmacêutico. A *Épreuve n° 2* [“prova número dois”], que está no Instituto Moreira Salles, é considerada a primeira fotografia feita nas Américas. Ele também foi o primeiro a chamar de “*photographia*” o seu registro. Já em 1839, Louis Daguerre (1787-1851) apresenta o [daguerreótipo](#). Ele diminui o tempo de exposição necessário para formar uma imagem, que era de várias

horas, para alguns minutos. Com isso, aparece pela primeira vez, no canto direito da imagem, o registro de uma pessoa numa [fotografia](#). Foi alguém que parou para engraxar os sapatos e ficou parado o tempo suficiente para aparecer nessa exposição de alguns minutos. No momento da captação da imagem, havia vários carros e pessoas circulando pela rua, mas seus movimentos eram rápidos demais para serem registrados pela câmera nessa exposição muito longa.

Figura 15 – Primeira figura humana registrada numa fotografia, na imagem *Boulevard du Temple*, de Louis Daguerre



O primeiro registro fotográfico de animal foi feito possivelmente por Girault de Prangey (1804-1892). Ele foi uma das primeiras pessoas a usar o daguerreótipo ao ar livre, como mostrado no [livro](#) com o registro da viagem que ele fez em 1840 para a Ásia, Egito, Jerusalém, e outros lugares. Este [daguerreótipo](#) de Roma, na Itália, é a primeira fotografia conhecida de um animal.

A primeira fotografia de um animal selvagem na natureza (FIGURA 16) foi feita em 1895 por Reginald Badham Lodge (1853-1937). Ele ganhou um prêmio da Royal Photographic Society [Sociedade Real de Fotografia] da Grã-Bretanha por ter fotografado esse pássaro em 1895. Um registro trivial atualmente, como o de um pássaro no Aterro do Flamengo, que vou mostrar adiante, era nessa época um prodígio digno de um prêmio.

Figura 16 – Primeira fotografia de animal na natureza, na imagem Lapwing incubating its eggs, de Reginald Badham Lodge



Ao ressaltar a importância da fotografia na observação e registro da natureza, acho importante lembrar que a fotografia continua sendo uma forma de arte. Ou seja, pode existir uma intenção de se fazer uma imagem “automática”, como forma de registro perfeito e objetivo, mas a fotografia pode obviamente ser feita com uma intenção artística, como nas lindas [imagens](#) de Henri Cartier-Bresson (1908-2004).

Nesses exemplos do uso das imagens em publicações científicas, podemos ver representações de novas espécies, previamente não caracterizadas ou desconhecidas (invisíveis?). Uma nova espécie de planta é representada apenas com uma pintura, uma nova espécie de peixe é representada por uma fotografia e uma nova [espécie de planta](#) aparece representada tanto por fotografia quanto por desenho (Lin *et al.*, 2013). Isso reforça a ideia de que o desenho continua tendo seu valor, trazendo alguma coisa que a fotografia não é capaz de registrar, algum tipo de interpretação que é usada nessa publicação científica. Existe mesmo uma publicação científica focada na imagem científica, discutindo questões como a fotografia de alta velocidade e assim por diante.

Em 1895, as imagens ganham movimento nos primeiros filmes. Novamente, havia vários inventores fazendo desenvolvimentos técnicos semelhantes, como Thomas Edison (1847-1931) e os irmãos Auguste Lumière (1862-1954) e Louis Lumière (1864-1948). Mas os irmãos Lumière foram os primeiros a fazer um sistema

que é capaz de registrar imagens em movimento e, posteriormente, também foi capaz de projetar a imagem animada. Com isso, vão projetar para uma audiência impressionada o primeiro filme, *La Sortie de l'usine Lumière à Lyon*. Fisiologicamente, a imagem parece em movimento na nossa percepção de mundo por causa do fenômeno de persistência da imagem na retina. Nosso sistema visual “retém” a imagem durante um certo tempo, e, quando as imagens são visualizadas com intervalo abaixo do tempo termo de persistência, sentimos a sensação do movimento. Essa frequência crítica acima da qual as imagens parecem animadas depende de contraste, mas geralmente é de 25 imagens por segundo.

Um dos pioneiros no estudo cinematográfico de animais é Eadweard Muybridge (1830-1904). Ele nasceu na Inglaterra, mas foi para os Estados Unidos, numa história fascinante. Depois de sofrer um acidente de carruagem, ele mudou de personalidade completamente e se fixou em fazer fotografia. Usando um sistema complicado de disparo automático de várias câmeras, ele vai fazer um *estudo* do movimento de um cavalo em galope (para um criador de cavalos de corrida), onde ele mostra que o cavalo passa a maior parte do tempo em contato com o chão.

Hoje em dia, é possível fazer modificações do tempo do registro de imagens com muita facilidade. Num filme de tempo acelerado, podemos perceber melhor movimentos muito lentos, como num *vídeo* que mostra a movimentação de células isoladas numa placa de cultura, passando mais rapidamente do que realmente acontece. As imagens das células crescendo e se movimentando na garrafa de cultura foram colhidas num microscópio óptico com um intervalo de cinco minutos. Ao contrário, o batimento das asas de um beija-flor é muito rápido para que consigamos perceber, mas, no entanto, pode ser registrado com uma câmera que capta imagens muito rapidamente. Ao passarmos o filme com baixa velocidade podemos perceber esse movimento num *filme*. Ou seja, podemos acelerar ou diminuir o tempo de captura das imagens para estudar fenômenos muito rápidos ou muito demorados.

Uma forma de registro de imagens rápidas é o uso do flash. Foi George Shiras III, um congressista americano, que fez estas *fotos* pioneiras usando flash (FIGURA 17), publicadas na revista da Sociedade Geográfica Nacional dos Estados Unidos. Ele vai observar o que acontecia à noite, e que era ainda invisível para o conhecimento.

Figura 17 – George Shiras III, no National Geographic Society Magazine



Atualmente, o registro de atividades “invisíveis” de animais pode ser feito com uma câmera de mato autônoma, que faz uma imagem automaticamente ao detectar algum movimento. Como exemplo, temos o registro, feito com uma câmara autônoma de baixo custo em nosso sítio em Petrópolis, de uma irara (FIGURA 18), pequeno carnívoro.

Figura 18 – Irara em Petrópolis, Rio de Janeiro



Uma questão que existe na produção de imagens é o uso da cor. Desde as representações nas cavernas o homem usa pigmentos coloridos. Vermeer usava pigmentos muito caros, como o azul produzido a partir de lápis-lazúli. O custo do pigmento nesse caso chama a atenção, porque Vermeer morreu com dívidas, só tendo vendido um quadro durante a sua vida. Ao mesmo tempo, seus quadros têm um azul bonito e profundo. Ticiano usava muito o vermelhão, que é o corante vermelho retirado de um mineral. O colorido só vai aparecer na fotografia em 1890. A primeira imagem de fotografia colorida data de 1860 e foi feita por Thomas Sutton (c. 1819-1875). Outra técnica, o autocromo, foi também inventada pelos irmãos Lumière. Como fotografias coloridas com o método do autocromo eram muito bonitas e razoavelmente fáceis de fazer, o banqueiro Albert Kahn (1860-1940) teve a iniciativa de fazer um registro de imagens de todo o mundo. Então, ele criou a série Os Arquivos do Planeta [Les Archives de la planète] e pagou pessoas para percorrer o mundo tirando fotografias. Está disponível na internet um [acervo](#) de quarenta mil autocromos coloridos financiados pelo Albert Kahn. Aqui ao lado, vemos um autocromo colorido tirado no Rio de Janeiro em 1909, mostrando o portão do Palácio do Catete na Praia do Flamengo (FIGURA 19).

Figura 19 – Autocromo da Praia do Flamengo, no Rio de Janeiro, da coleção Os Arquivos do Planeta



Outra questão que desafiou a representação do mundo foi a tridimensionalidade. Charles Wheatstone (1802-1875) posteriormente observou que uma das maneiras de perceber a tridimensionalidade é causada pela dioptria, a diferença dos ângulos entre os olhos e objetos posicionados a várias distâncias de observação. Ele usou essa informação para fazer pequenos aparelhos para observação de [imagens](#) estereoscópicas, como esta fotografia de Boston, EUA, em 1870 (FIGURA 20). O uso de representações estereoscópicas ressurgiu periodicamente: era moda assistir filmes tridimensionais em 1950 e recentemente presenciamos o lançamento de televisões 3D. Além da dioptria, vários sinais contribuem para que percebamos a tridimensionalidade de uma imagem, como podemos ver por exemplo numa [pintura](#) de Canaletto (1697-1768): objetos semelhantes pintados de tamanho diferentes, linhas de fuga de perspectiva claramente desenhadas, objetos ocultando outros objetos e mudança de textura da água (FIGURA 21). O movimento de rotação de um [objeto](#) pode ajudar o cérebro a interpretar sua tridimensionalidade, como numa reconstrução tridimensional de uma célula visualizada num microscópio confocal de fluorescência.

Figura 20 – Estereoscopia de Boston, EUA, por John P. Soule



Figura 21 – *A entrada para o Gran Canale*, de Canaletto, no Museu de Belas Artes, em Houston, EUA



Outro ambiente que não é imediatamente visível é dentro da água. As imagens subaquáticas (FIGURA 22) aparecem no final do século passado, em 1890, na França, por Louis Boutan (1859-1934), que escreveu um livro sobre o assunto. Esse mundo invisível vai aparecer no filme *O mundo silencioso*, de Jacques-Yves Cousteau (1910-1997), que ganhou um Oscar de melhor documentário por suas imagens do fundo do mar.

Figura 22 – Primeira fotografia subaquática, por Louis Boutan

Podemos ver um mundo invisível no cotidiano nos [registros](#) feitos pelo submarino Alvin, do Monterey Bay Aquarium Research Institute, na Califórnia, EUA, que visitou fontes termais no fundo do mar em 1979. O mundo foi surpreendido quando foi descoberta uma comunidade vivendo no escuro total, sem energia fornecida pelo sol, baseada



apenas na energia gerada pela água aquecida, a quase três mil metros de profundidade. Vários tipos de seres diferentes vivem nessa região completamente desconhecida.

Atualmente, podemos nos apropriar da tecnologia de imagem subaquática e fotografar um baiacu com uma câmera de ação de baixo custo, na baía de Angra dos Reis, no Rio de Janeiro, como visto ao lado (FIGURA 23).

Figura 23 – Baiacu em Angra dos Reis, Rio de Janeiro



Um dos recursos importantes para o registro de animais e flores é o uso de lentes teleobjetivas. A teleobjetiva foi inventada mais ou menos ao mesmo tempo por Thomas Dallmeyer (1859-1906), um inglês, e por Alexander McKay (1841-1917), um escocês que se mudou para a Nova Zelândia, onde trabalhou com geologia. Foi usando uma lente teleobjetiva que fizemos um [site](#) de imagens de animais e plantas no Aterro do Flamengo.

Uma questão particular é levantada pelos seres vivos que são muito grandes para serem fotografados. Para se fazer o registro de uma árvore muito grande, é necessária uma grande distância, o que em geral acarreta numa imagem com poucos detalhes. Um recurso para se fazerem imagens muito grandes e detalhadas é unir registros separados numa imagem composta. Com os programas adequados, é possível interagir com a imagem e mudar o ângulo de visão. Usando esse tipo de recurso, podemos ver a árvore chamada [Gen Sherman](#), que durante algum tempo se acreditou ser o maior

ser vivo existente. Ela tem mais de 3 mil anos e está localizada no Parque Nacional Sequoia, na Califórnia, EUA. Hoje em dia sabemos que existem fungos e talvez algas que são maiores do que essa árvore, mas ela continua apresentando um tamanho impressionante.

Com o avanço dos computadores, a fotografia deixou de ser feita com grãos de prata e se tornou digital. A primeira imagem digital foi feita por um scanner, e tinha 176 por 176 pixels. Pixel é o elemento da imagem (“picture element”), são as células na retina ou grãos de prata num negativo fotográfico. Atualmente, em 2022, temos celulares com câmeras de 40 megapixels, e câmeras fotográficas com 100 megapixels, com enorme capacidade de detalhes. O registro direto da imagem numa câmera digital foi desenvolvido por George Smith (1930-) e Willard Boyle (1924-2011), em 1980, pelo qual ganharam o Prêmio Nobel. Atualmente, mesmo numa televisão de 4K, que tem 8 megapixels, não conseguimos ver todos os elementos de uma imagem de 24 megapixels. E, a menos que se assista a essa televisão muito de perto (ou a tela seja muito grande), não conseguiremos resolver todos os elementos da imagem. Esses detalhes podem ser acessados por programas, como fizemos na construção de [imagens](#) de altíssima resolução de cortes histológicos no Banco de Imagens Digitais que montamos na UFRJ, num processo semelhante ao da imagem da árvore gigante.

Várias dessas metodologias de imagens levam à produção de documentários de natureza, que tiveram muito impacto em mim e em toda uma geração. Por exemplo, os documentários de David Attenborough (1926-), que filmou, para a televisão inglesa no canal BBC, animais nas condições mais variadas ao redor do mundo, e fez a série [Life on Earth](#), como também várias outras com imagens lindíssimas.

Uma outra técnica de fazer registros é a fotografia em infravermelho. Sem entrar em detalhes de como funciona o bolômetro, que é um aparelho que registra infravermelho, podemos apreciar um [filme](#) feito com uma câmera térmica que registra o calor dos animais e consegue fazer imagens deles em condições de pouca luminosidade.

Também é usada em ambientes de pouca luz a tecnologia de intensificação de imagem, que se baseia num dispositivo semelhante a uma câmera digital combinada com um amplificador de elétrons. Esse recurso permitiu, em 2004, pela primeira vez, o [registro](#) da mariposa *Xanthopan morgani praedicta* se alimentando

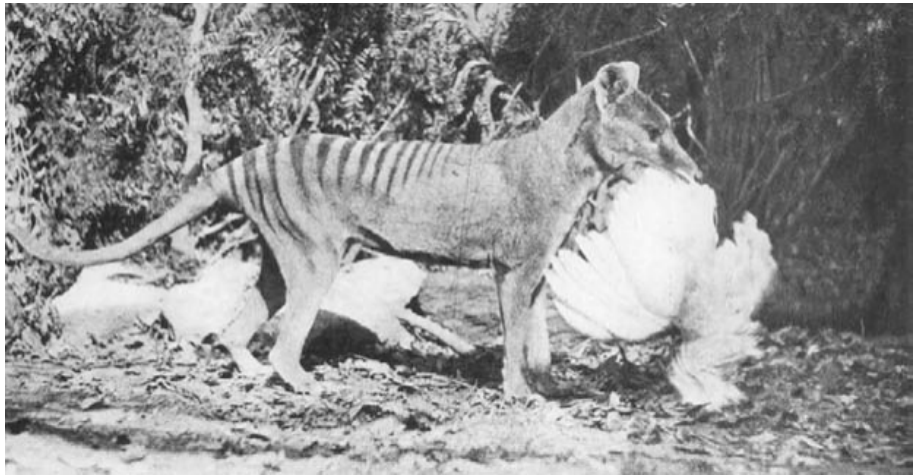
da orquídea *Angraecum sesquipedale*. Essa orquídea endêmica de Madagascar foi descrita em 1822, e um exemplar da orquídea foi entregue, em 1861, a Charles Darwin (1809-1882). Ele então previu que deveria existir uma mariposa que se alimentasse precisamente dessa orquídea, o que foi motivo de muito ironia, porque ela não era conhecida nem foi encontrada por muito tempo. Só em 1900 aparece a mariposa prevista por Darwin 40 anos antes, e assim ela passa a ter o nome *Xanthopan morgani praedicta*, porque havia sido prevista por Darwin.

Podemos, hoje em dia, fazer imagens e representações tridimensionais animadas de animais completamente extintos, como dinossauros. Podemos ver o quanto evolui a arte de recriar animais extintos ao se comparar as [reconstruções](#) que existem no Crystal Palace Park, em Londres, com as animações que existem em franquias de filmes recentes sobre dinossauros.

Para além da catástrofe climática que vivemos, estamos numa época com taxas de extinções cem a mil vezes maiores do que acontecia antes do aparecimento da humanidade (Ceballos *et al.*, 2015). A diversidade de população de grandes animais era muito maior antes do aparecimento do homem. Já aconteceu a extinção dos grandes mamíferos e estamos no meio do caminho para uma extinção em massa. Mas existe uma relação entre o registro em imagens e o fim da natureza.

Um dos animais que nós, humanos, extinguímos foi o lobo-da-tasmânia, ou tilacino. Esse marsupial existia na Austrália e Nova Zelândia, e se dizia que ele comia as galinhas, como aparece na fotografia (FIGURA 24). O interessante é que se provou recentemente, num artigo científico (Freeman, 2005), que essa fotografia do animal comendo uma galinha era uma montagem, uma falsificação. Mas o governo chegou a pagar um dólar por cada tilacino morto, e o último que se tem registro é o chamado Benjamin, que morreu em 1936. Entre o pouco que sobrou de Benjamin, há esta última [filmagem](#).

Figura 24 – Foto de tilacino como se estivesse comendo galinha, de H. Burrel



Um [projeto](#) muito interessante da National Geographic Society é fazer fotos de todos os animais que estão em cativeiro. Já foram registradas por Joel Sartore (1962-) mais de 12 mil espécies, em fotos lindas, no projeto Ark.

Uma maneira de todos nós ajudarmos é fazendo registro dos seres que podemos observar em [sites](#) como o iNaturalist, algo que eu estou chamando de *fotografia social* de seres vivos. Cada um pode tirar uma foto e registrar suas observações no site. No momento desta apresentação, o site iNaturalist, apoiado pela Academia de Ciências da Califórnia e pela National Geographic Society, contém 180 milhões de registros.

Às vezes temos pequenas vitórias na luta contra a extinção. Quando fiz essa fotografia da tartaruga-verde em 2021, aqui em frente ao local da conferência, no Aterro do Flamengo, ela estava na lista de animais em extinção. Agora, na época da conferência, foi publicada uma nova lista de animais ameaçados no Brasil, e a tartaruga-verde acaba de sair da lista de espécies ameaçadas de extinção.

Figura 25 – Tartaruga-verde no Aterro do Flamengo, no Rio de Janeiro



REFERÊNCIAS

CEBALLOS, G.; EHRLICH, P. R.; BARNOSKY, A. D.; GARCÍA, A.; PRINGLE, R. M.; PALMER, T. M. Accelerated Modern Human-Induced Species Losses: Entering the Sixth Mass Extinction. *Science Advances*, [s. l.], v. 1, n. 5, 19 June 2015.

CLAYTON, M.; PHILO, R. *Leonardo da Vinci: Anatomist*. [London]: Royal Collection Trust, 2012.

FREEMAN, C. Is this picture worth a thousand words? An analysis of Harry Burrell's photograph of a thylacine with a chicken. *Australian Zoologist*, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 1-16, 1 June 2005.

INOUE, S.; SPRING, K. R. *Video Microscopy: The Fundamentals*. [New York]: Springer, 1997.

JACQ, C. *A pedra da luz*. Rio de Janeiro: Bertrand, 2000.

LÉRY, Jean de. *Histoire d'un voyage fait en la terre du Brésil*. La Rochelle: Antoine Chuppin, 1578.

LIN, C.-R.; LIU, Y.; NONG, D.-X.; KONO, Y.; PENG, C.-I. *Aspidistra crassifila* (Asparagaceae), a New Species from Guangxi, China. *Botanical Studies*, [s. l.], v. 54, n. 1, Dec. 2013.

OVERNEY, N.; OVERNEY, G. *The History of Photomicrography*. [S. n., s. l.], 3rd ed., Mar. 2011.

PISTON, D. W. The Impact of Technology on Light Microscopy. *Nature Cell Biology*, [s. l.], v. 11, S23-S24, 1 Oct. 2009.

SNYDER, L. *Eye of the Beholder: Johannes Vermeer, Antoni van Leeuwenhoek, and the Reinvention of Seeing*. [New York]: W. W. Norton & Co., 2016.

STADEN, Hans. *Warhaftige Historia und beschreibung eyner Landtschafft der Wilden Nacketen, Grimmigen Menschfresser-Leuthen in der Newenwelt America gelegen*. Marburg: Andreas Kolbe, 1557.

THEVET, André. *Les Singularitez de la France Antarctique*. Paris: Maurice de La Porte, 1557.

THEVET, André. *Les Singularitez de la France Antarctique*. Paris: Maurice de La Porte, 1557.

BIBLIOGRAFIA

GOMBRICH, E. H. *A história da arte*. [São Paulo]: Grupo Editorial Nacional, 1998.

LAND, M. F. *The Eye: A Very Short Introduction*. Oxford: Oxford University Press, 2014.

MAHOWALD, M. A.; MEAD, C. The Silicon Retina. *Scientific American*, [s. l.], v. 264, n. 5, p. 76-82, May 1991.

PIMM, S. L.; RUSSELL, G. J.; GITTLEMAN, J. L.; BROOKS, T. M. The Future of Biodiversity. *Science*, [s. l.], v. 269, n. 5222, p. 347-350, 21 July 1995.

[LINKS CITADOS NA SEGUNDA PARTE](#)

AULA 3A

AS IMAGENS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO MUNDO DAS MOLÉCULAS DAS DOENÇAS CRÔNICAS E DEGENERATIVAS: ALZHEIMER, PARKINSON, CÂNCER

Palestrante: Débora Foguel (IBqM/UFRJ)

(Transcrição: Sarah Azevedo)

Agregar tem a ver com reunir, juntar, congregar e aglomerar. Nas células, na maioria das vezes, precisamos evitar a formação desses conglomerados de proteínas, que estão por trás dessas doenças atualmente conhecidas como amiloidogênicas.

Esses agregados de proteínas são observados no cérebro, quando falamos das doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson, da doença priônica, Huntington, demência frontotemporal etc. Todas essas doenças têm em comum a formação dos agregados proteicos. Isso é interessante, pois somos acostumados a, ao pensar em doenças, pensar sempre em patógenos, em vírus, bactérias e protozoários, que são agentes patogênicos. No entanto, essas doenças não são causadas por patógenos, e sim por aglomerados de proteínas que se formam. Em uma estrutura sofisticada como o cérebro, células tão finamente controladas como os neurônios não ficam bem na presença desses aglomerados depositados, prejudicando as sinapses, a comunicação das células, o que leva à degeneração, e por essa razão tais doenças são chamadas de neurodegenerativas.

Proteínas solúveis, por algum motivo, formam fibras e aglomerados associados a patologias. Esses agregados proteicos são superorganizados e sem estrutura.

Rudolf Virchow, pai da patologia, em 1854 cunhou o termo “amilóide” ao estudar tecidos e observar neles a presença de massas. Ele instigou iodo nessas estruturas, observando que elas assumiram

tonalidade arroxeada, o que usualmente é visualizado quando a estrutura contém amido, motivando a atribuição do termo. Mais tarde, principalmente na década de 1960, essas massas foram removidas do cérebro e sua composição foi estudada. Enquanto o amido é açúcar, hoje sabemos que essas estruturas são diferentes, contendo, na verdade, proteínas aglomeradas. Apesar disso, o termo foi consagrado, sendo usado até hoje, mesmo que não haja amido nessas estruturas. Por isso, essas doenças são referidas como amiloidogênicas.

Atualmente, há em torno de 30 doenças desse grupo. Elas podem ser neurodegenerativas, quando essas fibras acometem ou são encontradas no sistema nervoso central (SNC), ou sistêmicas, quando esses agregados são dispersos pelo organismo. Se todas elas são causadas por depósitos proteicos, por que não temos apenas uma doença, e sim várias delas, já que são sempre fibras? Se levarmos em consideração a doença de Alzheimer, vemos agregados proteicos sob a forma de fibras de uma proteína que é conhecida como peptídeo a-beta ($A\beta$), e também a proteína tau (τ). Essas fibras e agregados são encontrados em especial no hipocampo, uma região do cérebro que responde pela memória. Assim, a clínica de um paciente com Alzheimer será perda de memória, exatamente porque esses agregados se depositam nessa região do cérebro.

No caso do Parkinson, quem agrega é uma outra proteína, a alfa-sinucleína. Ela forma a mesma fibra que é encontrada no cérebro com Alzheimer, mas o material que origina a fibra é outro. Ela deposita numa região conhecida como “substância nigra”, que é a região do cérebro que produz dopamina, envolvida nos movimentos. Então, a característica clínica da pessoa com Parkinson é uma alteração dos movimentos. Embora sejam doenças causadas pela agregação de proteínas, a proteína que agrega é diferente e o lugar onde ela prioritariamente deposita é diferente, e é isso o que causa os sintomas que vemos inicialmente nessas doenças.

No caso específico da doença de Alzheimer, os neurônios vão morrendo, o que faz com que haja um encurtamento do tecido cerebral como um todo. Quando comparamos as regiões que comandam a memória, vemos que elas são muito afetadas pela doença. Os grandes vilões são as maçarocas de peptídeo a-beta e da proteína tau, que é do citoesqueleto. Alguns sintomas observados são perda de memória, de linguagem, e mudanças de comportamento.

A doença de Parkinson, conforme foi dito, é uma doença do movimento, com sintomas motores, tremor típico, dificuldade de iniciar a marcha etc. A região afetada é a substância nigra, dentro do cérebro. Ela tem de fato uma região negra, rica em alanina. No paciente parkinsoniano, essa região é muito menos negra, o que indica uma morte desses neurônios, um decréscimo na produção de dopamina, o que causa pela perda dos movimentos. Nessas pessoas, então, o tratamento que é dado é levodopa, um precursor da dopamina, com o intuito de aliviar a ausência desse importante neurotransmissor. Quando ela é administrada, não estamos tratando a doença, mas sim aliviando os sintomas, já que o processo de agregação e degeneração continua, apesar do recebimento do neurotransmissor.

As doenças por príons se manifestam de uma forma em ovelhas, em vacas (a famosa doença da vaca louca), e de outra em humanos, que é principalmente a doença de Creutzfeldt-Jakob. São doenças raras e, diferentemente do Alzheimer, do Parkinson e de outras mencionadas, essa doença é transmissível. Se pegamos o cérebro de uma ovelha que tenha príon e o inoculamos em um animal saudável, ele adoece. Hoje em dia, sabemos da doença da vaca louca e de tudo o que aconteceu na Europa e no Reino Unido, onde foi necessário incinerar de 200 a 300 mil cabeças de gado por conta dela; sabemos que a doença se originou da introdução de uma ração enriquecida com cérebro de ovelhas na dieta das vacas, transformando o gado herbívoro em carnívoro, a fim de engordá-lo para vendê-lo mais facilmente. Com isso, transferiu-se o tecido contaminado oriundo de cérebro de ovelhas para a ração dos animais, gerando a doença da vaca louca neles. Isso, inclusive, serve de importante alerta sobre a interferência do homem na natureza.

Cerca de dez anos depois, tivemos um boom da doença de Creutzfeldt-Jakob no Reino Unido, por conta da ingestão de tecidos de vacas incineradas, comercializadas e ingeridas.

Estudos para o combate dessa doença já receberam três prêmios Nobel, visto que sua constituição desafia e joga por terra paradigmas da biologia. Aqui, temos uma proteína agregada que, quando ingerida, é transmitida sem material genético. É um dogma da biologia muito importante que todas as doenças, para serem transmitidas, precisam de material genético associado, mas não é o que ocorre neste caso. Por conta disso, estudos contra a doença receberam três premiações: uma por Stanley Prusiner (1942-), outra pelo próprio Kurt Wüthrich (1938-), que resolveu a estrutura da proteína do

príon, e mais uma vez por Daniel Carleton Gajdusek (1923-2008), na década de 1950, quando desvendou a doença kuru, que afetava tribos canibais de Papua-Nova Guiné. Nessas tribos cujo costume era o de se alimentar de entes falecidos, as mulheres comiam os cérebros e os homens as massas musculares dos mortos, gerando um boom de doença kuru nesses povos, especialmente nas mulheres, que ingeriam o tecido nervoso infectado. Foram Gajdusek e uma equipe de médicos que desvendaram, nessa época, o agente etiológico da doença, que é a proteína príon.

Todo esse processo, desde a proteína solúvel formando pequenos agregados que vão se acumulando até formar a fibra amiloide, é muito lento, e por isso essas doenças são de curso lento. Quando uma pessoa manifesta os primeiros sintomas de perda de memória, no caso da doença de Alzheimer, ela já sofreu uma perda gigantesca de neurônios no hipocampo. Por isso, precisamos de biomarcadores que permitam identificar precocemente quando esse processo está acontecendo em seus primórdios, antes da formação massiva desses agregados.

Porque são doenças de curso lento, à medida que a população envelhece, vamos tendo mais tempo para que elas se manifestem, e hoje as demências representam um problema enorme em escala global, com expectativa de que cresça exponencialmente o número de casos de demência de maneira geral, em especial aqueles relacionados à doença de Alzheimer.

No trabalho “The Anti-Parkinsonian Drug Selegiline Delays the Nucleation Phase of α -Synuclein Aggregation Leading to the Formation of Nontoxic Species” (Braga *et al.*, 2011), foi utilizado o composto selegilina, que foi durante muito tempo aplicado no tratamento de pacientes com Parkinson, principalmente porque a selegilina é um inibidor da enzima que degrada a dopamina. Como esses pacientes apresentam uma queda na dopamina e existem enzimas que a degradam, a ideia é que a inibição dessas enzimas aumente a chance de que aquela dopamina, ainda que em pequenas quantidades, resista por mais tempo, aliviando os sintomas motores. Nesse estudo, a ideia era ver a ação dessa selegilina no processo de agregação da alfa-sinucleína, que é a proteína envolvida na doença de Parkinson, quando isso ainda não havia sido estudado. Fez-se a cinética de agregação da sinucleína e observou-se que, na presença da selegilina, havia muito menos agregados e um retardo na formação dessas fibras. Ao observar isso ao microscópio, foi visto que, na presença da

selegilina, pouco se via de agregação de fibras, mas espécies amorfas, diferentes das fibras formadas sem selegilina, foram observadas, e também foi notada a presença de agregados redondos, muito mais frequentes na presença de selegilina do que na ausência.

Como a selegilina parecia um bom composto para inibir a agregação da alfa-sinucleína, foi usada ressonância para avaliar se ela se liga ou não à estrutura da proteína. O resultado foi que não houve perturbação da estrutura da alfa-sinucleína com a selegilina, mostrando que ela não se liga ao monômero. Assim, assumiu-se que a selegilina, para inibir o processo de agregação, estaria se ligando a outra entidade que se forma nesse progresso de agregação.

Um dos dados mais interessantes desse trabalho foi obtido ao testar a toxicidade dos agregados formados na presença e na ausência da selegilina. Foram observados agregados formados em um, três e cinco dias, nos quais já há a formação de fibras. Nos agregados de cinco dias, a cultura é muito menos prejudicada quando comparada às culturas de agregados formados em menos tempo. As espécies pequenas, formadas antes da formação das fibras, são muito mais tóxicas para as células do que as fibras formadas. Durante o processo de formação das fibras, há um conjunto de espécies que são muito tóxicas. Independentemente do dia, essas espécies não se formam na presença da selegilina, como se ela estivesse desviando para outra cascata, o que evita a formação das fibras. No dia zero, todas as células são viáveis, e, à medida que adicionamos esses oligômeros, elas vão morrendo. Conforme esses oligômeros se convertem em fibras, a toxicidade diminui. Na presença da selegilina, as células não são prejudicadas em nenhum dia, mostrando que a selegilina desvia da rota de formação dessas estruturas, levando à formação das estruturas arredondadas que não são tóxicas para as células.

Outro trabalho relacionado a ressonância, intitulado “The Solution Structure and Dynamics of Full-length Human Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor and Its Neuroprotective Role against α -Synuclein Oligomers” (Latge *et al.*, 2015), também buscou identificar fatores que pudessem interferir na agregação da proteína. Nesse caso, mostrou-se que o fator neurotrófico dopamina cerebral (CDNF) era capaz de inibir a agregação da sinucleína, fazendo com que ela ocorresse em outro caminho, inibindo a formação de espécies tóxicas e protegendo as células contra eles. A ressonância, então, é incrível, pois permite que entremos na intimidade das proteínas e possamos fazer conjecturas interessantes.

Um exemplo disso é que, a partir desses estudos, descobriu-se que o CDFN tinha semelhança com a proteína Ku70, que é uma proteína antiapoptótica. Assim, poderíamos explicar por que o CDFN protege dos indultos dos oligômeros: porque ele lembra uma proteína antiapoptótica (visto que protege as células da morte). Então a ressonância — e só ela, ou técnicas como essa — permite isso.

O CDFN foi, ainda, estudado em células cardíacas de murino no trabalho “Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Reduces α -Synuclein Aggregation and Propagation and Alleviates Behavioral Alterations *In Vivo*” (Albert *et al.*, 2021). Assim, descobriu-se que ele era excelente para proteger o coração contra infarto quando se fazia uso dele antes de induzir a lesão de isquemia/reperfusão.

REFERÊNCIAS

ALBERT, K.; RAYMUNDO, D. P.; PANHELAINEN, A.; EESMAA, A.; SH-VACHIY, L.; ARAÚJO, G. R.; CHMIELARZ, P.; YAN, X.; SINGH, A.; CORDEIRO, Y.; PALHANO, F. L.; FOGUEL, D.; LUK, K. C.; DOMANSKYI, A.; VOUTILAINEN, M. H.; HUTTUNEN, H. J.; OUTEIRO, T. F.; SAARMA, M.; ALMEIDA, M. S.; AIRAVAARA, M. Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Reduces α -Synuclein Aggregation and Propagation and Alleviates Behavioral Alterations In Vivo. *Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy*, [s. l.], v. 29, n. 9, p. 2821-2840, 1 Sep. 2021.

BRAGA, C. A.; FOLLMER, C.; PALHANO, F. L.; KHATTAR, E.; FREITAS, M. S.; ROMÃO, L.; DI GIOVANNI, S.; LASHUEL, H. A.; SILVA, J. L.; FOGUEL, D. The Anti-Parkinsonian Drug Selegiline Delays the Nucleation Phase of α -Synuclein Aggregation Leading to the Formation of Nontoxic Species. *Journal of Molecular Biology*, [s. l.], v. 405, n. 1, p. 254-273, 7 Jan. 2011.

LATGE, C.; CABRAL, K. M.; OLIVEIRA, G. A. de; RAYMUNDO, D. P.; FREITAS, J. A.; JOHANSON, L.; ROMÃO, L. F.; PALHANO, F. L.; HERRMANN, T.; ALMEIDA, M. S.; FOGUEL, D. The Solution Structure and Dynamics of Full-length Human Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor and Its Neuroprotective Role against α -Synuclein Oligomers. *The Journal of Biological Chemistry*, [s. l.], v. 290, n. 33, p. 20527-20540, 14 Aug. 2015.

AULA 3B

IMAGENS DOS ESTADOS INVISÍVEIS

Palestrante: Fábio Ceneviva Almeida (IBqM/UFRJ)

(*Transcrição: Guilherme Caumo Tanure*)

Eu dei o nome de “a dança das proteínas” para o que eu planejei para hoje, para mostrar que as proteínas, na verdade, são moléculas que evoluíram, não para ter uma única estrutura — e a apresentação da Débora já mostrou isso —, mas para ser um polímero plástico que visita várias conformações, e essa plasticidade é importante. Estamos engatinhando para entender esse processo. E é neste contexto que eu quero colocar esta apresentação.

Ao longo do tempo, ocorreu um acúmulo enorme de conhecimento estrutural, o que é muito importante. Mas essas estruturas são principalmente aquelas de um estado energético mais baixo, são as conformações mais prevalentes que são passíveis de observação. E isso nos dá muitas informações sobre a função biológica dessas moléculas a partir dessas formas.

Mas eu quero abordar essa distribuição de equilíbrio conformacional. Foi comentado na palestra anterior que as proteínas podem estar no estado nativo, globular, solúvel, que são estados de alta energia, e há também os estados de baixa energia, que são os estados amorfos, os estados de fibras amiloides, oligômeros solúveis. Percebemos que as proteínas evoluíram não apenas para ser monômeros, mas para fazer fibras, e eu quero ilustrar isso um pouco. Porém elas também evoluíram para estados solúveis que são capazes de ligar pequenas moléculas, são capazes de ligar ácidos nucleicos e fazer funções específicas, como função enzimática ou fator de transmissão, que regula quando há expressão de um determinado gene.

Então todos esses estados são importantes. E a nossa pergunta é: como a ressonância magnética nuclear consegue entender e determinar esse processo de interconversão dos múltiplos estados conformacionais? Trata-se de mais do que estudar os estados nativos, que já são uma riqueza muito grande e ainda têm muito espaço para serem explorados, mas sim estudar esses estados invisíveis, que são estados que permitem que a proteína passeie entre essas múltiplas conformações.

Queria dizer também, enquanto estou ilustrando esse funil de energia em forma tridimensional, que para chegar até esse ponto entre dois níveis de energia há múltiplos caminhos. E o caminho que é traçado de um ponto até outro é moldado pela evolução; não ocorreu ao acaso, mas foi moldado para que a função biológica dessa estrutura aconteça. Então eu gostaria de lembrar de um ponto importante da evolução: o drive evolutivo não é dado pela estabilidade da forma da proteína, mas pela sua função. Portanto, não somente o estado nativo foi moldado pela função, mas todo o caminho até essa conformação, e é possível medir isso atualmente.

Ilustro aqui os vários domínios, começando pelos domínios insolúveis, como proteínas transmembranas, proteínas globulares, todo o interatoma, que sabermos ser riquíssimo e conhecemos toda a sua dimensão biológica, todo o metabolismo, toda a sinalização celular, tudo moldado por essa riqueza de informação; estados fibrilares, como foi dito na última palestra; menciono os fibrilares patogênicos, que foram mostrados na visão das doenças que precisam passar por oligômeros. Esses são estados mais instáveis, estado invisíveis, mas os quais temos que entender, pois são eles as entidades tóxicas que levam às doenças.

Existem também amiloides funcionais, envolvidos por exemplo na fixação de memória. Portanto, mostra-se necessário entender que a evolução moldou esses caminhos para fazer processos não patológicos. Deste modo, o estado de conformação de uma proteína é moldado através de uma guerra entre o enovelamento e o controle desse processo pela célula. Então, os proteossomas e outras unidades que participam desse equilíbrio são muito relevantes e foram moldados evolutivamente junto com as proteínas. Precisamos, assim, analisar isso conjuntamente. Por exemplo, amiloides patogênicos que acontecem mais no final da vida também dizem respeito ao processo de homeostase do corpo, também são uma doença da homeostase do corpo, que precisa ser estudada e abordada.

E agora, mais recentemente, mas ainda assim importantes, são estados de baixa energia que também são estados agregados, solúveis; então, temos agregados sólidos da forma como mostrado na palestra anterior, mas podemos ter também estados que são chamados de condensados proteicos, através de uma separação de fases líquido-líquido. As proteínas também evoluíram para que existam condensados, organelas sem membrana, só que estáveis por contatos intermoleculares concentrados em um só local. Proteínas virais, por exemplo, têm proteínas responsáveis pelos mecanismos de infecção concentrados em um certo ponto da célula, formando essas organelas sem membrana, uma propriedade da proteína que é a separação de fase líquido-líquido.

Então, todo esse processo de interconversão tem que ser abordado e estudado. Eu vou mostrar como a gente faz para entender esse processo, e isso passa por entender os estados invisíveis, isto é, os estados de alta energia que não estão no PDB, mas que são estados que nos permitem entender o processo de interconversão e equilíbrio conformacional.

Então eu gostaria de lembrar alguns conceitos aqui que considero importantes. Se há um equilíbrio entre dois estados conformacionais, um chamado de estado A e outro de estado B, há uma dinâmica que é dada pela soma da constante da velocidade de ida com a constante da velocidade de volta da reação. Assim, é possível determinar o tempo de escala desse movimento (k_{ex}), sabendo se ele é de microssegundos, nanossegundos, segundos. E qual a importância de saber o tempo de escala do movimento de interconversão entre dois ou mais estados conformacionais?

Conseguimos descrever o estado de menor energia, que seria nesse caso o estado A, e o estado de maior energia, que seria o estado B, que existe por milissegundos e representa 1% da população conformacional ou menos. Mas ele é importante, porque ele tem que ser visitado para que uma determinada proteína cumpra sua função biológica.

Então, determinar o que será chamado de estado B, neste caso, que é o primeiro estado termicamente acessível, é o primeiro passo necessário para entender o processo biológico de envelhecimento ou de interconversão entre estados, como, por exemplo, uma interconversão do lado dos contatos intramoleculares para o lado dos contatos intermoleculares.

Logo, mostra-se preciso entender o caminho desse processo, e para isso desenvolveram-se métodos para descrevê-lo. Eu gostaria de colocar em ênfase esses microssegundos e piconanossegundos. kT é a energia térmica disponível. Se kT é desse tamanho, lógico que a variável k , da temperatura, é constante, e vocês podem ver que eu tenho dentro do estado A pequenas barreiras da ordem ou menor do que kT . Isso significa que a probabilidade de conversão entre os estados de conformação é muito alta, então sabemos que esse é um processo muito rápido, tipicamente de piconanossegundos. Isso é chamado de susceptibilidade térmica.

Agora, quando há uma barreira que é maior do que kT , tipicamente duas, três, quatro vezes T , sabemos que quem moldou os estados e o tamanho dessa barreira energética é a evolução. É muito pouco descrito, mas há alguns exemplos na literatura de como a evolução moldou o tamanho dessa barreira conformacional energética.

E são esses estados de microssegundos que são muito importantes biologicamente, porque eles moldam o que chamamos de conformações mais discretas; aqui, no caso, o A e o B. Então o estado A é um conjunto de estados conformacionais, assim como o estado B. E o funil de energia é um perfil estatístico de todo o universo conformacional de uma proteína. Então o objetivo final é descrever esse processo para que possamos fazer previsões. E o começo disso é descrever estruturas e propriedades estruturais desses estados invisíveis, que é justamente o que temos feito no laboratório.

Eu gostaria, então, de contextualizar um pouco a escala dinâmica de proteínas. Esse tempo que já vimos é inversamente proporcional ao tamanho dessa barreira energética, o que podemos medir. É possível medir de picossegundos até dias usando a ressonância magnética nuclear. Então medimos, por exemplo, usando essa variação de dinâmica térmica que significa movimentos de rotação interna como movimentos de grupos, regiões flexíveis ou rotação de cadeias laterais. Como podemos medir essa faixa de milissegundos — que, como eu falei, é muito importante biologicamente, e eu vou focar um pouco nessa parte de milissegundos, que é o que descreve os estados conformacionais —, então quando eu descrevo que determinada região da proteína tem movimentos longos, eu sei que há uma barreira conformacional que separa dois ou mais estados conformacionais distintos.

Então, ilustro aqui esse equilíbrio entre os estados conformacionais — e eu quero deixar claro que a junção das proteínas não é determinada apenas pelo estado de menor energia, mas também pelo caminho que percorre no perfil energético. Então o equilíbrio conformacional é fundamental.

Qual a implicação desse estado invisível, por exemplo, para reconhecimento molecular e alosteria? Esses dois conceitos sempre andam juntos e são essenciais para a compreensão de qualquer processo biológico dentro da célula. Eu diria que a função das proteínas não é ter uma estrutura e ficar lá acomodada, mas, pelo contrário, ela é especializada em ser “grudenta”. Ela quer ter um parceiro, um ou mais parceiros, e ela foi moldada pela evolução para isso. Então a questão é mediada pela função, pela integração, e o que acontece, que é o que descreve esses estados conformacionais discretos, são “erros” programados pela evolução. Por isso, quando há um aumento de 50 segundos, eu estou descrevendo que aquele rendimento é importante para a função não porque ele interage diretamente, mas porque ele está mediando essa interconversão entre dois ou mais estados conformacionais.

Então se a proteína fosse perfeitamente empacotada, se todos os contatos hidrofóbicos, entre cadeias laterais, não tivessem nenhuma cavidade interna, se tudo fosse perfeito, ela estaria em um nível conformacional muito estável para querer interagir com outra molécula. Mas a evolução não permite isso: ela coloca resíduos e põe “erros” para que consigamos codificar o sítio de ligação.

Deste modo, a ligação e o sítio de ligação estão na sequência primária de uma proteína. Não somente a estrutura está codificada, mas aonde ela vai se ligar também. São essas regiões que têm “erros” de empacotamento; esses “erros” são as regiões que vão ficar aptas para interagir, para procurar um parceiro, para resolver aquele problema de formação de uma cavidade.

O nosso papel, então, é usar a relação dos binômios e a água para descobrir essas regiões e para descrever esses aminoácidos, tentar entender esse processo de interconversão conformacional.

Pensando, por exemplo, em um funil de energia; se se considerar um modelo de ajuste conformacional, seria aquele modelo do Pac-Man.

Há um ligante e uma proteína, e, quando o ligante encontra a proteína, ele se adapta, ele se ajusta conformacionalmente ao outro.

E como descrevemos isso? Se esse ligante for muito flexível, como, por exemplo, são muitos fatores de transdução, e apresentar uma alta entropia conformacional, enquanto for um ácido nucleico, por exemplo, ele ganha estrutura, e, ao ganhar estrutura, diminui a entropia conformacional — o que é extremamente penoso, uma penalidade energética grande.

Mas se, por outro lado, eu tenho uma proteína, e há múltiplos estágios conformacionais pré-existentes, então no estado livre ela apresenta uma variabilidade conformacional; em vez de ela ser simplesmente um estado aberto, ela tem, nesse caso, um, dois, três, quatro estados conformacionais discretos. E, quando eu *flicko*, um dos estados conformacionais é selecionado, então isso é um modelo de seleção conformacional. E isso tem que ser mostrado nas últimas décadas como um modelo principal de interação.

Por quê? Porque as proteínas não existem em um único estado; elas têm múltiplos estados conformacionais. Além disso, muitas vezes o estado conformacional selecionado não é o de menor energia. Esse estado é um dos estados livres. Porém, quando ele encontra o ligante, ele se torna estabilizado, então ocorre um *shift* de população para aquele estado. E somente então eu consigo explicar o exemplo dado por mim dos fatores de transcrição. Vocês podem perceber que, nesse segundo modelo, não é tão alta a conformação.

Então, nós temos mostrado, por ressonância magnética nuclear, que praticamente todos — e eu posso dar vários exemplos aqui — os sítios de ligação de várias moléculas têm resíduos em troca conformacional. Chamamos de troca conformacional quando há movimentos de um nível de sítios. Isso significa que há pretensão de empacotamento, e também um processo de seleção conformacional existente.

E como eu provo isso? Eu faço uma solução saturada com o ligante, e eu vejo que aquela dinâmica deixou de existir. Então, significa que um determinado salto conformacional ocorreu.

Mas como fazer isso? Bem, eu não vou entrar em detalhes, mas a ressonância magnética nuclear é rica para isso, e é usada a relaxação do estímulo. Para dizer em poucas palavras, o estímulo nuclear é sensível à rotação da luz, e a movimentos, o que chamamos de “troca conformacional”.

Então, se há um estímulo em um único estágio, o que o estímulo vai sentir será aquele ambiente químico local, aquele

microambiente. Se ele está vendo em dois ou mais estados conformacionais, quer dizer que ele está vendo um ambiente, ora outro ambiente, ora outro ambiente; ele vai se interconvertendo. Eu consigo medir o apagamento de linha, e, a partir desse apagamento de linha, de relaxação, é possível fazer a medição.

Portanto, aqui eu estou demonstrando medidas de relaxação de nitrogênio químico. Nitrogênio químico é interessante porque nós conseguimos medir a dinâmica do vetor NRK da proteína.

Cada NRK da proteína, do backbone, é algo que já juntamos da cadeia da proteína.

Conseguimos medir, por exemplo, parâmetros de ordem de metilas, vide exemplo de um experimento do meu laboratório em função da temperatura. O parâmetro de ordem de metilas — então a cor, a forma de uma proteína — é reportado pela entropia conformacional da cadeia de cor. E está sendo medido aqui. Essas transições ocorrem muito rapidamente, na escala de pico a nanossegundos. Mas eles são muito informativos, e me permitem calcular certos parâmetros, como, por exemplo, a capacidade calorífica. Então, considerem aqui uma proteína chamada tioredoxina. Ela tem uma caridade de água aqui. Em vermelho, há uma região de maior capacidade calorífica que é proporcional à entropia conformacional. Cada bolinha dessa é uma metila, e cada metila recebe calor, por exemplo, do ambiente. Então, conseguimos medir a capacidade de calor do ambiente de cada região da proteína. Vocês podem compreender que isso não é um processo isotrópico, é um processo anisotrópico, e isso determina a função.

Neste caso, o ponto, o fator de Watson aqui, é justamente uma caridade de água, onde se dá o tipo catalítico dessa metila, e essa metila se apresenta com alta capacidade.

Eu estou usando, portanto, o parâmetro de ordem de metila para medir uma propriedade importante para catalisar.

Agora, focaremos essa medida chamada CPMG. Ela se baseia em um método complicado, que não será explicado aqui. Vocês podem observar que, no processo CPMG, eu dou pulsos de 180° . Eu coloco um spin no plano estático, aí dou um pulso de 180° e um spin. Cada vez que eu dou um pulso, inverte esse spin. O que ele me diz? É mais ou menos o que se tem antes de uma corrida. No início, todos estão na linha de largada. Agora, cada spin está em um ambiente químico diferente. Digamos que eu estou usando um NH, mas cada um está

em um ambiente químico diferente. Não é como se fosse um corredor, cada um com a sua velocidade. Há aquele mais rápido e aquele mais lento, e isso depende de cada spin.

Eu deixo correr por um tempo, e então ordeno “para” e sinalizo “volta”. E deixo-os fazerem o trajeto também pelo mesmo tempo. A mesma coisa será feita com o spin. O que acontece? Todos se encontrarão novamente no estado de largada. É possível fazer isso muitas vezes, com diferenças de frequência, usando um maior tempo, um menor tempo, e eu vou sempre encontrar o spin no mesmo lugar. O mesmo ocorre em estado que não tem troca de informação. O spin está em um único ambiente químico e ele não vai perder coerência, que é o que conseguimos medir pelo sinal de ressonância magnética nuclear.

Imagine agora que eu tenho um processo de troca, trocando o azul pelo verde. Aí, o que vai acontecer? Vamos dizer que, no início, o azul e o verde estavam aqui, o azul estava aqui, e depois eles trocaram de posição. Então, no início, o verde era o mais rápido, e o azul, o mais lento. Trocaram, o que significa que o spin estava no ponto, mas agora ele está vendo um outro ambiente químico, que o fez se comportar de forma diferente; portanto, o que era mais rápido ficou mais lento, o que era mais lento ficou mais rápido.

O que aconteceu aqui no círculo significa que eu perdi coerência. É a mesma coisa de dizer que há um parâmetro que eu vou medir, que é o R_2 , aumentado. E essa perda de coerência é passível de medição, conseguimos quantificar isso.

Então aqui está sendo medido um processo de perda de coerência e de refoco dessa coerência quando eu vou tornando esses pulsos de 180° , que são os sinais para retorno. O *fitting* dessa curva, o ajuste dessa curva, pode ser feito usando uma equação que descreve. O legal da ressonância magnética é isso, que dispomos de todo o processo perfeitamente escrito, e conseguimos medir de forma quantitativa esses processos. Desta forma, através desse ajuste, é possível descrever várias propriedades de interconversão entre dois ou mais estados transformacionais. Descrevemos, por exemplo, a população do estado excitado, conseguimos quantificar a cinética desse processo, aquele *kex* que eu mencionei, que o universo inteiro vai mudar o tempo de escala do movimento, e conseguimos descrever o parâmetro estrutural, que é o tempo de frequência, chamado

de deslocamento, onde está o spin do estado majoritário e onde está o spin do estado minoritário.

Então, em última arte, eu consigo medir a cada nível o deslocamento do kex do estado fundamental, que eu já sabia, que é o estado que está no Protein Data Bank (PDB), estado que conhecemos, para o minoritário, em vermelho. Nós não o enxergamos, ele é um estado invisível, mas sabemos que existe, porque medimos esse tipo de propriedade, chamada de “dispersão de relaxação”.

Em última análise, eu estou mostrando o HSPC, que digamos que é o fingerprint de uma proteína. Então, é correlação do próton com o hidrogênio-15. Então, cada NH da proteína estará em determinado ambiente químico como mostrado na última apresentação, que, quando liga, não mudou nada. Então, quando liga, o composto não alterou o ambiente químico de cada NH da proteína. Aqui mostro o ambiente químico de cada NH da proteína. Usando essa metodologia, consigo agora mostrar o estado excitado, aquele estado invisível. Eu consigo fazer o assinalamento das ressonâncias de todos os átomos, todo o núcleo; nessa última análise são os átomos, da proteína.

Então, eu consigo fazer hoje a análise do HN, do nitrogênio-lítico, do carbono-alfa, do carbono-beta, das metilas e da carboneta. Há diversos métodos que nos permitem descrever, permitem calcular uma estrutura a partir de deslocamentos químicos; a partir dessa informação, é possível, e isso foi feito pela primeira vez em um *paper assignment* de 2010 desenvolvido por um colaborador nosso que foi pesquisador visitante especial no programa Ciências sem Fronteiras, o professor Dmitry Koshner. Ele foi quem determinou pela primeira vez, em 2010, a estrutura de um estado excitado, que nesse caso é um estado excitado muito conhecido, porque é uma proteína que já tinha sido estudada pelo grupo de um grande pesquisador de enovelamento de proteína, que apresenta de um intermediário. O que foi feito foi a determinação da estrutura desse intermediário de enovelamento. E isso é muito importante, é marcante essa estrutura, e a partir de então algumas outras estruturas foram determinadas, mas poucas. Na maioria das vezes, conseguimos aferir propriedades estruturais, mas no PTB hoje eu diria que há quatro estruturas determinadas desses estados invisíveis.

Posso ilustrar com alguns exemplos do meu grupo, começando pelas proteínas capsídecas de flavivírus, que o professor André está apoiando já há muitos anos, provavelmente desde 2010. Esse estudo

é um dos carros-chefe do laboratório do André, e aqui eu estou mostrando a proteína do envelope, em azul, e a proteína E, que forma o envelope viral tanto do vírus da dengue quanto da Zika. Aquela microscopia eletrônica mostra que conseguimos melhor ver, com detalhes lá do laboratório, a estrutura desse envelope viral, tanto do capsídeo quanto da proteína E.

E dentro há uma única proteína que fica em contato com o genoma, que é um RNA, do vírus da dengue e do vírus da Zika. Essa única proteína, da qual conhecemos a estrutura, de média, é um G, mas não se tem informação nenhuma até hoje sobre esse capsídeo. Então tudo indica que ou o capsídeo não existe, não tem essa estrutura, ou essa estrutura é muito dinâmica a ponto de não permitir que a criomicroscopia eletrônica consiga enxergar a simetria das interações dessa forma medida. Nós olhamos, eu posso apontar resultados — e não vou falar disso agora —, mas conseguimos montar essas partículas capsídicas no laboratório, fazendo criomicroscopia eletrônica dessas partículas montadas em vídeo. Sabemos que existe uma estrutura, mas também que existe um equilíbrio muito rápido entre o dímero da proteína solúvel e o capsídeo.

Então é bastante interessante do ponto de vista tanto de equilíbrio conformacional e também do ponto de vista de biologia, para entender por que, por exemplo, é diferente: o capsídeo não tem esse equilíbrio deslocado para o capsídeo, mas tem um equilíbrio deslocado para monômero; existe um equilíbrio muito mais dinâmico do que o que a gente está falando. Então isso ainda é um processo em estudo.

Bem, o que fizemos? Intencionamos entender o processo, desejamos saber qual é o primeiro estado excitado, aquele primeiro estado minoritário, termicamente acessível. Fizemos isso medindo para o vírus da Zika, agora para o vírus da dengue, então conseguimos descrever os resíduos da proteína que estão em troca conformacional. Então aqui estou mostrando em escala o delta ômega, o delta estrutural, que é a diferença entre o deslocamento que está em um estado. Podemos ver que no meio dessa hélice, uma região totalmente não esperada, há uma troca conformacional, e essa troca conformacional passa por essa hélice 2, uma fenda hidrofóbica, que sabemos ser importante para a montagem viral, e pela hélice alfa 1, que teria uma dinâmica de abre e fecha. Mostramos no capsídeo da Zika que isso é importante tanto em termos evolutivos, de adaptação da proteína para um determinado tipo celular, como para ajustar o quão exposta essa fenda hidrofóbica está para o meio intracelular.

Então conseguimos ver um caminho que sugere um tipo de alosteria, nesses pontos, portanto, que eu estou mostrando para vocês, no meio da hélice, da hélice 1, e no meio da hélice 4.

Em seguida fizemos o mesmo procedimento, só que então retirando os primeiros 23 resíduos, que são intrinsecamente desordenados e importantes para essa proteína, e ela se comportou acendendo as mesmas regiões, porém acendeu de forma muito mais evidente essa $\alpha 2$, que é a região hidrofóbica da proteína. Vocês verão mais tarde que nós, agora, temos evidências de que essa região é bastante conservada em todos os flavivírus e tem uma função: além de evitar agregação dessa proteína dentro da célula, ela protege os contatos hidrofóbicos.

Essas medidas foram feitas em múltiplas literaturas, e, ao fazê-las e fortificar o processo, conseguimos observar aquele perfil energético, aquele funil de energia. Então é possível ver qual a contribuição entálpica, entrópica, e aquele ΔG entre o estado fundamental, que é o estado de menor energia, o estado excitado de transição, que vai determinar o tempo de escala do movimento, e o estado excitado, que é o estado B. Podem ver que o estado de transição e o estado excitado apresentam um ΔG maior; o ΔG é positivo, o que significa que eles existem em uma proporção muito menor.

É interessante ressaltar que determinamos para a proteína inteira e para a proteína sem a cauda 23 resíduos, mas cortamos do 1 ao 19, os primeiros 19 resíduos. E com isso a região é basicamente desordenada. O que aprendemos? Que existe uma compensação entrópica e entálpica no processo.

Primeiramente, portanto, o ΔS , que é a entropia da $\Delta 1-19$, é altamente desfavorável. Então, o estado excitado na $\Delta 1-19$ é positivo, é um ΔG positivo, principalmente por causa da contribuição entrópica. O que significa? Que provavelmente a proteína se abre e ela expõe os resíduos hidrofóbicos ao solvente, a água, causando essa penalidade entrópica.

O que estamos aprendendo aqui é que a exposição dos resíduos hidrofóbicos, dessa fenda hidrofóbica — muito provavelmente porque vimos que aqui acende a $\alpha 2$, exatamente aquela região da $\alpha 2$ —, é muito mais evidente na ausência dessa cauda, principalmente desordenada.

E quando direcionamos o foco para a proteína full-lead, que é a proteína inteira, o que percebemos? Que a contribuição entrópica

praticamente se torna zero. Não há mais aquela penalidade entrópica observada quando aquela cauda foi cortada. Então ela passa a ter muito menos tendência de agregação e vai ser menos penosa, para ser uma contribuição de agregação.

Então existe aqui, obviamente, uma questão de proteção. Temos estudado as mudanças desse processo para entendermos qual é o papel daquela quebra na alfa 4. Então sabemos que, no estado excitado, aquela reação está quebrada. Qual é o papel desse estado conformacional quebrado? Para descobrir, colocamos uma prolina ali para forçar essa quebra, de modo a entender qual é o papel desses estados que ainda estão sendo construídos.

Logo, isso é muito informativo, tanto do ponto de vista de ligação com o RNA como do ponto de vista de formação do capsídeo.

Passando, então, ao reconhecimento de fosfotirosinas. Refiro-me aqui a um dos domínios mais prevalentes. Vou tratar do hormônio SH2, que hoje em dia é um domínio onipresente para reconhecimento de fosfotirosinas. E reconhecimento de fosfotirosina é fundamental para a sinalização.

O que fizemos foi estudar esse processo e tentar entender do ponto de vista dinâmico o que acontece com essa proteína. Comprendemos, então, que ela tem dois subsítios. Um sítio que liga diretamente, que é uma argenina.

Depois ela passa por essa barreira, que seria essa pedra central aqui, e tem esse sítio que é PY+3 ou PY+2. No caso da GREV2, que é a proteína que estamos estudando, no domínio desse PY1+2, ela passa essa barreira e aí encontra esse segundo subsítio, que é importante para a especificidade. Este é um domínio que não é tão importante para a especificidade, mas é reconhecido de forma igual a todas as fosfotirosinas. E aqui vai ter um domínio vermelho, que é o domínio de via mais importante para a especificidade.

Aqueles perfis de dispersão e relaxação foram medidos, e observamos que o subsítio 1 apresenta esse tipo de comportamento. Eles estão praticamente *flat*, eles decaem muito pouco, mas estão acima, em um nível mais alto. Isso é típico de um regime de Fast exchange, que seria em microssegundos.

Então considerem uma escala de tempo no subsítio 1, e uma outra escala de tempo de perfil de dispersão, que a gente mostrou para vocês, chamada de regime de troca intermediária, no

subsítio 2. Existem regiões de troca rápida, que são importantes para o reconhecimento da fosfotirosina.

Observamos então que essa hélice se abre e fecha. Portanto, existe um estado conformacional aberto dessa hélice, que é importante para a especificidade da proteína. E, ao abrir essa hélice, ela faz um efeito alostérico que leva à dissociação da proteína inteira, da proteína *full*.

Foi medido também o comportamento entrópico e entálpico, a contribuição entrópica e entálpica para esse processo, e vimos que os estados estáveis, nesse caso, são entálpicamente favoráveis e entropicamente desfavoráveis. Logo, aqui novamente, quando essa hélice abre, ela expõe resíduos hidrofóbicos, a autogênese, levando a uma penalidade entrópica devido às rotas.

Sem entrar em muitos detalhes, esse é praticamente o processo. Conseguimos marcas dele, e eu acho que esse talvez seja o ponto de vista biológico mais interessante: colocar a proteína em concentrações semissaturadas do polipeptídeo ou em concentrações saturadas.

Quando colocamos em concentração saturada, eu tenho uma completa supressão do processo de troca conformacional. Significa que eu tenho um estado conformacional que foi selecionado, então eu estou dizendo aqui que eu tenho um processo de seleção conformacional no reconhecimento do polipeptídeo que eu estou estudando. Portanto, não há processo de ajuste conformacional.

Mas, quando colocamos em concentração semissaturada, o que estamos medindo? Estamos observando que as regiões que não estavam em troca conformacional, elas passam a entrar em troca aqui. Eu tenho um processo de tateamento do peptídeo na superfície. Então digamos que aqui é a superfície de interação: quando eu estou com ela saturada, eu tenho um único estado conformacional que suprime completamente a dinâmica. Mas, quando eu tenho concentração semissaturada, eu estou vendo esse peptídeo tatear. E eu consigo medir o que chamamos de complexo, que é um estado transiente, mas que é fundamental para a compreensão do processo de reconhecimento intermolecular.

E quando medimos, vocês podem ver o resultado de que todos os aminoácidos estão em vermelho aqui; quanto aos que estão aqui embaixo, a outra face está completamente protegida. Então a face da proteína, e há um peptídeo de interação, está sendo totalmente tateada pelo peptídeo. Toda essa face, que é bastante ampla, faz

parte do complexo de encontro. Ao passo que a outra face — que vai estar voltada para interagir com o outro domínio da proteína — é completamente protegida, mesmo quando está se trabalhando com o domínio isolado. Isso é importante, e a extensão dessa face, que é muito maior no sítio de reconhecimento em si, explica certas propriedades. Por exemplo, o reconhecimento remoto de tirosinas.

O domínio SH2 tem uma capacidade muito importante de reconhecer não só a fosfotirosina, e isso é importante para o ponto de sinalização. Ela reconhece não somente uma única tirosina, mas ela reconhece tirosinas remotas.

Então, se eu tenho uma fosfotirosina e uma outra fosfotirosina adjacente, ela vai favorecer mais a fosfotirosina adjacente, porque a quantidade de aminoácidos dela é bastante ampla. Então ela aumenta o poder de alcance dela em, eu diria, em 3, 4, 5 nanômetros. Isso é muito do ponto de vista de dar à proteína a possibilidade de tatear uma superfície grande da proteína-alvo e chegar no sentido de interação da fosfotirosina.

Assim sendo, é um processo evolutivo exercendo aqui a intimidade da proteína. Escolho agora usar essa palavra porque acho que ela é bastante importante. Entender muito mais do que simplesmente o sítio de interação, entender todo o processo de formação.

Então este seria o processo com o sítio estabilizado, subsítio 1, subsítio 2. E aqui eu estou mostrando como esse processo envolve toda a face da proteína.

Eu também pretendia falar um pouco da proteína nucleocapsí-deca do coronavírus, mas eu vou deixar esse projeto para depois, pois eu quero mostrar uma única figura que é um pouco fora de contexto. Aqui, pode ser observada a separação de fase líquido-líquido, é um tema importante.

Porém, quando determinamos a dinâmica, aqui em azul e em vermelho, eu estou mostrando os resíduos da troca conformacional dessa proteína nucleocapsí-deca do SARS-CoV-2, e ela mapeia exatamente a região da interação com o RNA.

Logo, não é por acaso que ela mapeia a região da interação com o RNA. É porque a natureza moldou esses resíduos para serem imperfeitos, para não terem um empacotamento perfeito. Menciono isso só para mostrar como é rico determinar a dinâmica.

Com isso, eu gostaria de agradecer ao grupo de pesquisa de dengue e Zika, ao Dmitry Koshner e à Irina, da Universidade de Connecticut, pela colaboração, ao COVID19-NMR Consortium, que é muito importante, à Ana Paula Valente, que tem sido parceira de tantos anos da ressonância, e ao Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear, que agora completa 24 anos. Ele é o maior centro de ressonância, o que é algo que deve ser valorizado, e temos que engendrar esses momentos de reconhecimento, porque isso não se formou sozinho: foi formado com os sonhos de muita gente, o sonho do Gerson de ter o Brasil como centro de referência, e com o trabalho de muita gente. É essencial que essas instituições sejam mantidas, porque para morrer é muito rápido e fácil, mas construir algo desse porte e relevância demora 24 anos.

AULA 4A

PERSPECTIVES ON THE FUTURE OF MICROSCOPY OVER THE NEXT 50 YEARS

Palestrante: Angus Kirkland (*University of Oxford*)

(*Transcrição: Victor Silva Lopes*)

(*Tradução: Guilherme Caumo Tanure*)

EM PORTUGUÊS

KILDARE MIRANDA:

Assim, iniciamos um novo capítulo na Cátedra de Imagens, aprofundando-nos no mundo da microscopia. É com grande prazer que recebemos o professor Angus Kirkland como um dos nossos palestrantes.

O professor Kirkland é uma das principais autoridades em microscopia mundial. Ele obteve seu mestrado e doutorado pela Universidade de Cambridge e, em nossa área específica, pela Universidade de Oxford em 2003. Ocupou diversos cargos, principalmente como professor de Materiais em Oxford desde 2005 e como professor de eletromicroscopia desde 2013.

Em 2016, foi nomeado diretor do Centro Nacional de Imagens de Ciências Físicas da Diamond Light Source. Mais perto de nosso biossítio, ele é diretor científico do recém-criado Instituto Rosalind Franklin. Na Diamond Light Source, seus atuais temas de pesquisa se concentram em métodos de faseamento quantitativo, microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução com correção de aberração, desenvolvimento de detectores de elétrons direcionados

e processamento computacional de imagens para melhorar a resolução em microscopia eletrônica de transmissão.

Ele recebeu vários prêmios, incluindo o prêmio MSA em 2005, o prêmio Rose em 2015, o prêmio Cardinal European Microsoft Site em 2016 e o Harvard Meadow for Electron Microscopy em 2017. Atualmente, o professor Kirkland ocupa o cargo de presidente da Federação Internacional da Sociedade de Microscopia, a principal sociedade dedicada às atividades de microscopia em todo o mundo. Eleito presidente em 2018, é uma honra constatar que a comunidade brasileira votou nele.

Então, nosso presidente Angus, muito obrigado mais uma vez por ter aceitado nosso convite. Agora ele compartilhará ideias sobre o futuro da microscopia eletrônica nos próximos 50 anos. Obrigado mais uma vez, Angus; o palco agora é seu.

ANGUS KIRKLAND:

Muito obrigado. E obrigado a todos os meus colegas e amigos no Brasil por me convidarem. Sei que este é um dia auspicioso para o Brasil, como Anna disse, mas também um momento auspicioso para a sociedade brasileira, que comemora um aniversário significativo. Só tenho que me desculpar de início. No mundo normal em que vivíamos em 2019, eu teria viajado com prazer para o Brasil para me encontrar com alguns amigos e colegas em três dimensões. Mas, infelizmente, neste mundo imediatamente pós-pandêmico, vocês terão que se contentar com uma versão bidimensional de mim. Mas esperamos que num futuro não muito distante possamos todos voltar a nos encontrar pessoalmente.

O que quero fazer hoje é apenas falar sobre as minhas próprias perspectivas sobre os avanços significativos na microscopia eletrônica que aconteceram nos últimos 50 anos e oferecer algumas reflexões sobre o que poderá acontecer nos próximos 50 anos. É claro que uma das coisas boas de oferecer uma retrospectiva e uma previsão para os próximos 50 anos é que, daqui a 50 anos, não estarei por perto para ver se estava certo ou não. Então posso dizer praticamente tudo o que quiser, e vocês não poderão me questionar daqui a 50 anos.

Esta foi uma colaboração entre três institutos com os quais estou envolvido. Em primeiro lugar, o meu grupo no Departamento de Materiais em Oxford. Em segundo lugar, a minha equipe de cientistas do Instituto Rosalind Franklin. E, finalmente, cientistas e

pós-doutorandos do ePSIC, que é o Centro de Imagens do Diamond Light Source. E tivemos muita sorte. Tivemos extensas colaborações com Diamond e Rosalind Franklin, mas também com financiamento do CERN, de detectores quânticos, da JAIL, e também do nosso Conselho de Pesquisa em Engenharia e Ciências Físicas do Reino Unido.

Então, hoje, dividi minha palestra em quatro áreas. Estas são quatro coisas que considero que foram importantes e que fizeram mudanças significativas na forma como realizamos a microscopia eletrônica e no tipo de dados que podemos obter. Então, vou revisar o estado da arte atual nessas áreas.

Primeiro, a instrumentação, e particularmente quero falar um pouco sobre correção de aberração e fontes de elétrons, e principalmente monocromadores. Quero falar sobre métodos de faseamento, algo em que eu estava ativamente envolvido nos últimos dez anos ou mais, junto com meu grupo. Quero dar uma ilustração de algo que está se tornando muito importante no momento, mas ainda está em seus estágios iniciais: imagens de altíssima velocidade e o uso de inteligência artificial para lidar com grandes conjuntos de dados. E então algumas reflexões sobre o que podemos esperar ver no futuro. Peguei alguns exemplos da literatura e acrescentei a eles meus próprios pensamentos sobre como as coisas podem evoluir e mudar.

Então, primeiro vamos falar sobre instrumentação, e este é um dos meus slides favoritos. É uma afirmação que Laurie Marks fez há alguns anos, e é realmente o grande desafio para a microscopia eletrônica: se soubermos onde estão os átomos, se soubermos como eles estão ligados (isso é informação espectroscópica), e se soubermos como eles se movimentam (essa é a resolução do tempo, o domínio temporal), então podemos caracterizar inteiramente qualquer material conhecido.

Agora, em termos de microscopia eletrônica, há cinco coisas que precisamos fazer: precisamos de uma resolução espacial muito alta, porque precisamos saber onde os átomos estão com muita precisão, e, em particular, na microscopia eletrônica, precisamos saber onde eles estão em locais de defeito. Precisamos de alta resolução energética porque isso nos diz algo sobre as características de ligação do material e, para isso, precisamos usar monocromadores. Precisamos de alta resolução temporal. Este é um campo que não está tão avançado, e direi algo mais tarde sobre um grande projeto

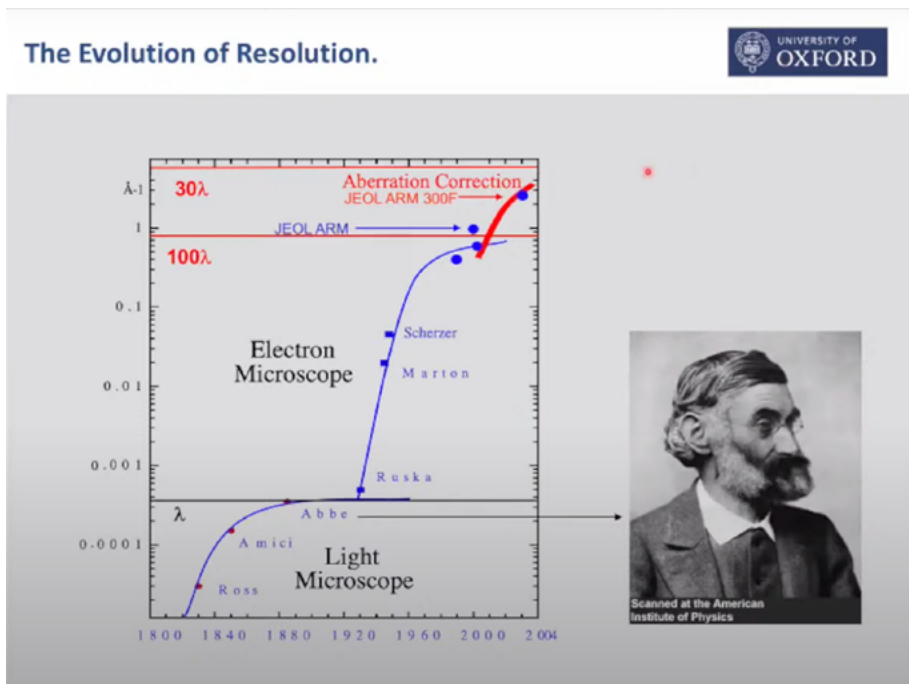
no Reino Unido que está construindo um microscópio de altíssima velocidade. Mas precisamos de forças eletrônicas pulsadas, ou seja, fotocátodos, ou precisamos de detectores de elétrons muito rápidos. Finalmente, precisamos de alta sensibilidade de detecção. Queremos ser capazes, para muitos materiais importantes, incluindo todos os da biologia, de trabalhar com níveis de fluxo muito baixos e sinal-ruído muito fraco. E uma das grandes vantagens aqui tem sido o desenvolvimento de detectores rápidos e diretos de elétrons. É claro que o desenvolvimento de detectores diretos rápidos foi uma contribuição importante para o Prêmio Nobel de 2017 em criomicroscopia eletrônica.

Finalmente, precisamos construir ambientes controlados. Queremos ser capazes de observar os materiais no seu estado nativo, no ambiente nativo, em vez de simplesmente em um alto vácuo. E, para isso, precisamos construir células criogênicas, células líquidas e células gasosas que imitem o ambiente *in situ* ou *in vivo* de nossos materiais.

Então, este é um slide que tenho certeza de que todos vocês já viram antes (FIGURA 1). É um slide originalmente de Harald Rose e mostra como a resolução do microscópio evoluiu desde o século XIX. Na verdade, esta luta parou em 2004, mas agora pode ser continuada até 2020, ao longo de um período, portanto, de cerca de 200 anos. E o que vocês notam é que, nos anos 1800, os primeiros microscópios ópticos foram construídos, e muito rapidamente, no espaço de cerca de 80 anos, eles atingiram rapidamente um limite de resolução de λ , que é o limite de difração, e isso é, claro, encapsulado nas teorias de Ernst Abbe. Algum tempo depois, no início de 1900, os primeiros microscópios eletrônicos foram construídos por Ernst Ruska (1906-1988) e Max Knoll (1897-1969), e rapidamente ultrapassaram o λ , o limite de difração para microscopia óptica. Essa resolução então aumentou rapidamente da mesma forma que os microscópios ópticos aumentaram rapidamente, mas percebe-se que, por volta do ano 2000, a resolução estava começando a estabilizar, e estava estabilizando um valor não de λ , mas de algo próximo a 100λ . E a razão para isso foi simplesmente que estávamos chegando aos limites das aberrações incorrigíveis nas lentes eletromagnéticas redondas. Então, a terceira parte deste gráfico, a linha vermelha aqui, agora mostra a correção da aberração. Você pode ver mais uma vez superar rapidamente o limite de 100λ , e agora o limite está entre 25λ e 30λ para os melhores instrumentos com correção de aberração. Aquele ponto

representa apenas o limite de resolução de uma das máquinas que temos aqui, uma JEM-ARM, uma máquina de alimentação fria de 300 quilovolts (kV) que possui dupla correção de aberração. Portanto, o estado da arte atual é que estamos em algum lugar no limite de 25 a 30 lambda. Direi mais sobre se podemos ultrapassar esse limite e melhorar ainda mais as coisas logo ao final da palestra, mas tenham em mente que, neste momento, o limite de resolução é de cerca de 30 lambda, o que a 300 kV equivale a algo como 45 nm.

Figura 1 – A evolução da resolução

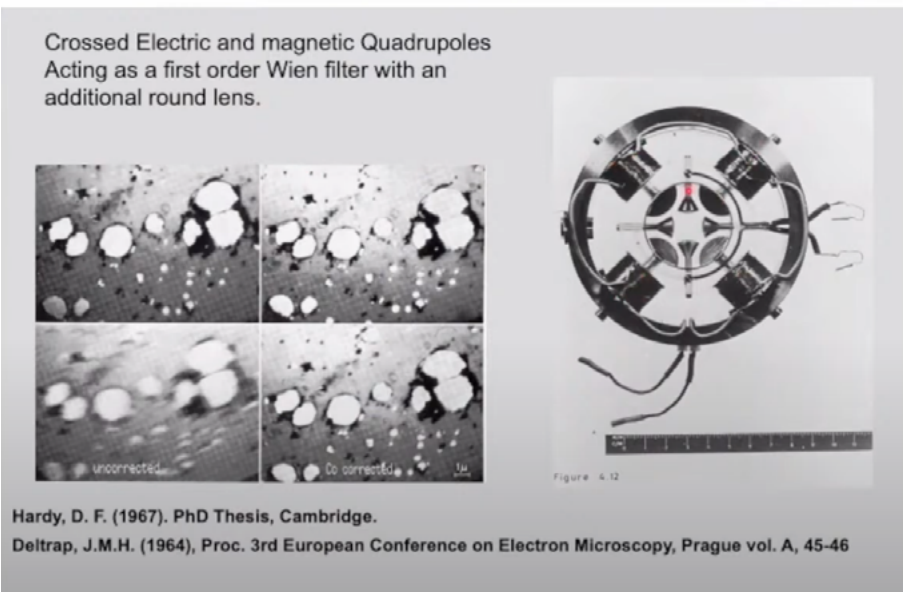


Agora, quero falar sobre correção de aberração, porque muitas pessoas presumem que a correção de aberração é um campo muito novo. Na verdade, não é. Este é um diagrama retirado da tese de doutorado de Godfrey Harold Hardy (1877-1947) na Universidade de Cambridge em 1967 (FIGURA 2). Ele trabalhou ao lado de Deltrap, e eles publicaram um artigo em 1964 no Congresso Europeu mostrando correção bem-sucedida de Cs e Cc. E a maneira como fizeram isso foi construindo um sistema quadrupolo elétrico e magnético cruzado. Então, esta cruz no meio são os quatro eletrodos eletrostáticos, e aqui estão as quatro bobinas eletromagnéticas

cruzadas, e isso atua como um filtro Veeam de primeira ordem. Eles adicionam um componente de lente redonda adicional, e você pode ver aqui que eles conseguiram. Este diagrama aqui está em 10 kV, então é basicamente uma imagem de resolução muito baixa de alguns buracos em uma folha de ouro. E o que eles fizeram foi mudar a energia de 10 kV e adicionar um deslocamento de 500 volts (V) a isso, e é possível ver sem correção; obtém-se uma grande desfocagem devido à aberração cromática, e, quando se liga o corretor, a imagem permanece essencialmente constante. Assim, mesmo em 1964, houve relatos de correção de aberrações. Agora você pode razoavelmente se perguntar por que demorou tanto para que esses instrumentos se tornassem populares. O problema simples era o controle preciso das fontes de alimentação com altíssima precisão e algoritmos de computador sofisticados para alinhar os elementos dos corretores.

Figura 2 – Os primeiros corretores

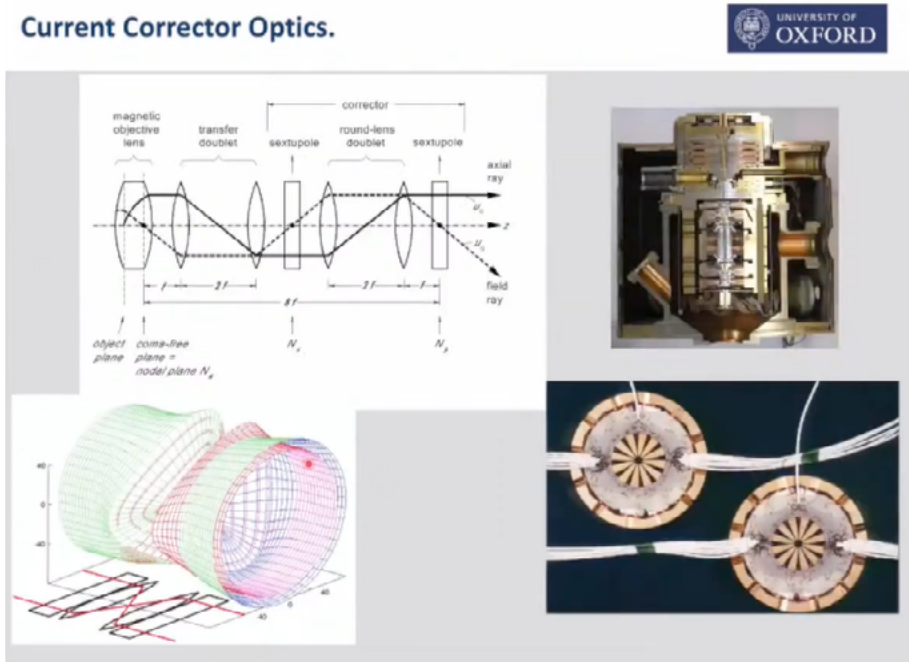
Early Correctors (Hardy and Deltrap, 1964, 1967).



Então, este é um corretor moderno típico (FIGURA 3). Na verdade, este é um corretor de dois hexapolos construído pela SEOS. Há uma imagem no canto inferior direito do corretor, dos dois

elementos corretores, tirada de cima. Aqui está uma seção transversal de uma coluna contendo o corretor. A lente objetiva está no topo aqui; a amostra vai para o plano médio. Aqui você pode ver, e este é o corretor abaixo.

Figura 3 – Ótica vigente do corretores



Este corretor consiste em vários elementos ópticos, mas os mais importantes são dois hexapolos, duas lentes sêxtuplas rotacionalmente simétricas, juntamente com dois dupletos de transferência. O que acontece é que o plano focal posterior da lente objetiva é transferido para o centro do primeiro hexapolo por esse duplete de transferência. Em seguida, ele é transferido novamente com uma rotação de 180°, então esta é uma ampliação de menos um para o centro do segundo hexapolo. A maneira como essa correção funciona são os hexapolos — a aberração primária de um hexapolo é um astigmatismo triplo. Então, transforma uma mancha em uma estrela de três pontas. Mas, como esses hexapolos estão dispostos antissimetricamente devido à transferência da lente redonda, a estrela de três pontas aponta para cima no primeiro hexapolo e para baixo no segundo hexapolo. A aberração primária é cancelada.

Agora, por razões que não tive tempo de abordar ainda, porque esses hexapolos estão separados no espaço, eles geram uma aberração parasita. Essa aberração parasita é realmente redonda; você pode observar isso aqui. É a parte verde, é redonda e tem a mesma dependência angular da aberração esférica, mas com sinal negativo. Então, em essência, o que esse corretor faz é cancelar suas próprias aberrações primárias e gerar uma aberração secundária que é um Cs negativo, e podemos ajustar isso. Agora, os Cs negativos e o corretor compensam perfeitamente os Cs positivos na lente objetiva.

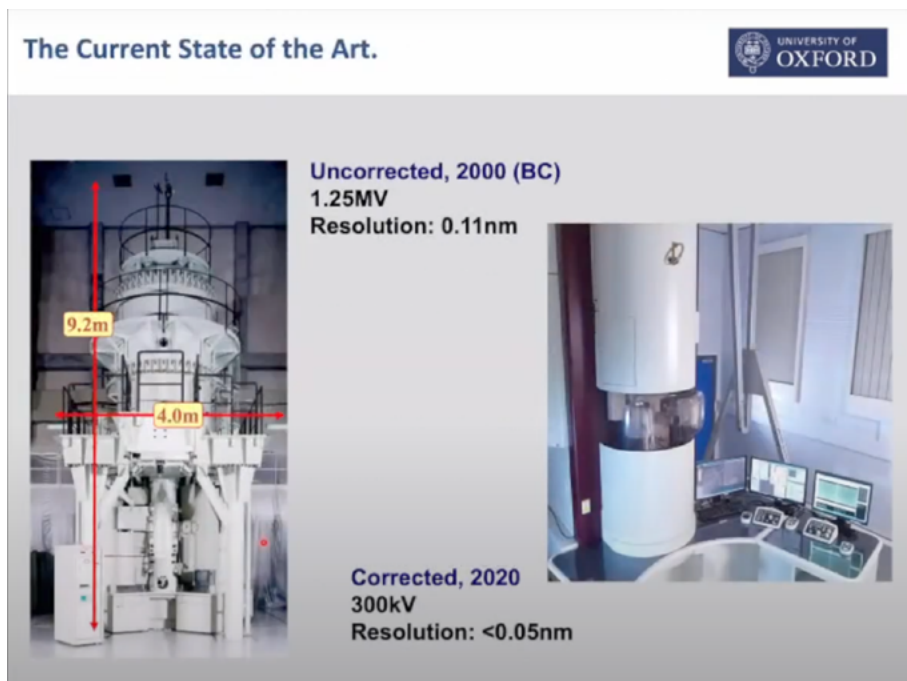
Logo que esse corretor foi proposto e construído pela primeira vez em 1997-1998, muitos outros corretores foram construídos. Este é o que mostrei para vocês, é o corretor hexapolo original da SEOS. Havia também, ao mesmo tempo, um corretor baseado em quadrupolo-octopolo construído por Andrei Pravarnik e agora comercializado pela NEON. Existem corretores baseados na correção de aberração cromática que requerem quadrupolos eletromagnéticos cruzados, essencialmente uma versão atualizada e mais sofisticada do corretor DELTARAP original. Existem corretores que corrigem a aberração cromática e esférica que foram construídos pelo CEOS e consistem em elementos muito complicados. Eles têm dois quintuplos quadrupolos, ou seja, dois grupos de cinco quadrupolos separados por três octopolos e uma lente redonda. Portanto, no total, existem cerca de 16 elementos ópticos que precisam ser ajustados, e alguns deles são eletromagnéticos, outros são eletrostáticos.

Há também corretores que corrigem aberrações fora do eixo, que são as aberrações que dependem tanto do ângulo quanto da posição no plano da imagem. Eles são os chamados comas fora do eixo, e são baseados em um sistema de três hexapolos. Estes foram construídos pelo CEOS e por Gatan. Devo salientar que pelo menos estes sistemas de três hexapolos não são importantes, porque as aberrações fora do eixo não são importantes para o STEM, pois sempre varremos o feixe em torno do eixo óptico.

Então, este é o estado da arte atual (FIGURA 4). O lado esquerdo mostra o microscópio do recorde mundial no ano 2000 d.C., antes do corretor. E este é um instrumento de 1,2 megavolts (MV), com 9,2 metros de altura, 4 metros de largura e cerca de 30 toneladas. E tinha uma resolução um pouco pior que 1 angstrom (\AA). Esta é uma das máquinas do National Center em Harwell no Diamond, que é a versão de 2020. É um instrumento de 300 kV com FEG frio e dois corretores de aberração para a sonda e para o lado da imagem. Isso

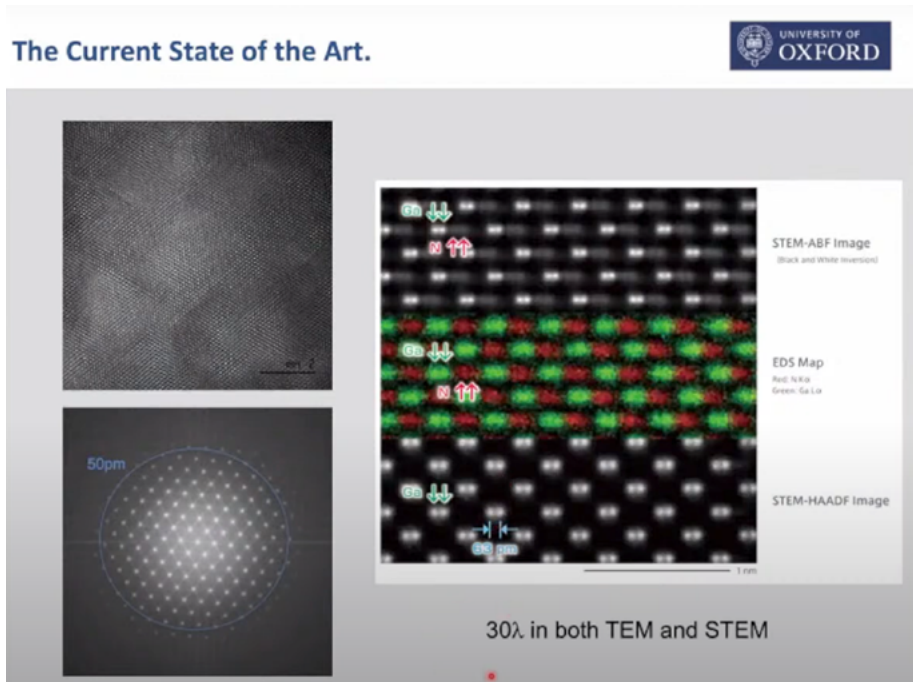
tem uma resolução em algum lugar inferior a 50 metros. Então, uma fração do tamanho, mas, com o advento da correção de aberração, mesmo em tensões intermediárias, estamos obtendo uma resolução que é um tanto melhor do que o dobro da qualidade da melhor máquina não corrigida operando em tensão muito alta.

Figura 4 – O atual estado da arte



Então, isso apenas mostra o estado da arte (FIGURA 5). Esses são dados típicos da TM; é uma folha de silício, e isso mostra o espectro de potência dessa folha de silício. Pode-se ver que há reflexos além de 50 km, então a resolução é um pouco melhor que 50 picômetros (μm).

Figura 5 – O atual estado da arte

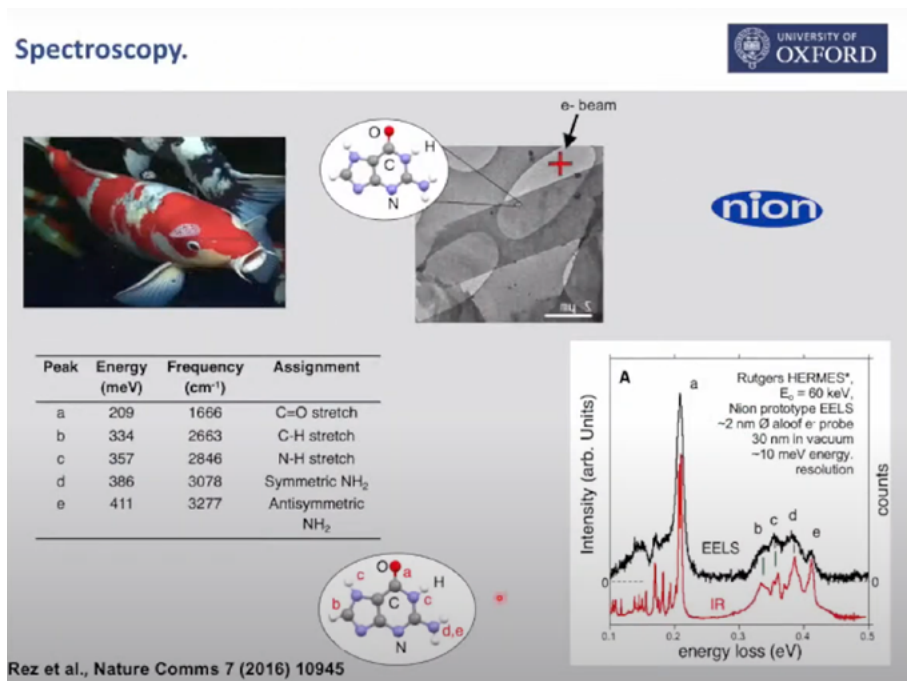


No lado direito, esta é uma amostra de nitrato de gálio; é uma imagem composta. No topo, temos a imagem anular do campo claro, onde se pode ver tanto os gálios quanto os nitrogênios separados por 63 picômetros. No meio há um mapa EDX, e você pode perceber a separação do gálio e do nitrogênio no mapa. Na parte inferior, você tem a imagem ADF convencional. Nesta imagem, os nitrogênios são invisíveis porque se espalham muito fracamente em campos escuros anulares, mas os gálios estão claramente separados a uma distância de 63 picômetros. Então, isso corresponde ao limite que mencionei anteriormente de cerca de 30λ nos modos 10 e também no modo STEM.

Quero passar agora a falar sobre espectroscopia. Nos próximos dois slides do trabalho de Ondrej Krivanek (1950-), que vem construindo uma série de instrumentos monocromáticos muito sofisticados, isso está no canto superior esquerdo (FIGURA 6). Este peixe é uma carpa koi japonesa, um peixe muito raro e caro, e nas escamas deste peixe você verá que existem aminoácidos. Este é um cristal apenas de alanina, e o que a equipe de Ondrej fez foi estacionar seu feixe de elétrons fora do cristal, para não danificá-lo, e acoplar o

feixe de elétrons na região de baixa perda do espectro, que se estende para além do cristal. Como eles tinham agora uma resolução de energia de cerca de 10 milivolts (mV), eles são capazes de registrar essas características de perda muito baixa no espectro de perda de energia, que normalmente seriam completamente obscurecidas pela cauda no pico de perda zero.

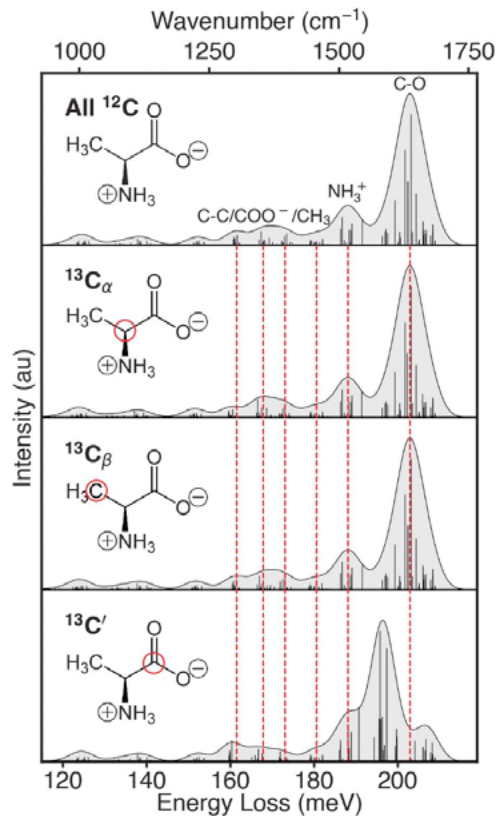
Figura 6 – Espectroscopia



Para uma arma de emissão de campo frio, o pico de perda zero varia entre 350 e 400 mV de largura. E agora o que temos são características na região de baixa perda que combinam muito bem com aquelas que seriam observadas em um espectro infravermelho convencional, e essas características podem ser identificadas como sendo responsáveis pelo estiramento da carbonila, o estiramento C-H, o estiramento N-H, o modo respiratório NH₂ simétrico e também o modo respiratório NH₂ assimétrico. Então, agora você pode começar a mapear os vários estados de ligação neste material orgânico, este aminoácido na forma cristalina. O importante é que agora, embora neste momento a resolução fosse de apenas 10 mV, melhorou, na verdade, algo próximo de quatro nos instrumentos mais

recentes da NEON. Podem ver que combina muito bem com o IR, mas somos capazes de obter esses espectros de IR com uma resolução espacial de cerca de 1 nanômetro (nm). Aqui estão exemplos talvez ainda mais interessantes que vieram de um artigo de Jordan A. Hachtel *et al.* (2019) na *Science* (FIGURA 7), novamente usando instrumentos NEON.

Figura 7 – Sensibilidade isotópica usando EELS



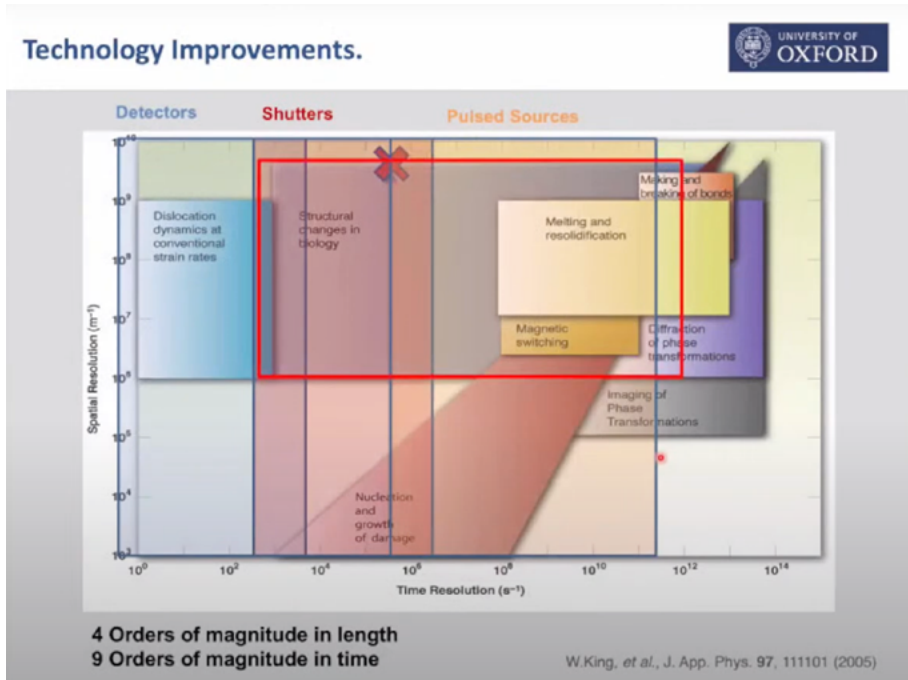
Fonte: Hachtel *et al.* (2019)

E aqui o que eles estão sondando é um sinal que normalmente é completamente invisível na microscopia eletrônica, e esse é o sinal da massa. Então, temos esta molécula orgânica aqui, e este é um exemplo de EELS de baixa perda dessa molécula orgânica. Aqui está o sinal onde se substitui um carbono-13 neste chamado sítio alfa. Aqui está um onde você coloca o carbono-13 neste grupo metil, o sítio beta. E é aqui que colocamos o carbono-13 neste grupo

carbonila, que é o chamado sítio c-prime. O que podemos ver é que, quando substituímos o carbono-13 nesses dois locais, há uma mudança muito pequena, mas quase indistinguível, no espectro. Porém, quando se coloca isso neste agrupamento de ácido carbonil carboxílico, vê-se uma mudança significativa no espectro. Isso porque esta é uma ligação dupla aqui, e, mudando o isótopo, o isótopo de carbono nesta ligação dupla causa uma grande mudança na frequência de alongamento, que é captada nas EELS de baixa perda. Atualmente, com o uso de instrumentos monocromáticos muito sofisticados, pode-se realmente usar o EELS para começar a sondar substituições isotópicas em materiais orgânicos.

Minha última instrumentação é falar um pouco sobre resolução de tempo, e este é talvez o campo menos desenvolvido. O que tracei aqui (FIGURA 8) vem de um artigo originalmente de Wayne King *et al.* (2005). Eu coloquei uma resolução de tempo aqui de um segundo a 10^0 a 10^{14} segundos, e uma resolução espacial de 10^3 metros até 10^{10} metros, isso é 1 angstrom. E acabei de apontar algumas áreas da ciência. Portanto, se você quiser a dinâmica do deslocamento, por exemplo, precisará de uma resolução de tempo muito lenta e apenas de uma resolução espacial modesta. A dinâmica das deslocações, é claro, foi estudada há 50 anos por Peter Herschenko. Se você quiser estudar, por exemplo, confecção e rompimento de ligações ou fusão e recertificação, o tempo de resolução é muito mais rápido e a resolução estrutural é semelhante. Uma coisa interessante que marquei neste quadrado vermelho são as mudanças estruturais na biologia. Estas variam desde resoluções de tempo relativamente lentas, como dobramentos e desdobramentos de proteínas, para movimentos gerais em bactérias, até transições muito, muito rápidas. Então, essas são basicamente reações químicas, acoplamento e desencaixe de proteínas, mudanças conformacionais, esse tipo de coisa, e ocorrem em uma variedade de resoluções espaciais. Por cerca de 1 micrometro (μm), você pode fazer muito trabalho com 1 micrometro, mas também precisa de resolução espacial. Alguns desses processos vão até o nível atômico, entre 1 angstrom e 10 angstroms. Portanto, a biologia abrange um problema muito desafiador. Abrange algo em torno de quatro ordens de magnitude em comprimento e algo em torno de nove ordens de magnitude em tempo.

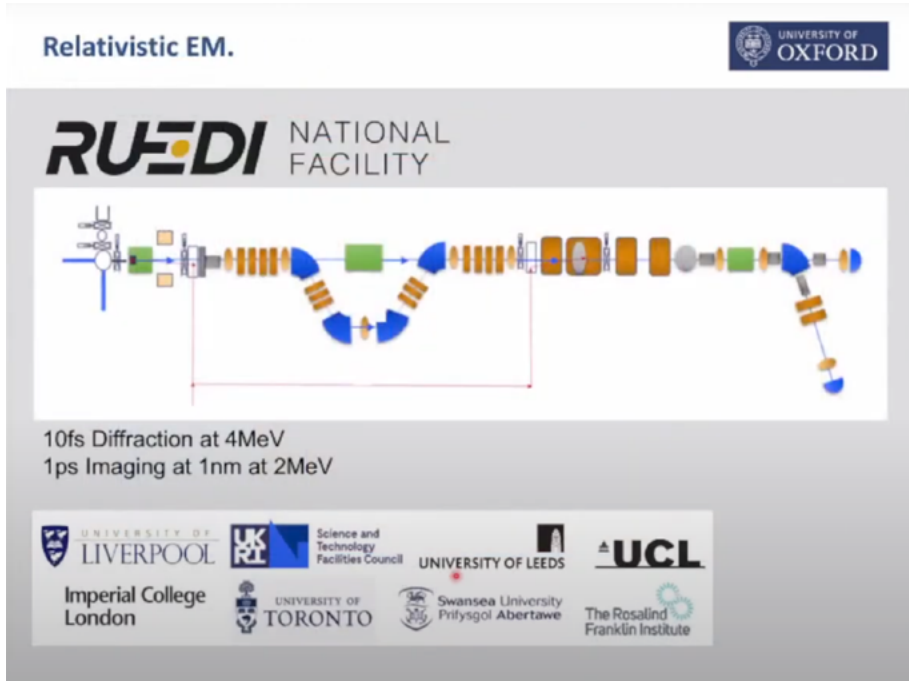
Figura 8 – Melhorias na tecnologia



Estamos no Reino Unido; estamos construindo um instrumento, e este é um diagrama esquemático dele (FIGURA 9), é conhecido como RUEDI, que é o instrumento Relativistic Ultra Fast Electron Diffraction Imaging. Ele será operado em uma instalação nacional e deve ser construído daqui a cerca de seis anos. É basicamente um instrumento de 2 ou 4 MV. Portanto, temos um fotocátodo pulsado no lado esquerdo, temos um acelerador com um compressor na seção intermediária e, a seguir, temos uma série de lentes e detectores no lado direito. E isso funcionará em um estudo de projeto de 10 femtossegundos (fs) no modo de difração a 4 MV e a 1 picossegundo, mas com uma resolução de 1 nm no modo de imagem, mas apenas a 2 MV. Agora, você pode razoavelmente perguntar por que temos que recorrer a energias tão ridículas e também a estes enormes instrumentos. A simples razão é que, em instrumentos de volts intermediários nos quais temos este fotocátodo produzindo um grupo muito denso de elétrons para instrumentos de baixo quilovolt (kV) de algumas centenas de quilovolts, a interação de carga espacial, esse grupo de elétrons, as interações de Coulomb destroem a resolução de energia. E, por causa da presença de aberrações cromáticas na

maioria dos comprimentos em todas as lentes, elas destroem a resolução espacial. Para contornar isso, é necessário tornar os elétrons relativísticos nessas tensões muito altas apenas para mitigar os efeitos da carga espacial.

Figura 9 – EM relativístico

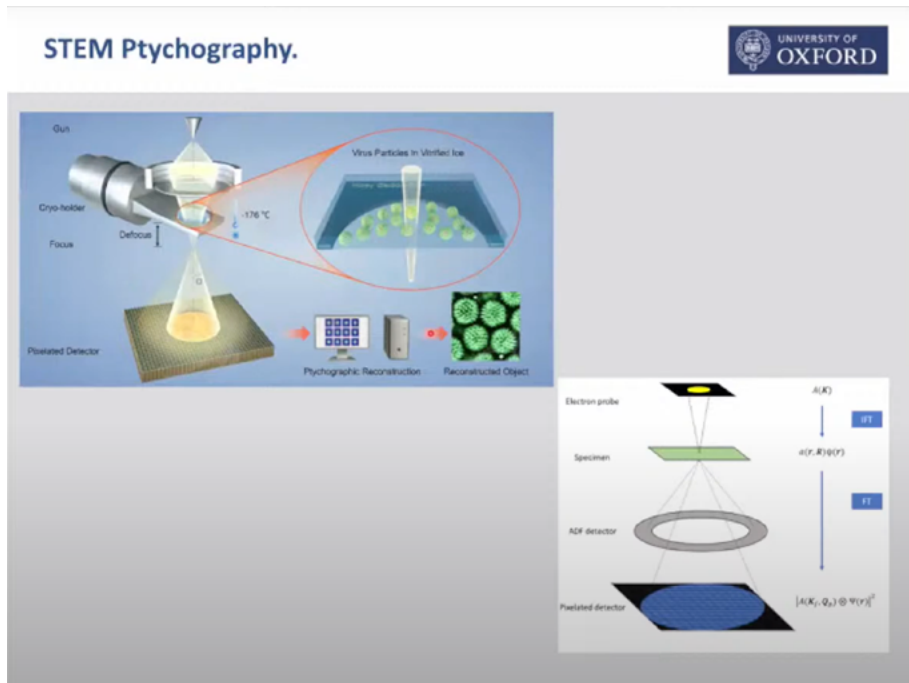


Apenas em termos de escala, este instrumento, desde o fotocátodo até os planos detectores, do lado esquerdo até o lado direito deste documento, terá pouco menos de 19 metros de comprimento.

Quero falar sobre algo que está muito próximo do que meu mecanismo de pesquisa tem sido há cerca de dez anos: métodos de faseamento. Agora, os métodos de faseamento são uma família de métodos diferentes que visam resolver o problema de fase em TM ou STEM convencional. O que registramos é a intensidade da imagem, e perdemos as informações de fase da amostra, e essas informações de fase contêm muitas informações estruturais. Portanto, o que os métodos de faseamento fazem é tentar inverter o processo de imagem e ir dos dados de intensidade para trás até a função de onda do plano de saída da amostra, que é complexa e contém as informações de fase. Agora, existem famílias destes, existem métodos de séries focais, existem

métodos de séries de inclinação (FIGURA 10). O que vou falar hoje é sobre tipografia em modo de transmissão digitalizada.

Figura 10 – Pticografia STEM

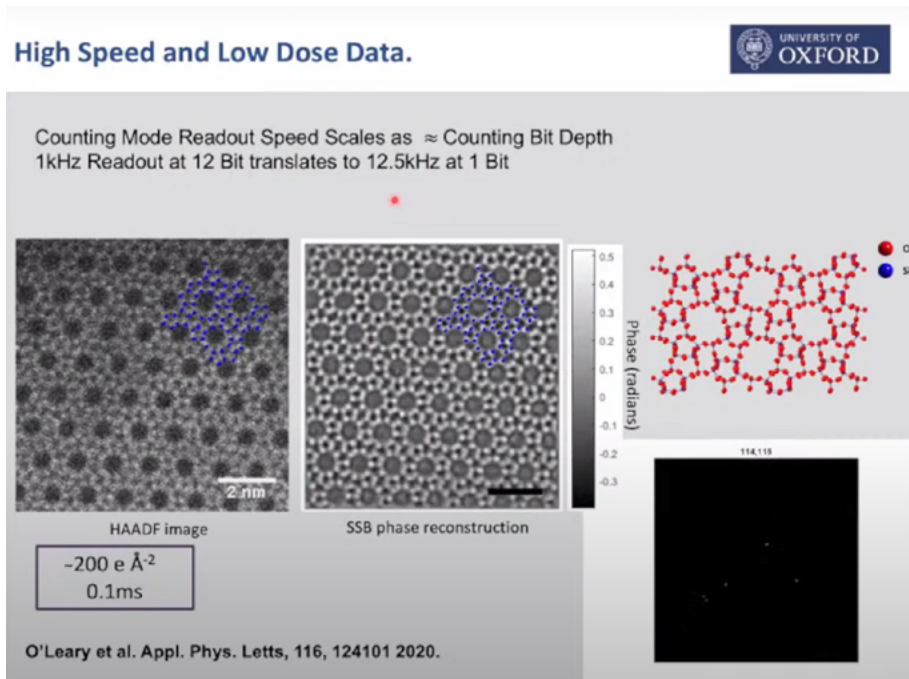


Vou mostrar alguns exemplos de tipografia de testes biológicos. No experimento tipográfico, o que fazemos é digitalizar uma sonda, digitalizar uma sonda que está ligeiramente desfocada na posição da amostra. Em cada posição da sonda, registramos um padrão de difração em um detector pixelizado. Então, o que obtemos é um conjunto de dados quadridimensional, duas dimensões de posição da sonda e duas dimensões de posição de difração no detector pixelizado. Não tenho tempo hoje para fazer as contas, mas, com esse conjunto de dados, agora é possível recuperar a função de onda na superfície de saída da amostra por meio de um dos vários algoritmos computacionais que são nossos mecanismos de reconstrução tipográfica.

Aqui está um exemplo (FIGURA 11): primeiro, isso não é material biológico, é tipografia de baixa dose. Veio da tese de Colin O'Leary, que foi publicada na *Applied Physics Lettersem* 2020 (O'Leary *et al.*, 2020). E um dos problemas com a tipografia é a velocidade. Normalmente, estamos usando um detector pixelizado que lê no máximo,

detectores mais rápidos leem cerca de 1 quilohertz (kHz), enquanto um detector ADF convencional lê algo em torno de 10 a 20 kHz. No entanto, o que Colin mostrou foi que a estrada de contagem atende às escalas de leitura do modo de contagem conforme a profundidade de bits da contagem; o que significa, em outras palavras, se você tiver uma leitura de quilohertz na contagem de 12 bits, isso é o mesmo que uma leitura de 12 kHz em contador de 1 bit. Então isso agora é contagem binária. Espero que você possa ver no canto inferior direito que este é na verdade o disco de campo brilhante em nosso padrão de difração, e os pontos brancos são bits de elétrons individuais. O que precisa ser notado aqui é que esse conjunto de dados é esparsos e, com isso, o que quero dizer é que nenhum pixel recebe estatisticamente mais de um elétron. Por outras palavras, em cada pixel, tudo o que precisamos fazer é contar um ou zero, e isso nos dará toda a informação que precisamos deste disco de campo brilhante.

Figura 11 – Dados de alta velocidade e baixa dose

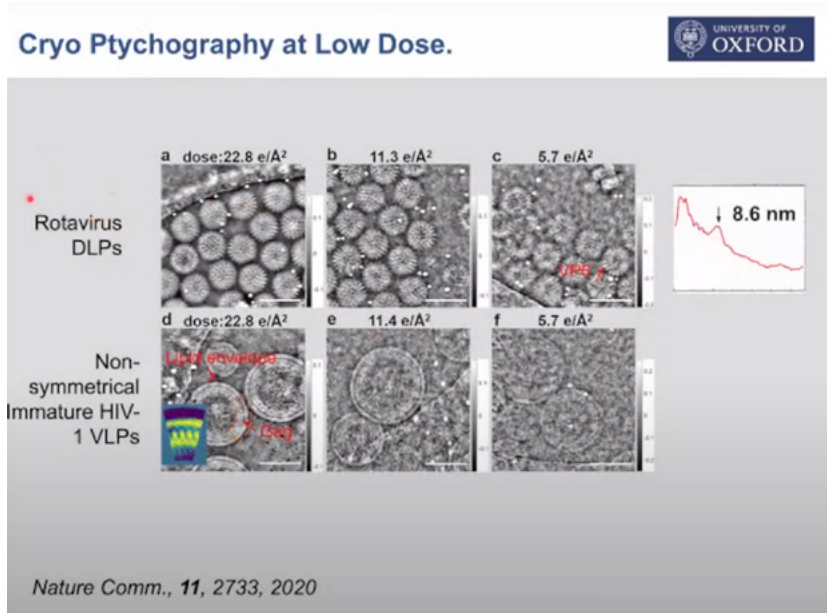


Então aqui está um exemplo da zeólita ZSM-5. Aqui está a imagem anular do campo escuro com 200 elétrons por angstrom quadrado. Você pode ver a resolução razoável da imagem ADF, mas, como essa é uma estrutura de silício-oxigênio, o contraste é bastante baixo e

barulhento. Aqui está a reconstrução da fase tipográfica usando essa aquisição de dados esparsos, e agora você pode ver todos os detalhes, os grandes canais e as posições atômicas. Esses canais em anel de cinco membros estão dispostos em torno da periferia do canal grande, então você tem um mapa estrutural completo desse zeólito complexo com contraste muito alto e resolução muito alta.

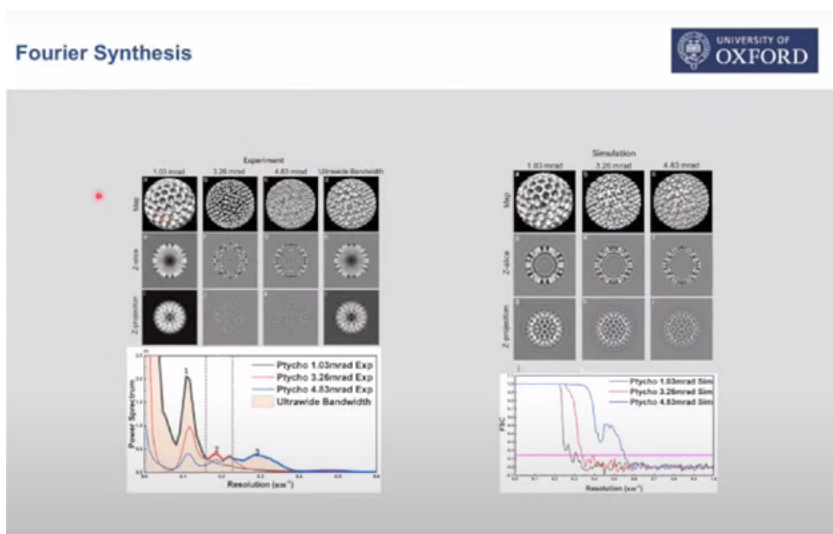
Aqui estão dois exemplos da biologia (FIGURA 12). Observa-se aqui algumas partículas de camada dupla de rotavírus, e veja aqui algumas partículas imaturas não simétricas semelhantes ao vírus HIV. Estes são registrados; esta é uma amostra criogênica congelada com uma dose de 22 elétrons, 11, e depois 5,7. E você pode ver que, mesmo com 5,7 elétrons, pode-se visualizar os trímeros VP6 na parte externa desses DLPs. E, no caso das partículas semelhantes ao vírus HIV, pode-se ver claramente o envelope lipídico de dupla camada. Se você olhar atentamente para esta região aqui, você também pode ver o arranjo da proteína gag, e isso também é visível nessas reconstruções com doses mais baixas. Então, o que isso nos diz é que a tipografia é perfeitamente aplicável em condições de dose muito baixa, perfeitamente adequada para observar materiais biológicos, e também é, na verdade, muito mais eficiente em termos de fase do que a imagem EFTEM convencional.

Figura 12 – Crioptiografia em baixa dose



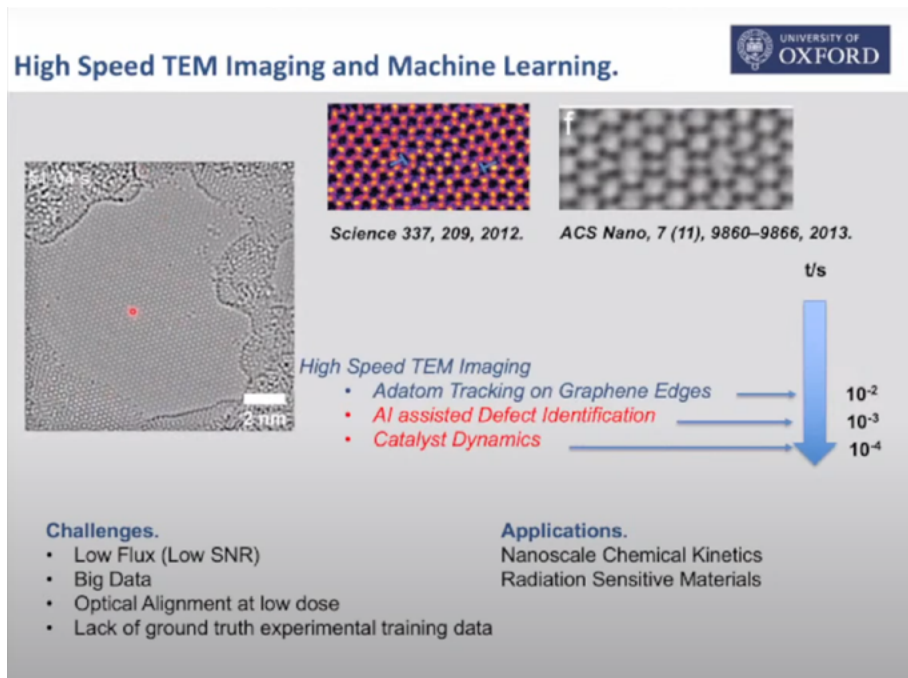
Então usamos essa eficiência de fase agora para fazer algumas análises de partículas únicas (FIGURA 13). Então aqui estão diferentes reconstruções 3D em diferentes ângulos de convergência, e o ângulo de convergência é importante, porque, conforme se altera o ângulo de convergência da sonda na tipografia, a largura de banda da função de transferência é alterada. Portanto, o ângulo de convergência baixo proporciona uma transferência de baixa frequência muito boa. Você pode ver aqui o envelope nesta reconstrução 3D. E, à medida que aumentamos o ângulo de convergência, obtém-se informações com resolução cada vez maior, mas com menos contraste. Então, o que fazemos agora é uma síntese de Fourier destes, e combinamos todos os três ângulos de convergência. Aproveitamos o fato de que a biologia é homogênea, então um DLP é exatamente igual ao outro. E agora, combinamos várias partículas para fornecer uma reconstrução de ampla largura de banda. E essa é a transferência. A cor bege-rosa aqui é a função de transferência para essa reconstrução de ampla largura de banda. Mas o mais importante é que podemos obter esta reconstrução utilizando apenas 200 a 300 partículas em cada um dos ângulos de convergência. Assim, enquanto nas partículas individuais convencionais podemos utilizar dez ou mesmo cem mil partículas, agora utilizamos apenas 200 ou 300 numa série de dois ou três ângulos de convergência. Portanto, é muito mais eficiente e, em princípio, significa que poderemos estudar estes vírus não numa forma purificada e expressa, mas sim num ambiente celular.

Figura 13 – Síntese de Fourier



Quero passar agora para um trabalho que foi feito principalmente por Elena Bayes em Nottingham e Chen Huang, um dos cientistas da minha equipe. Ele envolve o uso de imagens de alta velocidade e inteligência artificial. O sistema que Chen quer ver é uma folha de grafeno monocamada no centro com um pouco de grafeno bicamada e multicamada na periferia (FIGURA 14 – COM VÍDEO). E está decorado com muitos pequenos átomos de silício. O que você pode ver está neste vídeo, há muita coisa acontecendo. Há defeitos se formando e se movendo, há átomos de silício, como podem ser vistos aqui embaixo, que se movem pela superfície. Esta é uma região de bicamada; na verdade está girando, é por isso que o contraste está mudando. Então, muitas coisas estão acontecendo; esta é uma peça muito rica de química que acontece.

Figura 14 – Imagens TEM de alta velocidade e *machine learning*

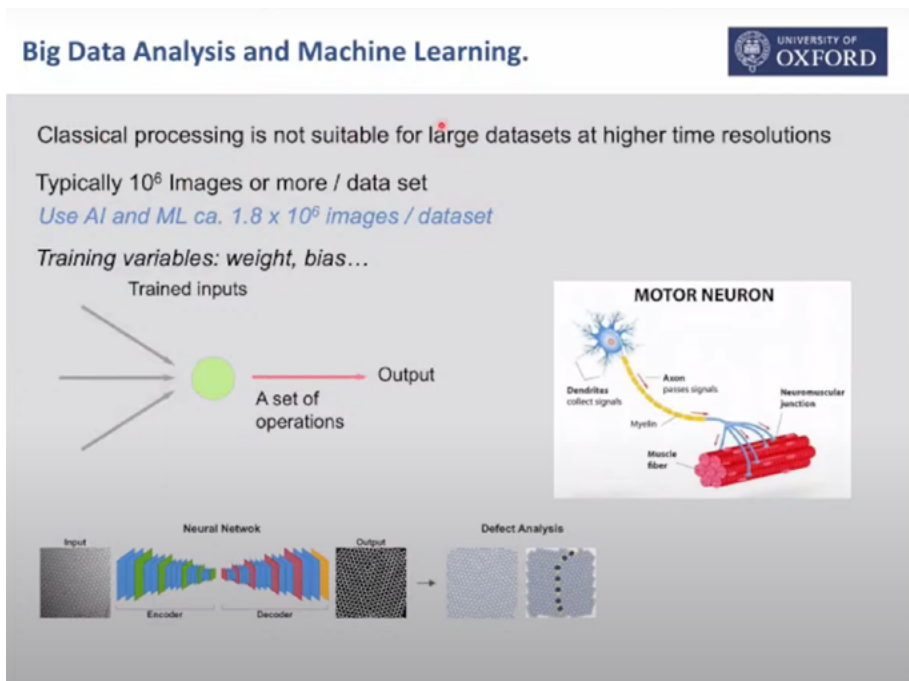


Então, os desafios são que queremos ver se conseguimos realmente obter alguns dados numéricos, alguma informação quantitativa sobre esses vários processos dinâmicos. Entre os desafios está, em primeiro lugar, a física. Essas experiências são de baixo fluxo; elas têm uma relação sinal-ruído muito baixa. O segundo desafio é que é um problema de *big data*. Temos que registrar muitas, muitas

imagens; temos que alinhar o microscópio sob condições de dose muito baixa. Do ponto de vista da inteligência artificial, há uma falta ou escassez de dados de treinamento experimentais verdadeiros. Com isso, quero dizer que não temos muitas imagens experimentais para treinar a rede. Portanto, temos que procurar uma rede que possa ser treinada essencialmente com dados simulados, e foi isso que Chen fez.

Portanto, este é o desafio do *big data*: o processamento clássico não é adequado para grandes conjuntos de dados (FIGURA 15). Normalmente usamos 10^6 imagens ou mais por conjunto de dados. Agora, para uma rede neural funcionar, tenho certeza de que todos vocês sabem, é preciso obter uma série de *inputs* treinados. Nesse caso, são as simulações de imagens, e o que surge após uma série de operações é uma rede codificador-decodificador; você obtém um sinal de saída. E nesse caso, no nosso caso, a saída é uma análise dos nossos defeitos.

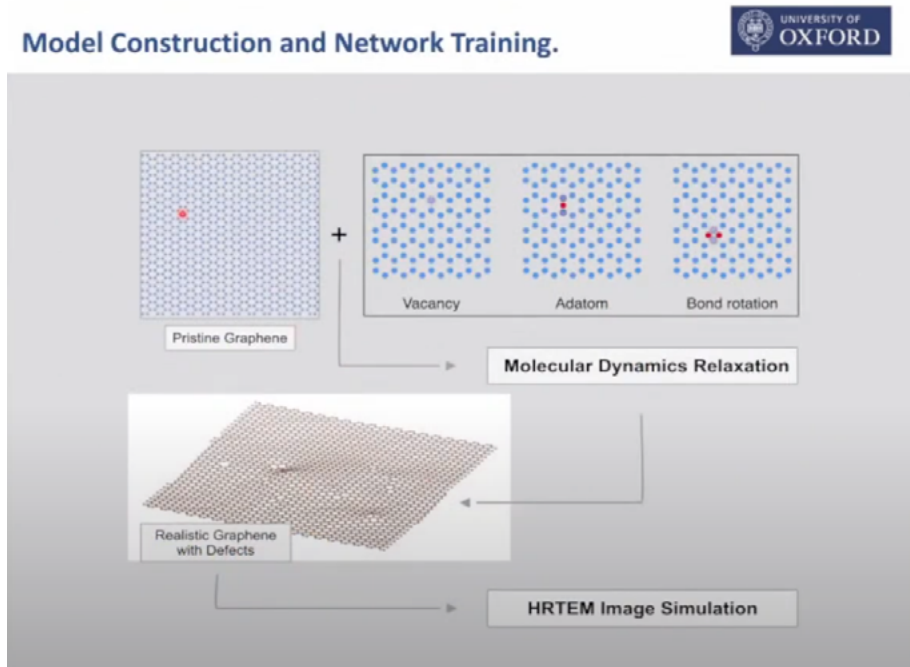
Figura 15 – Análise de *big data* e *machine learning*



Então, o que Chen fez para começar foi construir uma folha, uma folha muito grande de grafeno puro, e percebeu que na verdade

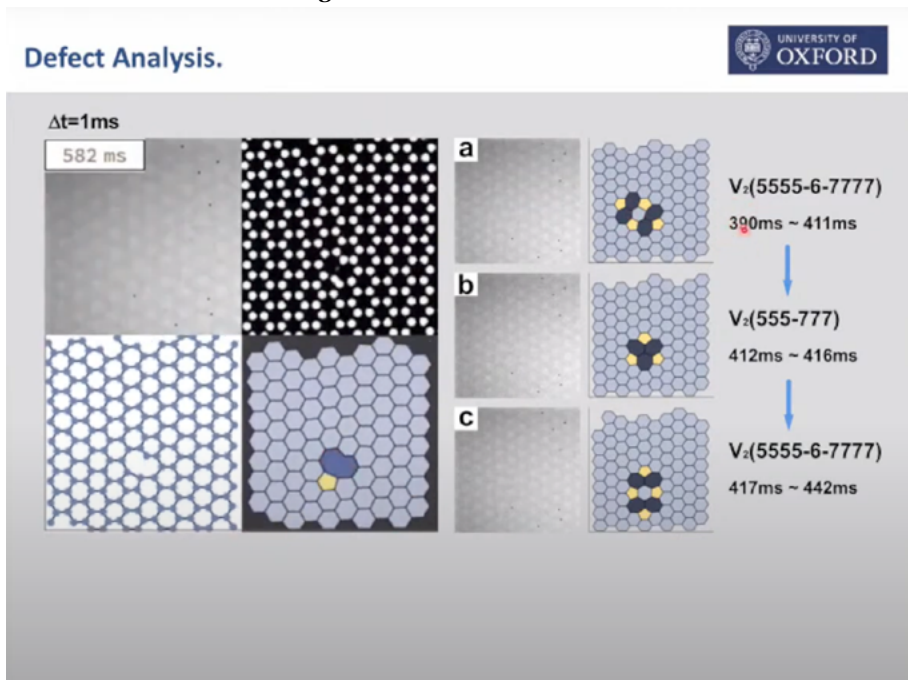
existem apenas três tipos de defeitos geométricos fundamentais no grafeno (FIGURA 16). Existem vagas onde se remove um átomo de carbono; existem defeitos adatômicos aos quais se adiciona um átomo de carbono, e há rotações de ligação nos chamados processos de Stone-Wales, em que se transforma um anel de seis membros em um anel de cinco membros acoplado a uma sala de sete membros. Então Chen inseriu esses três tipos de defeitos aleatoriamente nesta grande folha de grafeno simulado e os usou para treinar a rede. Infelizmente, essa primeira tentativa falha terrivelmente, e a razão pela qual falha é, em retrospectiva, bastante óbvia. Se você colocar esses defeitos apenas geometricamente nesta folha de grafeno, você gerará muitos defeitos não físicos, e a rede tentará aprender a reconhecer defeitos que não existem na natureza. Para resolver isso, o que Chen teve que fazer foi realmente pegar seus defeitos geométricos na folha de grafeno original e usar um código de dinâmica molecular para relaxar aquela folha de grafeno, e o que isso faz é recozer todos os defeitos não físicos para resultar em uma folha de grafeno que contém apenas defeitos realistas.

Figura 16 – Construção de modelo e treinamento de *network*



Em seguida, executamos simulações de imagens TEM de alta resolução, cálculos *multislice* para simular todas essas várias folhas de grafeno defeituosas, e aqui está um exemplo. Estes são os dados brutos; você vê que é muito barulhento (FIGURA 17 – COM VÍDEO). Esta é a saída da rede, que basicamente mapeia as posições do padrão ADF, e aqui está um diagrama mostrando os vários defeitos. Você pode ver que alguns defeitos, como este, duram muito tempo. Outros defeitos são de natureza muito transitória.

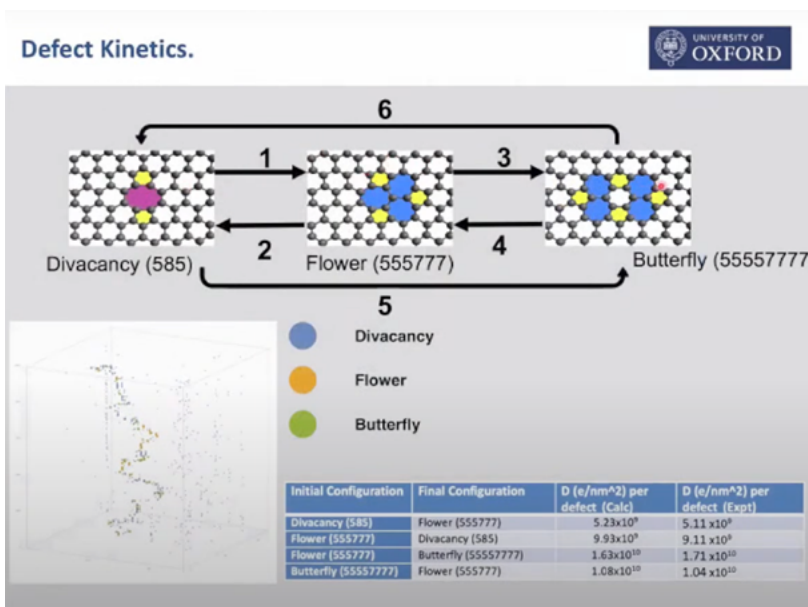
Figura 17 – Análise de defeito



Agora, quero me concentrar em três tipos de defeitos. Este marcado com “A”, cujo nome formal é um tanto chato, nós o chamamos de defeito borboleta. Este aqui é o que chamamos de defeito flor, e este aqui chamamos de defeito borboleta, mas está orientado ao longo do outro eixo da rede 2D do grafeno. E, para cada um deles, pegamos muitos conjuntos de dados; treinamos a rede para reconhecer esses defeitos e calculamos a vida útil — a vida útil média do defeito. Assim, aqui: 390 milissegundos (ms), 412 ms e 470 ms. Então agora temos uma vida inteira para o defeito; conhecemos o fluxo de elétrons com muita precisão; podemos medir a corrente da sonda com muita precisão. Desse modo, sabemos quanta energia é colocada neste defeito ao longo da

sua vida. Portanto, podemos olhar para uma transição. Então este é o defeito de vacância, o defeito flor que mostrei a vocês, e um defeito borboleta, e as transições que levam do defeito de vacância para a flor e da flor para a borboleta, e as transições inversas (FIGURA 18). Há também transições que vão do defeito de vacância até a borboleta, faltando a flor, e também a transição inversa. Este diagrama aqui foi um pouco difícil de ler; são basicamente instâncias. Portanto, o plano aqui, o plano XY, é o espaço da imagem, e o eixo vertical agora é o tempo. O que Chen fez foi mapear a aparência desses três defeitos, sua posição e sua duração em termos de tempo, e agora podemos calcular a energia do defeito em elétrons por nanômetro quadrado por defeito. E aqui estão os números experimentais do lado direito, e o grupo de químicos quânticos de Elena Bayes em Nottingham também é capaz de modelar isso usando código totalmente eletrônico. Eles podem calcular a energia do defeito nas mesmas unidades, e pode-se observar as energias experimentais para esses defeitos e as energias calculadas para essas transições. Então este é o defeito de vacância para a flor, essa é a energia para essa transição, aqui está a de flor para a vacância; você pode ver o experimento e os cálculos combinam extremamente bem. Então, o que agora somos capazes de fazer é, usando microscopia eletrônica, sondar a cinética química local de formação de defeitos e começar a compreender o cenário energético.

Figura 18 – A cinética dos defeitos



O que sempre gosto de salientar neste momento é que este é um bom problema de redução de dados. Começamos com algo em torno de 2 milhões de imagens e terminamos com quatro números. E essa, creio eu, é uma das maneiras pelas quais a microscopia eletrônica vai mudar; já está mudando, mas acho que será acelerado e passaremos, em vez de ter conjuntos de dados de imagens muito grandes, para números muito pequenos de valores numéricos muito precisos para processos específicos.

Finalmente, nos próximos minutos, quero pensar em algumas direções futuras (FIGURA 19). Em primeiro lugar, onde estamos e para onde vamos em termos de resolução espacial? Bem, a resolução espacial em 1972, há 50 anos, era de cerca de meio nanômetro; em 2022, é algo menos de 50 picômetros e não vai melhorar no futuro imediato. E a razão é que a nossa resolução espacial já não é opticamente limitada; é limitada pela física fundamental nas interações do feixe de elétrons, e há duas fontes aqui. O belo artigo de Stephan Uhlemann (2013) e seus colegas de trabalho no SEOS prova que na verdade um dos limites instrumentais agora é esse ruído do campo magnético térmico, o chamado ruído Johnson, causado apenas por pequenas correntes parasitas sendo geradas pelos elétrons rápidos enquanto eles viajam pela coluna. E, em segundo lugar, Dave Muller mostrou recentemente para a tipografia de elétrons que agora é possível obter resoluções que atualmente são limitadas não pela interação do feixe de elétrons com a amostra, mas na verdade pelas vibrações da rede na amostra (Chen, 2021). Então, meu sentimento é em termos de resolução: não veremos grandes melhorias.

Figura 19 – Onde estamos agora e para onde iremos?

Where are we now and where are we going ? UNIVERSITY OF OXFORD

Spatial resolution
 1972 0.5nm
 2022 50pm

Now limited by fundamental physics of electron beam interactions

PRE 111, 046101 (2013)
 Selected for a [Viewpoint in Physics](#)
 PHYSICAL REVIEW LETTERS
 week ending 26 JULY 2013

Thermal Magnetic Field Noise Limits Resolution in Transmission Electron Microscopy
 Stephan Uhlemann,¹ Heiko Mißler, Peter Wenzel, Joachim Zach, and Max Haider
 CEOS Corrected Electron Optical Systems GmbH, Englerstraße 28, 69126 Heidelberg, Germany
 (Received 6 May 2013; published 22 July 2013)

The resolving power of an electron microscope is determined by the optics and the stability of the instrument. Recently, progress has been obtained towards *sub-ångström* resolution at beam energies of 80 kV and below, but a discrepancy between the expected and achieved instrumental information limit has been observed. Here we show that magnetic field noise from thermally driven currents in the conductive parts of the instrument is the root cause for this hitherto unexplained performance phenomenon. We demonstrate that the detectorless effect depends on temperature and is at least weakly on the type of material.

DOI: 10.1103/PhysRevLett.111.046101 PACS numbers: 88.37.Gk, 05.40.Cs, 41.83.Gv

ELECTRON MICROSCOPY
Electron ptychography achieves atomic-resolution limits set by lattice vibrations
 Zhen Chen^{1*}, Yi Jiang², Yu-Tsun Shao¹, Megan E. Holtz^{3†}, Michal Odstrčil^{4‡}, Manuel Guizar-Sicairos⁵, Isabelle Hanke⁶, Steffen Ganschow⁷, Darrell G. Schlom^{1,4,§}, David A. Müller^{1,4,¶}

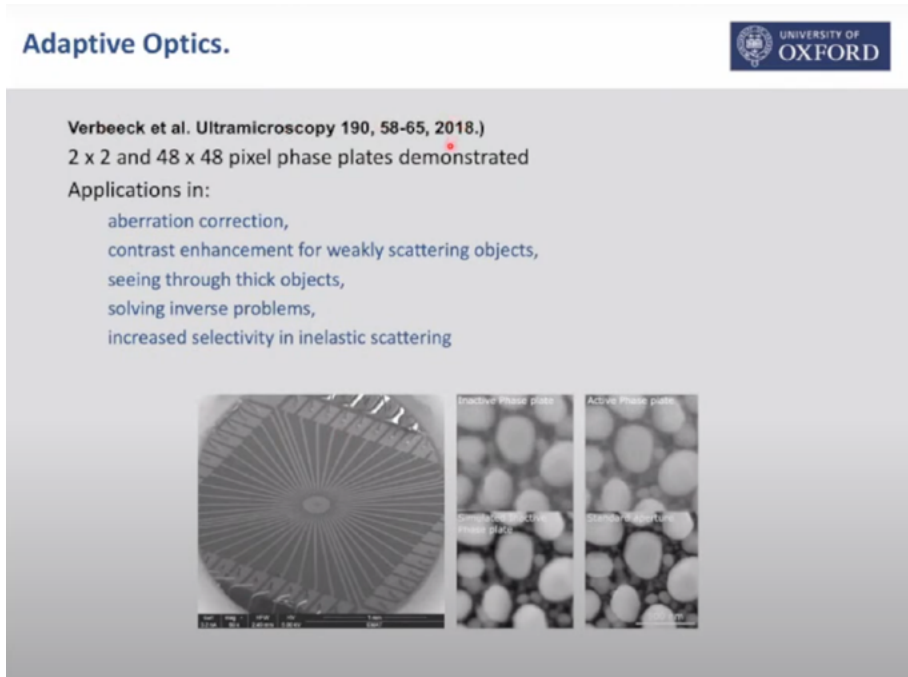
Em termos de resolução energética, em 1972, tínhamos taxas de energia de dois a três elétron-volts (eV); agora em 2022, graças ao trabalho de Ondrej Krivanek, caímos em algo menos de 4 mV, e acho que nos próximos anos, com melhorias nos instrumentos, alcançaremos um valor próximo de 1 mili-elétron-volt (meV), e isso corresponderá à espectroscopia infravermelha de última geração, mas com a vantagem de fazer espectroscopia infravermelha em resolução em escala nanométrica.

Em 1972, a resolução do tempo era medida em segundos; os dados tendiam a ser registrados em filme. Em 2022, teremos temporizações de milissegundos com detectores rápidos e nos aproximaremos da temporização de picossegundos com fontes pulsadas. Como já mencionei, essas fontes de pulso provavelmente serão incluídas em instrumentos relativísticos de imagem de alta energia.

Finalmente, apenas três coisas que pensei em mostrar a vocês e que considero desenvolvimentos particularmente interessantes foram publicadas recentemente (FIGURA 20). Em primeiro lugar, o grupo de Yova Bacon publicou um artigo muito bom em 2018 e depois construiu algumas placas de fase pixeladas. Então, isso é

basicamente construir óptica eletrônica adaptativa, e é possível usá-la para correção de aberrações; usá-la para melhoria de contraste; para olhar através de objetos grossos; para resolver problemas inversos e melhorar a seletividade ao espalhamento inelástico.

Figura 20 – Óptica adaptativa



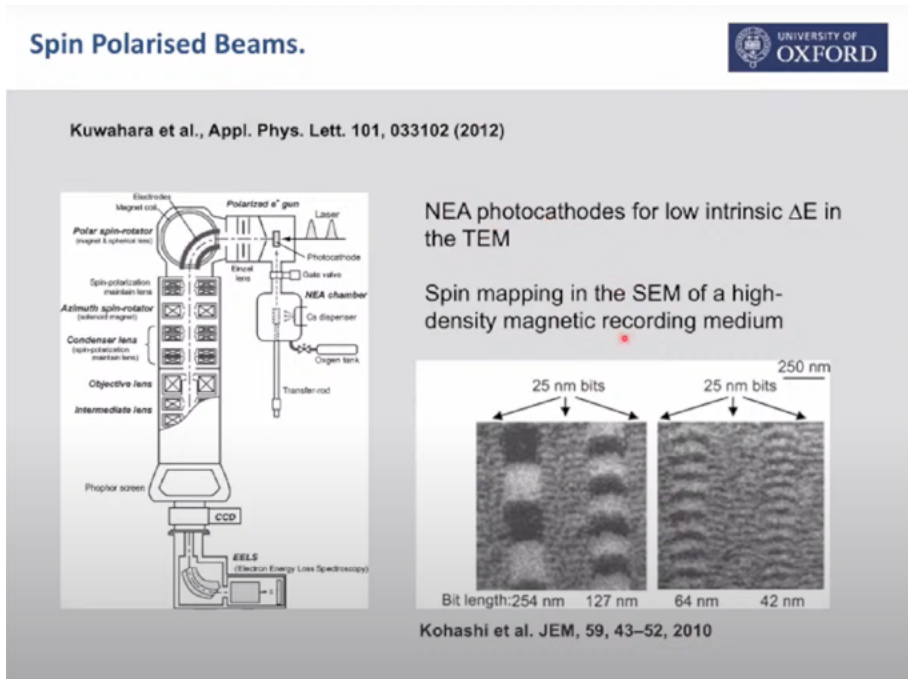
Portanto, você pode fazer todas as coisas na óptica eletrônica que normalmente faria com a óptica adaptativa na óptica de luz. No momento eles são muito pequenos, mas este é um problema de expansão tecnológica, e tenho certeza de que nos próximos anos, ou talvez cinco anos, começaremos a ver tamanhos de matriz utilizáveis dessas placas de fase pixeladas.

Este trabalho do falecido John Spence e seu estudante de pós-doutorado Donatelli (2021) foi publicado pouco antes de sua triste morte em 2021, e é na verdade um marco até o momento. Todos os métodos de faseamento que mostrei nos levam das imagens de volta à complexa função de onda de saída da amostra. O que John e Donatelli conseguiram fazer foi pegar a função de onda de saída e realmente inverter o complexo processo de espalhamento múltiplo e nos levar de volta ao verdadeiro potencial projetado

da amostra. O potencial projetado da amostra é realmente o santo graal para todas as determinações estruturais. Não tenho tempo para entrar em detalhes; este é o artigo que Rods lê, mas basicamente é baseado em projeções entre estrutura e matrizes de espalhamento e, mais importante, funciona mesmo na presença de espalhamento múltiplo significativo.

Meu exemplo final é completamente diferente; é um pouco mais velho. Na verdade, é um trabalho de Kohashi e colegas de trabalho no Japão publicado em 2010 (Kohashi *et al.*, 2010). O que eles fizeram foi usar os chamados fotocátodos de afinidade eletrônica negativa (FIGURA 21). Esses são materiais que possuem afinidade eletrônica negativa, portanto, possuem uma largura de energia intrínseca incrivelmente baixa. Eles os usaram em uma pistola fotocátodo, um laser e um rotador de rotação para produzir um feixe de elétrons polarizados por rotação. Agora, da mesma forma que os monocromadores de Ondrej nos dão acesso a novas informações em termos de sondagem de massa e substituição isotópica, este instrumento nos permite sondar diretamente os estados de spin. Aqui estão algumas estruturas de bits, algumas estruturas de bits de armazenamento, e isso com bits de 25 nm e comprimentos de bits diferentes. Agora, o que estamos investigando aqui, o contraste preto e branco mapeia diretamente o estado de rotação neste meio de gravação magnética de alta densidade. Então agora, em princípio, com o microscópio eletrônico, temos acesso a dados espaciais, dados espectrais e dados químicos através de EELS e EDX. Agora também temos dados isotópicos com esses instrumentos monocromáticos, dados resolvidos no tempo com instrumentos de alta energia e, finalmente, até dados do estado de spin usando um feixe polarizado por spin. Portanto, agora podemos realmente captar todos os sinais que alguém poderia querer para caracterizar completamente um material e abordar o tipo de grande desafio que apresentei logo no início desta palestra.

Figura 21 – Feixe polarizado por spin



Com isso, muito obrigado pela atenção, e se houver tempo, ficarei feliz em tirar qualquer dúvida.

PERGUNTAS

KILDARE MIRANDA:

Muito obrigado, Angus. Então, temos tempo para perguntas. Professor Farina, poderia chegar mais perto?

MARCOS FARINA:

Obrigado por esta maravilhosa conferência. Eu tenho duas perguntas. Uma está relacionada aos métodos de faseamento e a outra à geração de imagens de alta velocidade.

Sobre os métodos de faseamento, existem algumas placas, como placa zenith e placa de volta, e, recentemente, de cavidade ressonante com lasers. Gostaria de saber um pouco mais sobre essas de cavidades ressonantes, e, considerando que esses equipamentos de

crio-TEM são muito caros, seria possível mudar de placa de volta para cavidades ressonantes? Essa é minha primeira pergunta.

ANGUS KIRKLAND:

Essa é uma ótima pergunta!

MARCOS FARINA:

Porque acho que ainda não é comercial, então acho que é um ponto muito importante para quem é usuário. A segunda, acho que você já respondeu no final; você falou sobre detecção de elétrons. Entendo que você disse que os limites agora não são matemáticos; ainda são físicos, porque a interação entre os elétrons e o feixe e a amostra e provavelmente também com os detectores são os fatores limitantes. Está longe do limite teórico ou devemos estudar física ou matemática a partir de agora?

ANGUS KIRKLAND:

Essas são duas perguntas brilhantes, obrigado. Ok, deixe-me começar respondendo à pergunta sobre os métodos de faseamento. Os métodos de faseamento de que falo são métodos que medem a intensidade e invertem o processo de imagem para fornecer uma função de onda complexa. As placas de fase das quais você está falando são dispositivos que adicionam mudanças de fase adicionais à informação do feixe de elétrons, mas ainda assim você registra a intensidade. Então, eles são sutilmente diferentes nesse aspecto. As placas de fase não resolvem o problema da imagem inversa.

Em termos de especificidade, existem, como sabem, várias empresas comerciais que estão a promover diferentes placas de fase, ou, como você diz, ou estas são as placas de fase volta ou as placas de folha de carbono de fase três, e mais recentemente, placas acionadas por laser. Os painéis frontais movidos a laser, creio eu, ainda não são uma tecnologia totalmente madura. Posso ver muitas vantagens neles, principalmente em termos de estabilidade da mudança de fase, porque agora isso só é definido pelo *jitter* do laser, e o *jitter* do laser é muito pequeno. A dificuldade é conseguir esses espelhos minúsculos necessários para direcionar o laser no caminho do feixe de elétrons até o microscópio. Só de olhar para os documentos que vi sobre eles, eles parecem impressionantes; eles parecem inerentemente mais complicados do que volta ou a placa de fase livre de carbono. Então, minha suspeita é que serão uma opção muito mais cara, mas isso é apenas meu palpite, e é uma espécie de decisão comercial dos fabricantes.

Em termos de física, penso que no que diz respeito à resolução, passamos os últimos 50 anos a perseguir a resolução. Então, a cada ano, alguém tem uma resolução um pouco melhor. Mas agora estamos num regime nas ciências físicas para materiais resistentes à radiação. Estamos no limite em que a física fundamental básica, que não podemos mudar, está limitando nossa resolução. Portanto, não haverá nenhum grande desenvolvimento de instrumentos com o qual subitamente passaremos de 45 picômetros para 10 picômetros, porque há alguma física no caminho, e não podemos mudar isso. É claro que na crio-EM há mais escopo, mas aí a resolução é realmente limitada pelos danos da radiação, geometria de varredura alternativa, e detecção compressiva de varredura esparsa. Isso é basicamente um problema matemático. Eles podem muito bem oferecer vantagens para levar a resolução crio-EM até o limite que temos nas ciências físicas.

MARCOS FARINA:

Existem alguns artigos recentemente que produzem *faceplates* específicos para projetos. E então, é claro, você precisa corrigir a interferência causada pela fonte FEG com o software. Deveria ser interessante, por exemplo, se você deseja analisar uma faixa específica nas frequências espaciais? Você pode projetar um painel específico para colocar no plano objetivo etc. Deve ser interessante?

ANGUS KIRKLAND:

Sim, acho que está certo. Acho que a solução para isso pode muito bem ser a óptica adaptativa que mostrei no final, porque a óptica adaptativa é uma série de pequenos dispositivos pixelados de mudança de fase dispostos em uma matriz. E, dependendo da voltagem, eles são eletrostáticos. Dependendo da voltagem que você coloca neles, você pode controlar a fase em cada pixel. Mas essa pode muito bem ser uma geometria alternativa para estas placas de fase. Mas acho que placas de fase, dispositivos de mudança de fase e óptica adaptativa, em geral, serão uma área de atividade de pesquisa bastante significativa nos próximos talvez dez anos ou mais.

MARCOS FARINA:

Ok, muito obrigado.

ANGUS KIRKLAND:

O prazer é meu.

KILDARE MIRANDA:

Angus, tenho uma pergunta sobre o trabalho de tipografia em amostras biológicas. Então, fiquei realmente impressionado ao ver que você desce de milhares de moléculas para algumas centenas. Então, como as empresas e os grupos focados em crio-EM estão olhando para a abordagem da tipografia?

ANGUS KIRKLAND:

Publicamos um artigo em 2020 na *Nature*, e Richard Henderson falou comigo depois e disse que achava que isso poderia ser potencialmente muito importante. Mas pensamos que a área em que isso é muito importante é observar as proteínas, por exemplo, num ambiente celular. Assim, em vez de purificar a proteína, expressá-la, multiplicá-la, podemos realmente observar os níveis celulares de proteínas em concentrações muito baixas. A outra vantagem da tipografia é que ela realmente recupera, por razões para as quais não tenho tempo, ela realmente cobre a função de onda tridimensional. Então, em princípio, você pode cortar a função de onda e jogar fora qualquer fatia que não contenha proteína.

Então, chamamos isso de afinamento do gelo computacional e estamos bastante confiantes de que seremos capazes de quebrar facilmente o limite clássico de 50 quilodaltos (kDa) para a crio-TEM convencional. Portanto, tipografia consiste em um pequeno número de coisas nas células, mas também em proteínas ou fragmentos de proteínas muito pequenos. Então, isso é uma espécie de observação deste espaço. Temos equipes de pessoas fazendo esse trabalho neste momento.

KILDARE MIRANDA:

Ok, e eu tenho mais uma pergunta, minha pergunta mais filosófica sobre o desenvolvimento da nossa área, relacionada aos preços dos instrumentos, ao custo dos instrumentos e aos acessórios. Como você enxerga a limitação que isso impõe? Então, vemos que aumentamos a velocidade de resolução de tudo, mas dos preços também. E como isso limita o desenvolvimento da própria microscopia?

ANGUS KIRKLAND:

Acho que é uma boa pergunta, e estou no momento no electron Physical Science Imaging Center, que faz parte do síncrotron do Reino Unido. E o que acho que acontecerá é que primeiro veremos esses instrumentos de ponta, que são muito caros. Eles são

semelhantes ao custo de um síncrotron com linha de feixe ou até um pouco mais caros. O que veremos são estes instrumentos de alta qualidade concentrados em instalações nacionais e, esperançosamente, operados 24 horas por dia, sete dias por semana. Acredito que, para um departamento universitário individual ou para uma universidade no Reino Unido, certamente, está ficando muito difícil fazer manutenção, manter e operar esses instrumentos com esses enormes níveis de custos. Então, acho que a transição filosófica para a microscopia eletrônica será que passaremos de uma ciência de pequena escala para uma ciência de grande escala. E os cientistas de grande escala operam de uma forma completamente diferente.

KILDARE MIRANDA:

Temos perguntas do YouTube? Ok, então, se não, Angus, agradecemos novamente muito, muito mesmo pela sua palestra e pelo seu tempo aqui conosco. Foi realmente maravilhoso.

ANGUS KIRKLAND:

Foi um prazer e espero poder encontrar alguns dos meus colegas e amigos brasileiros num futuro não muito distante. Obrigado.

REFERÊNCIAS

CHEN, Z.; JIANG, Y.; SHAO, Y-T.; HOLTZ, M. E.; ODSTRČIL, M.; GUIZAR-SICAIROS, M.; HANKE, I.; GANSCHOW, S.; SCHLOM, D. G.; MULLER, D. A. Electron Ptycography Achieves Atomic-Resolution Limits Set by Lattice Vibrations *Science*, [s. l.], v. 372, n. 6544, p. 826-831, 21 May 2021.

HACHTTEL, J. A.; HUANG, J.; POPOVS, I.; JANSONE-POPOVA, S.; KEUM, J. K.; JAKOWSKI, J.; LOVEJOY, T. C.; DELLBY, N.; KRIVANEK, O. J.; IDROBO, J. C. Identification of Site-Specific Isotopiclabels by Vibrational Spectroscopyin the Electron Microscope. *Science*, [s. l.], v. 363, n. 6426, p. 525-528, 1 Feb. 2019.

KING, W. E.; CAMPBELL, G. H.; FRANK, A.; REED, B.; SCHMERGE, J. F.; SIWICK, B. J.; STUART, B. C.; WEBER, P. M. Ultrafast Electron Microscopy in Materials Science, Biology, and Chemistry. *Journal of Applied Physics*, [s. l.], v. 97, n. 11, 1 June 2005.

KOHASHI, T.; KONOTO, M.; KOIKE, K. High-Resolution Spin-Polarized Scanning Electron Microscopy (Spin SEM). *Journal of Electron Microscopy*, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 43-52, Feb. 2010.

KUWAHARA, M.; KUSUNOKI, S.; JIN, X. G.; NAKANISHI, T.; TAKEDA, Y.; SAITOH, K.; UJIHARA, T.; ASANO, H.; TANAKA, N. 30-Kv Spin-Polarized Transmission Electron Microscope with Gaas-Gaasp Strained Superlattice Photocathode. *Applied Physics Letters*, [s. l.], v. 101, n. 3, 16 July 2012.

O'LEARY, C. M.; ALLEN, C. S.; HUANG, C.; KIM, J. S.; LIBERTI, E.; NELLIST, P. D.; KIRKLAND, A. I. Phase Reconstruction Using Fast Binary 4D STEM Data. *Applied Physics Letters*, [s. l.], v. 116, n. 12, 23 Mar. 2020.

SPENCE, J. C. H.; DONATELLI, J. J. Inversion of Dynamical Bragg Intensities to Complex Structure Factors by Iterated Projections. *Ultramicroscopy*, [s. l.], v. 222, Mar. 2021.

UHLEMANN, S.; MÜLLER, H.; HARTEL, P.; ZACH, J.; HAIDER, M. Thermal Magnetic Field Noise Limits Resolution in Transmission Electron Microscopy. *Physical Review Letters*, [s. l.], v. 111, n. 4, 26 Jul. 2013.

ORIGINAL

KILDARE MIRANDA:

So, we start on a new chapter in the Chair on Imaging, delving into the microscopy world. It's our great pleasure to welcome professor Angus Kirkland as one of our speakers.

Professor Kirkland is one of the main authorities in microscopy worldwide. He earned his master's and Ph.D. degrees from the University of Cambridge and, in our specific field, from the University of Oxford in 2003. He has held various positions, mainly as a professor in Materials at Oxford since 2005 and as an electromicroscopy professor since 2013.

In 2016, he was appointed as director at the National Physical Sciences Imaging Center at the Diamond Light Source. Closer to our biosite, he's a Science Director at the recently established Rosalind Franklin Institute. At Diamond Light Source, his current research interests focus on quantitative phasing methods, aberration-corrected high-resolution transmission electron microscopy, the development of directed electron detectors, and computational image processing to enhance resolution in transmission electron microscopy.

He was awarded a number of awards, including the MSA award in 2005, Rose award in 2015, Cardinal European Microsoft Site award in 2016, and the Harvard Meadow for Electron Microscopy in 2017. Currently, Professor Kirkland holds the esteemed position of President of the International Federation of Societies for Microscopy, the premier society dedicated to microscopy activities worldwide. Elected as president in 2018, it is an honor to note that the Brazilian community voted for him.

So, our president Angus, thank you very much again for accepting our invitation. Now he will be sharing insights on the future of electron microscopy over the next 50 years. Thank you once again, Angus; the stage is now yours.

ANGUS KIRKLAND:

Thank you very much, and thank you to all my colleagues and friends in Brazil for inviting me. I know this is an auspicious day

in Brazil, as Anna was saying, but also an auspicious moment for the Brazilian society, which celebrates a significant anniversary. I only have to apologize at the start. In a normal world we used to live in in 2019, I would have happily travelled to Brazil to meet up with some friends and colleagues in three dimensions. But unfortunately, in this immediately post-pandemic world, you'll have to make do with a two-dimensional version of me. But let's hope that in the future, in a not very distant future, we can all meet again in person.

What I want to do today is just talk through my own perspectives on significant advances in electron microscopy that have happened in the last 50 years and to offer some thoughts on what might happen in the next 50 years. Of course, one of the nice things about offering a retrospective and a prediction over the next 50 years is that in 50 years' time I won't be around to see if I was correct or not. So I can say pretty much anything I like, and you won't be able to come and find me in 50 years' time.

This has been a collaboration across three institutes that I'm involved with. Firstly, my group in the Materials Department in Oxford. Secondly, my team of staff scientists in the Rosalind Franklin Institute. And finally, staff scientists and postdocs in ePSIC, that's the Imaging Center of Diamond Light Source. And we've been very lucky. We've had extensive collaborations with Diamond and Rosalind Franklin, but also with funding from CERN, from quantum detectors, from JAIL, and also from our UK Engineering and Physical Sciences Research Council.

So today, I've broken my talk up into four areas. These are four things that I think have been important and have made significant changes to the way in which we carry out electron microscopy and the sort of data that we can get. So I'm going to review the current state of the art in these areas.

First, the instrumentation, and I particularly want to talk a little bit about aberration correction and electron sources, and particularly monochromators. I want to talk about phasing methods, something I've been very actively involved with in the last ten years or so, together with my group. I want to give you an illustration of something that's becoming very important at the moment, but it's still in its infancy: very high-speed imaging and the use of artificial intelligence to deal with large datasets. And then some thoughts on

what we might expect to see in the future. I've taken some examples from the literature and added to those my own thoughts on how things might evolve and change.

So, first let's talk about instrumentation, and this is a favorite slide of mine. It's a statement that Laurie Marks made some years ago, and it really is the grand challenge for electron microscopy: if we know where the atoms are, if we know how they're bonded (that's spectroscopic information), and if we know how they move (this is the time resolution, the temporal domain), then we can characterize entirely any known material.

Now, in electron microscopy terms, there are five things we need to do: we need very high spatial resolution because we need to know where the atoms are very precisely, and, in particular, in electron microscopy, we need to know where they are at defect sites. We need high energy resolution because that tells us something about the bonding characteristics of the material, and for that, we need to use monochromators. We need high temporal resolution. This is a field that is not as advanced, and I'll say something later about a big UK project building a very high-speed microscope. But we need either pulsed electron forces, so photocathodes, or we need very fast electron detectors. Finally, we need high detection sensitivity. We want to be able, for many important materials, including all of those in biology, to work at very low flux levels and very poor signal to noise. And one of the big advantages here has been the development of fast direct detectors for electrons. Of course, that development of fast direct detectors was a major contribution to the 2017 Nobel Prize in cryo-EM.

Finally, we need to build controlled environments. We want to be able to look at materials in their native state, in the native environment, rather than just simply in a high vacuum. And for that, we need to build cryo cells, liquid cells, and gas cells that mimic the in-situ or mimic the in vivo environment of our materials.

So, this is a slide I'm sure you've all seen before (FIG. 1). It's a slide that originally came from Harald Rose, and it just shows how microscope resolution has evolved since the 1800s. This fight actually stopped in 2004, but it now can be carried on to 2020 over the span, therefore, of about 200 years. And what you notice is, back in the 1800s, the first light microscopes were built, and very quickly over the space of about 80 or so years, they've

rapidly reached a resolution limit of λ , that's the diffraction limit, and that's, of course, encapsulated in the theories of Ernst Abbe. Some time later, in the early 1900s, the first electron microscopes were built by Ernst Ruska (1906-1988) and Max Knoll (1897-1969), and very quickly they exceeded the λ , the diffraction limit for light microscopy. That resolution then increased rapidly in the same way that light microscopes had increased rapidly, but you notice that in about the year 2000, the resolution was starting to plateau, and it was plateauing a value not of λ but of something close to 100 λ . And the reason for that was simply that we were running into the limits of the uncorrectable aberrations in round electromagnetic lenses. So, the third part of this graph, the red line here, now shows aberration correction. You can see once again rapidly beat the 100 λ limit, and now the limit is somewhere between 25 and 30 λ for the best aberration-corrected instruments. That spot there just represents the resolution limit of one of the machines we have here, a JEM-ARM, a 300-kilovolt (kV) cold-fed machine which has double aberration correction. So, the current state of the art is we're at about somewhere in the 25 to 30 λ limit. I'll say more about whether we can beat that limit and improve things further right at the end of the talk, but just bear in mind that at the moment the resolution limit is about 30 λ , which at 300 kV equates to something like 45 nm.

Now, I want to say something about aberration correction because a lot of people assume that aberration correction is a very new field. In fact, it's not. This is a diagram that was taken from Hardy's Ph.D. thesis at the University of Cambridge in 1967 (FIG. 2). He worked alongside Deltrap, and they published a paper in 1964 at the European Congress showing successful Cs and Cc correction. And the way they did this was they built a crossed electric and magnetic quadrupole system. So, this cross in the middle" are the four electrostatic electrodes, and here are the four crossed electromagnetic coils, and this acts as a first-order Veeam filter. They add an additional round lens component, and you can see here that they were able. This diagram here" is at 10 kilovolts (kV), so this is basically a very low-resolution image of some holes in a gold foil. And what they did was they changed the energy from 10 kV and they added an offset of 500 volts (V) to that, and you can see with no correction, you get a big defocus due to the chromatic aberration, and, when you turn the corrector on, the image

stays essentially constant. So, even in 1964, there were reports of aberration correction. Now you might reasonably wonder why it took so long before these instruments became mainstream, and the simple problem was accurate control of the power supplies to very high precision and sophisticated computer algorithms to align the elements of the correctors.

So, this is a typical modern corrector (FIG. 3). This is actually a two hexapole corrector built by SEOS. There's a picture down in the bottom right of the corrector, of the two corrector elements, taken from the top. Here's a cross-section of a column containing the corrector. The objective lens is up at the top here; the sample goes in the mid-plane. Here you can see it, and this is the corrector underneath.

This corrector consists of a number of optical elements, but the important ones are two sextipoles, two six-fold rotationally symmetric lenses, together with two transfer doublets. What happens is the back focal plane, that's where my pointer is at the moment, of the objective lens is transferred into the center of the first hexapole by this transfer doublet. Then it is transferred again with a rotation of 180, so this is a magnification of minus one into the center of the second hexapole. The way that this correction works is the hexapoles—the primary aberration of a hexapole or sextipole is a threefold astigmatism. So, it turns a spot into a three-pointed star. But because these hexapoles are arranged anti-symmetrically because of the round lens transfer, the three-pointed star points up in the first hexapole and down in the second hexapole. The primary aberration cancels.

Now, for reasons I haven't got time to go into now, because these hexapoles are separated in space, they generate a parasitic aberration. That parasitic aberration is actually round; you can see it here. It's the green part here, it's round, and it has the same angular dependence as the spherical aberration but with a negative sign. So, in essence, what this corrector does is it cancels its own primary aberrations and generates a secondary aberration which is a negative C_s , and we can adjust this. Now, the negative C_s and the corrector perfectly compensate for the positive C_s in the objective lens.

As soon as this corrector was first proposed and built back in 1997-1998, there have been many more correctors built. This is the one I showed you, that's the original hexapole corrector from

SEOS. There was also, at the same time, a quadrupole-octupole based corrector built by Andrei Pravarnek and now commercialized by NEON. There are correctors based on chromatic aberration correction which require crossed electromagnetic quadrupoles, essentially an updated and more sophisticated version of the original DELTARAP corrector. There are correctors that correct both chromatic and spherical aberration that have been built by CEOS, and they consist of very complicated elements. They've got two quadrupole quintuplets, so two groups of five quadrupoles separated by three octopoles and a round lens. So, in total, there are something like 16 optical elements which all have to be adjusted, and some of these are electromagnetic, and some are electrostatic.

There are also correctors that correct off-axial aberrations; these are the aberrations that depend on both the angle and also the position in the image plane. They are the so-called off-axial comas, and these are based on a three-hexapole system. These have been built by both CEOS and by Gatan. I should point out that the STEM work, at least these three-hexapole systems are not important because the off-axial aberrations are not important to STEM, as we always scan the beam around the optic axis.

So, this is the current state of the art (FIG. 4). The left-hand side shows the world-record microscope back in the year 2000 BC, that's before the corrector. And this is a 1.2-megavolt instrument, it's 9.2 meters tall, 4 meters wide, and it weighs something like 30 tons. And it had a resolution just worse than 1 angstrom. This is one of the machines at the National Center at Harwell at Diamond, which is the 2020's version. It's a 300-kilovolt instrument with a cold FEG and two aberration correctors for both the probe and the image side. This has a resolution somewhere just less than 50 meters. So, a fraction of the size, but, with the advent of aberration correction, even at intermediate voltages, we're getting a resolution that's something somewhere better than twice as good as the best ever uncorrected machine operating very high voltage.

So, this just shows the state of the art (FIG. 5). This is typical TM data; it's a silicon foil, and this shows you the power spectrum of that silicon foil. You can see there are reflections all the way out beyond 50 kilometers, so resolution's slightly better than 50 picometers.

This is a sample of gallium nitrate; it's a composite image. At the top, we have the annular bright field image where you can see both

the galliums and the nitrogens separated by 63 picometers. In the middle is an EDX map, and you can just make out the separation of the gallium and nitrogen in the EDX map. At the bottom, you have the conventional ADF image. In this image, the nitrogens are invisible because they're very weakly scattering for annular dark fields, but the galliums are clearly separated at a distance of 63 picometers. So, this corresponds to the limit I mentioned earlier of about 30λ in both 10 and also in STEM modes.

I want to move on now to talk about spectroscopy. In the next two slides of work taken from Ondrej Kravonek (1950-), who has been building a series of very sophisticated monochromated instruments, this is at the top left (FIG. 6). This fish is a Japanese koi carp, a very rare, very expensive fish, and in the scales of this fish, you will see that there are amino acids. This is a crystal just of alanine, and what Ondrej's team did was they parked their electron beam just outside the crystal, so as not to damage it, and coupled the electron beam into the low-loss region of the spectrum, which extends out beyond the crystal. Because they had an energy resolution now about 10 millivolts, they're able to record these very low-loss features in the energy loss spectrum, which normally would be completely shadowed by the tail in the zero-loss peak.

For a cold field emission gun, the zero-loss peak is tipping somewhere from 350 and 400 millivolts wide. And now what we have is characteristic features in the low-loss region which match very well to those you would see in a conventional IR spectrum, and you can identify these features as being responsible for the carbonyl stretching, the C-H stretch, the N-H stretch, the symmetric NH_2 breathing mode, and also the asymmetric NH_2 breathing mode. So, you can now start to map out the various bonding states in this organic material, this amino acid in crystalline form. The important thing is now, although at this point the resolution was only 10 millivolts, it's now improved, in fact, something close to four in the latest instruments from NEON. You can see it matches very well to the IR, but we're able to take these IR spectra at a spatial resolution of about one nanometer. Here are perhaps even more exciting examples that came from a paper by Jordan A. Hachtel *et al.* (2019) in *Science* (FIG. 7), again using NEON instruments.

And here what they're probing is a signal that's normally completely invisible in electron microscopy, and that's the signal of mass. So, we have this organic molecule here, and this is

an example of the low-loss EELS from that organic molecule. All the carbons of carbon-12, here is the signal where you substitute a carbon-13 onto this so-called alpha site. Here's one where you put the carbon-13 on this methyl group, the beta site. And here's when we put the carbon-13 onto this carbonyl group, or this actually is an acid group, which is the so-called c-prime site. What you can see is when you substitute carbon-13 on those two sites, there's a very small but almost indistinguishable change in the spectrum. But when you put it onto this carbonyl carboxylic acid grouping, you see a significant change in the spectrum. That's because this is a double bond here, and changing the isotope, the carbon isotope in this double bond makes a big change to the stretching frequency, which is picked up in the low-loss EELS. So, what you can now use EELS through these very sophisticated monochromated instruments is you can actually use EELS to start to probe isotopic substitutions in organic materials.

My final piece of instrumentation is to talk a little bit about time resolution, and this is perhaps the field that is less well developed. What I've plotted here (FIG. 8) comes from a paper originally by Wayne King *et al.* (2005). I put a time resolution here from a second out to 10^0 to 10^{14} seconds and spatial resolution from 10^3 meters up to 10^{10} meters, that's 1 angstrom. And I just pointed out a couple of areas of science. So if you wanted the dislocation dynamics, for example, you need very slow time resolution and only modest spatial resolution. Dislocation dynamics, of course, was studied 50 years ago by Peter Herschenko. If you want to study, for example, making and breaking of bonds or melting and recertification, the time resolution is much faster, and the structural resolution is similar. The interesting thing I've marked out of this red square here are structural changes in biology. These range from very relatively slow time resolutions, such as protein foldings and unfoldings, for general motion in bacteria, all the way up to very, very fast transitions. So these are basically chemical reactions, protein docking and undocking, conformational changes, this sort of thing, and they occur over a range of spatial resolutions. For about a micron, you can do a lot of work at 1 micron, but you also need spatial resolution. Some of these processes go all the way down to the atomic level, at between 1 angstrom and 10 angstroms. So biology spans a very challenging problem. It spans something like four orders of magnitude in length and something like nine orders of magnitude in time.

We're in the UK; we're building an instrument, and this is a schematic diagram of it (FIG. 9), it's known as RUEDI, which is the Relativistic Ultra Fast Electron Diffraction Imaging instrument. It will be operated at a national facility and should be constructed in something like six years from now. It is basically a 2 or a 4-megavolt instrument. So we have a pulsed photocathode on the left-hand side, we have an accelerator with a compressor in the middle section, and then we have a series of lenses and detectors downstream on the right-hand side. And this will work at a design study of 10 femtoseconds in diffraction mode at four megavolts and at 1 picosecond but with a resolution of 1 nanometer in imaging mode but only at 2 megavolts. Now, you might reasonably ask why we have to go to such ridiculous energies and also these enormous instruments. And the simple reason is that in intermediate volts instruments where we have this photocathode producing a very dense bunch of electrons for low kV instruments of a few hundred kilovolts, the space charge interaction, that electron bunch, the Coulomb interactions destroy the energy resolution. And because of the chromatic aberration presence in most lengths in all the lenses, they destroy the spatial resolution. To get around that, you have to make the electrons relativistic at these very high voltages just to mitigate the space charge effects.

Just in terms of scale, this instrument, from the photocathode to the detector planes, that's the left-hand side all the way to the right-hand side of this document, will be something just under 19 meters long.

I want to talk about something that's very close to what my research engine has been for about 10 years now, and that's phasing methods. Now, phasing methods are a family of different methods which aim to solve the phase problem in conventional TM or STEM for that matter. What we record is an image intensity, and we lose the phase information from the sample, and that phase information contains a lot of the structural information. What the phasing methods do is attempt to invert the imaging process and go from intensity data backward to the specimen exit plane wave function, which is complex and contains the phase information. Now there are families of these, there are focal series methods, there are tilt series methods (FIG. 10). What I'm going to talk about today is typography in a scanning transmission mode.

I'll show you some examples of typography of biological testing. In the typographic experiment, what we do is we scan a probe, we raster scan a probe which is slightly de-focused across the sample position. At every probe position, we record a diffraction pattern on a pixelated detector. So what we end up with is a four-dimensional data set, two dimensions of probe position and two dimensions of diffraction position on the pixelated detector. And I haven't got time today to go through the math, but with that data set, you can now recover the wave function at the exit surface of the specimen through one of several computational algorithms which are our typographic reconstruction engines.

Here's an example (FIG. 11): first, this is not biological material, this is low-dose typography. It came from Colin O'Leary's thesis, which came out in *Applied Physics Letters* in 2020 (O'Leary *et al.*, 2020). And one of the problems with typography is speed. Typically, we're using a pixelated detector which only reads out at a maximum, faster detectors read out about one kilohertz, whereas a conventional ADF detector will read out at something like 10 to 20 kilohertz. However, what Colin showed was the counting mode readout scales as the bit depth of the counting; which, in other words, means that if you have one kilohertz readout at 12-bit counting, that's the same as 12 kilohertz readout at 1-bit counter. So this is now binary counting. I hope you can see at the bottom right that this is actually the bright field disc in our diffraction pattern, and the white spots are individual electron bits. And what you need to notice here is that this data set is sparse, and by that, what I mean is that no pixel statistically receives more than one electron. In other words, at every pixel, all we need to do is count one or zero, and that will give us all the information we need from this bright field disc.

So here's an example of the zeolite ZSM-5. Here's the annular dark-field image at 200 electrons per square angstrom. You can see the ADF image's reasonable resolution, but because this is a silicon-oxygen framework, the contrast is quite low, and it's quite noisy. Here is the typographic phase reconstruction using this sparse data acquisition, and now you can see all the details, the big channels and the atomic positions. These five-member ring channels are arranged around the periphery of the large channel, so you've got a complete structural map of this complex zeolite with very high contrast and with very high resolution.

Here's an example from biology, two examples, actually (FIG. 12). Here are some rotavirus double-layer particles, and see here are some non-symmetrical immature HIV virus-like particles. These are recorded; this is a cryogenic, frozen cryo sample at a dose of 22 electrons, 11, and then 5.7. And you can see that even at 5.7 electrons, you can still see the VP6 trimers at the outside of these DLPs. And in the case of the HIV virus-like particles, you can clearly see the double-layer lipid envelope. If you look carefully at this region here, you can also see the arrangement of the gag protein, and that's actually also visible in these lower dose reconstructions. So what that tells us is that typography is perfectly applicable under very low dose conditions, perfectly suited to looking at biological materials and also is actually far more phase-efficient than conventional EFTEM imaging.

So we used that phase efficiency now to do some single-particle analysis (FIG. 13). So here are different 3D reconstructions at different convergence angles, and the convergence angle is important because, as you change the convergence angle in typography, the convergence angle of the probe in typography, you change the bandwidth of the transfer function. So low convergence angle gives you very good low-frequency transfer. You can see here the envelope of this in this 3D reconstruction. And as we increase the convergence angle, you get higher and higher resolution information but less contrast. So what we now do is do a Fourier synthesis of these, and we combine all three convergence angles. We'll take advantage of the fact that biology is homogeneous, so one DLP is exactly the same as another one. And now, we combine several particles in this case, in this case, in this case, to provide a wide bandwidth reconstruction. And that's the transfer. The beige-pink color here is the transfer function for that wide bandwidth reconstruction. But importantly, we can get this reconstruction using only 200 to 300 particles at each of the convergence angles. So whereas in conventional single particles we might use ten or even a hundred thousand particles, we are now only using 200 or 300 at a series of two or three convergence angles. So it's much more efficient, and in principle, it means that we may be able to study these viruses not in a purified expressed form but actually in a cellular environment.

I want to move on now to some work that was primarily done by Elena Bayes up at Nottingham and Chen Huang, one of my staff scientists. And this is looking at the use of high-speed imaging and

artificial intelligence. And the system that Chen wants to look at is a sheet of monolayer graphene in the center with some bilayer and multilayer graphene around the periphery (FIG. 14 – WITH VIDEO). And it's decorated with lots of little silicon atoms. And what you can see in this video, there's a lot happening. There are defects forming and moving, there are silicon atoms, you see down here, which are moving around the surface. This is a bilayer region; it's actually rotating, that's why the contrast is changing. So a lot of things are going on; this is a very rich piece of chemistry that happens.

Therefore, the challenges are: we want to see if we can actually get some numerical data, some quantitative information about these various dynamic processes. The challenges are, firstly, physics. These experiments are low-flux experiments; they have a very low signal-to-noise ratio. The second problem is it's a big data problem. We've got to record many, many images; we have to align the microscope under very low-dose conditions. From the perspective of artificial intelligence, there is a lack or a paucity of ground truth experimental training data. And by that, what I mean is we don't have many experimental images to train the network. So we have to look for a network which can be trained essentially on simulated data, and this is what Chen did.

So this is the big data challenge: that classical processing is not suitable for large datasets (FIG. 15). We typically use 10^6 images or more per dataset. Now, for a neural network to work, I'm sure you all know, you have to get a series of trained inputs. In this case, these are the image simulations, and what comes out after a series of operations is an encoder-decoder network; you get an output signal. And in that case, in our case, the output is an analysis of our defects.

So what Chen did to start with was he built a sheet, a very large sheet of pristine graphene, and he realized that there are only actually three fundamental geometric defect types in graphene (FIG. 16). There are vacancies where you remove a carbon atom; there are adatom defects where you add a carbon atom, and there are bond rotations to the so-called Stone-Wales processes where you turn a six-member ring into a five-member ring coupled to a seven-member ring. So Chen inserted these three types of defects randomly into this large instance sheet of simulated graphene and used those to train the network. Unfortunately, that first attempt fails terribly, and the reason it fails is, with hindsight, fairly obvious. If you put these defects just geometrically into this sheet of graphene, you will

generate lots of unphysical defects, and the network will try to learn to recognize defects that don't exist in nature. To solve that, what Chen had to do was actually take his geometric defects in the pristine graphene sheet and take, and then use a molecular dynamics code to relax that graphene sheet, and what that does is it anneals out all the unphysical defects to leave you with a sheet of graphene which only contains realistic defects.

We then ran high-resolution TEM image simulations, multisllice calculations to simulate all these various defective graphene sheets, and here's an example. This is the raw data; you see it's very noisy (FIG. 17 – WITH VIDEO). This is the output from the network, which is basically mapping the ADF pattern positions, and here is a diagram showing the various defects. You can see that some defects, like this one, last for a long while. Other defects are very transient in nature.

Now, what I want to concentrate on now is on three types of defects. This one marked "A," whose formal name is somewhat boring, we call the butterfly defect. This one here is what we call the flower defect, and this one here we call the butterfly defect, but it's oriented along the other axis of the graphene 2D lattice. And for each of these, we take many datasets; we train the network to recognize these defects, and we calculate the lifetime—the average lifetime of the defect. So here: 390 milliseconds, 412, and 470. So now we have a lifetime for the defect; we know the electron flux very accurately; we can measure the probe current very accurately. So now we know how much energy is put into this defect over its lifetime. And so now we can look at a transition. So this is the divacancy, the flower defect I showed you, and a butterfly defect, and the transitions that take you from divacancy to flower and flower to butterfly, and the reverse transitions (FIG. 18). There are also transitions that go from dye vacancy all the way through the butterfly, missing out the flower, and also the reverse transition. This diagram here was a little bit difficult to read; it is basically instances. So the plane here, the XY plane, is the image space, and the vertical axis now is time. What Chen's done is mapped out the appearance of these three defects, their position, and their duration in terms of time, and now we can calculate the defect energy in electrons per square nanometer per defect. And here are the experimental numbers on the right-hand side, and Elena Bayes's group of quantum chemists up at

Nottingham is able to also model this using all-electron code. They can calculate the defect energy in the same units, and you now notice the experimental energies for these defects and the calculated energies for these transitions. So this is divacancy to flower, that's the energy for that transition, here's the flower to the divacancy; you can see the experiment and the calculations match extremely well. So what we're now able to do is, using electron microscopy, actually probe local chemical kinetics of defect formation and start to understand the energy landscape.

What I always like to point out at this point is this is a good data reduction problem. We start off with something like two million images, and we've ended up with four numbers. And that, I think, is one of the ways with which electron microscopy is going to change; it's already changing, but I think it'll be accelerated that we will go from, rather than having very large image datasets, we'll go to very small numbers of very accurate numerical values for particular processes.

Finally, in the next few minutes, I want to think about some future directions (FIG. 19). Firstly, where are we and where are we going in terms of spatial resolution? Well, the spatial resolution in 1972, that's 50 years ago, was about half a nanometer; in 2022, it's somewhere less than 50 picometers, and it's not going to improve in the immediate future. And the reason is that our spatial resolution now is no longer optically limited; it's limited by fundamental physics in the electron beam interactions, and there are two sources here. This is a beautiful paper by Stephan Uhlemann (2013) and his coworkers in SEOS, and this proves that actually one of the limits, the instrumental limits now, is this thermal magnetic field noise, the so-called Johnson noise just caused by small eddy currents being generated by the fast electrons as they travel down the column. And, secondly, Dave Muller recently has shown for electron typography that you can now achieve resolutions which are now limited not by the interaction of the electron beam with the sample but actually by the lattice vibrations in the sample (Chen, 2021). So my feeling is in terms of resolution: we're not going to see huge improvements.

In terms of energy resolution, in 1972, we had energy rates of two to three electronvolts; now in 2022, thanks to the work of Ondrej Krivonek, we're down at somewhere less than four millivolts, and I think in the next couple of years with instrument improvements,

we'll reach a value of close to 1 millielectronvolt, and that will then match state-of-the-art infrared spectroscopy but with the advantage of doing infrared spectroscopy at nanometer scale resolution.

In 1972, time resolution was measured in seconds; data tended to record on film. In 2022, we have millisecond timings with fast detectors, and we'll move close to picosecond timing with pulsed sources. As I've already mentioned, these pulse sources are likely to be included in relativistic high-energy imaging instruments.

Finally, just three things I thought I would show you which I think are particularly exciting developments have recently been published (FIG. 20). Firstly, Yova Bacon's group published a very nice paper in 2018 and then actually built some pixelated phase plates. So this is basically building adaptive electron optics, and you can use these for aberration correction; you can use this for contrast enhancement; you can look through thick objects; you can solve inverse problems, and you can improve selectivity to inelastic scattering.

So, you can do all the things in electron optics that you would normally do with adaptive optics in light optics. The moment they're very small, but this is a technological scale-up problem, and I'm sure that within the next few years, or maybe five years, we'll start to see usable array sizes of these pixelated phase plates.

This work by the late John Spence and his postdoc Donatelli, was published just before he died, sadly, in 2021, and this is actually a milestone to date. All the phasing methods that I've shown you take us from images back to the complex specimen exit wave function. What John and Donatelli managed to do was take the exit wave function and actually invert the complex multiple scattering process and take us all the way back to the true projected potential of the sample. The projected potential of the sample is really the holy grail for all structural determinations. I haven't got time to go into the details; this is the paper Rods read, but basically, it's based on projections between structure and scattering matrices, and importantly, it works even in the presence of significant multiple scattering.

My final example is completely different; it's a bit older. It's actually some work by Kohashi and co-workers in Japan published in 2010 (Kohashi *et al.*, 2010). What they've done is they've used these so-called negative electron affinity photocathodes (FIG. 21). These are materials that have a negative electron affinity, so they have an incredibly low intrinsic energy width. They've used those

in a photocathode gun, a laser, and a spin rotator to produce a spin-polarized electron beam. Now, in the same way that Ondrej's monochromators give us access to new information in terms of they can probe mass and isotopic substitution, this instrument allows us to probe directly spin states. Here are some bit structures, some storage bit structures, and this is with 25-nanometer bits and different bit lengths. Now, what we're probing here, the black and white contrast directly maps the spin state in this high-density magnetic recording medium. So now, in principle, with the electron microscope, we've got access to spatial data, spectral data, and chemical data through EELS and EDX. We've also now got isotopic data with these monochromated instruments, time-resolved data with high-energy instruments, and finally, even spin state data using a spin-polarized beam. So we really can now pick up all the signals that anyone would ever want to fully characterize a material and to address the sort of grand challenge that I put up right at the start of this talk.

With that, thank you very much for your attention, and if there is time, I'm happy to take any questions.

QUESTIONS

KILDARE MIRANDA:

Thank you very much, Angus. So, we have time for questions. Professor Farina, would you come closer?

MARCOS FARINA:

Thank you for this wonderful conference. I have two questions. One is related to phasing methods and the other about high-speed imaging.

About phasing methods, there are some face plates like zenith plate and volta plate, and recently resonant cavity with lasers. I'd like to know a little bit more about these resonant cavities, and, considering that these equipment of cryo-TEM are very expensive, would it be possible to change from volta plate to resonant cavities? That's my first question.

ANGUS KIRKLAND:

That's a great question!

MARCOS FARINA:

I think, first, yeah, because I think it's not commercial yet, so I think it's a very important point for those that are users, yes. The second, I think you answered already, is at the end; you talked about electron detection. I understand that you said that the limits now are not mathematical; it's physical yet because the interaction between electrons and the beam and the sample and also probably with the detectors are the limiting factors. Is it far from the theoretical limit, or should we study physics or mathematics from now on?

ANGUS KIRKLAND:

Those are two brilliant questions. Okay, let me start by answering the question about the phasing methods. The phasing methods I talk about are methods which take intensity measurement and invert the imaging process to give a complex wave function. The phase plates that you're talking about are devices that add additional phase shifts to the intel to the electron beam, but still, you record the intensity. So, they're subtly different in that respect. The phase plates don't address the inverse imaging problem.

In terms of specifics, there are, as you know, several commercial companies who are promoting different phase plates, either, as you say, either this is the volta phase plates or phase three carbon foil phase plates, and more recently, laser-driven faceplates. The laser-driven faceplates, I think, are not yet a fully mature technology. I can see lots of advantages to them, particularly in terms of the stability of the phase shift because now that's only set by the laser jitter, and laser jitter is very small. The difficulty is getting these very tiny mirrors that you need to steer the laser into the electron beam path into the microscope. Just looking at the papers I've seen on these, they look impressive; they look inherently more complicated than either volta or the carbon-free phase plate. So, my suspicion is that they're going to be a much more expensive option, but that's just my guess, and that's a kind of commercial decision for the manufacturers.

In terms of physics, I think with resolution, we've spent the last 50 years chasing resolution. So, every year, someone has a slightly

better resolution. But now we're in a regime in the physical sciences for radiation-hard materials. We are at the limit where the basic fundamental physics, which we can't change, is affecting it. It is limiting our resolution. So, there's not going to be any big instrument development where we suddenly go from 45 picometers to 10 picometers because there's some physics in the way, and we can't change that. Of course, in cryo-EM, there's more scope, but there the resolution really is limited by the radiation damage. My feeling there is that, for example, things like alternative scanning geometry, so sparse scanning compressive sensing to further reduce the dose. That's basically a mathematical problem. They may well offer advantages to push the cryo-EM resolution out towards the limit that we have in the physical sciences.

MARCOS FARINA:

There are some papers even recently that produce design-specific faceplates. And then, of course, you need to correct for the interference caused by the FEG source with software. Should it be interesting, for example, if you want to analyze a specific range in the spatial frequencies? You can design a specific faceplate that you put in the objective plane, etc. Should it be interesting?

ANGUS KIRKLAND:

Yeah, I think that's right. I think the solution to that may well be the adaptive optics I showed at the end because the adaptive optics are a series of little pixelated phase-shifting devices arranged in an array. And depending on the voltage, they're electrostatic. Depending on the voltage you put on those, you can control the phase at every single pixel. But that may well be an alternative geometry for these phase plates. But I think phase plates and phase-shifting devices and adaptive optics, in general, is going to be an area of quite significant research activity in the next maybe ten years or so.

MARCOS FARINA:

Okay, thank you very much.

ANGUS KIRKLAND:

My pleasure.

KILDARE MIRANDA:

Angus, I have a question about the typography work on biological samples. So, I was really impressed to see that you go down from

thousands of molecules to a couple of hundred. So, how are the companies and the groups focused on cryo-electromagnets looking at the typography approach?

ANGUS KIRKLAND:

We published a paper in 2020 in *Nature*, and Richard Henderson actually spoke to me afterward and said that he thought this could be potentially very important. But the area where it's very important, we think, is looking at proteins, for example, in a cellular environment. So, rather than purifying the protein, expressing it, multiplying it, we can actually look at cellular levels of proteins at very low concentrations. The other advantage of typography is that it actually recovers, for reasons I haven't got time for, it actually covers the three-dimensional wave function. So, in principle, you can slice through the wave function, and you can throw away any slices that don't contain a protein. So, we call this computational ice thinning, and we're pretty confident that we'll be able to easily break the classical 50-kilodalton limit for conventional cryo-TEM. So, typography is small numbers of things in cells but also very small proteins or protein fragments. So, that's kind of watching this space. We've got teams of people doing this work as we speak.

KILDARE MIRANDA:

Ok, and I have one more question, my more philosophical question about the development of our field, related to the prices of the instruments, the cost of the instruments, and the accessories. How do you see how it's limiting? So, we see that we have increased resolution speed for everything, but the prices as well. And how does this limit the development of the microscopy itself?

ANGUS KIRKLAND:

I think that's a good question, but I'm sitting at the moment in the electron Physical Science Imaging Center, which is part of the UK synchrotron. And what I think we'll see is that, firstly, we will see these very high-end instruments, which are very expensive. They are similar to the cost of a beam line at a synchrotron or even slightly more expensive. What we will see is these very high-end instruments being concentrated at national facilities and hopefully operated on a 24-hour a day, seven days a week basis. I think for an individual university department or a university in the UK, certainly, it's now getting very difficult to service, maintain, and operate these instruments at these huge cost levels. So, I think the philosophical

transition for electron microscopy will be that we're going to move from being small-scale science into being large-scale science. And large-scale scientists operate in a completely different way.

KILDARE MIRANDA:

Do we have questions from YouTube? If not, Angus, we thank you again very, very much for your talk and for your time here with us. It was really wonderful.

ANGUS KIRKLAND:

It's been my pleasure, and I hope I'll be able to meet some of my Brazilian colleagues and friends in the not very distant future. Thank you.

AULA 4B

AS IMAGENS NO MUNDO MICROSCÓPICO DA PANDEMIA DE COVID-19

Palestrante: Lucio Ayres Caldas (IBCCF/UFRJ)

(Transcrição: Guilherme Caumo Tanure)

KILDARE MIRANDA:

É um prazer agora introduzir o professor Lucio Ayres Caldas, nosso colega aqui da UFRJ. O Lucio é professor adjunto de microbiologia da UFRJ do campus de Caxias. Fez o seu doutorado sobre a biologia celular da interação de protozoários parasitos com células hospedeiras aqui no Instituto de Biofísica, é um egresso da casa. Mas ele já vinha de um projeto de virologia molecular, que é hoje uma das suas principais linhas de pesquisa. Então, hoje, o Lucio trabalha muito na interação de vírus, diferentes vírus, arbovírus, e mais recentemente com SARS-CoV-2 em células hospedeiras. Ele vai falar um pouquinho do trabalho que ele tem feito sobre a microscopia, o mundo microscópico da covid-19. Lucio, por favor.

LUCIO AYRES CALDAS:

Bom, primeiro gostaria de agradecer o convite, professor Adalberto e comissão organizadora. Mas devo adverti-los de que não oparei por seguir uma linha mais técnica. Então, me permito, baseado em alguns palestrantes anteriores deste evento, que é um evento que me permite discorrer um pouco acerca de alguns temas que são marginais, infelizmente ainda para a biologia, mas que considero muito importantes quando abordamos a interação de vírus com a célula.

Todos já estão bastante familiarizados, acredito, com o SARS-CoV-2, esse agente etiológico da covid-19, muito embora ainda ouçamos algumas pessoas o confundirem com “covid”, confundindo

o vírus com a doença. Mas eu queria ressaltar que essa ordem *Nidovirales* contém vírus que tem esse material genético empacotado como se fosse um carretel. Isso é muito importante depois para observarmos na microscopia eletrônica de transmissão; por exemplo, principalmente se fizermos uma contrastação *en bloc* na qual ressaltaremos o RNA do vírus. Então, ele vai ficar mais eletrodense, não precisamos de uma marcação bioquímica.

Então, para situar esse mundo microscópico da covid-19 no contexto da pandemia, é necessário ressaltar que esses transbordamentos são determinados, são condicionados pelo próprio modo de produção vigente. Recomendo, assim, o livro do biólogo evolucionário Rob Wallace *Pandemia e agronegócio: doenças infecciosas, capitalismo e ciência* (2020), em que ele faz uma boa abordagem acerca de como essa dinâmica societal leva a esse tipo de fenômeno, basicamente abordando o agronegócio e a comercialização de volumes colossais de terras para plantio e criação de gado. Para termos uma ideia, só em 2017, o comércio de animais selvagens na China movimentou basicamente o volume de 70 bilhões de dólares; é um comércio bastante movimentado.

E isso não é prerrogativa da China, se levarmos em conta, por exemplo, o que aconteceu na China, pensando naquelas reservas de minério no interior que tem de ser levadas aos portos, tem de passar por estradas densas, e, dentro desses caminhos, ainda há estradas secundárias de contrabando de animais para alta gastronomia, insumos etc. Então é um comércio bem próspero, em qualquer país que tem essas condições. Um pouco antes da pandemia, em 2019 mesmo, um grupo de pesquisadores estava procurando alguns carapatos transmissores de arbovírus que causam uma trombocitopenia e febre. Então, eles visitaram uns 17 galpões de venda de animais só em Wuhan, e encontraram esses animais empilhados, um em cima do outro, amedrontados, claro, com a movimentação, secretando fluidos. Com essa visão, compreenderam que ali havia um verdadeiro laboratório para que ocorresse esse transbordamento. A limpeza desses locais era feita com mangueiras de pressão como essas de corpo de bombeiros, então quando essa água atingia o solo, tudo que estava sedimentado subia e os animais e pessoas respiravam aquele sedimento. O que era feito para higienizar acabava agravando o problema.

Agora, para abordar o mundo microscópico da covid-19, há dois caminhos. O primeiro é o da interação do vírus com a célula

hospedeira, o segundo é o da parte da imunologia. Geralmente, na parte da imunologia, o que dá a letalidade da infecção viral normalmente não é a replicação do vírus, mas é a nossa própria resposta imunitária. O pesadelo é o sonho que se tornou realidade, ou algo de bom em excesso. Então optaremos aqui por falar da interação do vírus com a célula hospedeira, e aqui a gente tem uma reconstrução de criomicroscopia, é uma crioeletrotomiografia em que observamos as spikes em vermelho, o capsídeo em amarelo lá dentro, o RNA que não está visível, mas há uma parte da membrana do envelope do vírus aqui.

Porém, antes, é necessário situar com rigor esses objetos de estudo, tanto o vírus quanto a célula, como agentes infecciosos não vivos capazes de dominar uma maquinaria celular. Quando eu digo não vivo, eu não estou exagerando: de fato os vírus não são seres vivos, não nascem, não crescem, não se reproduzem, não morrem, não tem comportamento e até se buscarmos naqueles dicionários de filosofia definitivos encontramos também definições que de maneira nenhuma incluiriam os vírus, como esta: “Nos limites conceituais do entendimento, a vida é ou (1) mera aparência de subjetividade, projetada sobre um agregado material composto de múltiplas partes, ou (2) expressão de uma essência imaterial, transcendente em relação à objetividade corpórea que anima” (Marques, 2012, p. 36). No primeiro caso, temos um mecanismo reducionista, várias partes juntas explicam a totalidade, é um obstáculo epistemológico, obstáculo à construção das ciências ao conhecimento científico. No segundo, temos um pior, que é o vitalismo. Essa vida seria um mistério, algo sobrenatural que anima o inanimado. Então se apresentam dois problemas filosóficos que se impõem nas ciências, que devemos afastar sempre que possível.

Esse problema foi resolvido primeiro a partir dos trabalhos teóricos de Oparin e Haldane. J. B. S. Haldane (1892-1964), assistindo a uma palestra de Aleksandr Oparin (1894-1980) em 1931 num congresso de filosofia e ciências, ficou seduzido pelo materialismo dialético e ganhou a partir de então uma outra concepção para abordar os sistemas naturais. Tendo adotado essa concepção, ele pôde cunhar algumas definições mais científicas do conceito de vida como um processo que causa as condições de sua manutenção ou um sistema químico que mantém sua própria coerência, um circuito corrente de processos químicos com aglomeração espon-tânea em compostos orgânicos em solução aquosa. Depois Stanley

L. Miller (1930-2007) e Harold C. Urey (1893-1981) fizeram esses trabalhos partindo desses pressupostos de Oparin e Haldane.

Respondendo Monot quanto à questão da estrutura e função e da evolução como guerra pela sobrevivência, os dois neurobiólogos chilenos Humberto Maturana (1928-2021) e Francisco Varela (1946-2001) cunharam o conceito de autopoiese, que seria então a rede de interações que produz continuamente os próprios componentes que participam das interações e a forma desta unidade. Portanto, é o conceito mais científico que a biologia tem até agora de vida. O resto a gente deixa para os filósofos. A partir daí, podemos nos utilizar desses subsídios teóricos para extrapolar para a nossa dinâmica societal, partindo do ombro de gigantes como Louis Althusser (1918-1990), segundo o qual, extrapolando para nossa dinâmica societal, o trabalho assalariado, por exemplo, não produz apenas a mercadoria, mas também produz e reproduz as suas próprias relações; dito de outra forma, a condição última da produção é, portanto, a reprodução das condições de produção.

De outro lado, há a outra entidade, que é a célula, que vai interagir com o vírus. Já há bastante tempo não precisamos mais encarar a célula como unidade básica da vida, e um passo fundamental para isso foi dado por Lynn Margulis (1938-2011), que foi esposa de Carl Sagan (1934-1996), que todos conhecem aqui como diretor do laboratório de propulsão a jato da NASA e também um exímio divulgador científico que não fazia comércio de princípios. Sabemos que a divulgação científica é uma tarefa hercúlea, muito difícil, e, num trabalho que foi recusado por meia dúzia de revistas, ela, já apoiada por pesquisadores soviéticos, como Mereschkowski, estimou que ao menos três organelas tinham uma origem simbiótica. Posteriormente, ela deu a declaração de que a célula eucarionte é uma comunidade complexa de microrganismos, e não meramente uma unidade composta de estruturas. A declaração fica muito bem ilustrada por esta gravura de Wassily Kandinsky (1866-1944), que era um poeta, mas era mais conhecido por conta de suas gravuras. Ele gostava bastante de se debruçar sobre os atlas de microbiologia para fazer essas obras.

E quem vai ao Museu Metropolitano de Arte, em Nova York (eu não fui, mas um amigo me enviou este quadro que se chama *A batata*, de Joan Miró), está de frente para esta complexa interação de coevolução entre vírus e células. Aqui observamos, por exemplo, o LUCA, último ancestral comum universal, surgindo do ventre da

mulher-batata, dando origem aos três troncos da vida: arqueia, bactéria e eucária. E nesse caminho há a participação de vírus DNA, grandes vírus DNA, na formação da célula eucariótica, quer dizer, na eucariogênese. Trata-se de uma coevolução bem precisa.

A célula é um sistema vivo, sim, mas ela não é dotada de vontade, de objetividade; ela não é dotada de consciência. Muito embora outros obstáculos epistemológicos, como os das metáforas, têm obnubilado o nosso avanço no conhecimento científico, como algumas concepções, tal qual memória imunológica, como se fosse uma fofoca intercelular: uma célula encontra outra e fala “cuidado com aquele antígeno”. Isso não existe! Esse nome “memória” é o que estava em cima da mesa quando o fenômeno foi descoberto. Mas se levássemos isso ao pé da letra e desenhassemos nossos experimentos como se a célula soubesse o que faz, estaríamos indo por um caminho errado. O mesmo pode ser dito sobre a ideia das células *natural killers*. A imunologia é salpicada desse tipo de problema, de obstáculo. É uma das razões pelas quais não avançamos muito. Obviamente, ainda há expoentes da biologia trabalhando com esses obstáculos, como, por exemplo, o de estrutura função, como se toda estrutura tivesse uma função. Só porque a estrutura está ali, não quer dizer que ela tenha uma função.

Mas, voltando aos vírus, nós não temos marcadores universais para os vírus, então a taxonomia internacional era um pouco confusa. Alguns vírus eram agrupados em famílias de acordo com a sua morfologia, outros de acordo com a sua antigenicidade, resposta sorológica... E, na década de 1960, David Baltimore (1938-), expoente da virologia — existe uma estrela com o nome dele, obviamente ele pagou por isso —, teve a ideia de fazer uma nova sistematização viral, ordenando os vírus de acordo com a sua natureza de ácido nucleico, tendo como pedra angular um processo incontornável para o ciclo viral, que é a síntese do RNA mensageiro.

Baltimore foi reconhecido na década de 1970, junto a Renato Dulbecco (1914-2012), que conhecemos por nossos meios de cultura também, e Howard Temin (1934-1994), por suas pesquisas com vírus oncogênicos que davam origem ao câncer. David Baltimore e Temin descobriram a transcriptase reversa, que fez aquela reviravolta no dogma da biologia molecular. Inclusive, descobriram que a transcriptase reversa estava dentro da partícula. Baltimore em um momento, Temin em outro momento. Quando Baltimore mandou para a revista *Nature* “olha, a gente tem aqui indícios de que um

vírus RNA tá fazendo um DNA”, a *Nature* respondeu imediatamente, e ele e Temin, que tinha chegado às mesmas conclusões por outros modos, semanas depois tiveram seus trabalhos publicados. Até hoje em dia, ele diz que nunca chegou a saber quem foi o revisor. Publicaram quase imediatamente o trabalho.

Bem, se vamos falar desse mundo microscópico, temos que começar pela transmissão. Sabemos que a transmissão é pelos *droplets*, pelo aerossol. E o que temos dentro desses *droplets*? Mucinas, surfactantes; aqui dentro, o vírus. Essas mucinas são proteínas mais açucaradas que permeiam o epitélio dos pulmões; os surfactantes protegem os vasos, esses delicados vasos que temos nesse trato, de grudarem uns nos outros; e há os fluidos do pulmão profundo. Só que dentro desse ambiente há esses átomos de cálcio carregados, os surfactantes, as mucinas, que são atraídos pelas *spikes* virais e podem proteger os vírus de danos. Por outro lado, isso também pode proteger as pessoas de infecção. Um excesso de muco pode ter um excesso dessas moléculas cobrindo aquelas regiões que são importantes para a ligação, para a interação com os receptores na célula hospedeira.

Então, se pudéssemos dividir de forma geral o ciclo do vírus na célula em três partes, elas seriam: adesão e internalização; replicação e síntese proteica; e a montagem e liberação. A primeira inclui, obviamente, a internalização do vírus e o seu RNA sendo lido como um RNA mensageiro. Depois, ocorre a replicação e a síntese proteica. A replicação, na sua concepção rigorosa, refere-se apenas à replicação do genoma viral, dando origem a novos genomas nascentes, dos próximos vírus; e a síntese proteica produz tanto proteínas não estruturais que vão auxiliar na replicação como também aquelas estruturais que vão compor a morfologia do vírus. E, em seguida, há a montagem e a liberação, a maturação etc.

Bem, internalização. Há vírus que entram por fusão de membrana, há vírus que entram por endocitose; o SARS-CoV-2 entra pelas duas formas, sendo que a fusão de membrana é muito mais rápida, e o panorama em termos de dimensão é mais ou menos este: vemos aqui o receptor ACE2, aqui o TMPRSS2, e aqui a proteína Spike do vírus. Para ilustrar de forma mais coerente essa fase da internalização, pensemos no balé do primeiro encontro. Um encontro que “deu liga” entre as proteínas virais, o pool de proteínas na superfície do vírus, no caso as proteínas Spike; e o pool de proteínas na da célula hospedeira, o que define a suscetibilidade da célula ao vírus. Então, aqui vemos as proteínas S se ligando às ACE2, que ficam presas

a essa configuração. Portanto, temos esse afastamento das outras moléculas, que é uma licença poética, só para mostrar como ocorre esse desabrochar dessa proteína que se liga, então se ancora à membrana celular, promovendo o zíper, portanto a fusão de membrana que vai permitir a liberação do nucleocapsídeo interior da célula infectada, da célula agora infectada.

Importante ressaltar que não é porque o vírus entrou que a célula vai ser infectada. Ela tem que dispor também de toda uma maquinaria enzimática que seja capaz de replicar os vírus, porque eles não se replicam sozinhos, mas dependem da célula para absolutamente tudo. Contudo, como é que sabemos, por exemplo, na microscopia eletrônica de transmissão, se o que está ocorrendo é um brotamento ou se é uma endocitose? Ficaríamos confusos à primeira vista, mas isso aqui nos dá uma dica: é o nucleocapsídeo que acabou de ser internalizado; então, uma fusão de membrana promovendo a internalização do vírus.

Bem, não entraremos na questão da replicação propriamente dita do vírus. É importante dizer que, se eu tenho uma fita positiva, eu tenho que fazer uma fita negativa que vai servir de molde para outras fitas positivas dos vírus nascentes, o genoma nascente, mas também de RNA subgenômicos que vão ficar em *standby* para, em determinado momento, serem processados, dando origem, portanto, às proteínas estruturais do vírus. E essa replicação do RNA viral e a sua transcrição vão ocorrer dentro de uma determinada região condensada na célula hospedeira que chamamos de fábrica viral, porque é aquela área que está destinada exclusivamente à produção de vírus. Alguns de vocês devem estar se perguntando: como é que um RNA alien, um RNA estrangeiro, entra na célula, é deliberadamente lido pelos ribossomos e nada acontece, não é detectado, como se fosse de casa? Obviamente, temos algumas moléculas e plataformas antivirais que são responsáveis por essa “detecção” e que vão gerar uma cascata de fosforilação que vai ativar os fatores de estímulo de interferon e de transcrição de interferon. Ocorre que o SARS-CoV-2, ao contrário do SARS-CoV-1, parece ter uma protease *papain-like* que vai bloquear essa cascata de fosforilação, assim diminuindo bastante a síntese de interferon.

E, quando vamos para a microscopia eletrônica de transmissão dessas células infectadas, observamos essa região. Exatamente a região da fábrica viral é uma bem perinuclear, na qual há alterações membranares induzidas pela infecção pelo SARS-CoV-2. Isso

acontece com alguns vírus RNA (Zika também faz isso, dengue também faz isso). Na microscopia eletrônica de varredura, essa fronteira da fábrica viral fica um pouquinho melhor delimitada. Vemos o retículo endoplasmático que vai se espalhando, virando um verdadeiro Frankenstein, e na periferia dessa fábrica viral já há alguns vacúolos que muito provavelmente estão repletos de partículas virais que serão destinadas para o meio extracelular.

O grupo do Schnider, na Holanda, durante muito tempo trabalhou com coronavírus, e, de todos os gêneros de coronavírus que eles estudaram ao longo dos anos, eles percebiam que os arranjos membranares eram distintos, formavam estruturas distintas dependendo do gênero do vírus. Com essa conjuntura da pandemia, eles resolveram visitar essas amostras e perceberam que todos os gêneros de coronavírus estudados exibem as mesmas estruturas membranares na fábrica viral, ou seja, diversos gêneros de coronavírus induzem os mesmos elementos do chamado complexo de replicação. Portanto, isso ficou conhecido como a teoria da reunificação.

Então, há membranas convolutas, há esferoides, há as chamadas vesículas de dupla membrana em todas as infecções estudadas nos diversos gêneros de coronavírus. Mas aí havia um problema: antigamente, quando se olhava para dentro dessas chamadas vesículas de dupla membrana, era possível observar alguns filamentos, e durante muito tempo achou-se que eram artefatos. Até que a criomicroscopia demonstrou que não, e depois marcações bioquímicas mostraram que isso é, nada mais nada menos, que o material genético do vírus sendo replicado. A partir disso surgiu outro problema, porque observávamos essas vesículas de dupla membrana com o material genético do vírus aqui dentro, mas observamos a formação de partículas virais nas redondezas. Mas como, se essas vesículas de dupla membrana são hermeticamente fechadas? Durante muito tempo se acreditou que elas eram fechadas, até que agora, em 2020, o grupo de Georg Wolff na Alemanha detectou, através da criomicroscopia, um poro molecular que permite a saída desse material genético viral recém-sintetizado.

E surgiu outro problema também. Por meio da reconstrução por criomicroscopia, observamos que existem compartimentos que estão vazios, compartimentos que contêm vírus e compartimentos que contêm apenas proteínas do vírus. Recentemente, o grupo da Mendonça resolveu esse *conundrum*. Os compartimentos para onde brotam os nucleocapsídeos já contêm as proteínas Spike. Essas

proteínas Spike vêm do retículo endoplasmático em vesículas que são despejadas no interior desse compartimento, que mais tarde entendemos ser o compartimento intermediário entre o retículo endoplasmático e o Golgi, que chamamos de ERGIC. Então, o ERGIC é o local de montagem. Quando observamos pela microscopia eletrônica de varredura, vemos esses locais de brotamento como se de dentro de uma piscina. Exatamente assim. E essa fábrica viral, como ela tem origem? Você tem primeiro o retículo endoplasmático, que vai se espalhando. Mais tarde, na infecção, começamos a observar uma fronteira entre essa região de replicação do genoma viral e a região de montagem da partícula viral, até a periferia da célula, onde encontramos esses compartimentos repletos de partículas virais maduras. Importante salientar que também temos visto muito a presença de mitocôndrias flanqueando essas regiões de fábrica viral. Aqui em cima, vemos o Golgi processando algumas partículas virais, e aqui o brotamento para dentro do ERGIC.

Então, propomos este modelo para esta fase da morfogênese do SARS-CoV-2, que acontece desde este momento da síntese do genoma viral nascente, nesse compartimento que nós chamamos de “compartimento tubular contendo vesículas”, porque entendemos que uma vesícula de dupla membrana não existiria neste caso. O que temos visto parece mais com um túnel membranar contendo uma bola de sabão. Quando isso é cortado para a microscopia eletrônica de transmissão, nos dá uma impressão de dupla membrana de uma vesícula de dupla membrana. Essa é a nossa hipótese.

Então, há esse poro molecular que libera, promove a liberação desse genoma recém-sintetizado. Assim que ele sai, ele logo vai se complexar com as proteínas N que já foram produzidas pelos ribossomos. Após essa complexação do genoma viral sendo empacotado pelas proteínas do capsídeo, tem-se, portanto, o nucleocapsídeo. Esse complexo é translocado para o ERGIC, muito provavelmente por microtúbulos, segundo alguns trabalhos mais recentes. Ele vem para o ERGIC, para dentro do qual ele brota. Ocorre que vocês veem aqui que a face interna do ERGIC já está salpicada dessas proteínas Spike, de modo que, quando o núcleo capsídeo brota para o interior do ERGIC, ele já leva essa membrana; essa membrana será o seu envelope. Os vírus não codificam para lipídios normalmente. Esses lipídios são expropriados da célula hospedeira, seja no brotamento, durante a saída pela membrana plasmática, como o HIV, como

a influenza, seja no caso do SARS-CoV-2, nesses compartimentos dentro das fábricas virais.

Atualmente nós estamos nos debruçando sobre o egresso, a saída, a liberação da partícula viral da célula hospedeira, que é um tema ainda muito controverso, já que alguns trabalhos sugerem que, além da via secretória biossintética, esses vírus também podem ser liberados por uma via lisossomal. E isso poderia contar com a presença e a participação de uma vioporina, que impediria a acidificação, promovendo, portanto, o egresso sem lise. Nos nossos trabalhos, nós temos observado o egresso individual, mas não temos visto o egresso coletivo. Então é sinal de que, depois que eles estão maturando em compartimentos na periferia da célula, vesículas individuais vão carreando essas partículas virais para o domínio extracelular. Ao contrário do que algumas imagens de microscopia de varredura sugerem, como se houvesse um portão por onde essas partículas virais saíssem em conjunto, temos, temos observado que o que parece egresso coletivo na verdade é formação de cânions, de invaginações na membrana plasmática das células, que acabam prendendo essas partículas virais que já foram liberadas no domínio extracelular, que ficam nesse espaço paracelular ou intercelular, entre uma célula e outra. Então, esses cânions, essas invaginações acabam prendendo. Fica claro que, para chegar a essas conclusões, não usamos apenas a microscopia eletrônica de transmissão. Recorremos à FIB, à tomografia, mas esse é o perigo de ficarmos só ali na transmissão para analisar esse tipo de fenômeno. Vemos uma imagem desta e achamos que é uma fusão de membrana, de um compartimento com a membrana plasmática da célula hospedeira liberando um grande número de partículas virais.

E então, quando checamos a interação entre células adjacentes de uma cultura infectada, encontramos o fenômeno que é conhecido para alguns vírus como metapneumovírus e o HIV chamado de “virus surfing”, no qual a partícula viral se ancora a algum receptor — sulfato de heparina, por exemplo —, e pode ser translocada, surfando nesse receptor, até a célula adjacente, por meio da emissão de um nanotubo ou de uma projeção de membrana. Aqui, observamos que a projeção foi iniciada nesta célula, chegando a essa célula adjacente, onde já há partículas virais na sua superfície, como nessa superfície também. Mas isso pode auxiliar na propagação do vírus em determinado tecido. Recentemente, dois artigos foram nessa linha. O primeiro, contra essa linha, era sobre a anosmia, essa perda de

capacidade do nosso olfato, num debate sobre como o SARS-CoV-2 infecta os neurônios. Será que ele infecta as células nervosas ali do olfato? Perceberam que infecta as células sustentaculares, que são alternadas com essas células nervosas do nosso tecido olfativo. Porém, num trabalho mais recente, parece que ocorre uma projeção de nanotúbulos, levando a essa propagação nessas células adjacentes.

Outra coisa que nós observamos bastante é, além da profusão de partículas virais na superfície da célula infectada, também há aglomeração dessas partículas virais umas nas outras, e ficam muito juntas. Se recorrermos à literatura mais antiga dos coronavírus, observamos que algumas células têm uma teterina, colaborando para que essas partículas fiquem bem juntas umas das outras. Temos visto isso também para o Chikungunya, e até coisas mais interessantes, como saídas que levam nucleocapsídeos diferentes envoltos pelo mesmo envelope. Quais as consequências disso para a patogênese? Bem, por que isso é importante?

Por conta da formação de sincícios, que são a junção de células infectadas. Isso é muito comum para os vírus envelopados; o mais comum aqui que temos é o do sarampo, nas línguas de crianças infectadas, e também na língua de gado infectado com vírus rinderpest (a segunda doença que o Brasil conseguiu erradicar). E embora nós não tenhamos visto ainda sinais de formação de sincício, outros trabalhos têm observado isso e, mais do que isso, têm os visto nos cortes histológicos de pulmão de pacientes que morreram de covid-19. Nós temos o conhecimento de que a proteína Spike do SARS-CoV-2 é um fusogênio com homologia com a sincitina-1, que está envolvida na formação da placenta em humanos. Então, atualmente, tem-se pesquisado drogas que possam inibir essa formação de sincício, e, curiosamente, drogas contra vermes ou contra condições psíquicas, antidepressivos e afins, têm sido as mais eficazes. Elas regulam o cálcio. Então, como podemos ver nesta imagem, quando há a fusão de uma célula infectada com a célula adjacente, que pode estar infectada também, ocorre essa descarga de cálcio. Dessa forma, quando elas regulam esse cálcio, elas impedem essa fusão. E há vários tipos de formação de sincício, há o sincício homotípico entre células da mesma linhagem e o heterotípico, de tipos diferentes de células. E a surpresa que, para o SARS-CoV-2, temos observado a formação de um sincício diferente, de linfócitos. Internalização e degradação, o que muito provavelmente é uma das causas da linfopenia em pacientes graves de covid-19.

Mas o que pode levar, então, a essa fusão de células infectadas? Se, por exemplo, para o HIV, a célula leva para a sua superfície aquelas proteínas, aquelas glicoproteínas que farão parte do envelope do HIV, então, quando ele brota, ele já brota com aquilo. Ali, já existem essas glicoproteínas que podem se ligar a células adjacentes. Mas o SARS-CoV-2 não faz isso. Então, o que pode explicar essa fusão de membrana?

A nossa hipótese é que ocorra uma transinfecção, ou seja, esse acúmulo massivo de partículas virais na superfície da célula já contém ali essas *spikes* na superfície desses vírus. Então, essas *spikes* na superfície do vírus, e não na superfície da célula, seriam responsáveis por essa fusão de membrana. O problema então é que, em algumas células, como as ciliadas, vemos somente essas *spikes* na superfície.

Para finalizar, este é o corte temporal desde a descoberta do primeiro coronavírus até os avanços aos coronavírus que causaram maiores problemas para a sociedade por conta das epidemias — que coincidentemente tem acontecido de dez em dez anos: 2002-2003, 2012-2013, e agora 2020, até chegarmos à próxima pandemia, que não sabemos se será apenas uma, ou duas virão aí. Aparentemente não, mas temos que sempre acompanhar de lupa, porque, quando a próxima chegar, estaremos muito bem preparados pela que passou. Principalmente num modo de produção onde as coisas mudam muito rapidamente.

Então, gostaria de agradecer ao grupo que proporcionou este nosso trabalho da interação do SARS-CoV-2 com a célula hospedeira; em especial, professora Fabiana Carneiro, Luísa Higa, Fábio Monteiro, Luciana da Costa, Gustavo da Silva, Edison Durigon, e os grandes timoneiros dessa empreitada, os professores Amílcar Tannuri e Wanderley de Souza. Obviamente, também agradeço a toda a equipe do CENABIO; em especial, Lorian Cobra Straker, Ingrid, professor Kildare Miranda, e toda a equipe que está sempre a postos — até para discutir os resultados — numa plataforma excepcional, da qual qualquer pesquisador do Brasil pode utilizar os recursos de última geração. Deixo-os com essa imagem do SARS-CoV-2 numa projeção de membrana das células vero, que foi colorida pela professora Marlene Benchimol.

PERGUNTAS

CLÁUDIA MERMELSTEIN:

Primeiramente, parabéns pela apresentação, que foi espetacular. O que eu gostaria de saber é: vocês têm ideia das proteínas que estariam recobrando as vesículas durante o transporte do vírus, entre retículo, Golgi e vários compartimentos, seriam as clatrininas e COP I, COP II ou outras, ou não se sabe nada sobre esse revestimento?

LUCIO AYRES CALDAS:

Eu acredito que isso ainda não é um ponto totalmente esclarecido. Porque esses marcadores vão mudando de acordo com a fase na fábrica viral. Às vezes, você está ali monitorando uma proteína de retículo, ou, quando chega a determinada fase, já não está mais ali essa proteína, então ainda acho que é controverso.

ADALBERTO VIEYRA:

Parabéns, Lucio, pela conferência; realmente plagio aqui a Cláudia, foi verdadeiramente espetacular. Durante a sua apresentação, me intrigou a menção de que, durante o processo de morfogênese do vírus, foram detectadas, na imediata vizinhança, mitocôndrias. Fiquei pensando como estaria a energética desse processo de montagem.

Então a primeira pergunta é: participaria o ATP na construção desse ambiente trófico? Há poucos anos, passaram a ser descritas, em células epiteliais, sobretudo, atividades ATPásicas não associadas ao transporte. E passaram a ser chamadas de ATPases AAA+. Será que essas misteriosas ATPases estariam envolvidas no controle final de qualidade da montagem do vírus? Porque há dez anos se especula muito sobre a função delas.

LUCIO AYRES CALDAS:

A gente fica muito tentado a pensar realmente a fábrica viral como uma fábrica, em uma visão antropocêntrica. Ela está ali flanqueando, então está fornecendo energia. Esse é um lado, mas há um outro lado que não estaria envolvido nesse aporte energético. Também acho um lado a se considerar, porque normalmente, quando a gente segue o caminho mais fácil, para as ciências não é assim, elas acabam partindo nosso coração. A gente vai seguindo uma hipótese ali, confiante, achando que é aquilo, mas na maioria das vezes

acontece o oposto. O que também é muito bom, mas a pessoa fica frustrada. Porém compartilho dessa inquietação.

KILDARE MIRANDA:

Lucio, eu tenho uma última pergunta. Eu queria saber o seguinte: a gente teve, há alguns anos aí, um par de anos de intensa investigação de vários aspectos da biologia, de interação de vírus com a célula hospedeira, de replicação. A gente viveu isso também, esse boom na época do HIV, o que se sabe hoje de vírus que não se sabia antes desse esforço coletivo para entender os vírus. Não estou falando das questões, é claro que tem vários receptores, como esse poro que você acabou de mostrar que transporta o RNA, e por aí vai. Mas, assim, você acha que mudou alguma coisa conceitual daquilo que a gente entende de vírus?

LUCIO AYRES CALDAS:

Basicamente, tudo aquilo que se refere à imunologia da interação. E também é biologia molecular das variantes, por exemplo.

Ficou a lição agora de que, quando a gente procura, a gente acha. A gente tem diversas variantes que são produzidas em cada organismo que é infectado. E uma variante não é necessariamente uma cepa. Tem que ter aquelas propriedades intrínsecas do vírus que o tornam uma cepa; uma mudança tênue na sua composição genotípica não caracteriza uma cepa, e talvez a resposta imunológica sim. Resposta imunológica a gente também aprendeu agora que não se resume a anticorpos. A gente tem também células T de memória, que têm condição de alvejar mais de 20 epítomos da Spike, então ter como critério os anticorpos não é mais uma saída realista. A gente tem que explorar outros recursos.

É basicamente isso do que eu me lembro agora, depois da apresentação, mas obviamente eu vou lembrar de outras coisas. O que me vem à cabeça agora é isso.

MANOEL LUIS COSTA:

Parabéns pela linda apresentação, com toques filosóficos conceituais, que são muito bons. Você contou uma história interessantíssima de sincícios. A gente trabalha com músculo, que é uma célula sincicial por excelência. E eu fiquei pensando se, de alguma maneira, isso facilitaria ou atrapalharia, se existe alguma relação entre o sincício muscular e o momento de morfogênese? Talvez a

regeneração muscular com o vírus atrapalhando ou participando de um processo de regeneração. Sabe alguma coisa sobre isso?

LUCIO AYRES CALDAS:

Interferência vai ter, né? Mas em que medida... Normalmente a preocupação do sincício, baseado na biologia celular, é a transmissão para a célula adjacente, né? É o modo seguro de você transmitir. Não vai ter partícula extracelular ali que possa ser alvejada. Então são caminhos ali por dentro para que determinado tecido se torne, como um todo, infectado.

E isso, obviamente, depois tem complicações na parte clínica, nos sinais clínicos da doença.

KILDARE MIRANDA:

Então é com essa última resposta do Lucio que o professor Adalberto vai dar umas palavrinhas para encerrar. Mas eu gostaria de agradecer à audiência e a todos pela presença.

ADALBERTO VIEYRA:

Agradeço mais uma vez a participação remota e presencial dos colegas aqui nesta transmissão.

Agradeço especialmente aos dois palestrantes e gostaria apenas de lembrar que parte das imagens mostradas pelo professor Lucio foram obtidas aqui na UFRJ, especificamente na microscopia do CENABIO, na coparticipação ativa do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, do Centro de Diagnóstico e Triagem do bloco N, hoje, o NEEDIER.

E isso representa uma contribuição para a ciência universal, altamente significativa, aqui da UFRJ.

Eu acho que também devemos agradecer a oportunidade de ter podido desenvolver esses trabalhos naqueles dias que eu chamo de “as frias noites do inverno de 2020”, quando ainda não tínhamos vacina e o negacionismo negava a natureza da própria pandemia. Então acho que essas imagens são símbolos de vitória. De vitória, não apenas no campo científico, mas também no campo político-social.

REFERÊNCIAS

MARQUES, V. Da vida da Lógica à lógica da vida. *Revista Eletrônica Estudos Hegelianos*, [s. l.], ano 9, v. 1, n. 16, p. 34-51, jan./jun. 2012.

AULA 5A

IMAGENS MICROSCÓPICAS DO AMOR: AS CÉLULAS DO CORAÇÃO E SUA CONTRAÇÃO

Palestrante: Tais Hanae Kasai Brunswick

(IBCCF e CENABIO/UFRJ)

(Transcrição: Karine Larrat de Oliveira)

Ao receber esse título para a palestra, comecei a refletir sobre o motivo da ligação entre o coração e o amor. Trabalhando com o coração há muitos anos, eu ainda não havia parado para refletir sobre essa simbologia. Enquanto pesquisava, encontrei um artigo do professor Edgard Leite, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), publicado na revista *Superinteressante*, no qual ele afirma que os hebreus já associavam o aperto no peito aos sentimentos do coração. E até hoje também associamos o acelerar dos batimentos às emoções mais fortes.

O coração humano é formado por quatro cavidades, dois átrios e dois ventrículos, e um sistema de condução elétrica. Esse órgão é capaz de gerar impulsos elétricos espontaneamente a partir do nó sinoatrial, que promove uma despolarização dos átrios, com subsequente união do impulso no nodo atrioventricular e posterior despolarização ventricular. Esse impulso elétrico produz a força geradora que proporciona a força mecânica para que o coração bombeie sangue para todos os órgãos e tecidos do corpo. Essa função está intimamente relacionada ao volume das cavidades cardíacas, que podem ser melhor observadas através do exame de ultrassonografia (ecocardiografia).

Essas correntes despolarizantes e repolarizantes se deslocam pelo coração a partir de um meio condutor; parte delas se propaga

pela superfície corporal. No exame de eletrocardiograma (ECG), é possível então observar, a partir dos eletrodos dispostos no corpo do paciente, a transição das correntes elétricas e sua diferença de potencial. Sendo assim, o exame eletrocardiográfico avalia basicamente a atividade elétrica do coração: despolarização atrial (onda P), despolarização ventricular (complexo QRS) e repolarização ventricular (onda T).

O músculo miocárdio, que compõe o coração, é majoritariamente formado por várias células especializadas, denominadas cardiomiócitos. Essas células estão acopladas umas às outras, formando um sincício elétrico e mecânico que permite a rápida propagação do estímulo elétrico. Ao analisarmos mais de perto o cardiomiócito, percebemos que se trata de um tipo celular especializado em contração, com um número significativo de sarcômeros muito bem distribuídos e organizados. Na membrana dessas células existem vários canais iônicos acoplados, que funcionam de maneira orquestrada para cumprir sua função, abrindo e fechando com cinéticas e velocidades diferentes em função de diferenças de concentração iônica dos meios intra e extracelular. Isso significa que, da mesma maneira que a colocação dos eletrodos para registro do eletrocardiograma define a forma com que ocorre o registro no papel, a instalação de microeletrodos dentro e fora de uma célula conectados a um voltímetro permite calcular a diferença de potencial em função do tempo entre os dois meios. Ao registrar os dados obtidos em um gráfico tempo X voltagem, teremos o registro da atividade elétrica do cardiomiócito, responsável por garantir a manutenção do funcionamento do coração como força propulsora que irriga todos os órgãos e tecidos.

Caso haja um mau funcionamento dos canais iônicos, haverá um retardo na repolarização. Podemos assim fazer uma comparação da atividade do órgão, medida pelo eletrocardiograma, com o registro do potencial elétrico celular. Quando há retardo na repolarização dos cardiomiócitos em decorrência de um mau funcionamento dos canais iônicos, a célula leva um tempo maior para voltar ao repouso. No eletrocardiograma, há um retardo na repolarização ventricular, com conseqüente prolongamento do intervalo QT. Constata-se, assim, uma estreita relação entre o que é lido pelo microeletrodo intracelular e o que é lido pelo eletrocardiograma. Pacientes com prolongamento do intervalo QT no ECG podem apresentar arritmias severas que podem ser fatais. Por essa razão, o acompanhamento e a vigilância clínica são indispensáveis nesses casos.

Várias alterações podem gerar o prolongamento do intervalo QT, incluindo a administração de alguns fármacos, febre, hipocalemia, hipocalcemia, ativação simpática e parassimpática, entre outras causas. Na maior parte dos casos, ocorre uma mutação genética que desencadeia doenças denominadas canalopatias. Existem vários genes sabidamente relacionados com esses fenótipos patogênicos.

Para identificar um paciente com canalopatia, é preciso seguir uma sequência de investigação. A primeira etapa do diagnóstico é clínica, por meio de triagem com eletrocardiograma, que confirma a presença do prolongamento do intervalo QT. A seguir, a avaliação genética faz-se fundamental para a comprovação da doença, uma vez que existem diversos gatilhos que podem ser responsáveis pela alteração elétrica. Suponhamos que existam três pacientes: uma mulher sem alterações genéticas, e um homem e uma mulher portadores de uma mutação responsável por desencadear uma canalopatia. Entre os dois últimos, apenas a mulher portadora da variação apresenta a manifestação clínica. Como seria possível saber qual dos portadores da mutação iria apresentar o fenótipo da doença?

Uma maneira de compreender seria estudar o cardiomiócito de cada indivíduo. Em um paciente com grande propensão a arritmias, a biópsia estaria descartada como possibilidade de estudo. A alternativa que tornou possível a investigação foi desenvolvida em 2006, pelo professor Shinya Yamanaka (1962-). O pesquisador criou uma técnica baseada na formação de células-tronco de pluripotência induzida (Induced Pluripotent Stem Cells), que consiste na indução de uma reprogramação epigenética em qualquer célula nucleada especializada, transformando-a em uma célula-tronco embrionária induzida (célula iPS). Essa célula, por sua vez, pode ser estimulada *in vitro*, de modo a desencadear vias de sinalização específicas que determinem sua especialização, o que torna possível a geração de células de múltiplos tecidos. Desse modo, tornou-se possível a formação de cardiomiócitos com o mesmo repertório genético do indivíduo a partir da reprogramação de suas células, o que viabiliza o estudo de mutações genéticas desencadeadoras de canalopatias.

Pacientes com suspeita de canalopatias são encaminhados para um centro de referência onde é realizado o sequenciamento do DNA com a identificação da mutação genética. Para saber se a mutação encontrada é a responsável pela manifestação, coleta-se o sangue do indivíduo, isolando a fração nuclear (eritroblastos). A partir dos eritroblastos, é realizada a indução para a geração das células iPS,

seguida de um processo extenso de caracterização que testa a pluripotência das células geradas. Uma vez caracterizadas, realiza-se sua diferenciação em cardiomiócitos, para estudá-los como modelos.

O interessante desse processo é que ele nos permite estudar os cardiomiócitos de células humanas preservando todo o repertório genético do doador. A utilização desses cardiomiócitos para mimetizar doenças *in vitro* tem proporcionado grandes avanços nos estudos de canalopatias. Uma das grandes questões em medicina hoje é por que duas pessoas portadoras da mesma variante gênica apresentam manifestações clínicas diversas, sendo possível até mesmo que uma apresente sintomas graves na primeira infância e outra seja completamente assintomática durante toda a vida.

Respostas para esses questionamentos têm surgido a partir do estudo do que chamamos de “penetrância incompleta”, por meio da utilização de cardiomiócitos derivados de iPS, tornando possível demonstrar *in vitro* o papel de variantes modificadoras de fenótipo.

Desta forma, estudos relacionados à medicina de precisão impactam no entendimento dos mecanismos relacionados à penetrância incompleta, mas também no manejo clínico de pacientes e familiares, uma vez que o sequenciamento genético permite avaliar os familiares que possuem maiores chances de desenvolver manifestações mais severas das doenças devido à presença das duas mutações em seu genótipo. Uma vez definidos os riscos e entendidos os mecanismos de penetrância incompleta, pode-se implementar uma intervenção à altura, reduzindo as chances de um desfecho trágico para os pacientes.

No intuito de implementar esses conceitos de medicina de precisão no Sistema Único de Saúde (SUS), juntamos toda a expertise da UFRJ ao Instituto Nacional de Cardiologia (INC), que recebe muitos pacientes, juntamente com o apoio do projeto Genomas Brasil, para a criação da Rede Nacional de Genômica Cardiovascular (RENOMICA), coordenada pela professora Adriana Bastos Carvalho, da UFRJ. O objetivo geral da RENOMICA é estabelecer uma prova de conceito de que a avaliação genética de doenças cardiovasculares hereditárias (DCH) é importante, viável, e com bom custo-benefício no âmbito do SUS. Para isso, serão analisados 2400 pacientes e familiares portadores de DCH.

Entre os objetivos específicos da RENOMICA, está implementar uma estratégia robusta de divulgação da Rede em âmbito nacional,

além de realizar o sequenciamento de exoma completo (WES) em 560 probandos com DCH e de um rastreio em cascata, por sequenciamento, através do método de Sanger, em 1884 famílias. A partir disso, o próximo passo será construir os heredogramas, demonstrando a segregação entre genótipo e fenótipo nas famílias estudadas. Ademais, objetiva-se investigar mecanismos de penetrância incompleta e expressividade variável relacionados a genes modificadores em famílias portadoras de DCH, abastecer o banco de dados do programa Genomas Brasil, e, por fim, demonstrar se o diagnóstico genético é viável financeiramente como política pública de saúde no Brasil.

Entre as doenças que serão estudadas no âmbito do projeto, há quatro grupos: as cardiomiopatias, as canalopatias, as dislipidemias e as aortopatias.

Para que houvesse uma boa representação da população brasileira, houve uma distribuição do número de probandos e familiares de acordo com a densidade demográfica de cada região. A primeira etapa consiste na análise genética dos pacientes que procuram o centro de pesquisa a fim de investigar uma doença — através do sequenciamento dos probandos por WES. Sendo encontrada uma mutação genética, a avaliação segue para a segunda etapa, com a avaliação genética dos familiares por Sanger. Por último, ocorre o estudo de variantes modificadoras de fenótipo, exatamente como foi demonstrado por meio do exemplo anterior.

A análise é realizada em três etapas. A partir da análise de todo o exoma do probando, verifica-se a existência de uma mutação genética relacionada. Caso seja encontrada, o estudo segue para o rastreio genético dos familiares, analisando especificamente a existência da mutação pontualmente encontrada no probando. Caso o resultado seja negativo, a participação no estudo é encerrada. Sendo encontrada a mesma mutação, avalia-se a expressão fenotípica da mutação no familiar. Se não houver fenótipo, seguimos para a investigação de variantes modificadoras, assim como no caso clínico exemplificado.

A nível nacional, há 20 instituições que já estão com recrutamento aberto, e nove com o CEP em tramitação. Existem ainda quatro instituições que já contactaram o projeto e começarão o processo.

As iPS representam uma importante ferramenta para a medicina de precisão em cardiologia, permitindo desvendar mecanismos de penetrância incompleta em doenças cardiovasculares hereditárias.

Como impacto direto para o paciente, o teste genético em doenças cardiovasculares hereditárias (DCH) atua como um aliado do cardiologista no manejo clínico e na avaliação de risco de pacientes e familiares, otimizando as condutas.

Já em âmbito nacional, o estudo de custo-benefício em curso pode alicerçar a implementação de uma rede de cuidados de DCH no SUS, e a construção de um banco de dados genético representativo da população brasileira pode ser importante para novas descobertas e avanços na saúde.

Por fim, do ponto de vista global, a RENOMICA tornará possível uma reclassificação de variantes com impacto no diagnóstico clínico mundial.

AULA 5B

IMAGENS E ULTRASSONS: AS IMAGENS SEM LUZ

Palestrante: Debora Bastos Mello (CENABIO/UFRJ)

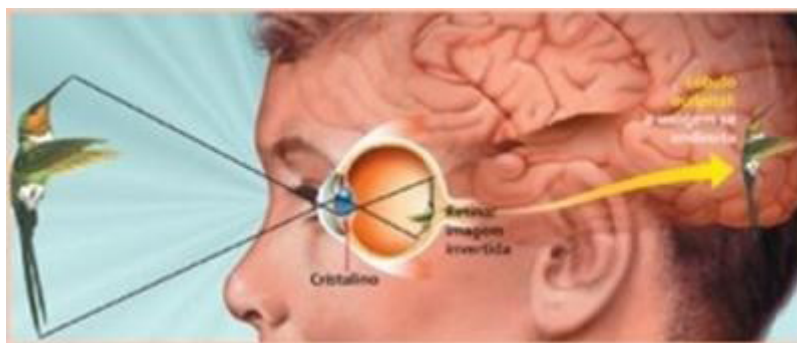
(Transcrição: Maria de Lourdes Soares do Nascimento)

Imagem e som:

O que é imagem?

Imagem é a representação, reprodução ou imitação da forma de uma pessoa ou de um objeto que conseguimos enxergar. Para uma imagem ser enxergada, nós precisamos de um estímulo. No caso de uma imagem no mundo real, esse estímulo é luminoso. Então, o estímulo incide no objeto que estamos visualizando e, por sua vez, alcança os nossos olhos, sendo então processado em nosso cérebro para, por fim, ser transformado em uma imagem do que está sendo visto no mundo real (FIGURA 1).

Figura 1 – Representação esquemática da formação da imagem de um pássaro beija-flor no cérebro do ser humano. O estímulo luminoso alcança os olhos e é processado no cérebro, formando a imagem.



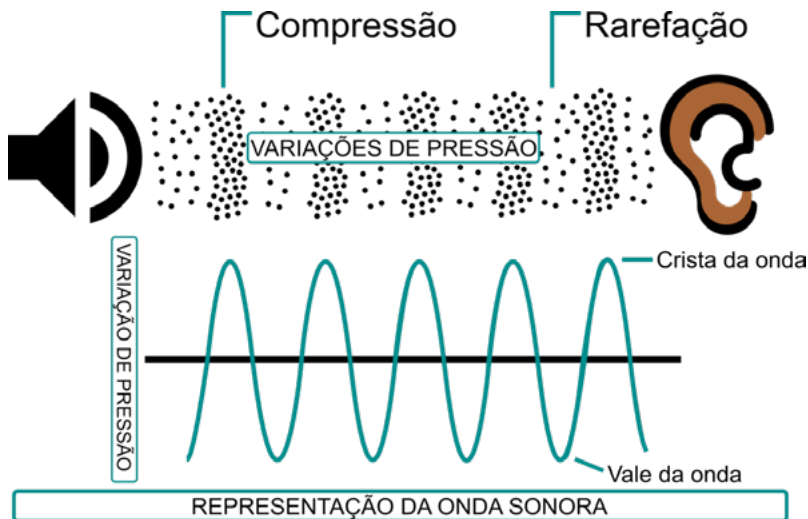
Fonte: Grumann Júnior (c1998-2024)

Mas e o som?

O som é um tipo de ruído que sentimos pelos ouvidos. Esse estímulo físico percebido pelos ouvidos é transmitido através da vibração das moléculas que compõem a matéria. As moléculas da matéria vibram e se propagam em meios elásticos, causando uma variação de pressão em diferentes pontos da matéria.

Na FIGURA 2, vemos que os pontos pretos (representando as moléculas da matéria) se acumulam e se espaçam. Ou seja, geram um momento de concentração (compressão) e afastamento (rarefação) dessas moléculas, até que alcançam nossos ouvidos e essas ondas sonoras são sentidas. A onda de som, então, é representada por traços de picos e vales.

Figura 2 – Representação esquemática da percepção da onda de som pelos ouvidos humanos. O estímulo sonoro movimenta as partículas suspensas no ar ou partículas que compõem a matéria, de forma que ocorra compressão e rarefação. Isso é representado esquematicamente por meio de ondas. Essas ondas são sentidas pelo ouvido humano.

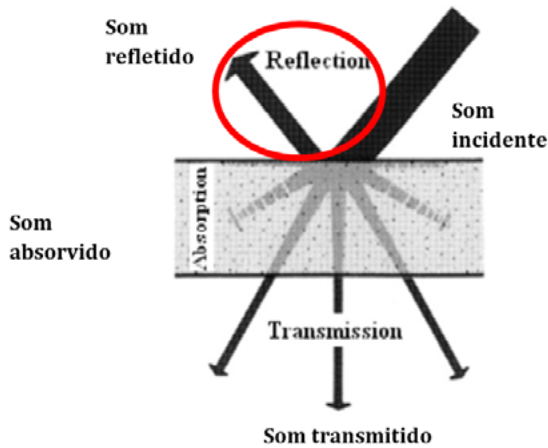


Fonte: Som (2024)

Então é oportuno lembrar que, essencialmente, o som depende de uma matéria para ser transmitido. Ele é dependente de um material no qual as moléculas que o compõem sejam excitadas e se movam. Portanto, no vácuo não há propagação de som.

O som tem propriedades bastante importantes, e uma delas é essencial para formação da imagem de ultrassonografia (US). Toda onda de som que incide em qualquer material é, em parte, absorvida pelo próprio material; outra parte desse som, desse estímulo, é transmitida e atravessa o material ao qual está indo de encontro e se perde. Uma outra parte, e a mais importante para a formação da imagem de US, é a que é refletida, ou seja, a parte da onda de som que não foi absorvida e nem transmitida pelo material que observamos. Uma vez refletida, o equipamento de US capta de volta essa informação e isso é transformado, então, na imagem da US. Essas propriedades estão demonstradas na FIGURA 3.

Figura 3 – Representação esquemática das propriedades da onda de som. O som, ao incidir na matéria, pode ser absorvido, transmitido ou refletido. A propriedade de reflexão, destacada em vermelho, é a base física para a formação da imagem ultrassonográfica, pela sua recaptação no transdutor de ultrassom.



Fonte: Fediuk *et al.* (2021)

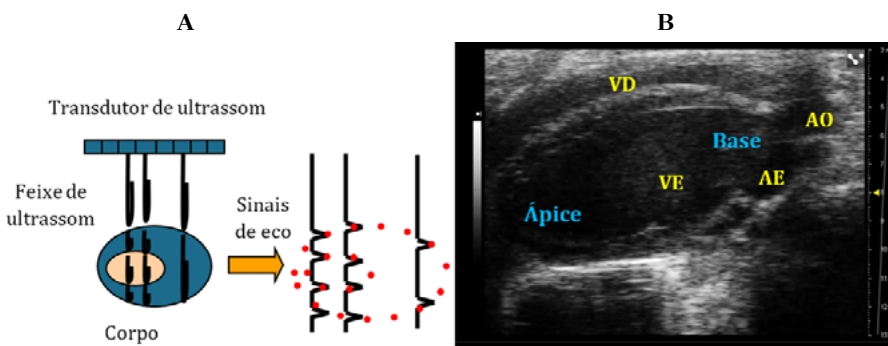
Portanto, o processo de formação da imagem do ultrassom não depende da luz, mas de uma onda de som que, através da sua reflexão, retorna ao equipamento. As ondas de som são emitidas pelo transdutor do ultrassom, incidindo no alvo, e, ao retornar, são convertidas digitalmente, gerando uma inflexão na tela do computador (FIGURA 4A E FIGURA 4B).

A FIGURA 4A representa um esquema da formação da imagem de ultrassom. Um feixe de ultrassom é emitido pelo transdutor de

ultrassom em direção ao órgão-alvo no corpo e retorna ao transdutor. Esse retorno é interpretado pelo computador como um sinal de eco, e, a cada pico de sinal de eco, um ponto é registrado na tela do equipamento. Em seguida, uma nova onda é emitida pelo transdutor e outro pico de sinal retorna, com um tempo um pouco maior que o anterior. Esse novo pico é registrado também na tela, de forma que, durante a varredura, inúmeras ondas de som são emitidas e os picos de sinais de eco são registrados na tela, formando a imagem ultrassonográfica, semelhante ao alvo. Esse é o princípio da formação da imagem ultrassonográfica. Como vemos, não é uma imagem dependente de estímulo luminoso.

Podemos observar na FIGURA 4B uma imagem ultrassonográfica do coração de um animal. Para a formação desta imagem, as ondas de som incidem no tórax. Identificamos, em azul, a região do ápice (ponta) e da base do coração (região de onde saem os grandes vasos). Também é possível ver em amarelo o ventrículo direito (VD), uma das quatro cavidades do coração, o ventrículo esquerdo (VE), o átrio esquerdo (AE) e a raiz da artéria aorta (AO). O coração é um dos principais órgãos estudados pela US, numa especialidade chamada ecocardiografia. Então, por meio da US, tem-se uma imagem de qualidade razoavelmente suficiente para identificação de estruturas. Essa tecnologia é utilizada para estudos funcionais e estruturais de diferentes órgãos humanos.

Figura 4A – Representação da formação da imagem do ultrassom, com demonstração esquemática das ondas de som sendo emitidas do transdutor e retornando após o encontro com o órgão-alvo (corpo). **Figura 4B** – Uma imagem ultrassonográfica do coração de um camundongo com as regiões de ápice e base, e identificadas as estruturas do ventrículo direito (VD), ventrículo esquerdo (VE), átrio esquerdo (AE) e artéria aorta (AO).



Fonte: Acervo do CENABIO

Ultrassonografia: onde está sendo inserida atualmente na clínica médica?

A ultrassonografia tem seu princípio na teoria do som em 1877, no início do estudo da física acústica moderna. Esses estudos viabilizaram o desenvolvimento dos primeiros equipamentos para detecção de distâncias pela utilização do som. O mecanismo usado para tal é semelhante aos sistemas de biolocalização do morcego (FIGURA 5). Os morcegos, mesmo de olhos fechados, conseguem se ecolocalizar por meio do envio de sons durante a bateção de asa, cujos sons atingem algum objeto e, por sua vez, o objeto reflete ondas de volta para o morcego, que é capaz de detectar a distância daquele objeto e se desviar.

Figura 5 – Representação esquemática da ecolocalização do morcego. O animal, ao bater as asas, vibra as moléculas suspensas no ar, gerando uma “onda”. O retorno (reflexão) das ondas vibratórias geram um eco e são captadas novamente pelo morcego, que modifica sua rota de voo para desviar do objeto.

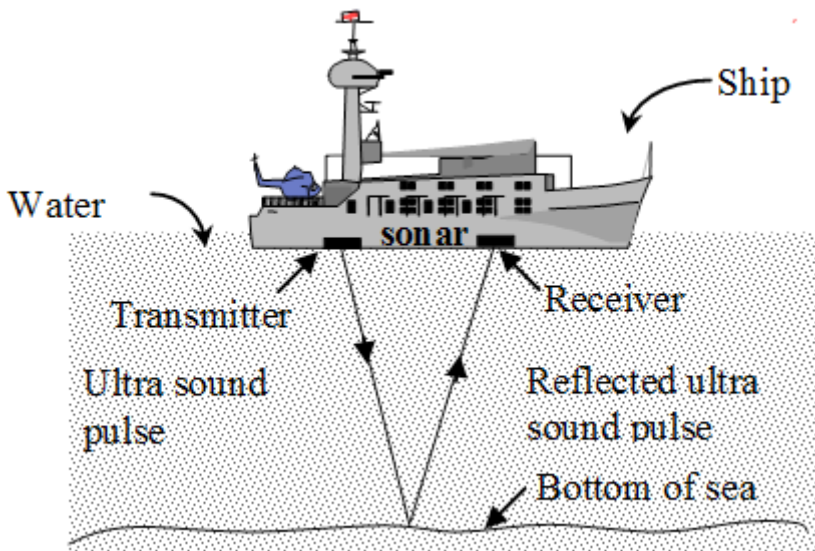


Fonte: Ecolocalização [...] (2006)

Esse princípio foi utilizado na Primeira Guerra Mundial, através de geradores de som de baixa frequência que permitiam aos navios detectarem obstáculos dentro da água, auxiliando a navegação. Na Segunda Guerra, a evolução dessa tecnologia possibilitou o surgimento do sonar (Sound Navigation and Ranging), um aprimoramento da técnica descrita anteriormente, com o qual se é capaz de determinar não somente a presença de obstáculos, mas também as

distâncias até esses objetos (FIGURA 6). Como vemos no esquema, há um sonar que emite a onda de som, essa onda viaja pela água, incide na estrutura de interesse — o alvo detectado —, e em um momento o cálculo é feito, possibilitando saber a distância do objeto. A história da ultrassonografia tem início nos primórdios do século XIX.

Figura 6 – Representação esquemática de um navio na água portando um sonar. O equipamento emite ondas de som por um transmissor. Essas ondas percorrem a água até encontrarem o fundo do mar (ou qualquer outro obstáculo); ao retornar (refletir), são captadas pelo receptor, no próprio barco. Dessa forma, o sonar calcula distâncias do barco até objetos ou até a profundidade do mar.



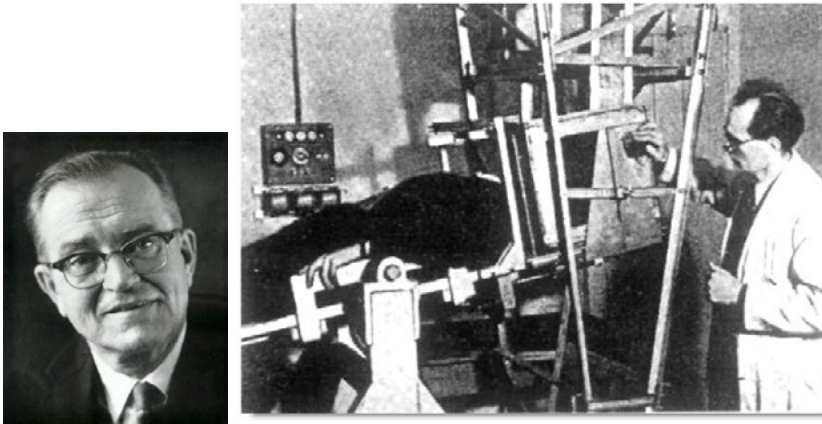
Fonte: Chapter [...] (c2024)

Na biologia, a primeira utilização do ultrassom como terapia física aconteceu em 1920. Esses estudos foram feitos basicamente para o tratamento de pacientes da guerra ou de pacientes com reumatismo. O tratamento era feito de forma empírica como tentativa de terapia.

A utilização do ultrassom para geração de imagem tem seu primeiro registro em 1940, como auxiliar em diagnóstico por imagem. Karl Theodore Dussik (1908-1968) foi um neuropsiquiatra que, na Universidade de Viena, tentou localizar tumores no cérebro de pacientes, além de tentar visualizar os ventrículos cerebrais através da

imagem ultrassonográfica. Na FIGURA 7, vemos um dos primeiros registros de uma máquina de ultrassom da época e o professor Karl.

Figura 7 – Professor Karl Theodore Dussik utilizando uma versão primitiva de um equipamento de ultrassonografia para visualização do cérebro de pacientes



Fonte: Woo (1998)

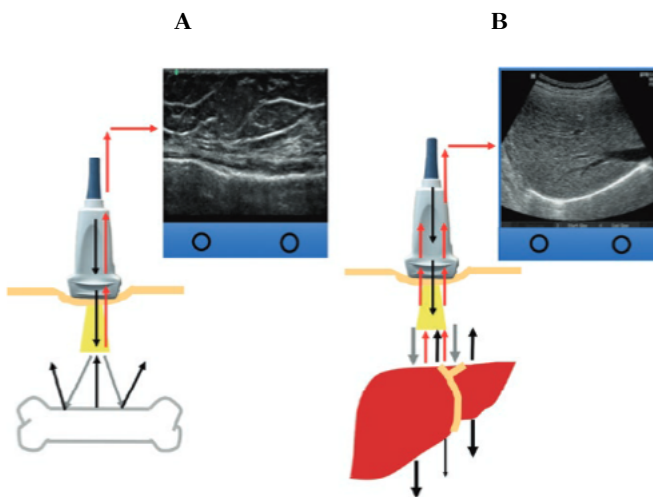
Hoje em dia, a ultrassonografia moderna é um método complementar de diagnóstico por imagem extremamente utilizado na clínica médica. Seu uso é feito para detecção e rastreamento de longa duração de doenças. É uma tecnologia com imagem satisfatória e inúmeras vantagens. É segura por não utilizar radiação ionizante; de baixo custo quando comparada com outras técnicas de imagem existentes; é de rápida execução e bastante portátil. Isso permite que alguns equipamentos sejam utilizados pelo médico à beira do leito. O ultrassom ainda pode ser acoplado no celular do próprio médico em tempo real. Dessa forma, o médico consegue analisar a função e a estrutura de inúmeros órgãos à beira-leito. Por outro lado, é uma técnica extremamente dependente do operador, de modo a requerer um profissional qualificado para executar esses exames.

Diferente da imagem baseada em luz, a imagem ultrassonográfica não é colorida, mas em escala de cinza. Toda vez que o sinal incide no corpo para fazer a detecção de estruturas, a imagem é formada por meio da diferença das densidades nas interfaces dos tecidos observados. No esquema da FIGURA 8A, está representada a formação da imagem de um osso. O osso é uma estrutura extremamente densa, apresentando uma diferença de interface grande em relação aos tecidos adjacentes, em geral tecidos moles como músculos e fáscias. Na

imagem do ultrassom, observamos na parte superior da imagem os tecidos moles com melhor definição. Porém, a partir do momento em que o osso foi detectado, não há mais a formação de imagem, pois o som enviado do transdutor é praticamente todo refletido e nada mais abaixo do osso pode ser identificado. Portanto, a ultrassonografia é uma técnica muito boa, mas para a visualização de tecidos moles.

Isso pode ser melhor observado na FIGURA 8B, a imagem de um fígado. Apesar de maciço, o fígado é um órgão de tecido mole, composto em sua maioria de células, e muito bem perfundido por sangue. As ondas de som que são enviadas do transdutor atravessam o fígado e parte dessas ondas são perdidas. Entretanto, uma grande quantidade de ondas transmitidas retornam para o transdutor, possibilitando a formação de uma imagem de ultrassom rica em detalhes. É possível ver, por exemplo, vasos no interior do órgão, além de possibilitar a visualização da diferença de densidade dentro do tecido.

Figura 8A – Representação esquemática da aquisição de imagens ultrassonográficas. A região superficial da imagem pode ser bem observada, uma vez que essa região é formada basicamente por tecidos moles, onde o som é capaz de atravessar e é refletido de volta ao aparelho. Porém, a partir do momento em que o osso é alcançado, a imagem ultrassonográfica perde qualidade. Isso ocorre pela alta densidade tecidual do osso, impossibilitando a passagem do som e conseqüente perda do sinal. **Figura 8B** – Esquema da formação da imagem de um fígado. Por ser um órgão mole, o fígado permite a passagem da onda de som, e, ao retornar ao equipamento, a imagem é formada com riqueza de detalhes, como, por exemplo, a presença de vasos no interior do órgão.

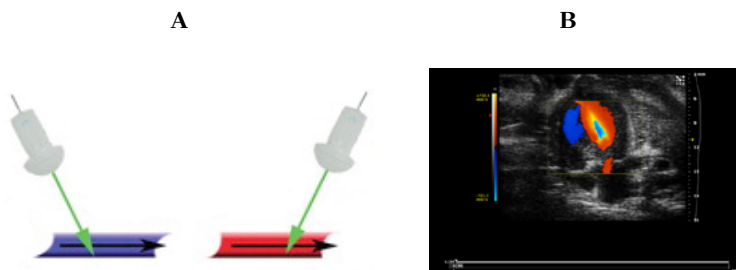


Fonte: Abbas; Peng (2020)

Uma outra modalidade de imagem utilizada na ultrassonografia é o Doppler colorido. Essa tecnologia usa o efeito Doppler, que é causado pela observação de estruturas em movimento. O equipamento envia o sinal, e, através de cálculos matemáticos avaliando o tempo de retorno, é possível saber se a estrutura observada está em movimento. A modalidade do Doppler colorido da US utiliza o transdutor como um “olho observador”, e nesse momento é possível avaliar os líquidos no corpo. O principal líquido do corpo humano é o sangue, então é possível observar a passagem do sangue pelos órgãos. Por convenção, os líquidos que se afastam do observador aparecerão em azul, e os que se aproximam aparecerão em vermelho na imagem do ultrassom (FIGURA 9A).

A FIGURA 9B, realizada no CENABIO, representa o coração de um camundongo, utilizando a imagem de Doppler colorido. Nesta imagem, o coração está de cabeça para baixo, e podemos visualizar o VE, o VD e, embaixo, os dois átrios. O objetivo dessa imagem foi enxergar o VE se enchendo de sangue, e era necessário saber a velocidade de entrada do sangue, o que foi possibilitado pelo ultrassom. Observou-se que, de fato, o sangue estava entrando em direção ao ápice, percebido pela cor vermelha. Vale notar que a imagem em escala de cinza não é a única possibilidade oferecida pela US: fazendo uso de computação gráfica, também é possível observar uma imagem colorida, por meio da qual se pode inferir o sentido, a direção e a velocidade do sangue ao passar pelos órgãos.

Figura 9A – A convenção universal da imagem do Doppler colorido, na qual todo líquido que se afasta do transdutor aparecerá em azul na tela do equipamento, e todo líquido que se aproxima, em vermelho. **Figura 9B** – Imagem do coração de um camundongo, na qual podemos observar o sangue entrando (em vermelho) no VE do coração.



Fonte: McNaughton; Abu-Yousef (2011) e acervo do CENABIO

Até agora abordamos o que é a teoria da ultrassonografia e como ela é aplicada nos diferentes órgãos, as modalidades de imagem somente em escala de cinza, as modalidades de movimento e as de avaliação da velocidade. A partir de agora, entenderemos como essa tecnologia é aplicada no CENABIO em diferentes projetos.

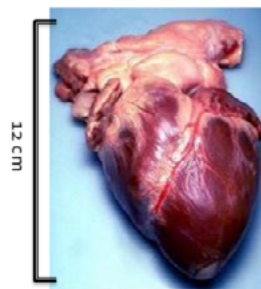
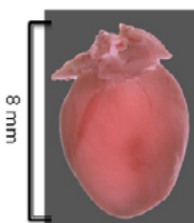
Ultrassonografia no CENABIO: como o CENABIO vem sendo utilizado pelos pesquisadores?

O CENABIO possui dois equipamentos, o Vevo 770 e o Vevo 2100. Ambos são fabricados pela empresa VisualSonics e especificamente desenvolvidos para a observação de pequenas estruturas em estudos pré-clínicos. Na FIGURA 10, é possível comparar o coração de um camundongo, com aproximadamente 8 mm, a um coração humano, com cerca de 12 cm.

Figura 10 – Imagem real do coração de um camundongo, à esquerda, e um coração humano, à direita. Devido ao tamanho do órgão utilizado em ensaios pré-clínicos, fez-se necessário o desenvolvimento de tecnologias para avaliação funcional por ultrassonografia, como hoje temos no CENABIO.

Mouse Heart vs. Human Heart

- Mouse heart and size
- Human heart and size



No CENABIO, a US é aplicada de diferentes formas. O maior uso da US no CENABIO é como ferramenta de investigação em medicina experimental nos diversos sistemas, sendo o sistema cardiovascular

o mais largamente investigado. Já foram estudados modelos de infarto do miocárdio, hipertensão arterial sistêmica, diabetes, hipertensão pulmonar, cardiopatia chagásica. Outro sistema bastante investigado é o digestório, no qual são avaliados com frequência modelos experimentais de cirrose hepática, dislipidemia e doença hepática gordurosa não alcoólica. No sistema musculoesquelético, há um protocolo de estudo de avaliação de lesão muscular. No sistema nervoso central, foram estudados dois modelos: toxoplasmose congênita e a infecção pelo Zika vírus.

Além disso, a US também é utilizada como ferramenta auxiliar no desenvolvimento de novas tecnologias. Por exemplo, já existe uma tecnologia que emprega contraste de imagem em ultrassonografia, de forma semelhante à utilizada na ressonância ou tomografia. Temos na UFRJ um professor usando a plataforma do CENABIO para seus estudos com microvesículas gasosas.

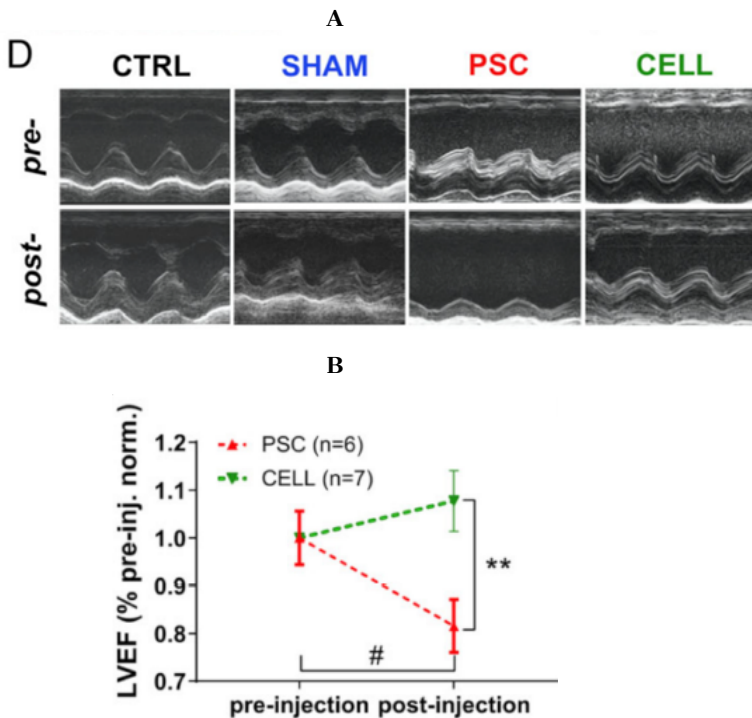
A US também é utilizada como ferramenta auxiliar no desenvolvimento de novos protocolos experimentais; por exemplo, a injeção teleguiada, em que utilizamos o ultrassom para que um local específico *in vivo* seja observado, possibilitando a inserção da agulha de injeção diretamente no alvo.

Como o CENABIO utiliza o ultrassom como ferramenta de investigação em medicina experimental?

No sistema cardiovascular, um grupo utilizou o ultrassom para estudar o infarto do miocárdio por ligadura permanente em ratos. O tratamento foi feito com células-tronco e a US foi utilizada no modo para avaliação do movimento das estruturas, chamado “modo M”. Esse modo visualiza, em especial no sistema cardiovascular, a movimentação das paredes do coração. Na FIGURA 11A, vê-se o coração “cortado” ao meio. Nesta imagem é possível visualizar as paredes do miocárdio em movimento, “subindo e descendo”, e, assim, medir as espessuras das paredes e tamanhos das cavidades. O grupo observou que a parede do miocárdio tratado com as células-tronco (CELL) ficou mais espessa após o tratamento, quando comparado ao grupo de animais não tratado (PSC), indicado pelas setas vermelhas. Em conclusão, o tratamento com as células melhorou a espessura da parede. Além disso, os autores detectaram um aumento na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) também nos animais que receberam as células (CELL), comparado com os

animais que não receberam (PSC), que apresentaram uma queda da FEVE (FIGURA 11B). Esse parâmetro é obtido através de cálculos matemáticos provenientes das medidas dos diâmetros das cavidades internas do coração.

Figura 11A – Trabalho realizado no CENABIO em que a ultrassonografia foi utilizada como ferramenta de avaliação funcional do coração. O infarto do miocárdio induziu um afinamento da espessura da parede anterior do coração nos animais operados, não apresentando melhora no grupo não tratado (PSC). Por outro lado, o grupo tratado (CELL) apresentou uma maior espessura de parede (A, seta vermelha). **Figura 11B** – A fração de ejeção do ventrículo esquerdo [do inglês “left ventricle ejection fraction”, LVEF] também foi obtida por US através de cálculos matemáticos. O grupo tratado (CELL) apresentou aumento nesse parâmetro enquanto o grupo não tratado (PSC) apresentou uma piora da função cardíaca.

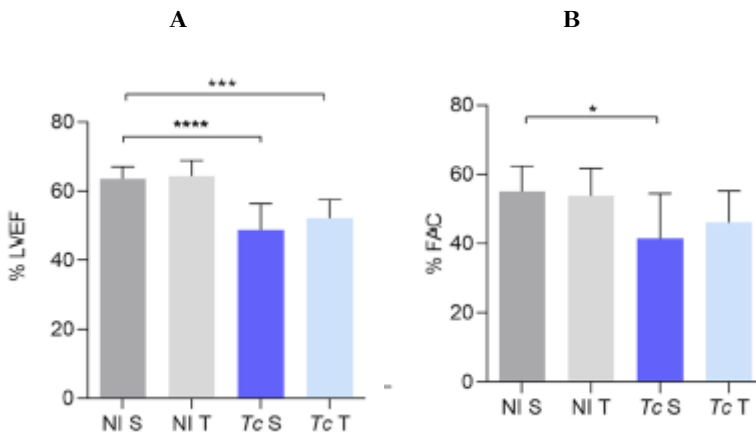


Fonte: Biagi *et al.* (2021)

Outro modelo experimental utilizado foi a doença de Chagas. Os animais foram infectados e submetidos ao exercício físico. A comparação foi feita entre animais infectados e não infectados, sedentários e treinados. Foi visto que o treinamento do animal infectado

previne a queda da FEVE (FIGURA 12A), apesar de não haver diferença significativa na força de contração na área, visto na ultrassonografia pela fração de encurtamento de área (FAC) (FIGURA 12B). Então, apesar da diminuição na FEVE, a força da bomba contrátil do coração ainda está preservada, o que foi associado ao exercício.

Figura 12A – Projeto desenvolvido no CENABIO para estudar a doença de Chagas. Animais foram infectados e submetidos ou não ao exercício físico. O coração dos animais infectados apresentou uma queda da fração de ejeção (A). **Figura 12B** – Entretanto, a diminuição da área do VE foi menor apenas no grupo sedentário (B), demonstrando que o exercício físico auxilia na preservação da função cardíaca.

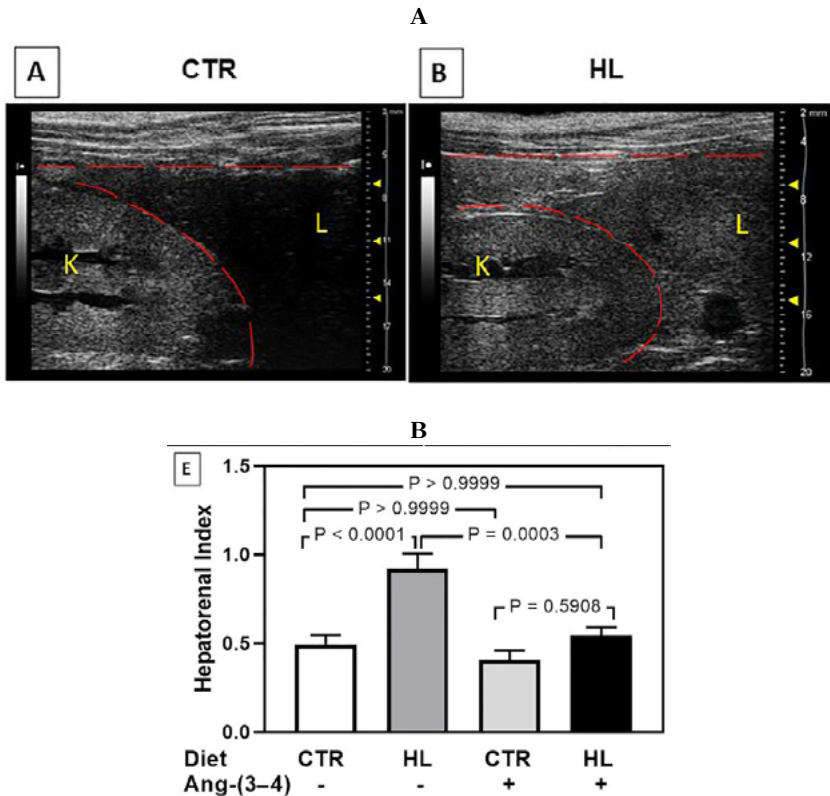


Fonte: Pedra-Rezende *et al.* (2021)

Na dislipidemia, um trabalho utilizou a US com o objetivo de detectar a alteração fibrótica no fígado dos animais que receberam uma dieta hiperlipídica. Na literatura, é bem descrito que a ingestão de uma dieta hiperlipídica é prejudicial ao fígado e esse estadiamento da doença ainda é um tabu na clínica médica. Muitos médicos utilizam biópsia tecidual para detectar a evolução dessa doença. Logo, a associação de outros parâmetros como o US permitiu que o grupo descrevesse as alterações na textura do fígado. Na imagem do animal controle (FIGURA 13A), o fígado (L) é escuro, relativamente mole, quando comparado ao rim (K), um órgão mais denso. Traçando um paralelo com o animal submetido à dieta hiperlipídica (HL), o fígado se tornou esbranquiçado, explicado pelo acúmulo de gordura e fibrose (FIGURA 13B). Essa comparação foi realizada através da avaliação da relação de ecogenicidade entre o fígado e o rim. No

gráfico, os animais que foram submetidos à dieta hiperlipídica tiveram essa relação aumentada. Logo, a ultrassonografia foi utilizada como estadiamento da doença neste modelo.

Figura 13A – Este trabalho utilizou a ultrassonografia como ferramenta para detecção de lesão gordurosa e fibrótica no fígado de animais submetidos à dieta hiperlipídica através da relação hepatorenal. Em A, o grupo controle (CTR) apresenta o fígado (L) com ecogenicidade menor que o rim (K). **Figura 13B** – Já no grupo induzido (HL), o fígado apresenta uma imagem mais “esbranquiçada”, característica de acúmulo de gordura e fibrose. A quantificação da relação hepatorenal mostrou que os animais induzidos apresentaram um parâmetro aumentado quando comparado a todos os outros grupos.

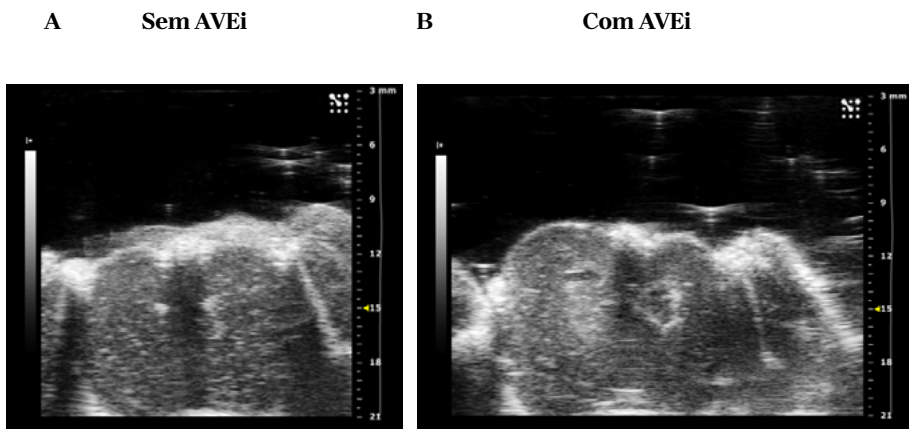


Fonte: Crisóstomo *et al.* (2022)

Sobre o desenvolvimento de novas tecnologias, já existe atualmente na clínica médica uma metodologia de utilização de microbolhas para detecção de circulação sanguínea de órgãos por ultrassonografia. No CENABIO, um projeto liderado pelo professor João

Carlos Machado visa avaliar a perfusão cerebral de ratos submetidos ao modelo de acidente vascular encefálico isquêmico (AVEi) utilizando uma microbolha derivada de bactéria, que se assemelha ao produto comercial. A FIGURA 14A mostra parte do trabalho do professor utilizando ainda as microbolhas comerciais. À esquerda, observamos a imagem do cérebro de um animal controle (sem o AVEi). Em ambos os lados do cérebro, podemos perceber a perfusão preservada pela passagem das microbolhas (ambos os lados “esbranquiçados”). Por outro lado, no animal que foi submetido a um AVE hemilateral (FIGURA 14B), as microbolhas não perfundem no lado afetado (hemisfério direito), indo somente para o lado saudável do órgão.

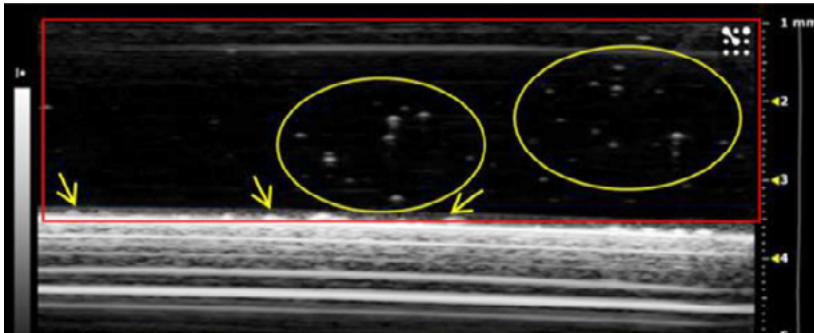
Figura 14A – Avaliação da perfusão cerebral por ultrassonografia utilizando microbolhas. Um animal controle (não operado) no qual ambos os hemisférios cerebrais são bem perfundidos, apresentando imagens mais brilhantes. **Figura 14B** – Um animal operado no qual verificamos um menor brilho no hemisfério cerebral direito, demonstrando uma deficiência de perfusão sanguínea.



Fonte: Imagens cedidas pelo professor João Carlos Machado (Laboratório de Ultrassom do Programa de Engenharia Biomédica da COPPE/UF RJ)

O professor já conseguiu desenvolver a microbolha derivada de bactéria, sendo possível observá-la no equipamento do CENABIO. O projeto está em fase de testes em animais, conforme a FIGURA 15.

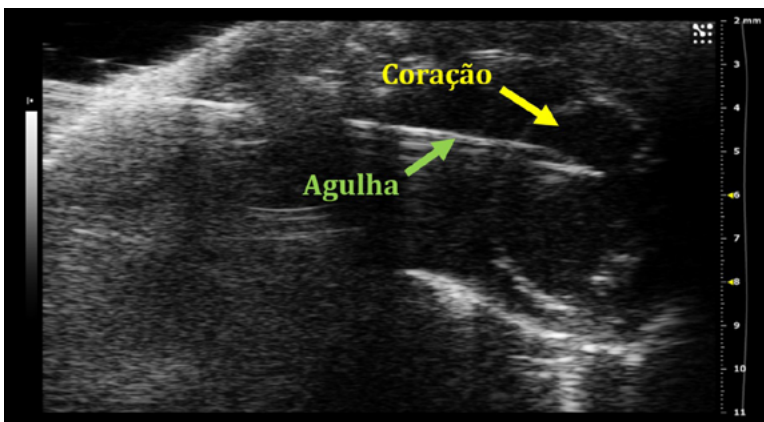
Figura 15 – Imagem ultrassonográfica das microbolhas obtidas de bactérias e visualizadas no equipamento Vevo 2100 do CENABIO



Fonte: Garrute; Machado (2021)

Por último, é bastante utilizado no CENABIO o ultrassom no auxílio de protocolos experimentais, como ferramenta de injeção teleguiada de substâncias. O trabalho da FIGURA 16 estuda a infecção de animais com o *Trypanosoma cruzi* diretamente no coração, por meio de uma agulha guiada pelo ultrassom.

Figura 16 – Imagem ultrassonográfica do coração de um camundongo submetido à infecção teleguiada por US com o parasita *Trypanosoma cruzi*. Podemos observar com clareza a região do coração (em amarelo) e a agulha inserida dentro da cavidade (em verde).



Fonte: Acervo do CENABIO

Portanto, como vimos, a ultrassonografia é uma tecnologia com potencial, que existe há muito tempo e ainda tem muito a ser desenvolvida. Atualmente, existem equipamentos extremamente

modernos e portáteis, como na obstetrícia, com imagens em 3D de embriões e fetos. Há equipamentos portáteis, que os profissionais transportam de hospitais a hospitais, de clínicas a clínicas, cada um com seu modelo de preferência. E, conforme comentado, já existe uma tecnologia de ultrassom portátil, de bolso, com a qual é possível visualizar a imagem no celular.

É uma tecnologia em desenvolvimento bastante intenso, demonstrado em um último trabalho publicado em julho de 2022. Nela, um transdutor adaptado a um microchip de ultrassom pode ser colado à pele do paciente (FIGURA 17A), na região de interesse a ser observada, com duração de até 48 horas, permitindo ao médico escaneá-la via celular (FIGURA 17B). Essa inovação chama a atenção por ser uma tecnologia extremamente pequena, de consultório, e por permitir que o médico possa avaliar a região de onde ele estiver, com um celular. Algo fantástico.

Figura 17A – O microchip de ultrassom que pode ser colado à pele do paciente, permitindo o rastreo da região de forma remota pelo médico.

Figura 17B – Exemplos de locais a serem avaliados.

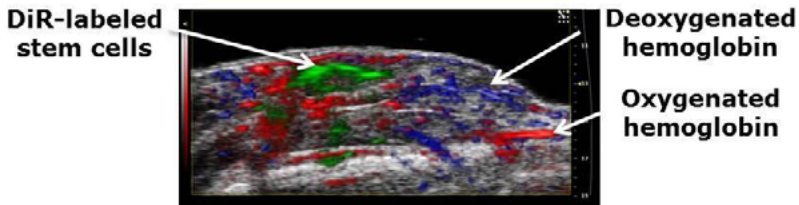


Fonte: Rennau (2022) e Wang *et al.* (2022)

O futuro da ultrassonografia na clínica é a inserção de frequências de onda cada vez maiores, viabilizando melhores imagens, porém mais superficiais, em especial para a dermatologia clínica. Além disso, a conjugação da ultrassonografia a outras tecnologias também é uma realidade na pesquisa pré-clínica e que em breve seguirá para a clínica médica. Na medicina experimental, já existem equipamentos que fazem a conjugação de uma luz laser à imagem

do ultrassom. Isso permite que seja visualizada uma estrutura por ultrassonografia e, a partir da luz laser, conseguimos diferenciar uma região bem oxigenada de forma satisfatória de uma região que é pouco oxigenada (FIGURA 18). Podemos até mesmo visualizar uma proteína específica marcada com fluorocromo em uma região de interesse de um pesquisador.

Figura 18 – Associação da imagem ultrassonográfica com a detecção da luz laser, possibilitando a identificação tanto de regiões mais bem ou mais mal oxigenadas (vermelho e azul, respectivamente) quanto de células-tronco marcadas com fluorocromo específico (verde).



Fonte: VisualSonics (c2024)

Nós no CENABIO estamos sempre à disposição para quem precisar e tiver curiosidade sobre nosso trabalho. Por favor, nos procure.

REFERÊNCIAS

ABBAS, S.; PENG, P. Basic Principles and Physics of Ultrasound. In: PENG, P.; FINLAYSON, R.; LEE, S.; BHATIA, A. (ed.). *Ultrasound for Interventional Pain Management: An Illustrated Procedural Guide*. [New York City]: Springer, 2020. p. 1-31.

BIAGI, D.; FANTOZZI, E. T.; CAMPOS-OLIVEIRA, J. C.; NAGHETINI, M. V.; RIBEIRO JÚNIOR, A. F.; RODRIGUES, S.; OGUSUKU, I.; VANDERLINDE, R.; CHRISTIE, M. L. A.; MELLO, D. B.; CARVALHO, A. C. C. de; VALADARES, M.; CRUVINEL, E.; DARIOLLI, R. In Situ Matured Early-Stage Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Improve Cardiac Function by Enhancing Segmental Contraction in Infarcted Rats. *Journal of Personalized Medicine*, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 374, 4 May 2011.

CHAPTER 5: Sound. *Knowledge Universe Online*, [s. l.], c2024. Disponível em: <https://www.knowledgeuniverseonline.com/ntse/Physics/sonar.php>. Acesso em: 20 abr. 2024.

CRISÓSTOMO, T.; PARDAL, M. A. E.; HERDY, S. A.; MUZI-FILHO, H.; MELLO, D. B.; TAKIYA, C. M.; LUZES, R.; VIEYRA, A. Liver Steatosis, Cardiac and Renal Fibrosis, and Hypertension in Overweight Rats: Angiotensin-(3-4)-sensitive Hepatocardiorenal Syndrome. *Metabolism Open*, [s. l.], v. 14, 18 Mar. 2022.

ECOLOCALIZAÇÃO MORCEGO. In: WIKIMEDIA COMMONS. [San Francisco, CA: Wikimedia Foundation, 2006]. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ecocalizacao_morcego.jpg. Acesso em: 20 abr. 2024.

FEDIUK, R.; AMRAN, M.; VATIN, N.; VASILEV, Y.; LESOVIK, V.; OZBAKKALOGLU, T. Acoustic Properties of Innovative Concretes: A Review. *Materials*, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 398, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma14020398>. Acesso em: 20 abr. 2024.

GARRUTE, F. V.; MACHADO, J. C. Gas Vesicle Isolated from Microorganisms to Act as Ultrasound Contrast Agent. *Research on Biomedical Engineering*, [s. l.], v. 37, p. 1-7, 2021.

GRUMMAN JÚNIOR, A. Como funciona o olho humano? *Hospital da Visão Santa Catarina*, Florianópolis, c-1998-2024. Disponível em: <https://www.hospitalvisaosc.com.br/artigo/11/como-funciona-o-olho-humano-?>. Acesso em: 20 abr. 2024.

MCNAUGHTON, D. A.; ABU-YOUSEF, M. M. Doppler US of the Liver Made Simple. *RadioGraphics*, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 161-188, 19 Jan. 2011.

PEDRA-REZENDE, Y.; BARBOSA, J. M. C.; BOMBAÇA, A. C. S.; DANTAS-PEREIRA, L.; GIBALDI, D.; VILAR-PEREIRA, G.; SANTOS, H. A. M. dos; RAMOS, I. P.; SILVA-GOMES, N. L.; MOREIRA, O. C.; LANNES-VIEIRA, J.; MENNA-BARRETO, R. F. S. Physical Exercise Promotes a Reduction in Cardiac Fibrosis in the Chronic Indeterminate Form of Experimental Chagas Disease. *Frontiers in Immunology*, [s. l.], v. 12, 4 Nov. 2021.

RENNAU, L. Adesivos de ultrassom podem permitir ver dentro do corpo pelo celular. *Forbes Brasil*, [s. l.], 1 ago. 2022. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbes-tech/2022/08/adesivos-de-ultrassom-podem-permitir-ver-dentro-do-corpo-pelo-celular/>. Acesso em: 21 abr. 2024.

SOM. In: WIKIPEDIA: the free encyclopedia. [San Francisco, CA: Wikimedia Foundation, 2024]. Disponível em: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Som>. Acesso em: 20 abr. 2024.

VISUALSONICS. *VisualSonics*. [S. l.]: Fujifilm, c2024. Disponível em: www.visualsonics.com. Acesso em: 21 abr. 2024.

WANG, C.; CHEN, X.; WANG, L.; MAKIHATA, M.; LIU, H.-C.; ZHOU, T.; ZHAO, X. Bioadhesive Ultrasound for Long-Term Continuous Imaging of Diverse Organs. *Science*, [s. l.], v. 377, n. 6605, p. 517-523, 28 July 2022.

WOO, J. Karl Theo Dussik. *Obstetric Ultrasound History Web*, [s. l.], 1998. Disponível em: <https://www.ob-ultrasound.net/dussikbio.html>. Acesso em: 20 abr. 2024.

AULA 6

A NAÇÃO COMO IMAGEM RECRIADA

Palestrante: Elisa Pereira Reis (IFCS/UFRJ)

(Transcrição: Iara Louise)

Quero começar lembrando o filósofo francês Ernest Renan (1823-1892), que, em sua conferência na Sorbonne em 1882 de título “O que é uma nação?”, formulou o célebre enunciado: “A nação é o plebiscito de todos os dias”.

Lembrando um pouquinho mais das palavras de Renan naquela ocasião, cito:

Une nation est une âme, un principe spirituel. Deux choses qui, à vrai dire, n'en font qu'une, constituent cette âme, ce principe spirituel. L'une est dans le passé, l'autre dans le présent. L'une est la possession en commun d'un riche legs de souvenirs ; l'autre est le consentement actuel, le désir de vivre ensemble, la volonté de continuer à faire valoir l'héritage qu'on a reçu indivis.

Passando então a meu próprio tema, começo falando sobre imagens, representações e metáforas.

No contexto do programa de uma Cátedra sobre imagens que inclui de átomos a catedrais passando pela mente, é importante esclarecer em que sentido vou falar sobre imagem da nação. No universo social, imagens pertencem ao espaço da cultura, dos símbolos, dos sentimentos. Como ressaltava Max Weber (1864-1920), o estudo da sociedade demanda análise compreensiva, isto é, ao invés de nos limitarmos ao comportamento observável dos atores, é preciso levar em conta também as ideias e valores que os motivam. Assim, é

preciso levar em conta as representações coletivas, os sentidos que os atores conferem às suas ações. Nesse sentido, a “nação é uma comunidade imaginada”, nas palavras de Benedict Anderson (1936-2015), em obra clássica sobre esse tema.

Origens da ideia de nação no mundo moderno

A formulação de Benedict Anderson é acurada, mas acho importante também situar historicamente de onde vem o sentido que damos hoje à nação, nacionalidade, comunidade nacional, expressões que sempre se referiram a uma comunidade de pertencimento, mas um sentido de comunidade que difere bastante de noções pré-modernas inerentes ao conceito. A palavra “nação” vem do latim (*natio*, nascer) e designava aqueles que moravam fora ou nas fronteiras do império. Mais tarde, passa a representar os diversos “povos”. Resumindo, na Europa medieval, a palavra “nação” era usada para descrever comunidades baseadas na língua, na religião, na etnia, ou no espaço geográfico.

Mas o termo *nação* é ressignificado na Era Moderna. Originalmente na Europa, no decorrer de um longo processo, a centralização do poder político vai conferindo novo sentido à nacionalidade. O que é revelador da ideia de nação que se consolidou e se difundiu para o resto do mundo é que ela se fundiu com a ideia de Estado: Estado-nação ou Estado nacional é o referencial básico que informa a ideia de sociedade nacional. Sim, falamos de sociedade brasileira, sociedade francesa, sociedade espanhola etc. como se pertencer a um Estado-nação fosse uma forma natural de pertencimento social. Na Era Moderna, o mundo se organizou com base na nacionalidade, e é ainda assim que vivemos, mesmo no mundo globalizado. É ela que é usada para demandar direitos, impor deveres, ter passaporte e ser impedido de entrar em outra sociedade nacional sem ele. Enfim, nossa identidade é fornecida pelo Estado nacional a que pertencemos. As tensões e conflitos que observamos nos países europeus e nos Estados Unidos entre os que se veem como “filhos da nação” e os imigrantes expressam essa naturalização da ideia de nação como indissociável do Estado. A implicação fundamental dessa redefinição moderna de nação é que nacionalidade/pertencimento e Estado/autoridade se fundiram gradualmente de tal forma que é mesmo difícil pensar um sem o outro. Vocês podem me dizer que a globalização e a revolução nas formas de comunicação mudaram isso. Sim, há mudanças importantes nesse sentido, e talvez eu tenha

tempo de falar sobre isso mais tarde. Mas, de qualquer forma, são ainda os Estados nacionais que fazem tratados de cooperação como o Mercosul, que se envolvem em guerras como a que vemos agora entre a Rússia e a Ucrânia, que se sentam na Assembleia Geral da ONU etc. E não foi sempre assim.

Estados e nações existiam separadamente desde muito antes do Estado nacional. Nações ou comunidades de pertencimento existiam secularmente com base nos aspectos que já mencionei: etnia, língua, religião, solo. E existiam desde muito tempo Estados tribais, Estados imperiais, Estados monárquicos. Foi no contexto da Europa feudal, ou patrimonial, que surgiram os primeiros Estados nacionais. Não surgiram de súbito, mas foram fruto de lenta sedimentação, de resultados de disputas entre clãs, tribos, seitas, suseranos. Essas disputas coroaram o sucesso dos sobreviventes que conhecemos hoje, e enterraram muitos outros projetos que às vezes até chegaram a experimentar algum sucesso, mas foram vencidos por projetos competidores.

Construir um Estado nacional é um empreendimento de longuíssimo tempo. E, na verdade, essa construção nunca termina, pois, como vou discutir a seguir, os indivíduos ressignificam continuamente o que é pertencer a uma nação, recriam imagens desse pertencimento de acordo com os interesses, os obstáculos e as oportunidades que confrontam. Mas o que quero ressaltar bem é que a imagem contemporânea que temos de nação como integrada à imagem de Estado tem sido moldada ao longo de mais de dois séculos. Ela não é uma imagem fixa, mas uma que sofre transformações, passa por ressignificações, e esse é o aspecto sobre o qual quero insistir. Porém, para poder captar bem o sentido das transformações, é importante levar em conta o processo histórico delas. Historicamente, para formar um Estado-nação, é preciso unificar e controlar exércitos, criar um sistema financeiro único, criar uma estrutura de taxação, mas também criar representações coletivas sobre um “nós” e os “outros”, daí a relevância do sistema educacional, da socialização através de símbolos, dos ideais, das imagens de um futuro, de um destino compartilhado, e de recursos similares.

Como discuti em um artigo publicado na década de 1980, o arranjo original do moderno Estado nacional se consolidou em uma fórmula que atrelou pertencimento, proteção e solidariedade em um lado, e obediência, deveres e legitimação da autoridade em outro. A fórmula sedimentada desse amálgama emerge na ideia moderna

de cidadania. Ser cidadão é pertencer, ter legítimos direitos, e ao mesmo tempo ter deveres, incorporar como legítimas as exigências impostas pelo Estado, pela autoridade constituída. Claro que essa receita não gerou um produto acabado, tampouco uniforme. A evolução da noção moderna de cidadania e a expansão dela no sentido de incluir novas parcelas da população é um longo processo histórico. Tais processos estão longe de contemplar amplas camadas da população, e sabemos que eles nunca se tornam estáticos, mesmo nos países onde a cidadania moderna primeiro se consolidou. Também sabemos que são várias as formas que a cidadania assume em diferentes países. Contudo, apesar da diversidade de formas que a nação assume em diferentes países, é interessante pensar em duas imagens (já que nosso tema de fundo é imagem), dois modelos básicos de junção entre nação e Estado que nos ajudam a refletir sobre questões muito relevantes ainda hoje.

A nação como coleção de indivíduos ou como indivíduo coletivo

A ideia de dois modelos básicos de construção nacional foi sugerida por Louis Dumont (1911-1998), o antropólogo francês que, comparando as experiências históricas da França e da Alemanha, fala da primeira como coleção de indivíduos e da segunda como indivíduo coletivo. Segundo ele, construir uma imagem da nação como coleção de indivíduos implica moldar um Estado nacional afinado com os ideais de liberdade individual, isto é, afinado com o modelo democrático liberal. Já na Alemanha, o processo de formação de um Estado nacional fez-se segundo a imagem de um indivíduo coletivo que unifica a população como partes componentes de uma coletividade. Outro autor clássico na análise da formação dos Estados nacionais, Norbert Elias (1897-1990), discutindo exatamente esses dois casos nacionais, chama a atenção para a imagem universalizante, e, portanto, compatível com o individualismo liberal, que a ideia de civilização tem para os franceses. O ideário da Revolução Francesa fez-se em termos universalizantes: igualdade, liberdade e fraternidade são anunciadas como valores universais; os franceses se veem como portadores do futuro da humanidade, e os próprios empreendimentos coloniais são representados como missões civilizadoras. Já no caso alemão, o que ressaltado é a cultura alemã, o *Geist*, a singularidade da alma alemã enquanto expressão de uma totalidade única. Aqui o coletivo tem prioridade sobre a individualidade.

Claro que esse modelo dicotômico que podemos captar tanto em Dumont como em Elias é um exercício teórico-abstrato, uma simplificação extremada de processos sociais muito complexos, mas é mesmo para simplificar a extrema complexidade da realidade social que os construtos teóricos, desde a mera definição de conceitos, se prestam.

A partir dessas considerações históricas e teóricas, vamos refletir agora sobre a experiência da construção do Brasil como uma sociedade nacional, ou, em outras palavras, como um Estado-nação.

O Estado nacional brasileiro

Como é sabido, nossa independência se deu sem um conflito aberto com a potência colonial, sem uma grande ruptura, característica que certamente terá implicações importantes para a construção da nacionalidade. O fato de a independência frente ao poder colonial ter tido como autor reconhecido um membro da monarquia portuguesa dá a medida em que o centro de poder se antecede aqui à constituição da cidadania. Ainda que tenham ocorrido algumas manifestações libertárias da sociedade/nacionalidade, o que passou como imagem do processo de independência foi o grito do Ipiranga proferido por d. Pedro I. Cada Estado nacional é um caso singular, mas, como já sugeri, simplificações teóricas ajudam a iluminar processos e fenômenos sociais. Comparar a formação do Estado-nação no Brasil com outros casos nos ajuda a entender nossas heranças para melhor fazermos uso delas ou para superá-las. Exercícios comparativos nos auxiliam a entender, por exemplo, os obstáculos que o Brasil enfrentou e enfrenta para institucionalizar procedimentos democráticos efetivamente compatíveis com a busca da igualdade e com a construção de uma coletividade mais justa.

As características de nossas origens certamente têm peso não desprezível — aí incluídos a experiência colonial, o peso monumental do sistema escravista vigente à época, o processo peculiar de nossa independência decretada por um membro da monarquia portuguesa, o regime imperial sob o qual vivemos de 1822 a 1889, as características da abolição da escravidão. Mas o que não podemos aceitar é a ideia de que o passado nos condena. Estou exagerando na linguagem, contudo a verdade é que muitas pessoas cultas sustentam essa noção de que somos uma sociedade racista, extremamente desigual, autoritária, porque temos essas marcas de origem. Essa é a ideia básica que quero contestar aqui. As nações não são entidades

condenadas a perpetuar as marcas originais. Não há marcas de nascença que permanecem sempre iguais, como vícios ou virtudes nacionais. Elas recriam ou transformam continuamente seu passado, pois permanências, tanto quanto mudanças, são coisas que precisam ser ativadas para terem vigência, e cabe às ciências sociais explicar. Não há inércia social. Se não superamos vícios do passado escravista é porque foram feitas escolhas que recriaram a discriminação em contextos completamente diferentes do passado escravista. Escolhas foram feitas por aqueles que detinham o poder. Por exemplo, por que não se pensou em trazer mão de obra do Nordeste para o Centro-Sul ávido por tê-la para os cafezais? Existia mão de obra sobrando na agricultura do Nordeste decadente à época.

Lembrando ainda outro exemplo de recriação de imagem: a expressão “democracia racial”. Por que essa formulação ganhou tanta força a ponto de se tornar canônica? Porque foi recriada. Não apenas Gilberto Freyre (1900-1987), mas muitos outros autores se pronunciaram sobre a herança escravista. No entanto, foi a ideia expressa por ele quanto às características da relação entre senhores e escravos, entre brancos e negros, que ganhou força; ideia que durante tanto tempo se manteve como metáfora poderosa para justificar o *status quo*. A formulação de Gilberto Freyre foi apropriada para justificar a posição cômoda e motivada por interesses na manutenção de privilégios.

O ponto que quero ressaltar nesta conversa é que o que não muda em uma sociedade não é mero fruto da inércia, mas de escolhas que são feitas continuamente. A nação, como bem expressou Ernest Renan, é o plebiscito de todos os dias. Recriar privilégios ou lutar contra eles é uma escolha. Não que os resultados sociais sejam puro somatório do que cada cidadão ou cidadã escolhe; os resultados coletivos decorrem de agregações de interesses, mobilizações coletivas, e, mais ainda, são afetados pelas condições estruturais e institucionais. Daí a importância de se levar em conta também as oportunidades disponíveis. Por exemplo, as eleições são oportunidades de mudar o rumo das coisas. Não que o voto individual vá ter impacto singular, mas a agregação dele às escolhas de outros votantes pode abrir oportunidades de alterar os rumos da nação.

Tendo em vista esse eterno jogo entre escolhas, condições estruturais, obstáculos e oportunidades, é que podemos pensar em redesenhar a imagem da nação e o que parece urgente no momento. Sim, no momento a nação brasileira vem sendo ressignificada pela autoridade em exercício como apenas uma parte daqueles que

vivem no território brasileiro. O discurso oficial do Poder Executivo é dirigido a um “nós” particular, um “nós” cujo sentido invoca uma suposta ameaça a outros milhões de brasileiros, brasileiros imaginados como “inimigos”, como um “eles” que “nós patriotas” precisamos combater. O slogan “Brasil acima de tudo, Deus acima de todos” é mobilizado sistematicamente para reforçar um antagonismo, uma condenação daqueles brasileiros que encarnariam o mal, ou seja, aqueles cuja vilania é não apoiar o governante vigente. O slogan nunca foi invocado como expressão de uma comunhão nacional de aspirações, mas funciona como um canto de guerra contra os que discordam do presidente, e, portanto, são retratados como “maus brasileiros”.

O 7 de setembro de 2022, Bicentenário da Independência, é reimaginado pelo presidente e sua *entourage* como celebração do conjunto particular de feitos e conquistas ressignificados para representar valores adequados aos interesses do governante e seus seguidores. E, mais ainda, interesses de curto prazo, às vésperas das eleições. Assim, a celebração da data cívica perdeu seu civismo, tornando-se o plebiscito parcial no qual só votam eleitores concordantes.

O que vemos no Brasil hoje não é exclusividade nossa. Em diversos outros países ocorrem movimentos similares de negação da nação como uma comunidade de valores e interesses. Muito tem sido dito sobre a crise da democracia, e não terei tempo de elaborar sobre isso, mas quero terminar chamando a atenção para alguns pontos que me parecem, neste momento histórico, cruciais.

Conclusões

Em primeiro lugar, volto ao ponto que ressaltai antes: gênese não é destino. Nossas heranças históricas não são manchas indeléveis, não são pecados originais para os quais não há absolvição. É preciso combater o vício de tomar origens como permanências. Todo o cuidado é pouco contra a essencialização de slogans. (Um exemplo é que a noção de racismo estrutural chama a atenção para mecanismos muito poderosos, mas corre o risco de se tornar um slogan, uma imagem que passe a ideia de característica trans-histórica, uma explicação fácil para um problema difícil que exige medidas de políticas públicas.)

Um segundo ponto importante é relativo à propalada crise da democracia. Não pretendo negar que ela existe, mas sim discordar

da percepção dela como algo natural, como expressão de um movimento cíclico universal de ascensão e queda da história, tal como difundido em algumas versões filosóficas da história (por Arnold J. Toynbee [1889-1975], por exemplo). Há muitos sustentando isso para justificar uma passividade diante da realidade, uma aceitação fatalista do pessimismo, como se fosse necessário esperar que o ciclo ascendente da história passasse outra vez por nós.

Prosseguindo então para o terceiro ponto com que quero concluir, não se trata de glorificar voluntarismos, nem presentismos. Como atores sociais, temos que levar em conta o passado histórico e sobretudo avaliar erros e acertos. É imperativo também que aspirações, vontades e projetos estejam pautados pelo exame cuidadoso das condições dadas, dos obstáculos, e principalmente das oportunidades existentes.

Last but not least, neste ambiente de pessoas que compartilham os valores e objetivos da ciência, é fundamental lembrar sempre que a aposta na ciência é a aposta no conhecimento como instrumento transformador. Conhecer é gerar poder. O que descobrimos pode e deve contribuir para a promoção de benefícios coletivos. Uma ciência que não se vê como transformadora nega sua vocação. E essa vocação tem o poder de inventar, reinventar ou revigorar objetivos, metas e sonhos coletivos. Nesses 200 anos da nação brasileira, o que se espera de nós é que façamos nossa contribuição científica para dar sentido ao futuro, construindo dia a dia a imagem de uma sociedade menos desigual, mais justa, mais solidária.

AULA 7A

IMAGENS DO CÉREBRO QUE MUDA

Palestrante: Rodrigo Jorge Vianna Barbosa (CENABIO/UFRJ)

(*Transcrição: Lara Leal Carneiro Sampaio*)

O título deste capítulo, “um cérebro que muda”, pode surpreender muitas pessoas, pois ainda existe a ideia de que o cérebro é como um bloco de concreto, incapaz de mudar, especialmente quando se trata de um cérebro adulto. No entanto, o cérebro, inclusive o de adultos, possui a capacidade de se modificar. Essa capacidade do sistema nervoso de se reorganizar e adaptar é denominada neuroplasticidade, e geralmente é desencadeada em resposta a eventos específicos. Simplificadamente, podemos classificar esses eventos em três categorias distintas, cada uma capaz de promover uma resposta adaptativa e reorganizadora no sistema nervoso, com foco especial no cérebro.

A primeira categoria de eventos engloba problemas que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário. Esses problemas tendem a provocar alterações significativas e visíveis, podendo resultar em modificações anatômicas substanciais. A segunda categoria refere-se a injúrias provenientes do ambiente externo. Estas, por sua vez, podem desencadear processos de neuroplasticidade em resposta a danos causados por fatores ambientais adversos. E a terceira categoria, que merece destaque, envolve processos fisiológicos normais, como o aprendizado. O cérebro em processo de aprendizado está constantemente se reconfigurando, passando por um processo de neuroplasticidade para assimilar novos conhecimentos.

Neste texto, focarei as duas primeiras categorias: problemas durante o desenvolvimento embrionário e injúrias decorrentes do ambiente externo. Esses eventos têm o potencial de revelar a

notável adaptabilidade do cérebro e como ele pode se modificar em resposta a desafios e adversidades.

Para discutir esse assunto, falarei de uma série de trabalhos científicos feitos em colaboração entre a UFRJ, mais especificamente, o laboratório de neuroplasticidade, o Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) e o Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino (IDOR).

Por meio desses trabalhos, demonstrarei uma gama de alterações no sistema nervoso, desde as mais notáveis em termos de anatomia, como a formação de feixes anômalos em estudos em seres humanos, até modificações estruturais de menor magnitude. Além disso, abordarei alterações funcionais, pois o cérebro não apenas adapta sua estrutura como também pode transformar seu funcionamento. Exemplificarei, também, as modificações estruturais observadas em modelo animal, concentrando-me especificamente em roedores, mais precisamente em ratos. Essas investigações revelarão como o sistema nervoso é capaz de se ajustar e se transformar em resposta a diversos estímulos, oferecendo insights valiosos sobre a incrível plasticidade cerebral.

Muitos desses estudos utilizaram técnicas avançadas de imageamento por ressonância magnética, particularmente a metodologia conhecida como imagem por tensor de difusão (DTI). Essa técnica desempenha um papel crucial nas pesquisas em neurociência, permitindo, entre outras coisas, investigar a substância branca cerebral em pacientes vivos; ao mencionar a substância branca, estou me referindo aos feixes cerebrais. Além disso, o DTI possibilita extrair parâmetros quantitativos que, por sua vez, permitem quantificar e analisar a integridade da microestrutura cerebral.

Mas como funciona exatamente essa metodologia? Ela está intrinsecamente ligada a um fenômeno físico chamado movimento browniano. Em termos simplificados, o movimento browniano pode ser explicado desta forma: imagine um copo imóvel cheio de água sobre uma mesa. A primeira impressão pode levar-nos a acreditar que, porque o copo está parado, as moléculas de água dentro dele também estão em repouso. No entanto, isso não é verdade. As moléculas de água no copo estão, na realidade, em movimento aleatório, em todas as direções, colidindo umas com as outras e com as paredes do copo. Agora, imagine que colocamos um canudo dentro desse copo. Imediatamente, podemos identificar dois tipos de ambientes

distintos: o ambiente dentro do copo e o ambiente dentro do canudo. Se compararmos esses ambientes, perceberemos que o ambiente do copo é mais permissivo em relação à direcionalidade das moléculas de água, sendo por isso chamado de isotrópico. Nele, as moléculas de água têm mais liberdade para se movimentarem em todas as direções. Por outro lado, o ambiente dentro do canudo é mais restrito em termos de direcionalidade das moléculas de água. Nesse ambiente, a água tende a se movimentar preferencialmente em uma direção, paralela ao canudo. Chamamos esse ambiente de meio anisotrópico. A metodologia do DTI nos permite, precisamente, quantificar o grau de anisotropia de um ambiente, por meio da extração de um parâmetro quantitativo conhecido como anisotropia fracionada (FA).

É verdade que no cérebro não encontramos copos ou canudos, mas há estruturas que podem criar um ambiente anisotrópico, semelhante ao exemplo do canudo. Essas estruturas são os feixes cerebrais. Assim como o canudo restringe o movimento da água, os feixes cerebrais tornam o movimento das moléculas de água mais restrito, de modo que elas tendem a se mover preferencialmente em uma direção, ao longo desses feixes.

Com base nessa ideia, foi desenvolvida uma metodologia capaz de reconstruir tridimensionalmente esses feixes. Nesse processo, o cérebro é subdividido em pequenas unidades tridimensionais chamadas voxels, semelhantes a pixels volumétricos, e, quando o valor de anisotropia fracionada em cada voxel atinge um limiar específico, podemos inferir a presença de um feixe cerebral naquela região. Além disso, ao avaliar a direcionalidade preferencial das moléculas de água em cada área, podemos estimar a direção do feixe. Com essas informações, um software realiza a reconstrução tridimensional de cada feixe cerebral. Esse processo permite criar um mapa de FA codificado por cores, em que cada cor transmite informações específicas. Conforme convenção, os feixes laterolaterais são representados em vermelho, os superoinferiores e íferossuperiores em azul, e os rostrocaudais e caudorostrais em verde.

Tendo explicado um pouco do funcionamento das metodologias utilizadas nos trabalhos que usarei para exemplificar a capacidade de mudança do cérebro, direcionarei nosso foco para as descobertas em si, começando pela plasticidade da conectividade estrutural em seres humanos.

Ao abordar a conectividade estrutural, é essencial mencionar uma estrutura de extrema importância no cérebro humano: o corpo caloso (CC). O corpo caloso é uma comissura cerebral que desempenha o papel crucial de conectar os dois hemisférios cerebrais. Trata-se da maior comissura presente nos mamíferos placentários, desempenhando um papel vital na transferência de informações entre os hemisférios.

Essa estrutura surge durante o desenvolvimento embrionário, e, em alguns casos, pode ocorrer uma falha em sua formação, conhecida como disgenesia do corpo caloso (DgCC). Essa condição pode se manifestar de três maneiras distintas. Primeiramente, há a agenesia, que se caracteriza pela não formação completa do CC, resultando em sua ausência total. Em seguida, há a hipoplasia, em que o CC está presente, porém menor do que o observado em indivíduos saudáveis. Por último, a disgenesia parcial, na qual apenas uma parte do CC é formada; em humanos, geralmente é a parte frontal, conhecida como joelho do corpo caloso.

Apesar da importância do CC na transferência de informações entre os hemisférios cerebrais, pacientes com algum tipo de disgenesia do CC demonstram evidências de conexões inter-hemisféricas. Isso é verificado por meio de testes neuropsicológicos específicos que indicam que os dois hemisférios cerebrais ainda podem se comunicar, assunto que explorarei em detalhes mais à frente. Além disso, esses pacientes apresentam alterações estruturais notáveis, incluindo a formação de feixes anômalos que não são observados em indivíduos saudáveis.

Um deles é o feixe de Probst (FP), que foi descrito pela primeira vez em 1901, tornando-se um fenômeno conhecido há bastante tempo. Um aspecto intrigante desse feixe é que, em reconstruções tridimensionais, ele aparece em proximidade ao feixe do cíngulo, que não é anômalo. Essa proximidade dá a impressão de que o feixe de Probst “pega carona”, utilizando o feixe do cíngulo como uma espécie de “estrada” para se desenvolver. É importante destacar que esse processo de um feixe cerebral utilizando outro como um tipo de caminho é algo que ocorre durante o desenvolvimento normal do corpo caloso e dos demais feixes, conhecido como fasciculação axonal. No caso do desenvolvimento normal do CC, os axônios que estão prestes a cruzar a linha média aproveitam as partes já formadas do próprio feixe como um caminho. No entanto, nossa hipótese em relação ao feixe de Probst é que ele é formado por axônios que

inicialmente se destinariam ao CC, mas, devido a algum problema durante o desenvolvimento, foram impedidos de fazer isso. Em resposta, esses axônios se reorganizam e seguem um curso alternativo fasciculando com o feixe do cíngulo.

Um outro feixe que é bastante interessante é o feixe sigmoide, descrito em 2007. Ele conecta regiões frontais com regiões posteriores e é achado em pacientes que tem pelo menos uma parte do CC, ou seja, pacientes com hipoplasia ou agenesia parcial. O interessante desse feixe é justamente esse tipo de conectividade que ele faz, que é chamada de heterotópica. O corpo caloso normalmente faz uma conectividade homotópica, isto é, ele conecta duas regiões equivalentes dos dois hemisférios cerebrais. Já este feixe tem uma conectividade heterotópica, conectando uma parte mais frontal com uma parte mais posterior contralateral, e isso ocorre dos dois lados.

Em 2014, nosso grupo de pesquisa identificou outro feixe anômalo, o mesencefálico intercortical. Ao analisar sua reconstrução tridimensional, parece que ele também “pega carona” em outro feixe, o corticoespinhal, que não é anômalo. Nossa hipótese é que ele se fascicula com o feixe corticoespinhal, descendo até a altura da comissura posterior, cruzando a linha média e, finalmente, ascendendo para alcançar o hemisfério cerebral oposto.

O mesencefálico intercortical é notável por sua conectividade homotópica, conectando o lobo parietal de um hemisfério ao lobo parietal contralateral. Essa região é conhecida por desempenhar um papel crucial no processamento de informações táteis complexas. Para testar a funcionalidade desse feixe, conduzimos um teste neuropsicológico específico em pacientes que o possuíam. Nesse teste, os pacientes foram desafiados a reconhecer um objeto com uma mão, sem o auxílio da visão, e depois apontar o objeto em uma série de fotos usando a outra mão. Os resultados foram impressionantes, pois os pacientes com o mesencefálico intercortical se saíram tão bem quanto os indivíduos do grupo controle, que não apresentavam anormalidades no desenvolvimento do corpo caloso. Essa realização sugere que os dois hemisférios cerebrais estavam efetivamente compartilhando informações durante o teste.

Imaginando o desenvolvimento do corpo caloso como um rio, podemos considerar que, quando surgem obstáculos, ele se reorganiza de maneira notável e continua a fluir. Essas descobertas representam uma visão fascinante do potencial adaptativo do cérebro

humano e nos convidam a explorar mais profundamente os segredos da conectividade cerebral.

No vasto universo da plasticidade cerebral, um fenômeno intrigante emerge quando consideramos a amputação como um evento causador de adaptações no sistema nervoso humano. A amputação pode ser definida de forma resumida como a perda de uma parte do corpo. O curioso é que ela pode causar o surgimento do membro fantasma, que é a sensação do membro perdido, ou até mesmo a dor fantasma, que é a sensação de dor no membro que não existe mais. Mas o que acontece no cérebro para explicar essas experiências vívidas e por vezes dolorosas?

Para investigar esses fenômenos complexos, é imperativo introduzir o conceito do córtex somestésico primário (S1), a primeira região do córtex cerebral responsável por receber informações da periferia do corpo humano. O S1 abriga uma maravilha da organização cerebral conhecida como somatotopia. Nessa região, cada parte do corpo é cuidadosamente mapeada e representada. O córtex somestésico primário do cérebro humano é a região a qual primeiro chegam as informações somestésicas do pé, e portanto a representação dessa parte do corpo se localiza na parte mais medial. Já a representação da perna e do tronco está numa região mais dorsal de S1, e a representação das mãos e face fica na parte mais lateral.

Mas como esse intrincado sistema opera na prática? Imagine que realizemos um estímulo tátil no pé de uma pessoa. Como resposta, a região correspondente à representação do pé no S1 será ativada; se o estímulo for aplicado na coxa, a ativação será na representação da coxa em S1. No entanto, surge uma questão intrigante quando nos deparamos com a amputação de uma perna. Nesse caso, ao estimular a região remanescente, conhecida como o coto, que nesse exemplo é a coxa, algo notável ocorre: a representação em S1 da coxa e do pé que foi amputado são ativadas. Esse fenômeno revela uma invasão funcional da região remanescente sobre a representação da parte do corpo ausente.

Para mergulharmos mais fundo nesses mecanismos de invasão funcional, realizamos um estudo envolvendo indivíduos que haviam sofrido amputação de perna e experimentavam a sensação do membro fantasma, mas não sofriam com a dor fantasma. Nesse ponto, é crucial entender que a informação somestésica segue uma rota cruzada no cérebro. Em outras palavras, ao estimular uma

região do lado esquerdo do corpo, a ativação inicial em S1 ocorrerá no hemisfério direito e vice-versa.

Ao analisarmos os resultados desse estudo, constatamos que, ao se estimular o pé remanescente — ou seja, o pé que ainda existe — dos pacientes que sofreram amputação, ocorre uma ativação do hemisfério cerebral contralateral, como esperado. No entanto, algo inesperado também acontece: uma ativação no hemisfério que abriga a representação do pé perdido. Aqui, testemunhamos uma verdadeira invasão funcional da representação do pé remanescente sobre o pé que foi fisicamente removido. O interessante nesse dado é mostrar que essa invasão não ocorre só numa região próxima, pois nesse caso específico ocorreu no hemisfério cerebral oposto.

A fim de compreender essa fascinante invasão funcional, direcionamos nossa atenção ao corpo caloso, a estrutura que conecta essas áreas cerebrais. Realizamos investigações detalhadas e identificamos uma notável plasticidade estrutural no CC. Essa mudança estrutural manifestou-se sob a forma de uma alteração no valor de FA, que é um indicador frequentemente associado ao grau de mielinização dos feixes cerebrais. Os pacientes amputados demonstraram um valor de FA menor em comparação aos pacientes controle, especificamente na região do CC, que conecta as representações do S1 dos dois hemisférios cerebrais.

Diante dessa revelação intrigante, surgiu a necessidade de explorar mais a fundo os impactos da amputação na mielinização do corpo caloso. No entanto, para realizar essa pesquisa mais aprofundada, foi necessário adotar métodos mais invasivos e, assim, nos voltamos para um modelo animal. Em particular, conduzimos um estudo envolvendo ratos, buscando entender como a amputação afeta a mielinização do CC e como essa mudança estrutural pode influenciar os fenômenos complexos que testemunhamos nos pacientes humanos.

Antes de adentrarmos nos dados empolgantes que emergiram dos nossos estudos, é crucial introduzir um conceito fundamental: o córtex em barril. Roedores também possuem o córtex somestésico primário e, ao examinarmos o cérebro de um rato por meio de cortes histológicos e aplicarmos uma técnica de reação histoquímica específica, uma maravilha da organização cerebral se revela: as representações de diferentes partes do corpo desses animais se

concentram em pequenas estruturas que lembram barris, e é por isso que essa região é conhecida como o córtex de barril.

Com base nesse conceito, lançamos nosso olhar para cortes histológicos do cérebro de ratos que sofreram amputação de suas patas dianteiras logo após o nascimento. É importante ressaltar que nossa análise foi conduzida 90 dias após a amputação, permitindo-nos observar as mudanças a longo prazo. Verificamos que a representação da pata amputada estava visivelmente reduzida no córtex de barril e a representação da pata remanescente teve um aumento significativo. Novamente, o que conecta essas duas áreas cerebrais distintas é o corpo caloso, então, para analisar o CC em profundidade, utilizamos uma técnica na qual injetamos um rastreador axonal diretamente no córtex cerebral. Esse rastreador é absorvido pelos neurônios e transportado ao longo dos axônios até atingir as extremidades chamadas de arborização axonal.

A injeção foi feita na região do córtex que tem a representação da pata amputada, e examinamos o outro lado do cérebro. O que encontramos foi uma expansão notável na arborização axonal. Em termos simples, os axônios que se originavam da representação da pata amputada agora alcançavam regiões mais extensas do hemisfério que continha a representação da pata remanescente. Esse achado lança luz sobre os mecanismos cerebrais que subjazem à adaptação e à reorganização do cérebro em resposta à amputação, revelando como o corpo caloso desempenha um papel vital nesse processo.

Ao analisarmos a mielinização, que foi o que basicamente motivou todo esse estudo em modelos animais, encontramos uma alteração no CC. Utilizando uma técnica de imuno-histoquímica aliada à microscopia eletrônica de transmissão, constatamos que o corpo caloso dos animais que sofreram amputação tinha menos mielina em seus axônios.

Com isso, retornando ao ponto de partida, à indagação sobre “um cérebro que muda”. Após apresentar esses achados que demonstram diferentes formas de neuroplasticidade, gostaria de enfatizar a desconstrução da ideia de um cérebro estático, imutável como um bloco de concreto. Em vez disso, nossa jornada nos levou a uma compreensão mais precisa: o cérebro humano é, na verdade, como uma massa de modelar, capaz de se reorganizar, adaptar e evoluir em resposta a desafios e transformações.

AULA 7B

A ADMIRÁVEL NATUREZA DOS SENTIMENTOS HUMANOS: DESVDANDO AS FUNÇÕES CEREBRAIS, O PENSAMENTO E AS EMOÇÕES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Palestrante: Jorge Moll Neto

(Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa)

(Transcrição: Gabriel Isaac Correia)

Professor Adalberto, em primeiro lugar quero agradecer o convite gentil para falar no Colégio Brasileiro de Altos Estudos. Agradeço também à sua coordenação e a toda a equipe envolvida neste evento. É um enorme prazer. Sem mais delongas, gostaria de iniciar minha apresentação e tentar trazer alguns dados interessantes para a nossa conversa.

Após receber o convite, refleti sobre o que poderíamos abordar dentro do vasto campo dos sentimentos humanos. Um dos sentimentos mais intrigantes que escolhi destacar é o sentimento de admiração. Portanto, fiz uma pequena brincadeira com o título da apresentação: “A admirável natureza dos sentimentos humanos: desvendando as funções cerebrais”.

Sabe-se que, como mamíferos, somos inerentemente dependentes de complexos mecanismos de recompensa e motivação para a nossa sobrevivência. É essa interligação entre a busca por recompensas e a motivação que impulsiona nossa jornada. Esses elementos motivacionais fundamentais, essenciais para a existência, são uma herança compartilhada entre todos os mamíferos, incluindo nós, seres humanos.

A ressonância magnética funcional (fMRI), assim como a estrutural, emergiu como uma ferramenta revolucionária para investigar os aspectos estruturais e funcionais do cérebro humano *in vivo*.

Durante a maior parte do século passado, essa exploração estava, em grande parte, restrita a experimentos realizados em animais. Em humanos, as oportunidades eram limitadas a estudos denominados “experimentos naturais”, que incluíam casos de lesões cerebrais sofridas, por exemplo, durante conflitos armados ou cirurgias médicas. Essas situações excepcionais proporcionaram insights cruciais sobre o funcionamento do cérebro humano, já que as alterações comportamentais e funcionais específicas que ocorriam após uma lesão em uma área cerebral específica lançavam luz sobre a função daquela região em particular.

O avanço das diferentes tecnologias desempenhou um papel crucial neste contexto. Inicialmente, durante as décadas de 1970 e 1980, a técnica da imagem por emissão de pósitrons (PET) surgiu como uma ferramenta valiosa. Embora continue sendo amplamente aplicada em cenários clínicos e na pesquisa neuroquímica, sua utilização no estudo das funções cerebrais tem diminuído progressivamente. Nesse cenário, a ressonância magnética funcional emergiu como líder incontestável na investigação dos processos cognitivos, graças à sua notável versatilidade.

Em um trabalho conduzido em 2001, Brian Knutson foi capaz de demonstrar, através do uso da ressonância magnética, a capacidade de ativar o sistema de recompensa do cérebro por meio de recompensas abstratas, especificamente recompensas financeiras, ou seja, dinheiro. É interessante mencionar uma situação cômica relacionada a essa pesquisa. Durante os quatro anos em que eu estava indo e voltando entre o Instituto D’Or e Stanford, o dr. Brian Knutson compartilhou comigo uma história de seu passado. Ele me contou que, durante seu período como pós-doutorando no National Institute of Health (NIH) [Instituto Nacional de Saúde], alguns anos antes de minha estadia lá em 2001, ele propôs um estudo para seu supervisor. A ideia era simples: oferecer dinheiro às pessoas enquanto elas estivessem dentro do equipamento de ressonância magnética e observar se isso ativaria as regiões cerebrais relacionadas à recompensa. Na época, muitos não levaram a proposta a sério e até mesmo zombaram dela, argumentando que não funcionaria. No entanto, o dr. Knutson decidiu seguir em frente com o trabalho e, em 2001, publicou o primeiro artigo sobre o assunto. Esse estudo pioneiro acabou por dar origem a um campo de pesquisa em expansão conhecido como neuroeconomia, abrindo caminho para novos avanços nessa área.

Quando estive no NIH, aproximadamente dois ou três anos mais tarde, iniciamos no Brasil uma tentativa de explorar a ideia de estimular ou provocar tipos de recompensas que fossem distintivamente humanas — ou seja, mais centradas na humanidade do que em outros animais. Esse direcionamento nos levou ao estudo fundamental da moralidade e do altruísmo humanos.

Essa jornada em que embarcamos ao longo das últimas duas décadas nos proporcionou uma melhor compreensão de como o cérebro processa recompensas abstratas e aquelas que encontramos primariamente nos seres humanos. Além disso, essa pesquisa nos permitiu identificar as semelhanças que compartilhamos com outros mamíferos em relação a esses processos, de modo que pudemos encontrar uma ampla variedade de estímulos e categorias de estímulos que têm a capacidade de ativar de forma significativa nosso sistema motivacional.

Em 2005, publicamos um artigo que buscou realizar uma revisão abrangente de pesquisas, abordando tanto a ativação da ressonância funcional quanto os estudos de lesões cerebrais (Moll *et al.*, 2005). Nosso objetivo era identificar convergências que apontassem para regiões corticais e subcorticais relacionadas às emoções morais e sua relação com as emoções básicas. Durante essa investigação, ficou claro que existe um conjunto de regiões corticais intimamente envolvidas na experiência das emoções morais. Além disso, identificamos o papel fundamental de regiões subcorticais, incluindo a amígdala e a área hipotalâmica, juntamente com outras áreas do prosencéfalo basal, relacionadas ao processamento dessas emoções morais.

Dentro desse amplo espectro de sentimentos, vale a pena destacar uma área mais recente de pesquisa na qual começamos a nos aprofundar: o sentimento de admiração, que em inglês é conhecido como “awe”. Esse sentimento poderia ser descrito em português como uma mistura de admiração profunda e maravilhamento, muitas vezes expressa com a onomatopeia “oh”. Ele se caracteriza por uma sensação de vastidão perceptual ou elevação, acompanhada de um profundo respeito por algo sublime ou transcendental, gerando a necessidade de se acomodar a essa grandeza, de se situar diante do que é percebido como algo grandioso. Essa experiência de admiração pode se manifestar em diversas situações, como ao contemplar a natureza majestosa, ao testemunhar habilidades excepcionais, ao apreciar a beleza humana ou natural intensa e até mesmo

ao presenciar atos de benevolência notável. O sentimento de “awe” é verdadeiramente singular e característico do ser humano, pois está relacionado a uma sensação de diminuição do ego (*self*) e ao aumento da conexão com os outros. Em muitos casos, a experiência de admiração leva a um senso de autotranscendência e à sensação de pertencer a algo maior, ampliando nossa compreensão da nossa própria existência e do mundo que nos cerca.

Em um primeiro momento, a admiração pode parecer um sentimento peculiar. Por que os seres humanos investiriam energia, tempo, e até se arriscariam por essa sensação?

Do ponto de vista evolutivo, várias evidências convergem para uma ideia intrigante. Modelos de coevolução gene-cultura, como proposto por Samuel Bowles (1939-) e Herbert Gintis (1940-2023) no livro *A Cooperative Species*, começam a lançar luz sobre o que chamamos de reciprocidade indireta ou paroquialismo. Trata-se da tendência de ajudar o próprio grupo, mesmo que não haja laços genéticos diretos. Esse fenômeno, rejeitado por visões mais superficiais da evolução biológica, como a de Richard Dawkins (1941-) em *O gene egoísta*, parece ser uma característica distintiva dos seres humanos. Além disso, modelos antropológicos, como o conceito de fusão de identidade proposto por Harvey Whitehouse (1964-), da Universidade de Oxford, também exploram essa dinâmica complexa.

O comportamento generoso é uma observação amplamente constatada e não pode ser completamente explicado apenas pelo interesse próprio ou pelo desejo de auxiliar os geneticamente relacionados. Em situações de privação intensa e estresse, frequentemente ocorre uma cooperação no enfrentamento dessas dificuldades, levando as pessoas a se unirem para superar desafios, mesmo que não haja uma proximidade genética evidente entre elas. Essas situações estão intrinsecamente ligadas a sentimentos e experiências que envolvem o sentimento de admiração, motivando a cooperação em prol do benefício do grupo. Esses fenômenos podem ser interpretados como uma extensão dos mecanismos de “attachment” [apego], um processo comum entre praticamente todas as espécies de mamíferos, especialmente aquelas que são socialmente organizadas, incluindo a nossa.

Esse tipo de apego pode ainda ser estendido, envolvendo a ligação não apenas a indivíduos, mas também a símbolos e práticas rituais, entre outros elementos. A hipótese é que os mesmos

mecanismos neurobiológicos que estão envolvidos no apego entre pais e filhos, ou entre parentes em geral, podem ter sido estendidos e ter incorporado componentes conceituais e temporais. Isso envolve funções do lobo temporal e funções do lobo frontal para dar origem a esse apego estendido. Embora ainda seja um mistério em grande parte, estamos progredindo gradualmente na compreensão desse mistério evolutivo neurobiológico.

Essa hipótese do *attachment* estendido oferece uma perspectiva valiosa para explicar como ocorre o apego a indivíduos não geneticamente relacionados, bem como a conceitos e ideias abstratas. Há evidências que começam a emergir a nível cerebral, especialmente por meio de técnicas de ressonância funcional, que nos permitem explorar os processos neurobiológicos subjacentes a esses fenômenos.

A ressonância funcional tem desempenhado um papel fundamental ao revelar o potencial da região septo-hipotalâmica, uma área considerada primitiva e comum a todos os mamíferos no que diz respeito aos sentimentos afiliativos. Em nosso estudo publicado em 2012, utilizando ressonância funcional, analisamos estímulos relacionados a situações hipotéticas envolvendo interações com parentes e amigos, que são cenários essenciais para compreender o apego (Moll *et al.*, 2012). Nossas descobertas revelaram uma notável ativação na região septo-hipotalâmica em resposta a esses cenários afiliativos, tanto positivos quanto negativos emocionalmente. Essa ativação ocorreu em uma região específica, situada medialmente e englobando os núcleos septais e a área pré-óptica hipotalâmica.

Estudos que investigam a cooperação entre indivíduos também revelaram a ativação e recrutamento dessa região septo-hipotalâmica, que está relacionada ainda ao sentimento de ternura (Lockwood *et al.*, 2016). Além disso, temos dedicado vários anos de pesquisa ao estudo desses mecanismos, explorando a evocação de sentimentos de apego e a modulação voluntária desses sentimentos por meio do neurofeedback (Moll *et al.*, 2014). Também dedicamos atenção à pesquisa sobre confiança interpessoal. Em um trabalho de cooperação econômica entre indivíduos desconhecidos, conduzido pelo nosso colega Frank Krueger durante a época de doutorado no NIH, identificou-se que, quando se desenvolvia uma situação de confiança que ultrapassava o benefício mútuo, havia uma maior ativação na região septo-hipotalâmica (Krueger *et al.*, 2007). Em outra pesquisa conduzida por mim no NIH, investigamos doações altruístas anônimas para organizações (Moll *et al.*, 2006). Nesse ensaio, observamos

que, quando as pessoas anonimamente sacrificavam seu próprio dinheiro para apoiar causas que valorizavam, ocorria a ativação dessas mesmas regiões mencionadas.

Em um estudo mais recente realizado em 2017, nosso colega Tiago Bortolini, que é pós-doutorando do nosso laboratório, demonstrou que esse fenômeno se estende a situações que não necessariamente podem ser rotuladas como morais (Bortolini *et al.*, 2017). Em outras palavras, a ativação dessas regiões não está estritamente ligada a questões de caráter moral. Pode ocorrer simplesmente com base na identidade de grupo, refletindo o fenômeno do paroquialismo previamente mencionado. O paroquialismo, com seus aspectos positivos e negativos, está relacionado à competição entre grupos, que, em alguns casos, pode ser altamente destrutiva.

Na tese de doutorado conduzida também pelo Tiago Bortolini (2017), muito interessante e inspirada nos estudos anteriores sobre recompensa financeira do Brian Knutson, uma tarefa chamada “Affiliative Motives Incentive Delay Task” foi empregada. Essa tarefa é uma variação da “Monetary Incentive Delay Task”, uma tarefa de incentivo atrasado. Nesse trabalho, Bortolini utilizou estímulos visuais mais intensos e impactantes, que consistiam em clipes de vídeo. Esses clipes abrangiam diversas condições afetivas e afiliativas, incluindo ternura, admiração (awe) e estímulos de natureza erótica. Estes últimos, embora mais simples, estão relacionados à sobrevivência e também envolvem componentes afiliativos.

O conceito central do trabalho foi o questionamento sobre a atuação das emoções afiliativas essencialmente como recompensas. Os resultados, representados nas imagens de ressonância funcional, revelaram uma forte ativação em todo o circuito basal na área mesolímbica hipotalâmica, bem como no estriado ventral (áreas associadas à recompensa) em todas as categorias analisadas.

Curiosamente, observou-se que a categoria de admiração teve uma ativação menos robusta, o que pode ser explorado em pesquisas futuras. Uma possível explicação é que a alternância entre essas categorias dentro da ressonância pode ser desafiadora, considerando a intensidade dos estímulos, de modo que há grande dificuldade para o indivíduo conseguir transitar naturalmente entre um vídeo erótico ou de ternura para um vídeo sobre a natureza. No entanto, ficamos satisfeitos em confirmar a poderosa ativação dos circuitos

mediais do cérebro, reforçando as descobertas anteriores utilizando estímulos visuais.

Em outro estudo, conduzimos experimentos também utilizando ressonância funcional em tempo real. Nele, coletamos imagens funcionais do cérebro enquanto instruíamos os participantes a evocar sentimentos de ternura. Eles foram orientados a imaginar situações que despertassem esse sentimento, enquanto nós fornecíamos feedback em tempo real usando uma técnica de *machine learning* [aprendizado de máquina]. O feedback indicava se o estado emocional se aproximava mais de ternura ou orgulho.

Os resultados revelaram que, com o uso desse neurofeedback, os participantes conseguiram atingir uma classificação do padrão emocional no cérebro muito mais precisa do que quando não havia feedback. Além disso, a maioria dos indivíduos conseguiu utilizar o neurofeedback para induzir o estado de ternura por conta própria. Este estudo representa um primeiro passo nessa direção.

É também interessante apresentar as teses de doutorado de Bruno Melo (2018), que possui formação em computação, o que possibilitou que desempenhasse um papel significativo na implementação das complexas tecnologias envolvidas, e de Julie Weingartner. A pesquisa se baseou em uma abordagem destinada a evocar emoções mais intensas durante a ressonância funcional. Isso foi realizado por meio de uma técnica do tipo Gestalt, que envolveu cenas visuais, música e memória de forma a criar uma experiência mais poderosa para o uso do neurofeedback (Weingartner, 2019). Além disso, o trabalho empregou uma abordagem mais próxima da realidade virtual, utilizando a linguagem de programação de jogos Unity.

No contexto desta pesquisa, os participantes estavam dentro do aparelho de ressonância magnética visualizando uma cena que se assemelhava a um ambiente natural, embora fosse artificial. Durante essa experiência, eles navegavam por uma paisagem cujas cores eram moduladas com base na atividade cerebral do indivíduo. O estudo incluía três condições: uma condição emocionalmente neutra, na qual os participantes navegavam pelo ambiente sem música (chamada de *baseline*), uma condição com cores quentes que mudavam quando os participantes evocavam sentimentos de afeição e ternura — condição relacionada à região septal do cérebro, usando memórias autobiográficas — e uma última condição, na qual eram utilizados tons arroxeados quando os participantes eram instruídos a evocar

sentimentos de angústia, lembrando experiências estressantes, estando relacionada à amígdala, que é uma região associada a sentimentos negativos, como medo e angústia. Além disso, para complementar essa experiência, uma trilha musical distorcida era utilizada.

Em resumo, o estudo consistiu em uma regulação emocional em ambiente virtual guiada por feedback. Os resultados da ativação cerebral revelaram que o sistema de afeição e ternura ativou regiões mediais, incluindo a região septo-hipotalâmica. Por outro lado, os estímulos de angústia modularam a atividade da amígdala, bem como regiões laterais e dorsolaterais do córtex frontal, de acordo com o que já é conhecido pela literatura.

Concluindo então sobre o sentimento de admiração, temos que, assim como o altruísmo e a ternura, ele está associado a benefícios físicos bem documentados. Trabalhos comportamentais demonstraram sua relação com o funcionamento do sistema imune, a redução do estresse e o estímulo à pró-socialidade, de modo que as neuroimagens, especialmente a ressonância magnética, têm começado a revelar as bases neurais desses sentimentos.

Gostaria de aproveitar este momento para agradecer a todos, a toda a nossa família, amigos e colaboradores de diversas frentes. Trabalhar lado a lado com universidades no Brasil e no exterior tem sido uma verdadeira honra, e apreciamos profundamente aqueles que desejam se juntar a nós para avançar as fronteiras do conhecimento. Um agradecimento especial a todos os nossos colegas e às instituições que sempre nos apoiaram. Muito obrigado a todos.

REFERÊNCIAS

BORTOLINI, T. S. *Bases neurais da cooperação: efeitos do pertencimento a grupos sociais*. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Morfológicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

BORTOLINI, T.; BADO, P.; HOEFLE, S.; ENGEL, A.; ZAHN, R.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; DREHER. Neural Bases of Ingroup Altruistic Motivation in Soccer Fans. *Scientific Reports*, [s. l.], v. 7, n. 16122, 23 Nov. 2017.

KRUEGER, F.; McCABE, K.; MOLL, J.; KRIEGESKORTE, N.; ZAHN, R.; STRENIK, M.; HEINECKE, A.; GRAFMAN, J. Neural Correlates of Trust. *Proceedings of the National Academy of Science*, [s. l.], v. 104, n. 50, p. 20084-20089, 11 Dec. 2007.

LOCKWOOD, P. L.; APPS, M. A.; VALTON, V.; VIDING, E.; ROISER, J. P. Neurocomputational Mechanisms of Prosocial Learning and Links to Empathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [s. l.], v. 113, n. 35, p. 9763-9768, 2016.

MELO, B. R. P. de. *Identificação de estados emocionais complexos com base em ressonância magnética e eletroencefalografia: uma abordagem com cenário de Realidade Virtual*. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) – Programa de Pós-Graduação de Engenharia Biomédica, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

MOLL, J.; BADO, P.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; BRAMATI, I. E.; LIMA, D. O.; PAIVA, F. F.; SATO, J. R.; TOVAR-MOLL, F.; ZAHN, R. A Neural Signature of Affiliative Emotion in the Human Septohypothalamic Area. *The Journal of Neuroscience*, [s. l.], v. 32, p. 12499-12505, 5 Sep. 2012.

MOLL, J.; KRUEGER, F.; ZAHN, R.; PARDINI, M.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; GRAFMAN, J. Human Fronto-Mesolimbic Networks Guide Decisions about Charitable Donation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [s. l.], v. 103, n. 42, p. 15623-15628, 17 Oct. 2006.

MOLL, J.; WEINGARTNER, J. H.; BADO, P.; BASILIO, R.; SATO, J. R.; MELO, B. R. de; BRAMATI, I. E.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; ZAHN, R. Voluntary Enhancement of Neural Signatures of Affiliative Emotion Using fMRI Neurofeedback. *PLoS One*, [s. l.], v. 9, n. 5, 21 May 2014.

MOLL, J.; ZAHN, R.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; KRUEGER, F.; GRAFMAN, J. The Neural Basis of Human Moral Cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, [s. l.], v. 6, p. 799-809, 1 Oct. 2005.

WEINGARTNER, J. H. *Reconhecimento de padrões temporo-espaciais da resposta do córtex auditivo humano à música*. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Morfológicas) – Programa de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

AULA 8A

IMAGENS E O MUNDO PSICODÉLICO

Palestrante: Livia Goto-Silva

(Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa)

(Transcrição: Murilo Nespolo Spineli)

É uma honra estar aqui falando na mesma sessão junto ao professor Roberto Lent e na presença de vocês. Aceitei o desafio de apresentar no lugar do professor Stevens Rehen um tema bastante eclético, dado a natureza das nossas pesquisas, mas que eu tive muito prazer em montar nesta palestra e compartilhar com vocês o que eu estudei sobre imagens dentro do campo da ciência psicodélica.

O tema sobre o qual vou falar é imagens e o mundo psicodélico. Falaremos um pouco de ciência e um pouco de arte. Para começar, escolhi esta pintura (FIGURA 1) para entrarmos neste mundo, essas representações que muito se parecem como representações de sonhos. Assim, também saímos um pouco do nosso “hardcore science” para entrar um pouco nesse outro mundo de fantasia. Esta é uma [pintura de Abdul Mati Klarwein](#) (1932-2002) chamada *Tempo* e pertence a uma linha artística chamada surrealismo psicodélico.

Figura 1 – *Time*, de Abdul Mati Klarwein

Fonte: Klarwein (c2024)

Sabemos que nós, humanos, temos uma relação muito antiga com substâncias e produtos naturais que têm a capacidade de alterar a consciência. Pinturas rupestres do norte da África em 900 a.C. já continham representações de formas bem semelhantes às dos cogumelos mágicos. Hoje é sabido que esses cogumelos têm uma substância ativa chamada psilocibina. Outras civilizações também representaram os cogumelos, como, por exemplo, essas [esculturas da Guatemala](#) (FIGURA 2) em que foram encontradas várias pedras arqueológicas em formato de cogumelos, e no México também. Existem várias civilizações que entraram em contato, que tiveram uma relação com os cogumelos e com essa substância ativa.

Figura 2 – Esculturas em formato de cogumelos



Various Mushroom Stones (approx 1 ft tall - 1000 B.C. to 500 A.D.)

Fonte: Wikipedia (c2024)

Por exemplo, no Antigo Egito, houve essa referência de que os cogumelos seriam o que foi chamado de “carne dos deuses”. Eles eram considerados pelos antigos povos do Egito os filhos dos deuses ou comida dos deuses, por serem capazes de desencadear alterações no estado de consciência que fariam indivíduos entrarem em contato com outros estados de consciência.

Assim, do ponto de vista bioquímico, já entrando na pesquisa científica, sabemos que esses compostos chamados psicodélicos — falarei só dos psicodélicos clássicos — são moléculas parecidas com a molécula de serotonina. Eles pertencem à classe das fenetilaminas. Por exemplo, a mescalina, substância encontrada no cacto peiote; as triptaminas, que incluem a psilocibina, substância dos cogumelos; e os DMTs, como o 5-MeO-DMT, encontrado no veneno de sapo e em algumas plantas, e o N,N-DMT, encontrado na mistura do chá da ayahuasca, consumido no Brasil em cerimônias religiosas. As lisérgamidas pertencem ao LSD, ácido lisérgico da dietilamida, isolado pela primeira vez em um fungo. Ele tem uma estrutura um pouco mais complexa que a da serotonina, o que impacta também na afinidade dele com o receptor, tendo um efeito bem mais prolongado do que os outros psicodélicos.

Para termos uma ideia breve de como isso foi entrando nos registros do conhecimento ocidental, traçarei um panorama. Em 1897, Albert Hofmann (1906-2008) isolou a mescalina pela primeira vez, do peiote, e em 1938 sintetizou o LSD. Há bastante história ao redor disso: ele sintetizou o LSD e o testou nele mesmo, verificando os efeitos alucinógenos do composto. No dia, que ficou conhecido como o Dia da Bicicleta, ele ingeriu o LSD e voltou de bicicleta para casa para registrar os efeitos alucinógenos. Ao chegar em casa, consultou-se com o médico familiar, registrou até onde conseguiu, e depois percebeu que estava tendo uma dissolução completa dos sentidos. Pôde verificar, então, o enorme o poder dessa substância de modificar o estado de consciência. Saltando para o ano 1953, Hoffmann também sintetiza a psilocibina.

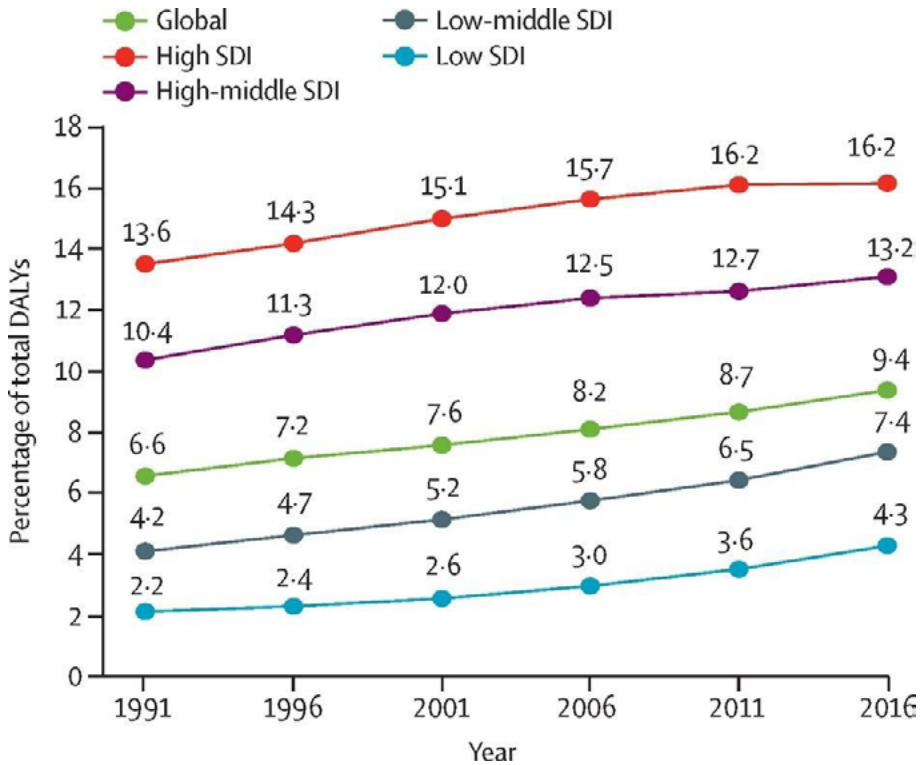
Essa chegada dos cogumelos, com a psilocibina, à civilização ocidental deu-se a partir do resgate do conhecimento tradicional do povo Mazateca, que era guardado pela curandeira María Sabina. Então já havia uma história dessa prática de ingerir cogumelos — sobretudo dentro de práticas curativas e religiosas. Eles se espalharam, a fama deles foi se alastrando pelo Ocidente, e, em incursões, as pessoas queriam buscar e trazer isso de modo definitivo para civilização ocidental. Os cogumelos foram, enfim, trazidos, e ali, a partir da pesquisa de Albert Hoffmann, sintetizou-se a psilocibina. Logo em seguida, outras substâncias foram sendo sintetizadas, como, por exemplo, a cetamina — que não é um psicodélico clássico, mas hoje é um anestésico que tem sido usado por suas propriedades dissociativas. Além disso, também tem sido usado para alterar estados de consciência, e, na prática clínica, para depressão. Então foi o primeiro composto com ação muito parecida com os psicodélicos de alteração de consciência que foi aprovado e implementado na clínica. Assim, estão em desenvolvimento estudos para fazer com que os psicodélicos cheguem nesse mesmo patamar atualmente. Logo mais, falarei sobre isso.

Na época em que esses compostos começaram a aparecer e ficar disponíveis, muitos estudos tiveram início. O termo *psicodélico* foi cunhado por Humphry Osmond (1917-2004), que quer dizer *psyché*, que é a mente ou a alma, e o *delóo*, que é “tornar visível e manifestar”. Então a ideia desse termo é traduzir a ação dos psicodélicos como manifestador da mente ou da alma, mas existem também outros termos, como, por exemplo, enteógenos e empatogênicos, que também são usados para se referir aos psicodélicos. Nessa época,

foram conduzidas muitas pesquisas com os psicodélicos, inclusive com o LSD, que chegou a ser comercializado com o nome de Delysid — e para várias condições, como transtorno obsessivo-compulsivo, dependência de tabaco, dependência de álcool, transtornos depressivos, ansiedade e transtorno depressivo maior. É claro que as pesquisas ocorriam dentro dos padrões da época, que hoje em boa medida não satisfaz os critérios de pesquisa clínica e de obtenção de dados, todavia formavam um grupo de estudos que apontavam os psicodélicos como uma grande promessa terapêutica para várias condições. Nessa mesma época, obviamente, houve grandes entusiastas do poder dos psicodélicos, como também ferramentas para aumentar a consciência em torno da nossa sociedade, de como estruturamos a maneira de viver, uma maior autoconsciência, e isso tudo fez parte do movimento da contracultura nos Estados Unidos. Era um movimento que estava indo em choque com a Guerra do Vietnã, por isso era desinteressante do ponto de vista político, pois era uma resistência muito grande em torno do governo que promovia políticas de guerra. Por tais razões políticas, os psicodélicos foram restringidos, sendo incluídos na categoria das substâncias mais restritivas — que seriam substâncias que não têm nenhum poder terapêutico — e banidos de todas as pesquisas da época.

Passado esse momento, alguns laboratórios resistiram e conseguiram fazer pesquisas com substâncias similares aos psicodélicos. Alguns lutaram para conseguir mantê-las durante o período das restrições, mas houve uma grande queda na possibilidade de fazer pesquisa com essas substâncias. Atualmente, tem-se deparado com uma crescente crise na saúde mental e com a falta de medicamentos que atendam a esse progressivo número de pessoas acometidas por tais questões de saúde. Este gráfico (FIGURA 3) mostra a quantidade de dias que indivíduos ficam impossibilitados de exercer suas funções por conta de problemas de saúde mental, em porcentagem, correlacionado com o índice sociodemográfico; mostrando que, nos países mais ricos, houve um grande aumento dos [problemas relacionados à saúde mental](#).

Figura 3 – A carga crescente de transtornos mentais e de uso de substâncias, doença de Alzheimer e outras formas de demência, e suicídio (automutilação) por grupos de índice sociodemográfico (SDI).



Fonte: Patel *et al.* (2018) *apud* Marquez (2021)

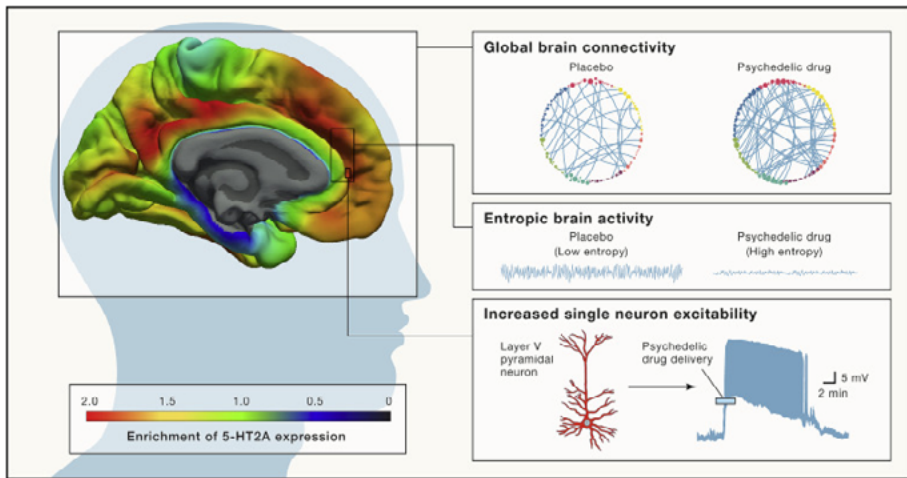
Na verdade, em todos os países, evidentemente, depois da pandemia, esses problemas estão muito mais exacerbados. Então, tornou-se urgente que novos compostos, novas opções terapêuticas, entrassem no mercado para poder dar conta dessa crise. Para exemplificar, o Prozac — que é um antidepressivo — já tem mais de 30 anos de circulação, e pouquíssimos medicamentos surgiram nesse meio tempo. Além disso, dentro do contexto de descoberta de fármacos, o sucesso de novas moléculas é muito pequeno. Então, o que começou acontecer foi um resgate dessas moléculas, as quais já se sabia que tinham efeitos positivos, algo que ocasionou um aumento nas pesquisas (com outros compostos). Nesse assunto, vale ressaltar que recentemente estávamos em um congresso interdisciplinar de ciência psicodélica e também se comentava bastante sobre efeitos colaterais dos antidepressivos que são usados atualmente, que

igualmente abarcam uma redução da profundidade emocional, afetando a vida das pessoas em aspectos emocionais que, muitas vezes, são pouco apreciados.

Outra questão é que, além disso, há um grande número de pessoas que têm tipos de depressão refratárias, ou seja, que não respondem a nenhum tipo de medicação. Esses pacientes são, principalmente, os que podem se beneficiar de novas terapias. Só para termos uma ideia do que é esse renascimento, esse é um gráfico da [Beckley Foundation](#) — que é uma fundação que, durante os anos do proibicionismo, cavou caminhos para viabilizar e financiar a pesquisa com psicodélicos. Lá no laboratório, temos um projeto financiado junto à Beckley Foundation, que é liderada pela Amanda Feilding (1943-), um grande nome na propagação da ciência psicodélica. A quantidade de artigos tem crescido bastante desde 2006 e cada vez mais. O Brasil é o terceiro país com mais publicações no campo dos psicodélicos. Eu também queria recomendar o artigo “Renascimento da ciência psicodélica” (Ornelas *et al.*, 2019), que é dos meus colegas do laboratório, para quem tiver interesse em ler um pouquinho mais sobre o assunto.

Falando um pouquinho mais da parte básica, os psicodélicos são bem parecidos (análogos) com a molécula de serotonina, são agonistas do receptor 5-HT_{2A} , e, a partir da ligação com esse receptor (que é o mesmo receptor da serotonina) e de outros receptores de serotonina — sabendo que cada psicodélico tem uma afinidade ligeiramente diferente para diferentes tipos de receptor —, eles são capazes de desencadear as respostas celulares que são responsáveis pelos efeitos antidepressivos, na ansiedade e no humor. Esses receptores são enriquecidos no córtex pré-frontal e principalmente nos neurônios piramidais, o que possibilita essa atuação. Esse é um mapa da expressão do 5-HT_{2A} no córtex humano, então dá para ver que nas áreas em vermelho no córtex pré-frontal há um enriquecimento do 5-HT_{2A} . No cérebro sob [ação de psicodélicos](#) é visto um aumento da conectividade global (FIGURA 4), observável neste painel à direita, e também um aumento da entropia da atividade cerebral. O aumento da entropia causa uma desorganização que, pelo que se acredita, quebra padrões, e essa quebra de padrões regulares possibilita sair de estados, como, por exemplo, o estado depressivo.

Figura 4 – Psicodélicos modulam a atividade cerebral e a conectividade global



Fonte: Nutt; Erritzoe; Carhart-Harris (2020)

Além disso, também foi visto que existe um aumento da excitabilidade de neurônios únicos quando os compostos psicodélicos são administrados. Então existe uma mudança na atividade cerebral, e, é claro, várias teorias para tentar entender como os psicodélicos atuam. Se formos um pouco mais fundo, chegando mais próximo da pesquisa que fazemos no laboratório, compreendemos que existe uma modificação na sinalização de neurônios, o que implica uma modificação de plasticidade neuronal e a possibilidade de formar novas conexões. Isso se faz através do aumento da liberação de uma molécula chamada BDNF, que está envolvida nesses processos de plasticidade. Em um artigo recente, o grupo do David Olson mostrou que os psicodélicos atuam como o que ele chamou de “psicoplastogênicos” (Ly *et al.*, 2018). Então, são substâncias que são capazes de induzir crescimento de neurito, mudança nas espinhas dendríticas e sinaptogênese, com efeito celular robusto.

Demonstramos em um estudo recente, publicado este mês com uma equipe grande de pesquisadores de vários lugares do Brasil, e também com a participação de Amanda Feilding e o suporte da Beckley Foundation, os efeitos nootrópicos do LSD (Ornelas *et al.*, 2022). Nessa pesquisa, foram feitos estudos em humanos, em animais, análise computacional e molecular, mostrando que no modelo animal o LSD aumenta a preferência por novos objetos e verificando a permanência da memória de objetos conhecidos e a

motivação para investigar novidades. Em humanos, observamos a melhora na memória visuoespacial, e, nos organoides cerebrais, fizemos uma análise de alto conteúdo, em que um grande número de proteínas dos organoides foram analisadas utilizando proteômica e bioinformática. Esse foi o trabalho que foi desenvolvido, nessa parte, no Instituto D’Or, em que a plasticidade neural estava aumentada nos organoides tratados com LSD. Os modelos computacionais mostraram que essa plasticidade neural, induzida pelo LSD, pode explicar ganhos cognitivos em ratos e humanos. Então, fora essa parte bioquímica e comportamental, o que tem sido muito falado hoje é do potencial dos psicodélicos na pesquisa assistida. Então, há várias frentes simultâneas neste momento. Se por um lado há uma frente muito importante para desvendar os mecanismos moleculares, existem várias frentes buscando identificar novas moléculas, e também outras testando moléculas que já são conhecidas na psicoterapia assistida. Então, no caso da psicoterapia, a proposta é que, além da administração do composto, seja feito um acompanhamento com profissionais habilitados, que vão dar o suporte antes da administração dos psicodélicos e depois, num processo que se chama integração, para assimilar a experiência com os psicodélicos.

Existe toda uma questão relativa a como essa psicoterapia assistida com psicodélicos tem que ser feita para otimizar a melhora dos pacientes e diminuir os riscos relacionados ao consumo dessas substâncias. Então é isso que tem sido muito chamado de “set and setting”, que é como a pessoa deve estar para iniciar essas terapias, e como o ambiente deve estar para receber essas pessoas, para que essas terapias possam surtir o máximo de seus efeitos possíveis.

Há uma localização que está sendo preparada para fazer a terapia assistida com psicodélicos aqui no Brasil, um estudo que está sendo promovido pela Scirama, uma startup de base biotecnológica que promove a pesquisa em psicodélicos. Esse estudo que eu coloquei aqui é um estudo que teve muita repercussão, em que foi comparado o escitalopram — que é um antidepressivo comumente usado — com a psilocibina, e foi publicado nesse jornal muito prestigioso que é o *New England Journal of Medicine*, onde foi observado que os efeitos da psilocibina se equiparavam aos efeitos do escitalopram para depressão (Carhart-Harris *et al.*, 2021). Então a partir desse estudo estão sendo gerados vários outros estudos. Já foi feito um estudo de acompanhamento com os pacientes, seis meses e um ano depois: em alguns a melhora persiste, claro, com todas as dificuldades de

monitorar pacientes no ano posterior. Em resumo, essa terapia está cada vez mais se encaminhando para se tornar uma realidade.

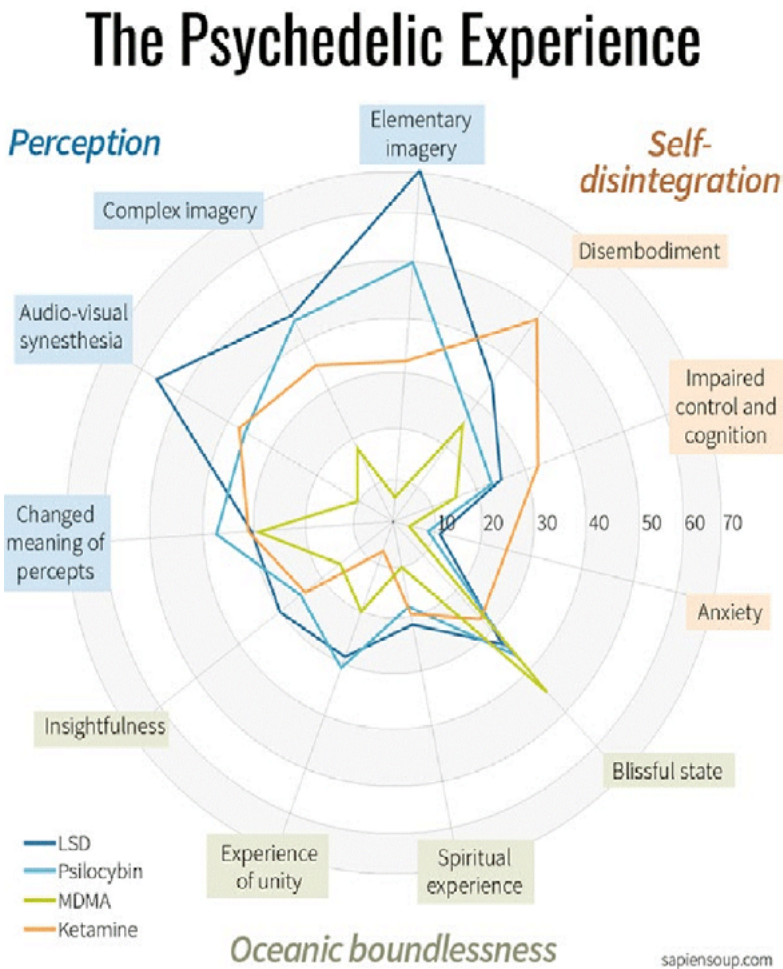
Agora eu vou voltar um pouco para o tema da palestra. Eu queria dar um panorama do que vemos do ponto de vista científico, mas, se voltamos lá no início da história, lá no início da nossa linha do tempo, entendemos que essas substâncias já estão sendo exploradas por nós bem antes de elas entrarem com essa possibilidade da clínica. Uma experiência bem icônica e famosa é a de Jean-Paul Sartre (1905-1980) em 1935, que ingeriu uma quantidade acidentalmente exagerada de mescalina, num experimento controlado, e relatou o surgimento espontâneo de memórias nas quais havia distorções de objetos, de formas normais do dia a dia, via caranguejos e afins, e isso persistiu por vários dias. A partir disso, foi muito debatido o que é o limite entre um consumo saudável e um consumo perigoso. Do ponto de vista que ele descreve, as formas vistas por ele eram simplesmente vazamentos do subconsciente que ele achava que eram questões que ele tinha, mas às quais nunca tinha tido acesso, e justamente por essa razão ele precisava lidar com elas. Do ponto de vista da companhia dele, por exemplo, Simone de Beauvoir (1908-1986), foi um experimento arriscado e que colocou em xeque a sanidade dele. Então é provável que sempre vamos lidar com esse tipo de questão, mas, a partir da visão de pessoas que tiveram a audácia de se colocar como experimentadores, passamos a conhecer também o potencial dessas substâncias.

Essas experiências começam a transbordar; enfim, o acesso aos psicodélicos se torna possível para várias pessoas. Terence McKenna (1946-2000) foi um botânico muito famoso e prestigiado que escreveu guias para o crescimento de cogumelos mágicos. Ele acreditava imensamente no potencial desses cogumelos, e foi o responsável pelo desenvolvimento de uma teoria que se chama “a teoria do macaco chapado”. Ele propôs que o salto cognitivo que separa os homens dos outros primatas tem a ver com o consumo de substâncias psicodélicas. Obviamente, essa teoria é muito difícil de provar, mas é um bom exercício de imaginação pensar que o contato com essas substâncias, que já foi em algum momento da nossa civilização bastante difundido, possa ter tido um efeito de mudança na capacidade cognitiva. Terence McKenna trouxe uma afirmação que eu achei interessante: quando ele foi questionado sobre o que poderíamos fazer para modificar a sociedade e virar o jogo — e eu acho que isso é uma pergunta que se faz até hoje, principalmente

agora —, a resposta dele foi que, para modificar a sociedade, tínhamos que “push the art pedal to the metal” [pisar fundo no acelerador da arte]. Então, seria através da arte que nós poderíamos modificar a maneira como vemos o mundo, e a maneira como nos relacionamos com ele.

A partir disso, essa linha entre arte, psicodelia e consciência foi explorada por diversos pensadores. Por exemplo, na visão de Carl Jung (1875-1961), ele cita um estado — chamado por ele de “participation mystique” — que é um nível de experiência em que existe um homem coletivo e não mais um indivíduo. Jung traz esse homem coletivo como a pessoa criativa que precisa lidar com essa coletividade que não é dela, é uma coletividade presente e pertinente a todos. Então, se a arte é um tipo de impulso inato, ela se apropria do ser humano e o ser humano a utiliza como o seu canal. Deste modo, não é o artista que cria a arte, mas sim a arte que passa pelo artista e se apresenta para humanidade. Ele fala, então, que não foi Goethe (1749-1832) que criou *Fausto*, e sim *Fausto* que criou o Goethe. Rompendo as barreiras entre criador e criação, esse termo da “participação mística”, nesse sentido, tem tudo a ver com a experiência psicodélica. Por exemplo, dentro da experiência psicodélica, e este é um gráfico que se pode encontrar em alguns artigos de psicologia que medem os efeitos de psicodélicos (FIGURA 5), há uma medida que se chama “sentimento oceânico de infinitude”, que diz respeito ao quanto existe uma integração entre o ser o indivíduo e o exterior. Grande parte das experiências psicodélicas causam experiências como a de “saída” do corpo, ou de um estado de visão de imagens, ou de um estado de sinestesia, ou de um estado que se chama de dissociação total — que é o rompimento completo das barreiras que são pertinentes ao corpo para dar lugar a essa sensação de fazer parte de uma única coisa.

Figura 5 – “Sentimento oceânico de infinitude”



Fonte: Akers (2019)

Nessa sequência, em que vários pesquisadores, psicólogos e psiquiatras começaram a estudar a relação entre a arte e a psicodelia, uma figura muito importante foi Oscar Janinger (1918-2001). Ele fez um estudo que começou despreziosamente, no sentido da arte, estudando os efeitos psicodélicos sobre várias pessoas, mais de 4 mil. Ele anotava quais eram esses efeitos e, em dado momento, ele entrou em contato com artistas e começou a entender que a produção de obras a partir da experiência psicodélica tinha resultados extremamente interessantes. Para um desses artistas, ele pediu que desenhasse uma boneca Kachina, e então fez uma série

de experiências em que essa boneca foi desenhada sobre a perspectiva de artistas que estavam sob a influência de LSD, mostrando como essa capacidade artística é possível, mesmo dentro do contato com a substância. Ele narra em um primeiro momento ter achado a proposta absurda, pois não imaginava que uma pessoa pudesse desenhar e manter a coordenação motora sob os efeitos do LSD. Todavia, concluiu que essa alteração de percepção era compatível com uma produção que se distanciava da realidade, trazendo à tona uma outra forma de ver e de representar o mundo.

Uma outra figura muito proeminente nos estudos de alteração de estados de consciência foi o Stanislav Grof (1931-). Ele fez um estudo bem similar, desta vez sobre a mudança de percepção de um relógio depois do uso de 150 microgramas (μg) de LSD. Então o paciente que participou do estudo começou a fazer um desenho desse relógio e, com o passar do tempo e dos efeitos, o relógio foi se modificando de forma e adquirindo uma outra forma, que era essa expressão do artista com essa alteração do estado cognitivo. Stanislav Grof é muito conhecido por duas outras teorias que vou abordar.

Como mencionei, ele é um grande pesquisador de alteração de estados de consciência, e desenvolveu, junto com a sua então companheira, Christina Grof (1941-2014), um tipo de respiração chamada respiração holotrópica. O termo vem do grego “holos”, que quer dizer totalidade, e também “trépein”, que quer dizer mover-se em direção a algo. Então seria mover-se em direção à totalidade, e fazer essa possibilidade de transcender do nosso estado de consciência mais comum para um estado de consciência em que conseguimos ter um isolamento e independência das coisas que nos cercam. A respiração holotrópica acabou sendo também uma vertente bastante explorada na época do proibicionismo, porque ela era uma maneira de induzir estados de consciência alterada mesmo na ausência de substâncias ativas, psicodélicos.

Uma teoria que Grof desenvolveu, e ele também é bastante conhecido por isso, é a teoria das matrizes perinatais. Então, de acordo com ele, essas matrizes perinatais representam uma memória: temos uma memória guardada, todos os seres humanos têm uma memória guardada, desde o útero até o momento do nascimento. E quando a passagem por essas fases não é vivida de uma maneira completa, ela pode acarretar traumas desconhecidos que vão permear a vida adulta. Por exemplo, a primeira matriz é chamada de matriz oceânica, que é a matriz em que o bebê está dentro do útero

e tem bastante espaço, um momento de bastante conforto; depois o útero começa a ficar apertado, então o feto começa a sentir que aquele ambiente já não é tão confortável, passa a ser um ambiente hostil e, então, ele tem que sair; o feto passa pelo inferno, como Grof denomina, e então passa pela jornada do herói, a jornada de conseguir sair do útero. A terceira matriz é chamada de inferno com saída, que é literalmente o momento do parto; e, no final, ocorre a saída, que é o momento em que o bebê será acolhido e recebido pelas outras pessoas que estão do lado de fora.

Essa teoria das matrizes perinatais discute uma série de questões positivas e negativas que podem acontecer em relação a problemas com essa fase. Vou dar um exemplo, bem por alto: o que ele viu é que é muito comum na arte uma recorrência da representação dessas matrizes. Então, de alguma maneira, cenas e imagens que representam essas matrizes são recorrentes, e ele aborda bastante isso. Por exemplo, a pessoa que retorna à matriz oceânica tende a representar animais marinhos e situações agradáveis. No momento da saída, são feitas representações da saída mesmo, literalmente, do canal vaginal, na forma de um túnel, de um encontro com uma saída. São imagens em que o feto passa por situações de medo, de ameaça, e ele correlaciona isso a situações possivelmente vividas durante o momento em que o feto está no útero; situações de compatibilidade de fator Rh, situações de doença, e a ideia, na teoria dele, é que esse trauma permanece. Portanto, com o consumo de psicodélicos nessas sessões, o trauma pode ser transmitido nessa forma artística.

Grof tem uma pesquisa também sobre as obras visionárias de H. R. Giger (1940-2014), no livro *Modern Consciousness Research and the Understanding of Art: Including the Visionary World of H. R. Giger*, em que ele aborda a pesquisa sobre a consciência e a arte. Os dois eram amigos. Giger era uma figura extremamente excêntrica, que tinha visões de fetos em situação de sofrimento, de corpos biônicos, e visões marcantes afins que trazem bastante essa questão do medo e da ameaça, pertinentes também ao momento. Ele tinha um trem-fantasma em sua casa, e essa foto aqui é do Grof e do Giger dando um passeio no trem-fantasma decorado com essas imagens, essas esculturas, de bebês com faces de sofrimento (cf. Grof, 2015).

Giger é o artista plástico responsável pela arte do filme *Alien*, o oitavo passageiro (1979), tendo sido inclusive o primeiro artista plástico a ganhar um Oscar. Sua obra é toda permeada dessas

figuras intensas em que o corpo é questionado na sua forma, apresentando uma relação visionária de como os corpos estão atravessados por uma atmosfera assustadora. De novo, aqui nesta obra aparecem as faces dos bebês em sofrimento; e essa outra obra aqui, *Biomecanoide 75*, é de 1975, mas podia ser do ano retrasado, da época da pandemia (FIGURA 6). Então ainda é uma figura bastante marcante.

Figura 6 – *Biomecanoide 75*, de H. R. Giger
Fonte: Giger (2024)



Todos os nomes que mostrei até agora fazem parte do que chamamos de arte visionária, obras de arte que são produzidas a partir de estados de consciência não usuais. *Nature morte au vieux soulier* é uma obra de Joan Miró (FIGURA 7). Havia a ideia de que Miró trabalhava sob a ação de psicodélicos, mas na verdade ele produziu várias obras que têm essa característica quando sob o efeito da fome, então a fome também gera alucinações. Ele relata que, quando não tinha dinheiro para comer e passava fome, produzia obras das visões geradas pela sensação. Então, para citar aqui Argan e Fagiolo (1992, p. 363), “Convicto de que a mitologia do inconsciente torna-se deletéria e perigosa apenas quando colide com as censuras do consciente, J. Miró (1893-1983) elimina-as, ou melhor, intercepta o consciente no limiar da consciência, no plano da percepção”. Então é essa quebra do estado da consciência que vai trazer essas imagens que estão fora do nosso padrão usual.

Figura 7 – *Nature morte au vieux soulier*, de Joan Miró



Fonte: Miró (1937)

O que foi observado é que essas divisões psicodélicas geram padrões repetitivos. Então o psicólogo Heinrich Klüver (1897-1979) descreveu que ocorre uma repetição de formas, de treliças, de túneis, espirais, teias de aranha, e essas formas são motivos repetitivos dentro do contexto psicodélico. Durante a experiência, é comum que diferentes pessoas vejam essas mesmas formas, que atravessam então a camada do indivíduo e passam a ser formas que fazem parte dessa visão coletiva. Outro pesquisador, Jack Cowan (1933-), propôs que a atividade elétrica dos neurônios na primeira camada do córtex visual podia ser diretamente traduzida nessas formas geométricas que as pessoas normalmente veem. Então, pela forma como os neurônios do córtex estão ligados, em rede, eles poderiam produzir apenas esses tipos de padrão, apenas porque são padrões recorrentes (Ermentrout; Cowan, 1979). Isso data de 1979, mas mais recentemente um estudo descreveu mais a fundo que, provavelmente, esses padrões são recorrentes de uma modificação do mecanismo de Turing. Alan Turing (1912-1954), além de ser um matemático brilhante, e de ter desenvolvido a computação, também teve atuação em biologia, em morfogênese e embriologia — uma

pessoa simplesmente fantástica. Ele descreveu matematicamente os padrões de Turing, que é essa diferença de gradiente na natureza, inclusive propondo que diferentes gradientes se antagonizam para formar o que vemos como diferença de imagem. Isso também vale para a embriogênese. No caso do mecanismo estocástico de Turing, levando em consideração que a imagem é projetada na retina e é transmitida para o córtex visual, o que ocorre é uma representação dessa imagem do campo visual no córtex estriado. Então, as linhas do campo visual mapeiam o córtex estriado, parte do córtex visual envolvida no processamento direto da informação visual. Então, também através de cálculos matemáticos das diferentes camadas do córtex visual, os autores deste artigo propõem que a junção dessas diferentes camadas é capaz de gerar essas formas recorrentes, que são observadas em várias obras em que há alteração de estado de consciência (Bressloff *et al.*, 2002).

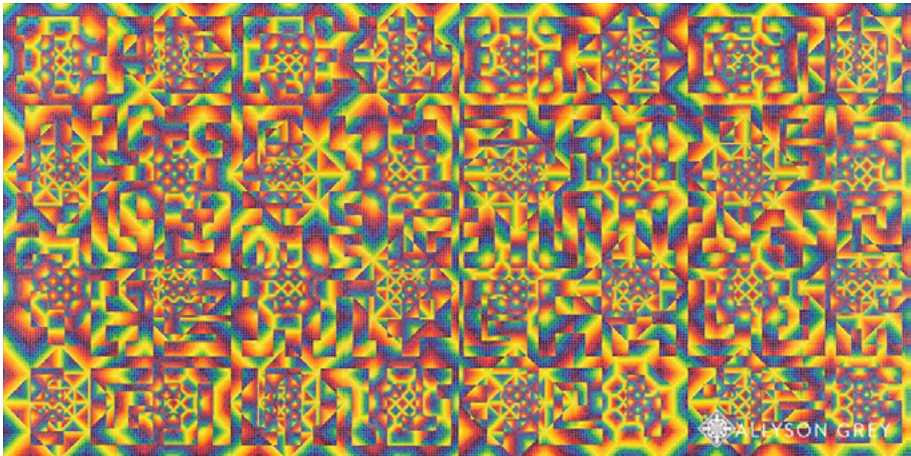
Aqui, o que eu trouxe para mostrar são obras desses artistas visionários. Um deles é o Alex Grey (1953-). Em sua obra percebemos exatamente essas espirais e as formas distorcidas que são características da experiência psicodélica (FIGURA 8). Allyson Grey (1952-) também tem um trabalho nesse sentido, em que essas formas aparecem recorrentemente (FIGURA 9). Outra artista visionária é a Amanda Sage (1978-), e de novo, em sua obra, vemos aqui aquela forma radial, formas de espiral (FIGURA 10). Eu trouxe também um artista brasileiro que fez essa instalação, Ernesto Neto (1964-). A ideia nessa instalação é que a pessoa tenha contato com ela depois de consumir o chá da ayahuasca, tendo essa percepção a partir da interação com a obra (FIGURA 11). O que ele fala é: “A arte é o nosso suor, o nosso cheiro, o que o corpo exala. Se você transforma o pessoal, esse exalar também é transformado. O segredo mora dentro da gente. O segredo, mais uma vez, é o amor. É encontrar a serenidade dentro de si mesmo”.

Figura 8 – *Journey of the Wounded Healer*, de Alex Grey



Fonte: Grey (1984-1985)

Figura 9 – *Realms of the Unpronounceable*, de Allyson Grey



Fonte: Grey (2015)

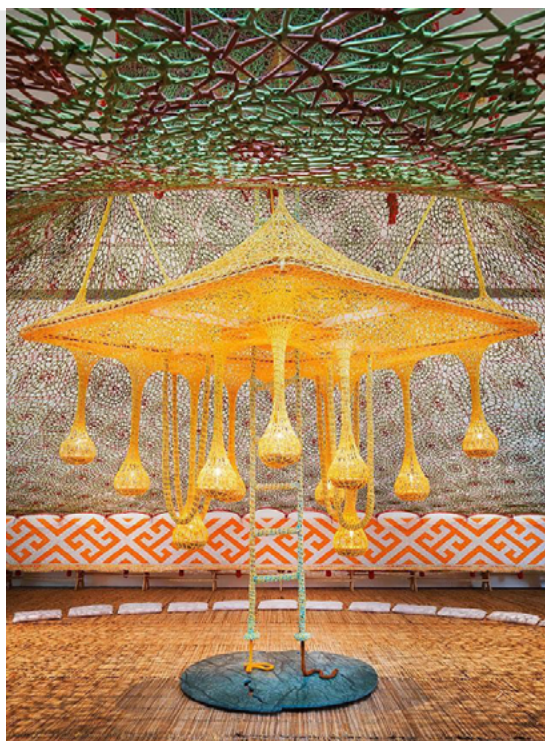
Figura 10 – *Great Wave of Transformation*, de Amanda Sage



Fonte: Sage (2020-2021)

Figura 11 – *Aru Kuxipa/Sagrado Segredo*, de Ernesto Neto
Fonte: Neves, 2015.

Bom, com isso eu queria agradecer ao Stevens pela oportunidade, por me indicar para estar aqui no lugar dele palestrando, e a Fernanda Tovar-Moll, que também lembrou do meu nome para estar aqui; a Karina Karmirian e o José Alexandre Salerno, que me ajudaram com o conteúdo de slides; ao Tiago Alves Vieira, um artista visionário que me ajudou bastante com a literatura. Alguns trechos que eu



mostrei são da monografia dele. E agradeço também a todo o grupo do Instituto D’Or. Eu também sou colaboradora na Scirama, que é, como eu falei, uma startup que promove pesquisa psicodélica. Temos um perfil no Instagram em que trazemos sempre informações sobre ciência psicodélica. É isso, obrigada.

PERGUNTAS

ANA CÉLIA CASTRO:

Você falou das aplicações dos psicodélicos no caso, por exemplo, da depressão. Mas a minha pergunta é se existem aplicações no caso de doenças neurodegenerativas, se isso já foi pensado.

LIVIA GOTO-SILVA:

Tem uma revisão recente que fala das perspectivas do uso de psicodélicos para doença de Alzheimer (Vann Jones; O’Kelly, 2020). Um dos principais pontos que sustentam o argumento é a favor da neuroplasticidade, também entendendo que pode contribuir na melhora do processo cognitivo. Tem uma atividade anti-inflamatória, também, descrita para os psicodélicos que eu não comentei hoje, mas que pode ser bem interessante para neuroinflamação em doença de Alzheimer. Também tem uma questão de certa regulação metabólica que ainda está começando a ser estudada, mas estão aparecendo alguns trabalhos mostrando que os psicodélicos têm potencial de modificar o metabolismo. Inclusive em obesidade, em modelos de diabetes, têm potencial de diminuir a obesidade. Mas isso é bem recente, deve ter uns dois artigos publicados (Huang *et al.*, 2022). Então, considerando esses três aspectos que seriam pertinentes à doença de Alzheimer, alteração metabólica, inflamação e falta de plasticidade, existe essa perspectiva. A Beckley Foundation, na verdade, investe bastante no LSD, eles estão bastante interessados em investir em ensaio clínico de LSD para Alzheimer e em diferentes modelos, também modelo *in vitro*. Mas, o que tem hoje, que eu sei, de estudo clínico é focado em depressão em Alzheimer — porque também os pacientes com Alzheimer podem desenvolver depressão —, então, os estudos mais avançados são esses. O que já saiu também, que é bom, é estudo de segurança de LSD em idosos⁹, porque é importante, é uma população diferenciada. Então, sim, há bastante perspectiva.

REFERÊNCIAS

- AKERS, J. The Psychedelic Renaissance: Ethnopharmacology, Neuroscience and Clinical Efficacy. In: RILEY, R. (ed.). *Australasian Anaesthesia 2019*. Melbourne: Australian and New Zealand College of Anaesthetists, 2019. p. 203-217.
- ARGAN, G. C.; FAGIOLO, M. *Guia de história da arte*. Lisboa: Editorial Estampa, 1992.
- BRESSLOFF, P. C.; COWAN, J. D.; GOLUBITSKY, M.; THOMAS, P. J.; WIENER, M. C. What Geometric Visual Hallucinations Tell Us about the Visual Cortex. *Neural Computation*, [s. l.], v. 14, p. 473-491, 2002.
- CARHART-HARRIS, R.; GIRIBALDI, B.; WATTS, R.; BAKER-JONES, M.; MURPHY-BEINER, A.; MURPHY, R.; MARTELL, J.; BLEMINGS, A.; ERRITZOE, D.; NUTT, D. J. Trial of Psilocybin versus Escitalopram for Depression. *The New England Journal of Medicine*, [s. l.], v. 384, n. 15, p. 1402-1411, 14 Apr. 2021.
- ERMENTROUT, G. B.; COWAN, J. D. A Mathematical Theory of Visual Hallucination Patterns. *Biological Cybernetics*, [s. l.], v. 34, p. 137-150, 1979.
- FAMILY, N.; MAILLET, E. L.; WILLIAMS, L. T. J.; KREDIET, E.; CARHART-HARRIS, R.; WILLIAMS, T. M.; NICHOLS, C. D.; GOBLE, D. J.; RAZ, S. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of Low Dose Lysergic Acid Diethylamide (LSD) in Healthy Older Volunteers. *Psychopharmacology (Berl)*, [s. l.], v. 237, n. 3, p. 841-853, Mar. 2020.
- GIGER, H. R. Biomechanoid 75. In: THE H. R. Giger Archive. *Another Man Magazine*. [S. l.]: Another Man Publishing, c2024. Disponível em: <https://www.anothermanmag.com/life-culture/gallery/9480/hr-giger-archive/7>. Acesso em: 28 abr. 2024.
- GREY, A. Realms of the Unpronounceable. *Allyson Grey*, [s. l.], [2015] c2024. Disponível em: <https://www.allysongrey.com/art/oil-paintings/realms-of-the-unpronounceable>. Acesso em: 28 abr. 2024.
- GREY, A. Journey of The Wounded Healer. *Alex Grey*, [s. l.], [1984-1985] c2024. Disponível em: <https://www.alexgrey.com/art/anatomical/journey-of-the-wounded-healer>. Acesso em: 28 abr. 2024.
- GROF, S. *Modern Consciousness Research and the Understanding of Art: Including the Visionary World of H. R. Giger*. California: Multi-disciplinary Association for Psychedelic Studies, 2015.

HUANG, J.; PHAM, M.; PANENKA, W. J.; HONER, W. G.; BARR, A. M. Chronic Treatment with Psilocybin Decreases Changes in Body Weight in a Rodent Model of Obesity. *Frontiers in Psychiatry*, [s. l.], v. 13, n. 891512, 18 May 2022.

KLARWEIN, Abdul Mati. Mati Klarwein. [S. l.], c2024. Disponível em: <http://www.matiklarweinart.com/artworkgallery.php>. Acesso em: 27 abr. 2024.

LY, C.; GREB, A. C.; CAMERON, L. P.; WONG, J. M.; BARRAGAN, E. V.; WILSON, P. C.; BURBACH, K. F.; SOLTANZADEH ZARANDI, S.; SOOD, A.; PADDY, M. R.; DUIM, W. C.; DENNIS, M. Y.; MCALLISTER, A. K.; ORI-MCKENNEY, K. M.; GRAY, J. A.; OLSON, D. E. Psychedelics Promote Structural and Functional Neural Plasticity. *Cell Reports*, [s. l.], v. 23, n. 11, p. 3170-3182, 2018.

MARQUEZ, P. V. On International Day of Persons with Disabilities 2021: Let's Remember Mental Conditions, the Oft-forgotten Disabilities. *Patricio V. Marquez*, [s. l.], 12 Jan. 2021. Disponível em: <http://www.pvmarquez.com/node/54>. Acesso em: 27 Apr. 2024.

MIRÓ, J. Nature morte au vieux soulier. *Successió Miró: Joan Miró Online Imagebank*, Mallorca, [1937] c2024. Disponível em: <https://successiomiro.com/catalogue/object/174>. Acesso em: 28 abr. 2024.

NEVES, L. Ernesto Neto leva obra inspirada em rituais de Ayahuasca a Viena. *Folha de S. Paulo*, São Paulo, 16 jun. 2015. Disponível em: <https://m.folha.uol.com.br/ilustrada/2015/06/1649044-ernesto-neto-leva-obra-inspirada-em-rituais-de-ayahuasca-a-viena.shtml>. Acesso em: 28 abr. 2024.

NUTT, D.; ERRITZOE, D.; CARHART-HARRIS, R. Psychedelic Psychiatry's Brave New World. *50 Cell*, [s. l.], v. 181, n. 1, p. 24-28, 2 Apr. 2020.

ORNELAS, I. M.; CINI, F. A.; WIEßNER, I.; MARCOS, E.; ARAÚJO, D. B.; GOTO-SILVA, L.; NASCIMENTO, J.; SILVA, S. R. B.; COSTA, M. N.; FALCHI, M.; OLIVIERI, R.; PALHANO-FONTES, F.; SEQUERRA, E.; MARTINS-DE-SOUZA, D.; FEILDING, A.; RENNÓ-COSTA, C.; TÓFOLI, L. F.; REHEN, S. K.; RIBEIRO, S. Nootropic effects of LSD: Behavioral, molecular and computational evidence. *Experimental Neurology*, [s. l.], v. 356, n. 114148, 2022.

ORNELAS, I. M.; TÓFOLI, L. F.; KARMIRIAN, K.; SALERNO, J. A.; REHEN, S. Renascimento da ciência psicodélica. *Ciência Hoje*, [s. l.], abr. 2019. Disponível em: <https://cienciahoje.org.br/artigo/renascimento-da-ciencia-psicodelica/>. Acesso em: 28 abr. 2024.

SAGE, A. Great Wave of Trainsformation. *Amanda Sage Collection*, [s. l.], [2020-2021] c2024. Disponível em: <https://www.amandasagecollection.com/products/great-wave-of-trainsformation>. Acesso em: 28 abr. 2024.

VANN JONES, S. A.; O'KELLY, A. Psychedelics as a Treatment for Alzheimer's Disease Dementia. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, [s. l.], v. 12, 21 Aug. 2020.

VIEIRA, T. A. *A expansão da consciência nas práticas artísticas*. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Artes Visuais - Escultura) – Escola de Belas Artes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/handle/11422/8607>. Acesso em: 10 maio 2024.

WIKIPEDIA: the free encyclopedia. [San Francisco, CA: Wikimedia Foundation, c2024]. Disponível em: <http://wikipedia.org/>. Acesso em: 27 Apr. 2024.

AULA 8B

IMAGENS DO CÉREBRO QUE APRENDE

Palestrante: Roberto Lent

(ICB/UFRJ e Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa)

(Transcrição: Lara Leal Carneiro Sampaio)

O título deste trabalho representa de modo informal o conceito de neuroplasticidade, e descreve bem o que fazemos nas duas instituições a que pertencço, que passo a relatar aqui.

Para falar do cérebro mutável, temos que nos reportar primeiro aos elementos unitários do sistema nervoso, que são os neurônios, ou seja, as células que fazem parte da principal cadeia de informações e computações do cérebro.

Podemos começar com a descrição de um trabalho que foi feito em colaboração com duas pesquisadoras, Lea Grinberg e Suzana Herculano-Houzel, junto a vários outros colaboradores de uma equipe numerosa que tem gerado trabalhos científicos há 20 anos. Lea foi uma das fundadoras do Biobanco da Universidade de São Paulo, que trabalha com cérebros humanos doados para a pesquisa, e Suzana conduziu pesquisa de pós-doutorado no meu laboratório, onde criamos um método novo para contar, quantificar o número absoluto de elementos unitários que vão constituir os circuitos do sistema nervoso, justamente os principais objetos da neuroplasticidade, da mutabilidade do cérebro (Herculano-Houzel; Lent, 2005).

Então, quando começamos esse trabalho, e logo com os primeiros estudantes que se juntaram a nós, como Frederico Azevedo, descobrimos que o cérebro não tinha aquele número redondo, bonito, de 100 bilhões de neurônios, mas sim 86 bilhões, cerca de 15% a menos (Azevedo *et al.*, 2009). Isso me causou uma dificuldade,

porque eu já tinha publicado um livro chamado *Cem bilhões de neurônios*, e não sabia o que fazer com aquele título, que não era mais verdadeiro. Imaginem, um livro de ciência com um título que não é verdadeiro! Mas esse era o número aceito universalmente na época da primeira edição do livro, e depois descobrimos que era menos. A solução foi adicionar um ponto de interrogação ao título do livro. Reviravoltas da ciência.

Contamos esse número de elementos primários, grãos microscópicos que compõem o cérebro — não só o cérebro humano —, e constatamos que esse número pode mudar, ou seja, ser submetido a influências genéticas e do meio ambiente. O sexo, por exemplo, é uma dessas influências, que descobrimos com o trabalho da Ana Virgínia Oliveira-Pinto (2016). Ela descobriu que o bulbo olfatório das mulheres, por exemplo, tem um número maior de neurônios, quase 50%, do que o bulbo olfatório masculino. Por outro lado, o lobo temporal medial dos homens tem um número de neurônios cerca de 30% maior que o das mulheres.

Trata-se de diferenças sexuais, o chamado dimorfismo sexual, um dos fatores que influi sobre o número de neurônios do cérebro humano. Essa composição celular microscópica do cérebro também é afetada pela idade, principalmente quando a idade traz consigo uma doença degenerativa muito prevalente e que tem se tornado cada vez mais importante, tendo em vista o aumento da expectativa de vida da população: a doença de Alzheimer.

Com isso em vista, Carlos Humberto Andrade-Moraes verificou que há um decréscimo de 30% no número de neurônios em algumas regiões do cérebro quando os indivíduos se tornam “demençados” por conta da doença de Alzheimer, ou seja, há um declínio bastante significativo no número de neurônios nessas condições (Andrade-Moraes *et al.*, 2013). O mesmo foi confirmado em trabalho mais recente de Emily Castro-Fonseca (2023), no córtex cerebral. Ao mesmo tempo, há um aumento das células gliais, as outras células do sistema nervoso, o que pode denotar uma reação inflamatória também, devido às condições clínicas que são comuns nas doenças neurodegenerativas.

O novo número absoluto de 86 bilhões de neurônios tornou-se bem aceito na literatura científica, e até mesmo em meios populares. Por exemplo, Lea Grinberg me mandou a foto de um anúncio de um hospital de neurocirurgia colado na lateral de um ônibus na

Califórnia que mencionava, nos dizeres publicitários, esse número de 86 bilhões de neurônios.

Bem, mas aonde quero chegar é que 86 bilhões de neurônios quando multiplicados por 10 mil sinapses por neurônio levariam a 860 trilhões de circuitos. Então, essa é, digamos, a circuitaria cerebral que vai ser o objeto da plasticidade, que mencionarei adiante. O mais impactante é que esses gigantes 860 trilhões, ainda por cima, são mutáveis, modificáveis pelo ambiente, incluindo doenças, traumatismos, interações sociais, e obviamente a educação.

Então, imaginem o tamanho da dificuldade em revelar o chamado “conectoma humano”, objetivo de vários programas bilionários em diversos países, e como isso vai ser algo talvez inalcançável, justamente porque esses 860 trilhões são mutáveis, ou seja, a nossa circuitaria cerebral de hoje já não será a mesma amanhã. Como, então, revelá-la? De fato, os resultados obtidos até o momento, embora importantes por revelarem a circuitaria de diminutos módulos do córtex cerebral, estão muito aquém dos objetivos iniciais, e se tornaram alvo de críticas acirradas da comunidade científica internacional (Naddaf, 2023).

A neuroplasticidade é essa capacidade do cérebro de ser influenciado e modificado pelo ambiente externo e interno. Existem vários tipos de plasticidade, e vou me reportar a um tipo particular, chamado plasticidade de longa distância, mais modernamente plasticidade conectômica. Esse tipo de plasticidade é um problema para a ciência porque significa admitir que poderíamos mudar facilmente o trajeto da Avenida Rio Branco ou da Quinta Avenida de Nova York, grandes vias urbanas. Isso seria possível (talvez) nas pequenas ruas transversais. A metáfora se ajusta à plasticidade conectômica, que se refere aos grandes trajetos, aos longos feixes de axônios, as fibras mais longas dos neurônios que têm, sim, uma capacidade de se reorganizarem, como tentarei demonstrar adiante. A questão é saber como isso acontece, dada a dificuldade de mudar um circuito longo, já estabelecido, tanto no cérebro humano como nos animais.

Com esse objetivo, enfocamos um importante circuito do cérebro dos mamíferos chamado corpo caloso. É o circuito que conecta os dois hemisférios cerebrais, contendo 200 milhões de fibras nervosas nos seres humanos, objeto da curiosidade dos cientistas há muitas décadas, alguns deles ganhadores do Prêmio Nobel por descobertas relevantes relativas ao corpo caloso.

Menciono, especificamente, o americano Roger Sperry (1913-1994), que ganhou o Nobel em 1981. O que Sperry fez foi estudar pacientes que tinham sofrido uma transecção do corpo caloso, realizada para o controle de epilepsias muito refratárias a medicamentos (Myers; Sperry, 1985). Esses pacientes tinham o corpo caloso seccionado cirurgicamente, para evitar o espraiamento das crises epilépticas de um hemisfério ao outro, tornando-as incontroláveis. Ao longo do trabalho, Sperry encontrou fortuitamente uma estudante de matemática, na Califórnia, que não tinha sofrido nenhuma cirurgia, mas revelou-se, pela imagem de raios X (naquela época não havia ainda ressonância magnética), desprovida congenitamente do corpo caloso. Ela tinha agenesia¹ do corpo caloso (Saul; Sperry, 1968). Dispôs, portanto, de dois modelos de estudo: os acalosos cirúrgicos e os congênitos.

Sperry destacou-se pelos estudos comportamentais e funcionais com as pessoas que tinham sofrido transecção cirúrgica do corpo caloso, e realizou experiências muito engenhosas. Nessa época não havia computadores, não havia monitores, então ele fazia uma projeção de slides, de forma que o paciente era colocado na frente de uma tela na qual eram projetadas imagens posicionadas em um ou outro lado do campo de visão. Primeiro projetava uma imagem no hemicampo visual direito, que era conduzida pelas vias neurais para o hemisfério oposto (neste caso, o esquerdo). A seguir, perguntava ao paciente o que ele estava vendo. O paciente respondia que via uma laranja, por exemplo. Resposta correta. Quando ele fazia isso no hemicampo esquerdo, cuja informação era conduzida para o hemisfério direito, o paciente dizia que não via nada. A isso ele chamou de síndrome de desconexão inter-hemisférica. A explicação foi evidente, já que, no caso do hemisfério esquerdo, que é o hemisfério da fala, seria muito fácil para o indivíduo dizer o que tinha visto. Porém, no caso da projeção do slide ao hemicampo visual esquerdo, o direito recebia a informação, mas por falta do corpo caloso não conseguia transmiti-la ao hemisfério da fala (o esquerdo): o indivíduo então dizia que não tinha visto nada.

Só que, quando Sperry foi analisar a moça que apresentava ausência congênita do corpo caloso, ela respondia corretamente para a projeção dos dois lados do campo visual. Isso era completamente

1 O termo *agenesia* é usado para a ausência completa do corpo caloso, enquanto o termo *disgenesia* é usado para o conjunto das anomalias desse feixe, desde a ausência até a presença de remanescentes calosos maiores ou menores.

diferente do caso da transecção cirúrgica do corpo caloso. Como se poderia explicar? A estudante também não tinha os 200 milhões de fibras nervosas que conectam os dois hemisférios cerebrais, e portanto os hemisférios eram separados. No entanto, de algum modo ela conseguia fazer com que o hemisfério esquerdo, da fala, dissesse corretamente o que o hemisfério direito tinha visto. Esses hemisférios estavam se comunicando de algum modo desconhecido.

Essa questão foi abordada por Fernanda Tovar-Moll (2007) durante o seu doutorado. Nosso trabalho foi publicado em 2007 e nele Fernanda revelou uma série de feixes anômalos muito interessantes. O feixe de Probst era um deles, já conhecido há muito tempo: um calibroso feixe bilateral disposto longitudinalmente no sentido rostrocaudal. Mas Fernanda descobriu um outro feixe anômalo, que chamou de feixe sigmoide, pela sua forma em S, longitudinal como o Probst, mas cruzando a linha média através de um remanescente pequenino do corpo caloso que muitos casos congênicos apresentam. Recentemente, esses feixes foram identificados já *in utero*, por meio de ressonância fetal (Jakab *et al.*, 2015): ou seja, na vigésima semana de gestação esses feixes anômalos já estão formados. Com isso, pode-se revelar que eles são funcionais. Esse aspecto foi abordado inicialmente em um trabalho em colaboração com Vladimir Lazarev (Lazarev *et al.*, 2016), do Instituto Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz). Ele mostrou, por análise de eletroencefalogramas (EEG), que há uma grande coerência (sincronia) entre as regiões cerebrais conectadas pelos dois feixes anômalos, indicando que eles seriam os responsáveis por algum tipo de comunicação entre as regiões conectadas.

Demonstramos que o feixe é funcional, ou seja, ele faz com que as regiões conectadas conversem de algum modo. Só que não sabemos o conteúdo da conversa. Porém avançamos nessa questão quando nos deparamos com um feixe que conecta duas regiões cerebrais de funções conhecidas, uma em cada hemisfério. Isso também foi o trabalho da Fernanda Tovar-Moll (2014) revelando que, na impossibilidade de transitar pelo corpo caloso, inexistente nos discalosos, formava-se uma conexão anômala por baixo, na altura do mesencéfalo, completamente diferente e inteiramente inesperada, conectando duas áreas simétricas nos dois hemisférios.

Essas regiões foram estudadas com uma abordagem psicológica por uma outra aluna de doutorado, Myriam Monteiro, aproveitando a função dessas regiões conectadas pelo feixe anômalo que cruza pelo mesencéfalo (Monteiro *et al.*, 2019). Trata-se das regiões

corticais encarregadas da cognição tátil. Ou seja, com os olhos fechados, uma pessoa que tateia um objeto comum com qualquer uma das mãos consegue dizer o nome desse objeto. Não é o caso dos pacientes com o corpo caloso seccionado, mas quem sabe seria o caso dos pacientes discalosos. Desse modo, o experimento consistiu em esses pacientes tatearem com uma das mãos um objeto, como um pente, por exemplo, e depois serem solicitados a identificar o objeto apontando com a outra mão para uma foto entre muitas. Isso significa que um hemisfério conseguiu transmitir para o outro a cognição tátil que obteve com uma das mãos. Isso era verdade para objetos conhecidos, mas também para formas abstratas, desenhadas em papel de lixa.

Nesse experimento, ao comparar pacientes discalosos com controles dotados de um corpo caloso, é possível constatar que o desempenho é exatamente igual para as duas mãos. Com isso, sugerimos que quem faz essa comunicação é o feixe anômalo que se forma nos indivíduos discalosos, conectando as áreas corticais do tato.

Com os dados mais recentes que obtivemos no grupo, estamos lançando a nova hipótese de que todas essas conexões anômalas, na verdade, são conexões “secretas”, formadas durante o desenvolvimento de um modo residual, como uma espécie de reserva conectômica, capaz de ser ampliada em função das influências do ambiente, seja o ambiente interno, por exemplo, como eventos epigenéticos no cérebro dos indivíduos, seja o ambiente externo, por exemplo, nas intervenções educacionais.

Então, a questão que se seguiu foi a de demonstrar as propostas conexões secretas no cérebro típico que explicariam a neuroplasticidade de longa distância, isto é, dos grandes feixes que se formam na disgenesia calosa e outras intervenções.

Os dados para essa hipótese começaram a ser gerados há muito tempo. Giorgio Innocenti foi um grande pioneiro, mostrando conexões que denominou “exuberantes” no corpo caloso em processo de desenvolvimento (Innocenti *et al.*, 1977), seguidas por uma poda de axônios até atingir o número típico da espécie. Nosso primeiro trabalho que revelou possíveis conexões secretas — sem que soubéssemos disso naquele momento — foi realizado por Cecília Hedin-Pereira, minha primeira aluna de doutorado, durante um estágio pós-doutoral no Massachusetts Institute of Technology [Instituto de Tecnologia de Massachusetts] (MIT), no laboratório onde eu havia trabalhado.

No trabalho que publicamos (Hedin-Pereira *et al.*, 1999), Cecília revelou que os neurônios calosos de hamsters em desenvolvimento, reconstruídos individualmente, formavam um prolongamento que era completamente anômalo. Após cruzar a linha média, a fibra ultrapassava bastante a posição do alvo onde deveria arborizar. Depois, começava a se formar um broto na altura do alvo certo, e esse ramo era absorvido para que se formasse a arborização corretamente.

Após dez anos, uma outra aluna de doutorado, Patrícia Garcez, durante um intercâmbio na Alemanha, deu continuidade ao trabalho iniciado no laboratório. Patrícia demonstrou também a existência de bifurcações calosas (Garcez *et al.*, 2007), mas não depois do cruzamento do axônio caloso, e sim logo após sua emergência do neurônio, a caminho da substância branca bem abaixo. Como se não soubessem para onde ir, os axônios se bifurcavam gerando um ramo em direção à linha média, e outro em direção à região mais lateral do cérebro. Grande parte desses ramos laterais, mas não todos, desaparecem depois e somente o ramo caloso permanece.

O desaparecimento foi demonstrado por uma aluna de doutorado de uma terceira geração no laboratório, Danielle Rayêe, já orientada por Patrícia. Danielle conseguiu mostrar que no camundongo essas bifurcações têm um pico no décimo sétimo dia gestacional, final da gestação. Depois diminuem de número e desaparecem. Isso ocorre porque um dos ramos é retraído, permanecendo o outro (Rayêe *et al.*, 2021).

Os leitores devem estar se perguntando o que isso tem a ver com a história. Esse conjunto de dados — das conexões exuberantes às bifurcações transitórias antes e depois do cruzamento das fibras calosas — permitiu que criássemos uma hipótese sobre a formação de conexões anômalas, como o feixe que Fernanda tinha descoberto, aquele encarregado de manter ativa a cognição tátil entre os dois hemisférios, mesmo nos indivíduos discalosos.

A dinâmica dos acontecimentos seria a seguinte: primeiro, os futuros axônios calosos emergem dos corpos neuronais e crescem em direção à substância branca. Quando a encontram, bifurcam em T invertido, e os dois ramos crescem cada um para um lado do cérebro. Nos animais típicos, o ramo que cresce em direção ao plano mediano encontra uma ponte de células gliais que servem de guia para as fibras cruzarem o hemisfério oposto. Lá, ultrapassam o alvo, onde começam a ser emitidos sinais moleculares que avisam:

“Entre aqui”. Forma-se então o broto que vai arborizar no lugar certo, e o ramo que ultrapassou o alvo é retraído.

Mas o que aconteceria no cérebro acaloso? Nele não existe a ponte glial que une os dois hemisférios, e o ramo medial da bifurcação se desorienta e desaparece ou forma os feixes anômalos longitudinais descritos anteriormente por Fernanda Tovar-Moll. Nesse caso, o ramo lateral é preservado e continua crescendo em busca de um local para cruzar a linha média. Um desses locais é a chamada comissura posterior do mesencéfalo, por onde passa um outro feixe anômalo que descrevemos: o que conecta as regiões corticais da cognição tátil. Forma-se assim o feixe que “substitui” o corpo caloso na transmissão inter-hemisférica do reconhecimento tátil de objetos nos indivíduos acalosos.

Naturalmente, essa é uma hipótese de trabalho que precisa ser confirmada, tarefa sobre a qual estamos nos debruçando bastante, já que se trata de uma forma de neuroplasticidade capaz de gerar “Avenidas Rio Branco” no cérebro. Observem que não estou me referindo à plasticidade sináptica, mas sim aos longos circuitos que se formam no cérebro, em resposta a uma anomalia do desenvolvimento, como no exemplo que descrevi.

Fernanda deu continuidade a essa linha de pesquisa, mostrando vários outros feixes cruzando por diferentes locais, e isso foi objeto de curiosidade de um outro aluno de doutorado, Diego Szczupak, agora pesquisador na Universidade de Pittsburgh. Diego trabalha junto com um brasileiro radicado em Pittsburgh, Afonso Silva, e uma das coisas que ele realizou foi explorar um modelo animal, um camundongo da cepa BALB/c, muito usada em experimentos biológicos de vários tipos. Pouca gente sabe que esse animal tem anomalias espontâneas do corpo caloso. Comparando a área sagital dos camundongos BALB/c com a de outra cepa comum, o camundongo suíço, observa-se que a área sagital do corpo caloso dos suíços varia pouco, ao passo que o BALB/c apresenta uma variabilidade enorme, desde a agenesia do corpo caloso, vários graus de disgenesia, e até casos em que o caloso é bem maior do que o normal (animais hipercalosos).

Ao estudar esses animais BALB/c, Diego conseguiu revelar a existência do feixe sigmoide, que Fernanda havia descoberto em pessoas discalosas. Só que ele descobriu o feixe não apenas nos animais acalosos, mas também nos discalosos próximos da normalidade (Szczupak *et al.*, 2020). Ou seja, o feixe sigmoide não se forma

depois, ele praticamente já existe mesmo quando o corpo caloso é normal nesses animais. Estendendo suas observações para animais de outras espécies, Diego analisou imagens super-refinadas de rastreadores axônicos e confirmou a existência desses circuitos secretos que cruzam a linha média, pondo em comunicação o córtex cerebral por vias distintas do corpo caloso (Szczupak *et al.*, 2021). São exemplos a comissura anterior e o tálamo.

Outra contribuição disruptiva de Diego Szczupak junto ao nosso grupo e o de Afonso Silva foi um trabalho que abalou o dogma de que os circuitos do corpo caloso são simetricamente organizados entre os hemisférios, com cada um distribuindo as conexões de um modo chamado homotópico. Não é bem assim: revelamos que existem também conexões heterotópicas secretas. Além das regiões homotópicas especulares conectadas nos dois hemisférios, também outras regiões completamente diferentes são conectadas. São as conexões heterotópicas: partindo de um ponto focal em um dos hemisférios, o corpo caloso se distribui amplamente pelo hemisfério oposto. Já tínhamos suspeitado desse fato em um trabalho mais antigo (Houzel *et al.*, 2002), mas agora ficou patente que o fenômeno é bem geral.

Quantificando a frequência relativa das conexões inter-hemisféricas heterotópicas em relação às homotópicas, verificou-se que no camundongo elas representam 63%, contra apenas 37% das homotópicas. Quantificando outras espécies, como o mico e os seres humanos, verifica-se que a proporção das conexões secretas heterotópicas é da ordem de 70% em todas essas espécies (Szczupak *et al.*, 2023). Quer dizer, o antidogma é que o corpo caloso é heterotópico e, por trás disso, está a revelação de que essas conexões são “secretas”, desconhecidas até então, e refletem o que acontece em uma situação de anormalidade ou de impacto ambiental.

Então, na verdade, o que estamos considerando agora, levando em conta a hipótese das conexões secretas, é que essas conexões existem desde sempre nas pessoas e nos animais. Existem em nós de um “modo secreto”, vamos dizer, residual e talvez não funcional, mas podem ser reveladas e tornadas funcionais numa situação ambiental que cause a sua expressão mais abundante. Trata-se, portanto, de uma “reserva conectômica”, isto é, um acervo de conexões de alta diversidade, que podem ser utilizadas em caso de necessidade para compensar alguma influência do ambiente, negativa ou positiva, e em alguns casos geram sintomas que se transformam em transtornos neuropsiquiátricos.

Isto é, o nosso cérebro tem um acervo de conexões muito maior do que aquelas que efetivamente usamos. Esse acervo serve para ser aproveitado em circunstâncias moduladas pelo ambiente, para o mal ou para o bem. É como se fosse a base biológica do conceito de “reserva cognitiva”, tão apreciado pelos psicólogos. Mas essa é outra conversa...

Muitos alunos e colegas participaram, ao longo de muitos anos, dos trabalhos aqui sumariamente relatados, e de outros que não foram mencionados. A eles, companheiros de trabalho de toda a minha longa carreira, meus agradecimentos e minha reverência. Além disso, o trabalho foi sempre financiado pelo CNPq, FAPERJ e CAPES, além do Instituto Nacional de Neurociência Translacional (INTT).

REFERÊNCIAS

ANDRADE-MORAES, C. H.; OLIVEIRA-PINTO, A. V.; CASTRO-FONSECA, E.; SILVA, C. G. da; GUIMARÃES, D. M.; SZCZUPAK, D.; PARENTE-BRUNO, D. R.; CARVALHO, L. R.; POLICHISO, L.; GOMES, B. V.; OLIVEIRA, L. M.; RODRIGUEZ, R. D.; LEITE, R. E.; FERRETTI-REBUSTINI, R. E.; JACOB FILHO, W.; PASQUALUCCI, C. A.; GRINBERG, L. T.; LENT, R. Cell Number Changes in Alzheimer's Disease Relate to Dementia, Not to Plaques and Tangles. *Brain*, [s. l.], v. 136, p. 3738-3752, Dec. 2013.

AZEVEDO, F. A. C.; CARVALHO, L. R.; GRINBERG, L. T.; FARFEL, J. M.; FERRETTI, R. E.; LEITE, R. E.; JACOB FILHO, W.; LENT, R.; HERCULANO-HOUZEL, S. Equal Numbers of Neuronal and Non-Neuronal Cells Make the Human Brain an Isometrically Scaled-Up Primate Brain. *The Journal of Comparative Neurology*, [s. l.], v. 513, n. 5, p. 532-541, 10 Apr. 2009.

CASTRO-FONSECA, E.; MORAIS, V.; SILVA, C. G. da; WOLLNER, J.; FREITAS, J.; MELLO-NETO, A. F.; OLIVEIRA, L. E.; OLIVEIRA, V. C. de; LEITE, R. E. P.; ALHO, A. T.; RODRIGUEZ, R. D.; FERRETTI-REBUSTINI, R. E. L.; SUEMOTO, C. K.; JACOB FILHO, W.; NITRINI, R.; PASQUALUCCI, C. A.; GRINBERG, L. T.; TOVAR-MOLL, F.; LENT, R. The Influence of Age and Sex on the Absolute Cell Numbers of the Human Brain Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex*, New York, v. 33, n. 13, p. 8654-8666, 20 Jun. 2023.

GARCEZ, P. P.; HENRIQUE, N. P.; FURTADO, D. A.; BOLZ, J.; LENT, R.; UZIEL, D. Axons of Callosal Neurons Bifurcate Transiently at The White Matter Before Consolidating an Interhemispheric Projection. *European Journal of Neuroscience*, v. 25, n. 5, p. 1384-1394, Mar. 2007.

HEDIN-PEREIRA, C.; LENT, R.; JHAVERI, S. Morphogenesis of Callosal Arbors in the Parietal Cortex of Hamsters. *Cerebral Cortex*, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 50-64, Jan./Feb. 1999.

HERCULANO-HOUZEL, S.; LENT, R. Isotropic Fractionator: A Simple, Rapid Method for the Quantification of Total Cell and Neuron Numbers in The Brain. *The Journal of Neuroscience*, [s. l.], v. 25, n. 10, p. 2518-2521, 9 Mar. 2005.

HOUZEL, J. C.; CARVALHO, M. L.; LENT, R. Interhemispheric Connections Between Primary Visual Areas: Beyond the Midline Rule. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [s. l.], v. 35, n. 12, p. 1441-1454, Dec. 2002.

INNOCENTI, G. M.; FIORE, L.; CAMINITI, R. Exuberant Projection into the Corpus Callosum from the Visual Cortex of Newborn Cats. *Neuroscience Letters*, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 237-242, Apr. 1977.

JAKAB, A.; KASPRIAN, G.; SCHWARTZ, E.; GRUBER, G. M.; MITTER, C.; PRAYER, D.; SCHÖPE, V.; LANGS, G. Disrupted Developmental Organization of the Structural Connectome in Fetuses with Corpus Callosum Agenesis. *Neuroimage*, [s. l.], v. 111, p. 277-288, 1 May 2015.

LAZAREV, V. V.; MONTEIRO, M.; VIANNA-BARBOSA, R.; AZEVEDO, L. C. de; LENT, R.; TOVAR-MOLL, F. Electrophysiological Correlates of Morphological Neuroplasticity in Human Callosal Dysgenesis. *PLoS One*, [s. l.], v. 11, n. 4, e052668, 2016.

MONTEIRO, M.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; ANDRADE, J.; MARINS, T.; CARVALHO-RODRIGUES, E. de; BRAMATI, I.; LENT, R.; MOLL, J.; TOVAR-MOLL, F. Cortical Lateralization of Cheirosensory Processing in Callosal Dysgenesis. *Neuroimage Clinical*, [s. l.], v. 23, n. 101808, 2019.

MYERS, J. J.; SPERRY, R. W. Interhemispheric Communication after Section of the Forebrain Commissures. *Cortex*, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 249-260, Jun. 1985.

NADDAF, M. Europe Spent 600 Million Euros to Recreate the Human Brain in a Computer. How Did It Go? *Nature*, [s. l.], v. 620, p. 718-720, 22 Aug. 2023.

OLIVEIRA-PINTO, A. V.; ANDRADE-MORAES, C. H.; OLIVEIRA, L. M.; PARENTE-BRUNO, D. R.; SANTOS, R. M.; COUTINHO, R. A.; ALHO, A. T.; LEITE, R. E.; SUEMOTO, C. K.; GRINBERG, L. T.; PASQUALUCCI, C. A.; JACOB FILHO, W.; LENT, R. Do Age and Sex Impact on the Absolute Cells Numbers of Human Brain Regions? *Brain Structure & Function*, [s. l.], v. 221, n. 7, p. 3547-3559, Sep. 2016.

RAYÊE, D.; IACK, P. M.; CHRISTOFF, R. R.; LOURENÇO, M. R.; BONIFÁCIO, C.; BOLTZ, J.; LENT, R.; GARCEZ, P. P. The Dynamics of Axon Bifurcation Development in the Cerebral Cortex of Typical and Acallosal Mice. *Neuroscience*, [s. l.], v. 477, p. 14-24, 21 Nov. 2021.

SAUL, R. E.; SPERRY, R. W. Absence of Commissurotomy Symptoms with Agenesis of the Corpus Callosum. *Neurology*, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 307, Mar. 1968.

SZCZUPAK, D.; IACK, P. M.; LIU, C.; IRC5 CONSORTIUM; TOVAR-MOLL, F.; LENT, R.; SILVA, A. C. Direct Interhemispheric Cortical Communication via Thalamic Commissures: A New White-Matter Pathway in the Rodent Brain. *Cerebral Cortex*, [s. l.], v. 31, n. 10, p. 4642-4651, Oct. 2021.

SZCZUPAK, D.; LIU, C.; YEN, C. C. C.; CHOI, S. H.; MEIRELES, F.; VICTORINO, C.; IRC5 CONSORTIUM; RICHARDS, L.; LENT, R.; SILVA, A. C.; TOVAR-MOLL, F. Long-Distance Aberrant Heterotopic Connectivity in a Mouse Strain with a High Incidence of Callosal Anomalies. *NeuroImage*, [s. l.], v. 217, n. 116875, 15 Aug 2020.

SZCZUPAK, D.; IACK, P. M.; RAYÊE, D.; LIU, C.; LENT, R.; TOVAR-MOLL, F.; SILVA, A. C. The Relevance of Heterotopic Callosal Fibers to Interhemispheric Connectivity of the Mammalian Brain. *Cerebral Cortex*, [s. l.], v. 33, n. 8, p. 4752-4760, 4 Apr. 2023.

TOVAR-MOLL, F.; MOLL, J.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; BRAMATI, I.; ANDREIUOLO, P. A.; LENT, R. Neuroplasticity in Human Callosal Dysgenesis: a Diffusion Tensor Imaging Study. *Cerebral Cortex*, New York, v. 17, n. 3, p. 531-541, Mar. 2007.

TOVAR-MOLL, F.; MONTEIRO, M.; ANDRADE, J.; BRAMATI, I.; VIANNA-BARBOSA, R.; MARINS, T.; RODRIGUES, E.; DANTAS, N.; BEHRENS, T. E.; OLIVEIRA-SOUZA, R. de; MOLL, J.; LENT, R. Structural and Functional Brain Rewiring Clarifies Preserved Interhemispheric Transfer in Humans Born without The Corpus Callosum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [s. l.], v. 111, n. 21, p. 7843-7848, 2014.

AULA 9A

AS IMAGENS DA LOUCURA

Palestrante: Antonio Egidio Nardi (IPUB/UFRJ)

(*Transcrição: Lara Sales dos Santos, Pedro Barbosa e Pedro Henrique Souza de Castro*)

ADALBERTO VIEYRA:

Antonio Egidio Nardi é professor titular de Psiquiatria da UFRJ; uma das grandes figuras da psiquiatria nacional que se projeta para o exterior, com intenso brilho; membro titular da Academia Nacional de Medicina; membro titular da Academia Brasileira de Ciências; pesquisador no nível 1A do CNPq, e editor-chefe do periódico *Brazilian Journal of Psychiatry*, de altíssimo fator de impacto, acima de 5.5, e com um *open access* diferente, que não cobra para publicar. Então, a publicação é extremamente livre, assim como o acesso via SciELO.

O professor Antonio Egidio Nardi foi uma das figuras da linha de frente durante a pandemia e vai nos falar hoje sobre parte, com um acúmulo bastante histórico, das imagens da loucura. Professor Nardi, muito obrigado por estar aqui conosco.

ANTONIO EGIDIO NARDI:

Quero agradecer ao professor Adalberto Vieyra o honroso convite, a todos da equipe que promove essa disciplina, porque falar das imagens da loucura é realmente algo desafiador. Quando preparei a primeira versão dessa aula, ela continha mais de 200 imagens. Acho que poderíamos fazer uma disciplina só sobre imagens da loucura, porque é algo infinito. Então, ao selecionar o que seria dito hoje, acabei escolhendo, de uma forma um pouco egoísta, o que tem sido mais importante para mim nestes anos no lidar com a loucura tão de perto. Assim, vou apresentar alguns dados, algumas imagens,

mas claro que isso pode ser muito ampliado. Vale ressaltar que nenhuma das belas imagens que eu apresentarei são minhas.

Quero começar tomando um cuidado especial ao falar, pois é delicada a questão do diagnóstico em psiquiatria. Vou falar de artistas, de personagens, que de uma forma ou de outra, seja pela literatura, seja pela biografia deles, foram associados a alguns diagnósticos. Mas o diagnóstico em psiquiatria é algo muito volátil, muito subjetivo, algo que mexe muito com essa relação do homem com o mundo. Então é claro que alguém da Idade Média, por exemplo, que receba um diagnóstico psiquiátrico com a visão e influência do conhecimento atual será uma provável vítima do nosso furor classificatório e sujeito a injustiças. O diagnóstico psiquiátrico, diferente de um diagnóstico em outras especialidades médicas, como cardiologia, pediatria, ginecologia, muda ao longo do tempo, porque o homem muda ao longo do tempo na sua relação com o mundo. Então quero, de antemão, pedir desculpa a todas as pessoas que citarei aqui ao longo da história se às vezes falo um diagnóstico que não é exatamente aquele que eles teriam hoje em dia, ou se sequer teriam algum diagnóstico. Ao falar dessa importante questão dos diagnósticos, tenho que mencionar a pessoa mais importante no Brasil e reconhecida internacionalmente, sem internet na época, que foi o professor [José Leme Lopes \(1904-1990\)](#).

O professor José Leme Lopes foi o catedrático de psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro, foi membro da Academia Nacional de Medicina e foi quem colocou a psiquiatria da UFRJ no âmbito nacional e mundial. Como estamos falando de imagens, acho importante mencionar a imagem da [capa](#) do livro do professor Leme Lopes, porque essa imagem foi colocada, assim como está aqui, no livro *Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry*.

O *Kaplan* é o livro norte-americano mais importante de psiquiatria, livro que todo psiquiatra no mundo tem. Nele, no capítulo de classificações psiquiátricas/diagnóstico psiquiátrico, foi colocada uma homenagem ao professor Leme Lopes, em português. A capa é exatamente essa, o que chama a atenção, porque é raríssimo que, num livro norte-americano, se valorize alguém que não seja norte-americano; ainda mais fazendo uso de uma imagem em português e o citando como um dos pioneiros em mostrar a dificuldade ou a complexidade do diagnóstico psiquiátrico. Por isso, é a primeira imagem que acho importante

apresentar, além de mencionar todo o cuidado que devemos ter com o diagnóstico psiquiátrico.

Outro ponto importante é que quero dedicar esta aula à professora Nise da Silveira (1905-1999). A professora Nise da Silveira foi uma pioneira na sua atitude como psiquiatra, porque, numa época em que a psiquiatria era totalmente asilar, extremamente voltada apenas a colocar os pacientes em segundo plano, ela valorizou o mundo subjetivo de todos eles, através da arte, através da imagem. A professora Nise da Silveira foi reconhecida internacionalmente. Esta é uma página no *American Journal of Psychiatry*, em uma sessão denominada Images in Psychiatry [Imagens em Psiquiatria], na qual se mostra a professora Nise da Silveira. Então, em breve resumo da sua importância, ela também está aqui sendo reconhecida internacionalmente, como neste editorial.

Muitas das imagens que apresentarei aqui são referentes ao trabalho da professora [Nise da Silveira](#), porque a professora Nise, com seu trabalho pioneiro, foi responsável por inúmeros centros, associações, museus, enfim, várias instituições, várias iniciativas que mostram que o trabalho dela teve frutos. Nise da Silveira foi única e merece todo o nosso carinho, respeito e valorização. O fruto do trabalho da professora Nise da Silveira pode ser comprovado nesses inúmeros centros que recebem o seu nome.

A seguir, este é apenas um resumo de diferentes centros, que não se localizam só no Brasil, mas na Itália, na França e em Portugal, em várias cidades, e valorizam exatamente a imagem e a arte de pessoas que sofrem de transtornos mentais:

- Museu Bispo do Rosário, da Colônia Juliano Moreira (Rio de Janeiro, RJ)
- Centro de Estudos Nise da Silveira (Juiz de Fora, MG)
- Espaço Nise da Silveira, do Núcleo de Atenção Psicossocial (Recife, PE)
- Núcleo de Atividades Expressivas Nise da Silveira, do Hospital Psiquiátrico São Pedro (Porto Alegre, RS)
- Associação de Convivência, Estudo e Pesquisa Nise da Silveira (Salvador, BA)
- Centro de Estudos Imagens do Inconsciente, da Universidade do Porto (Portugal)
- Association Nise da Silveira Images de l'Inconscient (França)

- Museo Attivo delle Forme Inconsapevoli, hoje renomeado Museattivo Claudio Costa (Itália)

Uma fotografia clássica em psiquiatria é esta da professora Nise da Silveira junto a Carl Jung, que também mencionarei a seguir. Jung foi um dos pioneiros na valorização desse lado artístico e da capacidade que nós, seres humanos, temos de nos expressar através da arte e expressar o nosso sofrimento ou o nosso mundo subjetivo. Ele foi um psicanalista que mostrou um lado da psicanálise diferente do de Sigmund Freud (1856-1939).

Freud valorizou muito o indivíduo, enquanto Carl Jung valorizou muito o coletivo, a nossa sociedade como um todo, tendo arquétipos, imagens, conceitos que se perpetuam. Jung chegou a ser [capa da revista TIME](#) em 1955, valorizando esse lado do subjetivo coletivo.

Existem alguns arquétipos, algumas imagens e conceitos que são universais ou quase universais, e ele foi um dos pioneiros a associar conceitos da psicanálise e os arquétipos. No livro sobre os arquétipos e o inconsciente coletivo, Jung demonstra a importância de alguns conceitos que temos como sociedade — seja a ocidental ou até para além da sociedade ocidental, considerando parte do Oriente — que se transmitem de geração em geração, sempre de diferentes maneiras.

Optei por mostrar esta obra do século XV, [Saint George and the Dragon](#), de Paolo Uccello, que está no National Gallery of Art, e que traduz muito o que é um arquétipo. Vejam que é do século XV, e apresenta o cavaleiro, forte, com uma armadura que o protege ainda mais, e um cavalo branco enorme, pronto para o ataque. O cavaleiro tem uma grande lança, que pega um dragão feroz, e o dragão está ligado a uma mulher, frágil, provavelmente uma virgem. Traz-se todo um significado, desde São Jorge — que na nossa cultura é muito reverenciado combatendo o dragão —, até várias outras situações em que o sexo masculino acaba sendo sempre o forte, o defensor; e o sexo feminino, frágil e que merece algum tipo de defesa. Algo fica ali no meio e pode ser interpretado de diferentes formas. Neste arquétipo, é de um dragão, algo terrível, que cospe fogo e é violento, que o homem vai defender a mulher. Aos poucos isso vem mudando na nossa sociedade, mas ainda de forma muito tímida, frágil, igual a essa moça que nesse arquétipo se demonstrou muito delicada. É algo que permanece; um tipo de um arquétipo que Jung mostrou muito bem.

Outro ponto que achei importante mencionar aqui, também em torno dos séculos XV e XVI, é a nave dos loucos. Em algum período, principalmente no norte da França, na Holanda, na Bélgica, pessoas com doenças mentais eram colocadas em navios, em barcos, e ficavam deixadas a navegar ao seu próprio destino. Provavelmente muitos deles, ou quase a totalidade, foram a óbito de alguma forma. Este quadro, *A nave dos loucos*, de Hieronymus Bosch (1450-1516), é um quadro típico deste período e demonstra como pessoas com transtornos mentais já foram destratadas ou relegadas a um último plano de diferentes maneiras.

A questão da nave dos loucos foi muito bem demonstrada por Michel Foucault (1926-1984) em *História da loucura*. Ele abordou esse tipo de conduta da sociedade, e que, apesar de considerarmos isso hoje algo inteiramente fora do bom senso, na época foi considerado algo justo, correto. Muita coisa foi feita nesse sentido. *A nave dos loucos* demonstra que sempre as pessoas com transtornos mentais trouxeram sofrimento à sociedade, por mostrar a ela os seus defeitos, os seus pecados, as suas fraquezas; demonstra também que sempre foram mantidas à distância, seja na cidade, seja na medicina, seja também por meio de naves dos loucos.

Sempre que falamos de loucura, não podemos esquecer de Sigmund Freud. Freud foi um neurologista; não era psiquiatra, mas foi muito importante para a psiquiatria, porque trouxe o sofrimento mental para a psiquiatria ambulatorial, para a psiquiatria do dia a dia, psicopatologia do nosso cotidiano. Freud, além de desenvolver a psicanálise e ser conhecido por isso, tem grande valor por ter sido um bom observador do ser humano. O ponto que valorizo mais em Freud é como ele foi um bom psicopatologista, descrevendo com detalhes o sofrimento subjetivo, que não são as psicoses; não são os casos tão graves que habitualmente acompanhamos em hospitais, em institutos de psiquiatria. Em relação à imagem, eu trouxe de Freud, primeiro, a imagem do divã. No consultório de Freud, em Viena, os pacientes se deitavam *nesse divã*. Freud valorizou o divã, trazendo-o para a psiquiatria, para a consulta psiquiátrica.

Hoje, quando os pacientes vão ao nosso consultório, ao nosso ambulatório, muitos perguntam: “O senhor não tem um divã?”. Isso comprova como a imagem do divã ficou marcada. Como podemos notar nesta imagem do consultório, aqui num detalhe um pouco maior, Freud era um colecionador de imagens de diferentes origens, de diferentes culturas, porque essas imagens — e a aula hoje

é sobre imagens — representam o que Jung já falava de diferentes maneiras: o nosso inconsciente, a nossa cultura, o que valorizamos ou deixamos de valorizar.

Inclusive existe um livro, *Sigmund Freud e arqueologia*, sobre a coleção de antiguidades do Freud. Há uma introdução de talvez um dos maiores estudiosos de Freud, que é Peter Gay (1923-2015). É um livro muito importante e foi traduzido para o português. Esta capa é da edição em português. Ele traz uma interpretação de várias imagens através de uma abordagem psicanalítica ou de arquétipos, com a visão de Carl Jung. Selecionei esta imagem do livro, que é uma imagem de Agrigento, na Sicília, no sul da Itália (FIGURA 1). A imagem que tenho aqui é exatamente um arquétipo que traduz várias dificuldades nossas em lidar com o cotidiano. Esse ser tem seios, que fazem pensar no sexo feminino, mas por outro lado tem um corpo que pode ser de um animal feroz: a pata me parece mais de um coelho, algo mais tranquilo, porém veloz; tem um aspecto no tórax de força, de luta; tem asas e uma face tranquila; e algo para apoiar, para mostrar que dá um suporte a todas as nossas ansiedades, as nossas angústias. Essa imagem é um exemplo de um arquétipo, algo que realmente traduz parte das nossas dúvidas, parte do nosso sofrimento emocional.

Figura 1 – Agrigento, sul da Itália, século V a.C.

Fonte: Gamwell; Wells (1989)

Existem vários quadros traduzindo a loucura, a imagem da loucura, mas a depressão é a doença mental mais traduzida em imagens. Selecionei este do Jacob Lawrence (1917-2000) que está no Whitney Museum, cujo nome é *Depressão*. E realmente, para quem já foi a este ambiente, a obra remete muito a um hospital psiquiátrico, com as pessoas olhando para o



ção, todas depressivas. Vê-se também uma pessoa isolada, cujo isolamento, tristeza e distanciamento nos remete à depressão, que é talvez um dos transtornos mentais mais prevalentes na sociedade, trazendo um grande sofrimento. A solidão, o isolamento, mesmo quando as pessoas estão próximas, é um dos aspectos tristes da depressão. Esse quadro de Lawrence demonstra isso de forma muito evidente.

Ao falar em imagens, em psiquiatria, logo vem a imagem de Philippe Pinel (1745-1826) considerando as pessoas acorrentadas não como loucos, mas sim como cidadãos que mereciam todo o respeito e um tratamento humano. Essa visão foi algo muito importante para a criação da especialidade médica da psiquiatria.

Essa [pintura](#) de Pinel foi feita no século XIX por Tony Robert-Fleury (1837-1911), e é um quadro que está em todos os livros de psiquiatria. Todos que estudam psiquiatria acabam evidenciando esse quadro. Pinel não foi o único, mas foi o símbolo de um movimento importante da época da criação da psiquiatria. A psiquiatria foi criada entre o final do século XVIII e o início do século XIX, e Pinel foi um expoente nesse movimento. O quadro, que mostra Pinel liberando das correntes essas pessoas que estavam simplesmente doentes e que precisavam de um cuidado humano, não de serem castigadas, virou o símbolo da psiquiatria. Nele, uma senhora beija a mão de Pinel, demonstrando a importância dessa representação para a nossa sociedade.

Na [Academia Francesa de Medicina](#), no salão principal, há um quadro com o mesmo significado do anterior (FIGURA 2). Pinel, desta vez, está de pé e também liberando os pacientes das correntes, das algemas, e mostrando que essas eram pessoas que mereciam tratamento digno e cuidado médico. No centro, pode-se até ler aqui o nome do Philippe Pinel, no Bicêtre, onde ele teria feito esse ato. Também mostro aqui o busto de Pinel, também bem ao centro, na Academia Francesa de Medicina, que serve como mais uma demonstração de como esse movimento foi importante para a medicina e para a sociedade.

Figura 2 – Obra de Charles Louis Lucien Muller



Um outro quadro que simboliza a loucura de diferentes maneiras é *O grito*, de Edvard Munch (1863-1944). Esse quadro, da mesma forma que outros pontos artísticos, tem as maiores variações possíveis. As pessoas colocam essa figura gritando de diferentes cores, de diferentes maneiras, em diferentes situações. Munch era uma pessoa ansiosa, segundo o conceito atual. Então o quadro de Munch é muito importante porque traz essa imagem de sofrimento, de angústia, de desespero. Da mesma forma daquela imagem que mostrei de uma página do *American Journal of Psychiatry*, o quadro *O grito* também foi suplemento sobre imagens em psiquiatria no mesmo periódico. [Nesta página](#) do *American Journal of Psychiatry* se discute exatamente isso, a importância desse simbolismo, dessa imagem, para a psiquiatria.

Vou agora falar um pouco sobre suicídio. Sempre é relevante falar sobre suicídio, porque a melhor forma de prevenir o suicídio é mostrar que ele é um sofrimento humano: as pessoas pensam em se matar. Durante esta apresentação, mais de mil pessoas no mundo tentarão suicídio. Urge, então, falar sobre suicídio e mostrar é algo que pode ser evitado. As pessoas que pensam em se

suicidar devem procurar ajuda médica, psicológica, porque, seja o que estiver ocorrendo, há possibilidade de ajuda. E isso foi não só descrito como demonstrado por alguns artistas. Édouard Manet (1832-1883) fez o quadro [O suicida](#) (FIGURA 3), que é bem dramático, chocante, no meu ponto de vista, marcante, representando um homem que se suicidou com um revólver.

Figura 3 – *O suicida*, de Édouard Manet



Fonte: Wikipedia (c2024)

Inclusive, aproveito aqui para fazer uma campanha contra as armas de fogo, porque, além de ser um absurdo a existência destas, elas são um fator de grande risco para pessoas com tendências suicidas. O acesso à arma de fogo aumenta muito o risco de eficácia da tentativa de suicídio, e é importante mencionar isso. Mas o suicídio, como todo comportamento humano, teve diferentes interpretações ao longo do tempo. Aqui está representado [o suicídio de Saul](#) (FIGURA 4).

Figura 4 – O suicídio de Saul, de Pieter Bruegel, o Velho

Fonte: Wikipedia (c2024)

Na Bíblia ocorrem vários suicídios, uns cinco no Velho Testamento e um no Novo Testamento, mas nenhum deles está ligado a um sofrimento que poderíamos hoje considerar um transtorno mental. Todos estão diretamente ligados à culpa. E, no meu ponto de vista, de alguém que não é estudioso da Bíblia, ela não condena o suicídio em momento algum. Então uma pessoa pode interpretar o suicídio como um ato de redenção de uma culpa. A pessoa fez algo errado e decide se matar, decide se castigar, “ter o castigo merecido”. Para alguns, o mandamento “não matarás” inclui, evidentemente, o sentido de “não matarás a si próprio”. Mas a palavra suicídio é muito recente no mundo ocidental, vindo a partir do século XVIII. De qualquer forma, o suicídio é algo que sempre traz uma grande consternação e sofrimento a todas as pessoas.

O suicídio já foi visto de diferentes maneiras. A imagem clássica de Sócrates chamada *A morte de Sócrates*, de Jacques-Louis David (1748-1825), que está no Museu de Arte Moderna de Nova York, mostra Sócrates condenado à morte (FIGURA 5).

Figura 5 – *A morte de Sócrates*, de Jacques-Louis David

Fonte: Wikipedia (c2024)

Na Grécia Antiga, a condenação à morte era feita pela justiça. Era uma condenação ao suicídio, ou seja, o condenado deveria se matar, o que é algo que teríamos dificuldade em entender com a visão de hoje. Mas Sócrates, que era um legalista, seguia todas as leis da Grécia, e assim se matou tomando o veneno, apesar de vários de seus seguidores falarem que era um absurdo que ele efetuasse a condenação. Porém, sendo essa a lei, após ser condenado por um tribunal, ele se matou. Isso demonstra como o suicídio tem diferentes vertentes ao longo da história. O quadro é muito impactante, porque mostra ali, com o dedo de Sócrates levantado, que a lei está acima de tudo, e que, se foi condenado, deveria seguir a lei da Grécia.

Em todos os momentos, peço desculpa por às vezes falar de diagnósticos de figuras históricas sem ter certeza. Assim sendo, creio que a maior vítima da história dos diagnósticos é Vincent van Gogh. Todo estudante de psiquiatria, em toda aula, tem o exemplo de Van Gogh. Nesses meus anos de psiquiatria, Van Gogh já foi considerado epilético, esquizofrênico e, atualmente, bipolar. Muitos dizem que a bipolaridade é o diagnóstico da moda; muitas pessoas hoje recebem de forma banal esse diagnóstico. Na realidade, ninguém sabe o que Van Gogh efetivamente tinha. Levanto a minha hipótese: acho

provável que ele tinha uma intoxicação por chumbo, porque era muito comum que as tintas da época tivessem alto teor de chumbo. Não só Van Gogh, com sua característica na pintura, mas vários pintores da época apresentavam quadros neuropsiquiátricos devido à intoxicação por chumbo. Também um diagnóstico não exclui o outro: Van Gogh poderia ter algum transtorno mental e intoxicação por chumbo. Este quadro, *Autorretrato com a orelha cortada* (FIGURA 6), é um exemplo do sofrimento subjetivo de Van Gogh, sob o qual ele corta a própria orelha e faz um autorretrato com a orelha enfaixada.

Figura 6 – *Autorretrato com a orelha cortada*, de Vincent van Gogh



Fonte: Wikipedia (c2024)

Este outro quadro, *A noite estrelada* (FIGURA 7), talvez seja o quadro mais famoso de Van Gogh. Todas as pessoas conhecem *Noite estrelada*, e foi um quadro que ele fez internado em hospital psiquiátrico. Van Gogh pintou muito durante internações psiquiátricas. Essa obra traduz uma noite, mas uma noite confusa, no meu ponto de vista; uma noite com vento, com sofrimento; uma noite angustiante, mas muito bonita. A beleza do quadro, a meu ver, é a representação de uma noite com grande ansiedade, com grande angústia: diria até mesmo uma “noite de insônia”, que é o título que eu daria se eu tivesse que nomear o quadro. Trata-se de uma noite com sofrimento, não é tranquila, mas o quadro é belíssimo, e considero importante o fato de ter sido pintado no hospital psiquiátrico.

Figura 7 – *A noite estrelada*, de Vincent van Gogh

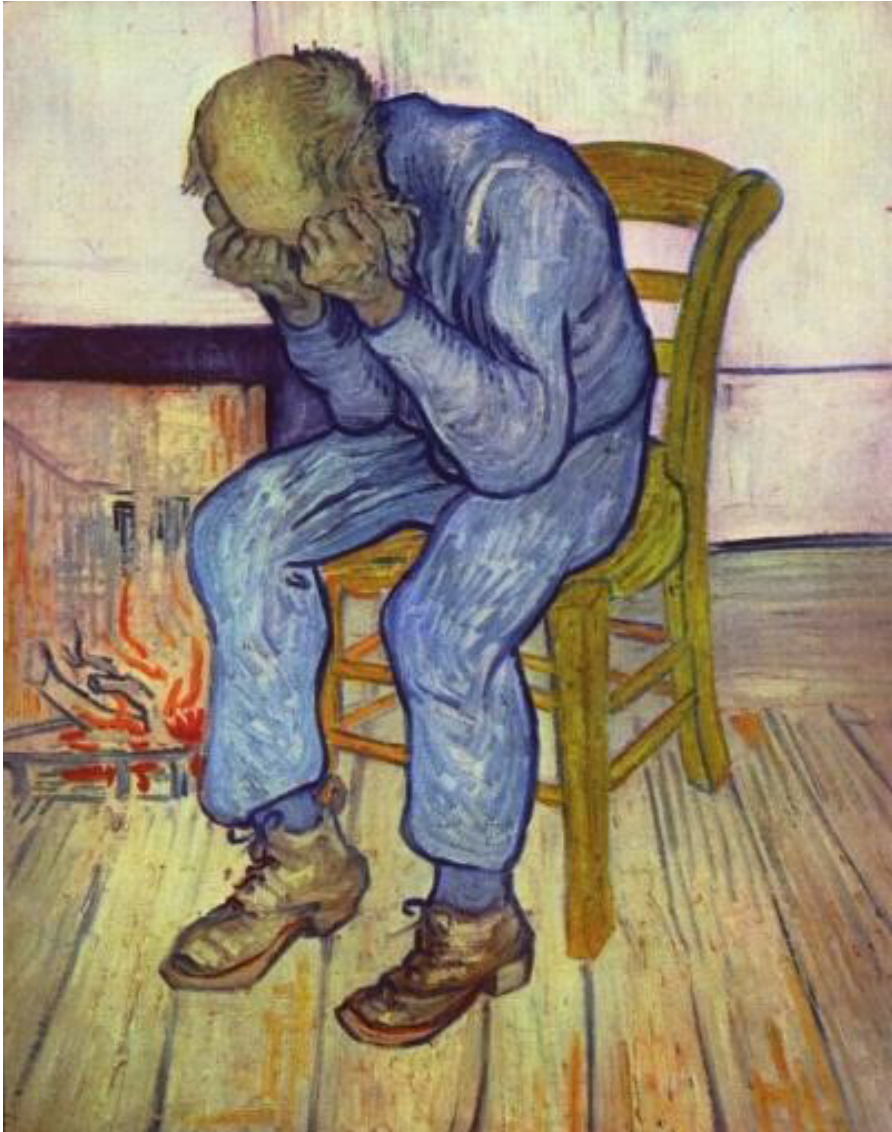


Fonte: Wikipedia (c2024)

A próxima pintura, *No portão da eternidade* (FIGURA 8), mostra o que é o sofrimento psiquiátrico, ou algo único; mostra a importância de traduzir o sofrimento subjetivo. É um clássico e muito conhecido, porque a figura da obra é sempre citada quando se fala

de depressão. Conseguimos observar nesse quadro o grande sofrimento desse senhor, um desespero, e a sua posição — um pouco encolhida, com as mãos nos olhos, cabisbaixo — faz-nos pensar em alguém que está sofrendo muito, angustiado. Esse quadro está também sempre presente nos estudos de psiquiatria.

Figura 8 – *No portão da eternidade*, de Vincent van Gogh



Fonte: Wikipedia (c2024)

Este outro quadro de Van Gogh é um quadro bem menos mencionado e conhecido, mas é o corredor do hospital psiquiátrico onde Van Gogh se instalou (FIGURA 9). Sua relevância está na representação de um hospital psiquiátrico deserto. Há uma pessoa no fundo, mas demonstrando essa solidão, algo muitas vezes encontrado em um hospital psiquiátrico: o distanciamento, a solidão que os pacientes acabam sofrendo. Mas, da mesma forma, foi um quadro pintado por Van Gogh durante a sua internação e que nos faz refletir. Contudo, vários outros artistas pintaram hospitais psiquiátricos.

Figura 9 – *Corredor no hospital Saint-Paul*, de Vincent van Gogh



Fonte: Wikipedia (c2024)

Por exemplo, este quadro de Francisco de Goya (1746-1828), do século XIX, denominado *Casa de loucos* (FIGURA 10), mostra realmente um hospício. Vê-se que esse quadro representa um tempo anterior ao movimento humanístico, capitaneado por Philippe Pinel, evidenciando que os pacientes ficavam como verdadeiras pessoas em segundo plano, sem nenhum tipo de cuidado, desnudas, sem acesso à higiene e cuidado. Tudo isso realmente era um tratamento inumano contra quem sofre de um transtorno mental, porém traduz o que já foi o cuidado — ou a falta dele — da sociedade em relação aos pacientes com transtornos. O quadro foi produzido exatamente quando a psiquiatria começava a se formar, e a psiquiatria tende ainda hoje a melhorar cada vez mais o cuidado para com os que sofrem de transtornos.

Figura 10 – *Casa de loucos*, de Francisco de Goya

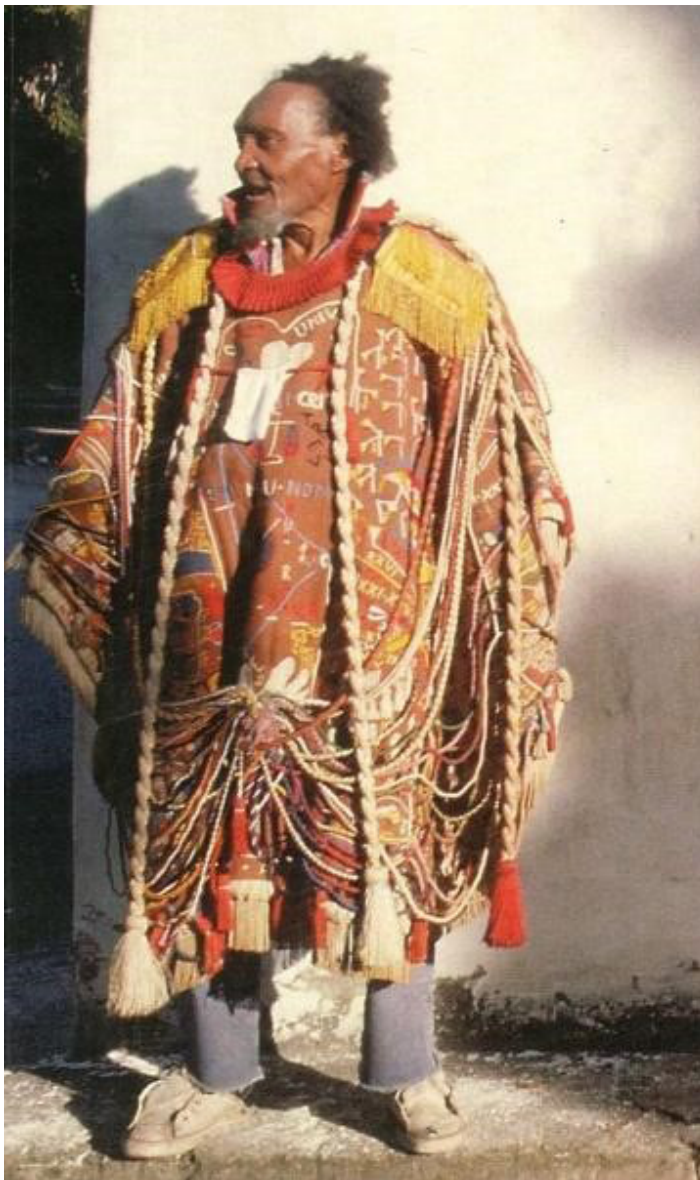


Fonte: Wikipedia (c2024)

Agora, presto uma homenagem a um artista brasileiro, o Arthur Bispo do Rosário (FIGURA 11), um artista fantástico que certamente sofria de algum transtorno mental. Muita literatura o considera esquizofrênico, mas eu não posso afirmar o que Bispo do Rosário tinha. O que afirmo é que ele foi alguém especial e que traduzia muito bem, através da arte, vários aspectos do seu mundo psíquico. Nasceu em Japaratinga, Sergipe, em 1909, e morreu hospitalizado aqui

no Rio de Janeiro, em 1989. Andava sempre com esse manto (FIGURA 12), que hoje está no Museu Bispo do Rosário, em exposição.

Figura 11 – Arthur Bispo do Rosário (Japaratuba/SE – 16/03/1909 | Rio de Janeiro/RJ – 05/07/1989)



Fonte: Arthur [...] (c2024)

Figura 12 – Manto para apresentação no céu, de Bispo do Rosário



Fonte: Bispo [...] (c2024)

Ele fez o manto com intuito de que fosse usado em sua entrada no céu. É um manto muito colorido, muito lindo, e que, em certa parte, segundo o Bispo do Rosário, traduzia a vida dele e todas as situações dele em relação ao que gostaria de dizer no céu. Da mesma forma que Nise da Silveira, Carl Jung e *O grito*, o Bispo do Rosário também foi tema de um [editorial](#) no *Imagens em Psiquiatria* do *American Journal of Psychiatry*, mostrando a importância mundial da arte do Bispo do Rosário.

Esse reconhecimento é muito relevante para todos nós. O Bispo do Rosário tem uma frase em que disse, parafrazeando aqui, que as pessoas com transtornos mentais são como pássaros humanos: vivem na terra, mas sempre a alguma distância do solo. É uma frase assim que traduz exatamente a arte do Bispo do Rosário, que, apesar de ter vivido entre nós, estava sempre à frente, sempre na dianteira ao traduzir todo esse seu mundo subjetivo de uma forma muito linda.

Retornando a algumas outras imagens que são clássicas em psiquiatria, este talho/escultura em madeira de Albrecht Dürer (1471-1528), obra chamada *Melancholia I* (FIGURA 13), é também capa de vários trabalhos sobre depressão. Foi capa, inclusive, do primeiro livro sobre depressão, porque esse entalhe é do século XVI, e o primeiro livro sobre o assunto é do século XVII. Mesmo hoje, em novas edições, o livro sempre traz na capa essa imagem da melancolia, que, para muitos, seria o nome correto da doença depressão, como um exemplo de sofrimento, de algo que perdeu a luminosidade.

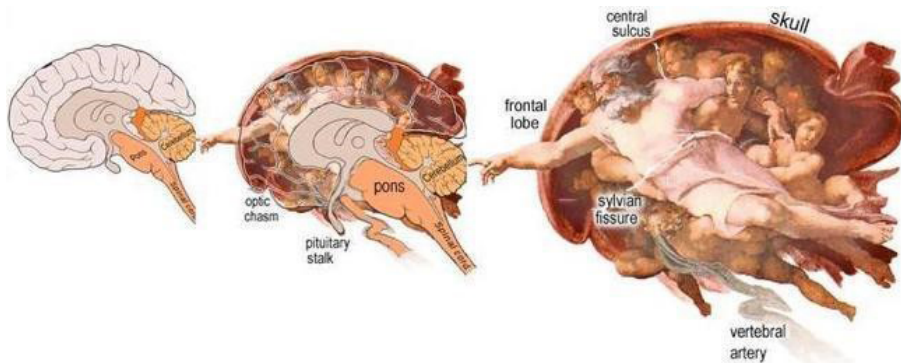
Figura 13 – *Melancholia I*, de Albrecht Dürer



Fonte: Wikipedia (c2024)

O artista Michelangelo (1475-1564) também foi considerado vítima da depressão. Não posso confirmar realmente se ele sofria de depressão ou não, mas sei que Michelangelo foi um dos grandes artistas do Renascimento e de todos os tempos. A imagem mais importante é a mais impactante de Michelangelo, patentemente *A criação de Adão*. Aqui especificamente eu selecionei uma adaptação da obra na qual aparece apenas Deus criando o homem, junto à representação de um sistema nervoso central (FIGURA 14).

Figura 14 – Adaptação de *A criação de Adão*, de Michelangelo

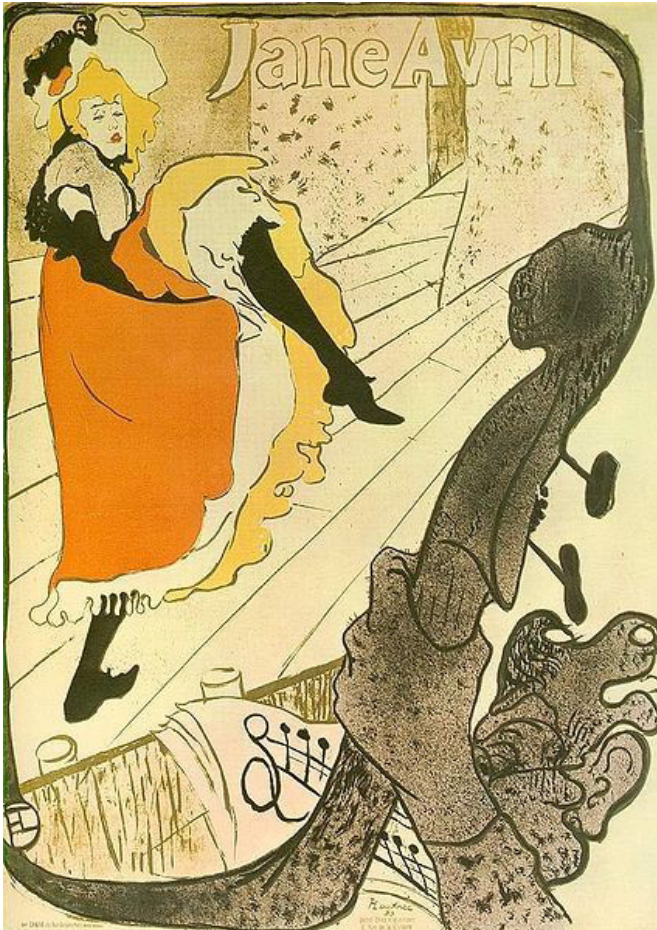


Pode-se observar aqui o cérebro na sua totalidade, inclusive com tronco cerebral. Será que Michelangelo, ao fazer Deus criando o homem, quis dizer que quem criou o homem na realidade foi o cérebro? O cérebro criou Deus, o cérebro criou o homem, o cérebro criou tudo o que imaginamos, enfim, o nosso cérebro nada mais é que um ditador que manda em todos nós e decide sempre pelo prazer. Então, essa imagem de Deus por Michelangelo, que, segundo interpretações, compara Deus a um cérebro, talvez seja uma das mais impactantes do artista. Pode ter sido uma forma de Michelangelo demonstrar para a igreja que Deus, na realidade, está dentro de nós. Deus é o nosso cérebro. O nosso cérebro, que não entende que é mortal, que ele acabará, e que isso tudo não passa de algo inteiramente ligado ao cérebro. Enfim, é uma imagem muito impactante que, hoje em dia, vem sendo muito ligada ao sistema nervoso central.

Outra imagem que gostaria de ressaltar é este pôster de Jane Avril (1868-1943). Jane Avril foi uma dançarina francesa no final do século XIX e início do século XX. Este pôster dela dançando, feito por Henri de Toulouse-Lautrec (1864-1901), foi baseado em uma fotografia da dançarina e é sempre usado em vários lugares que fazem referência à Belle Époque francesa (FIGURA 15). Jane Avril sofria de depressão,

segundo os biógrafos dela, apesar de ser dançarina e ser uma pessoa socialmente alegre.

Figura 15 – *Jane Avril*, de Henri de Toulouse-Lautrec



Fonte: Wikipedia (c2024)

Alice Neel (1900-1984), artista já mais recente, no século XX, foi uma pintora que sofreu de depressão, e fez esse quadro extremamente simbólico (FIGURA 16). É importante porque mostra que, apesar de ter um lado triste, nele se percebe a representação de uma espécie de palhaço, algo mais colorido. A depressão não permite que a pessoa veja isso, mas faz com que se mantenha padrões de comportamento como os que constam na imagem: olhar para baixo, ficar pensativa em sofrimento.

Figura 16 – *Sem título (Palhaço Triste)*, de Alice Neel



Fonte: Neel (c2024)

Gilbert Stuart (1775-1828) foi um pintor americano do século XVIII e XIX que sofria de depressão. Este quadro dele foi um autor-retrato (FIGURA 17) feito exatamente num período em que estava muito mal, e os biógrafos consideram que estava deprimido. O quadro é escuro, e ele é representado com um olhar sofrido, que transmite todo o seu sofrimento subjetivo.

Figura 17 – *Autorretrato*, de Gilbert Stuart



Fonte: Wikipedia (c2024)

Paul Gauguin (1848-1903) foi um pintor que fez várias transgressões ao longo da vida, inclusive saindo de Paris, indo morar em lugares distantes etc. Acredita-se que também sofria de depressão, e alguns dizem que poderia ser transtorno bipolar. De qualquer forma, ele fez esse autorretrato com uma cobra (FIGURA 18), sugerindo assim um enamoramento por um animal, que, naturalmente, poderia vir a lhe causar a morte.



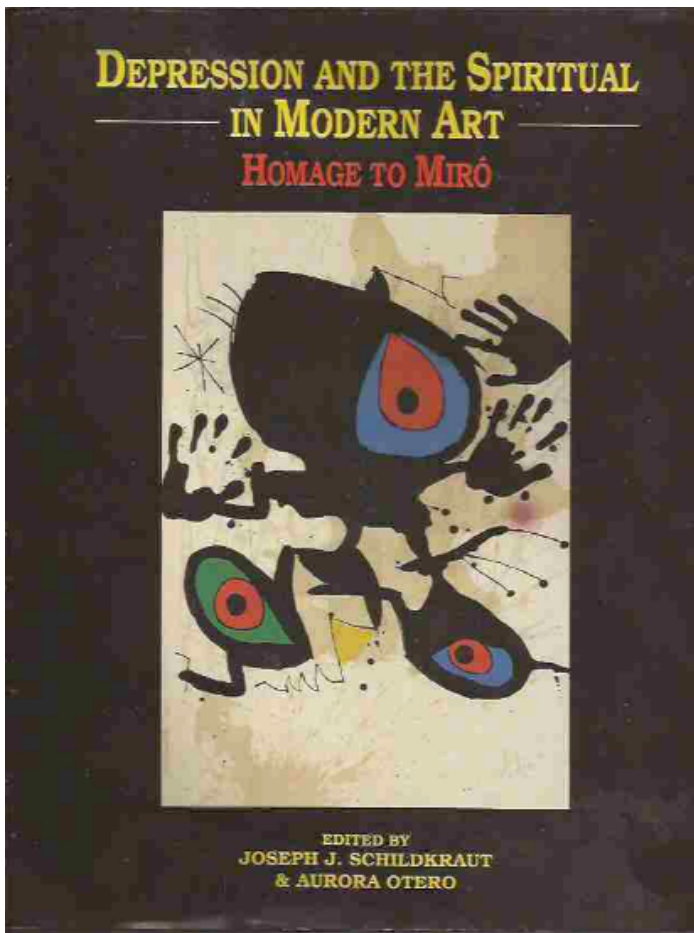
Figura 18 – *Autorretrato com auréola e cobra*, de Paul Gauguin

Fonte: Wikipedia (c2024)

A auréola que foi pintada por cima da figura fortalece a possível significação da morte iminente pela cobra. O quadro pode nos levar à interpretação de que Paul Gauguin pensava em suicídio. É algo que, claro, só Paul Gauguin poderia nos responder, mas, tendo em vista a sua biografia, a interpretação faz algum sentido.

O artista Joan Miró também teve episódios depressivos. O livro *Depression and the Spiritual in Modern Art* trata da depressão na arte moderna, a arte moderna espiritual, e é dedicado a Miró (FIGURA 19). Ele reconhecidamente sofria de depressão, tanto que neste livro as várias imagens e os vários quadros de Miró acabam traduzindo essa depressão.

Figura 19 – *Depression and the Spiritual in Modern Art*, organizado por Joseph J. Schildkraut e Aurora Otero



Como neste quadro aqui de Miró, *Mulher na frente do sol* (FIGURA 20), pode-se interpretar que essa mulher é uma mulher triste, que transmite sofrimento; e o próprio sol, que interpreto como essa bola vermelha, também não traduz tranquilidade, mas mostra um sofrimento subjetivo, um sofrimento característico da depressão.

Figura 20 – *Mulher na frente do sol*, de Joan Miró
Fonte: Wikiart (c2024)



Mais recentemente ainda na cronologia, a artista Yoko Ono (1933-) também fez uma declaração de que estava com depressão. Este pôster (FIGURA 21), que diz “A guerra acabou, se você desejar”, é uma obra importante da Yoko Ono junto ao John Lennon, sendo uma imagem fortemente reproduzida desde sua criação.

Figura 21 – *War is Over!*, de Yoko Ono e John Lennon



Para encerrar, vou falar um pouco do Instituto de Psiquiatria da UFRJ (IPUB/UFRJ), que este ano completou 84 anos. O instituto é um paraíso de árvores, um paraíso aqui no centro urbano do Rio de Janeiro, muito cobiçado pela ganância imobiliária, muito cobiçado para construir na área do campus da Praia Vermelha. Temos que preservar nosso campus. Nós brasileiros temos o hábito de destruir tudo. Passamos por uma ameaça bem forte nesses últimos anos, mas, felizmente, estamos de pé e com alguma segurança.

Porém o Instituto de Psiquiatria não é só esta imagem linda de um local repleto de árvores (FIGURA 22).

Figura 22 – Instituto de Psiquiatria – Universidade Federal do Rio de Janeiro



O Instituto de Psiquiatria tem toda uma história do motivo de estarmos ali. O Palácio Universitário da UFRJ foi o primeiro hospício da América do Sul. O hospício cresceu rapidamente e atrás do hospício criaram um Pavilhão de Observação que seria um centro de triagem. Fizemos um trabalho que foi publicado em uma revista internacional contando a história do Instituto de Psiquiatria (Mathias *et al.*, 2016). A história da psiquiatria em Botafogo precisa ser preservada e contada porque a psiquiatria da América Latina começou aqui, em Botafogo/Urca, no Palácio da Universidade Federal do Rio de Janeiro. E o instituto valoriza muito a arte, os seus artistas. Não tenho tempo para mostrar todos os quadros que estão em exposição nas paredes do Instituto de Psiquiatria, mas trouxe obras do admirável pintor Alcebiades que são símbolos do nosso instituto.

O primeiro é este quadro (FIGURA 23), que representa uma espécie de festa, com balão, aviões, barcos, pessoas festejando. É um quadro muito elogiado, fica próximo ao gabinete do Instituto de Psiquiatria. Por seu tamanho, é um painel, um quadro enorme, colorido, e que é uma arte naïf muito bela. Da mesma forma, outro quadro

do Alcebiades que também está nos corredores do Instituto de Psiquiatria mostra pessoas alegres, coloridas, em uma brincadeira de roda. Isso é algo muito significativo para nós.

Figura 23 – Obra de Alcebiades (1962)



E, por fim, escolhi para encerrar esta apresentação este quadro de um pintor desconhecido (FIGURA 24) — ao menos desconhecido para mim e para as pessoas às quais perguntei. Também presente nas paredes do Instituto de Psiquiatria, o quadro traz o resumo de tudo que eu falei, desde o inconsciente, os arquétipos — uma mistura aqui de rei, leão, animal, anjos, pessoa, o ser é todo coberto —, o inconsciente, o céu. Enfim, é um quadro que transmite vários aspectos do nosso mundo subjetivo e como isso é importante para os

pacientes, inclusive nesta arte mais inocente, naíf, demonstrando todo o sofrimento, mas também a capacidade de expressar a arte, a capacidade de expressar o seu mundo e isso auxiliar no seu tratamento, na sua melhora.

Figura 24 – Obra de pintor desconhecido



Mais uma vez, agradeço a honra de estar aqui. Muito obrigado, e parabéns, professor Adalberto Vieyra, por esta disciplina que é realmente algo importante para todos nós.

PERGUNTAS

ANA CÉLIA CASTRO:

Estou encantadíssima com esta palestra. Infelizmente, não pude estar desde o início, porque estava numa banca de uma tese, mas estou absolutamente fascinada. Realmente, imagino que haja várias exposições, e gostaria de saber exatamente de quais as exposições as obras foram obtidas, como no Museu de Imagens do Inconsciente. De quais exposições de arte saíram exatamente, nesses locais em que esses pacientes se encontram? Acho que gostaria de saber mais sobre isso. Mas foi maravilhosa. Eu não queria que terminasse, queria que a palestra continuasse, por favor, porque foi absolutamente fascinante. Muito obrigada pela sua palestra.

ANTONIO EGIDIO NARDI:

Obrigado à senhora, professora Ana Célia, pela presença, pelo comentário. No início eu dediquei esta palestra à professora Nise da Silveira porque ela foi uma pioneira no nosso país em valorizar a expressão através da arte de pacientes com transtornos mentais. E eu mostrei que, além do pioneirismo da professora, a semente que ela plantou se espalhou e se transformou em vários frutos ao longo da história. Então temos hoje “museus do inconsciente”, museus Nise da Silveira, na França, na Itália, no Japão, em vários países e em várias cidades do Brasil, inclusive aqui no Rio de Janeiro. E, da mesma forma, vários pintores famosos, como Joan Miró e Van Gogh, também traduziram seu sofrimento subjetivo no seu tratamento, através da pintura, da imagem. Então é algo que está sempre presente em nós. O Instituto de Psiquiatria da UFRJ é uma exposição permanente por todo o instituto e nos corredores de psicologia. Nas salas, exibimos quadros de pacientes, e isso é algo muito valorizado. Além do Museu de Imagens do Inconsciente, há vários museus, em Recife, em Porto Alegre. O Bispo do Rosário também, que mencionei, tem um museu dedicado a ele. Realmente essa relação entre imagem e loucura está espalhada em vários lugares aos quais podemos ter acesso.

CAIO PRINCE:

Belíssima apresentação. Eu queria fazer uma pergunta que cabe um pouco ao tema das cátedras, sobre imagens. Tem um livro, chamado *O belo autônomo*, que resgata um conceito do filósofo Alexander Gottlieb Baumgarten. Acho que vai muito ao encontro do que você falou, porque eu sempre fico na seguinte dúvida: será que a tristeza ou a melancolia, ou inclusive a ausência de sentimentos, é um fator necessário para a criatividade e para a formação de criatividade e arte? Complementando que ele falava justamente que a confusão é a mãe do erro, mas é condição *sine qua non* para se descobrir a verdade quando a natureza não efetuou o salto das trevas para as luzes, e por essa razão devemos nos ocupar da confusão, a fim de que dela não provenham erros, como os tantos que ocorrem. Até a palavra loucura, professor, não tem uma etimologia definida. Podem dizer “ah, acredito que seja do árabe, loucura”, mas não há nada definido.

ANTONIO EGIDIO NARDI:

Obrigado, Caio, pela sua colocação. Exatamente, não há nada definido e vou falar apenas o meu ponto de vista. O sofrimento

humano acaba sendo uma forma de se transformar em uma forma de ser. Para pessoas com transtornos mentais, com depressão em particular, que foi o que você mencionou, acaba sendo uma forma de expressar a depressão. Mas não significa que a depressão facilitou ou permitiu que ela se expressasse através da arte. A grande maioria das pessoas com depressão não conseguem se expressar artisticamente. Certamente Van Gogh, o Bispo do Rosário e outros que mencionei durante a apresentação, ou mesmo escritores como Virginia Woolf, por exemplo, que reconhecidamente tinha depressão, teriam sido artistas muito mais criativos se não tivessem depressão. Não existe nenhum transtorno mental, nenhum, que melhore a capacidade da pessoa de lidar com o mundo. Todo transtorno mental traz sofrimento — por isso é considerado um transtorno mental, pelo sofrimento. E alguns levam à limitação inteira da vida, como o suicídio. Outros apenas trazem uma certa limitação. Sempre houve essa tentativa de valorizar a depressão como algo que permitiria o artista se expressar melhor, mas não. A depressão faz com que algumas pessoas consigam expressar esse sofrimento, mas expressariam muito mais e de forma muito mais criativa se não tivessem a depressão.

CLÁUDIA MERMELSTEIN:

Muito interessante a palestra, muito instigante. Queria saber se a pintura tem sido usada como terapia, se é uma prática no Brasil, em instituições de psiquiatria no mundo inteiro, ou se a maioria das pinturas que você mostrou aqui são de iniciativa própria do paciente. Hoje em dia isso é mesmo estimulado como terapia, assim como a música? O IPUB participa?

ANTONIO EGIDIO NARDI:

Obrigado por essa oportunidade de mencionar que o IPUB tem um curso de graduação em musicoterapia, a música como terapia. Então, a arte no IPUB é muito valorizada e é um curso de graduação, o único curso de graduação público de musicoterapia. Isso é resultado de uma luta de muito tempo, desde o professor João Ferreira da Silva, para conseguirmos que o IPUB tenha um curso de graduação. É muito importante, na valorização do instituto, que ele não seja mais só de pós-graduação, mas de graduação também. E pela arte, pela musicoterapia. Claro que, por uma facilidade econômica, a música acaba sendo a mais utilizada. A pintura tem um custo um pouco maior, e eu acho que esse é o maior problema da pintura. Mas

nós temos terapia ocupacional, uma certa valorização da pintura, mas não tanto quanto da música. A música é a terapia mais valorizada hoje em dia na psiquiatria como um todo.

MARCIUS ALMEIDA:

Assistir à palestra, que foi magnífica, inspiradora e intrigante, pelo menos me atraiu muita curiosidade. A minha pergunta é se existe já alguma correlação — não sou da área, sou da área de bioquímica — entre a falta de arte e esses estados; em especial, vamos dizer, estados depressivos. Não sei se isso é um dos mais marcantes diferenciais da nossa vida mais cotidiana, com todas essas redes sociais etc., mas a minha impressão é que isso faz com que venhamos viver com menos arte. É óbvio também que eu sou chegado à arte, eu gosto muito, então essa é a razão da minha pergunta, aproveitando o tema.

ANTONIO EGIDIO NARDI:

Obrigado, Marcius, pela pergunta, porque sempre me dá a oportunidade de falar um pouco da importância da arte na nossa civilização. Uma das grandes diferenças do ser humano comparado a outros animais é exatamente a capacidade de simbolizar, a capacidade de produzir arte. Sabemos hoje que vários animais se comunicam etc., mas produzir arte, simbolizar, é algo do ser humano. E é claro que pode estar muito ligado ao desenvolvimento do nosso cérebro, e isso faz com que o cérebro precise se expressar de diferentes maneiras, seja através da arte, seja através, por exemplo, da vida social. Tanto a vida social quanto a arte nos dão grande prazer. Fui rápido quando falei do Michelangelo, a criação do homem, o cérebro, mas o cérebro é um órgão que quer prazer. O cérebro busca prazer e usa o resto do corpo para ter prazer. E esse prazer é em um sentido amplo — tanto o prazer na vida social, o prazer na arte, o prazer nas drogas, o prazer em várias situações. Ficou muito evidente durante a pandemia, quando paramos de ter vida social, que a vida social on-line não substitui a vida social presencial. Várias pessoas se deprimiram, porque a vida social é muito importante. E a vida social traz junto de si a arte; é comum na vida social termos música, exposições, leituras, livros. Então a arte é fundamental para a saúde mental. A pessoa que sofre de qualquer transtorno mental, seja depressão, seja qualquer outro, ao ter contato com a arte, ao conseguir se expressar, ou mesmo ver a arte, sentir a arte, escutar a arte, acaba tendo um conforto maior. Seja na musicoterapia, que eu

mencionei, seja na terapia ocupacional, na arteterapia. Então certamente todo prazer precisa de arte.

FÁTIMA ERTHAL:

Fiquei muito feliz e muito inspirada pelas imagens da palestra. E eu gostaria de salientar alguns pontos. Primeiro, o compartilhamento do nosso amor pelos campos da Praia Vermelha e pelo IPUB. Realmente é um espaço muito especial; também faço parte da pós-graduação do Instituto de Psiquiatria. Quanto à sua recomendação, acho extremamente importante continuarmos discutindo a importância de falar sobre o suicídio. Temos debatido muito isso no Instituto de Biofísica junto aos alunos. Em segundo lugar, eu queria pontuar que a imagem que o senhor mostrou de Michelangelo é uma que sempre uso nas minhas aulas de neuroimagem funcional, chamando a atenção para que havia vários quadros de Michelangelo com detalhes muito impressionantes de neuroanatomia; portanto, eu gostei demais da sua colocação sobre a ideia do cérebro criando Deus e como isso pode ser interpretado. Acho que é mais um comentário e um agradecimento por uma apresentação tão brilhante.

ANTONIO EGIDIO NARDI:

Agradeço muito, professora Fátima. Então, já que você me permite, o cérebro é responsável por tudo neste mundo, tudo. É o cérebro que coordena tudo, os nossos sentimentos, as nossas criações; inclusive, filosofando um pouco, a ideia de que podemos ter uma vida após a morte etc. vem, no meu entender, da incapacidade de o cérebro imaginar que ele “termina”. Então, o cérebro não pode conceber a ideia de fim para si próprio.

REFERÊNCIAS

ARTHUR Bispo do Rosario. *Museu Bispo do Rosário*, Rio de Janeiro, c2024. Disponível em: <https://museubispodorosario.com/arthur-bispo-do-rosario/>. Acesso em: 5 maio 2024.

BISPO do Rosario – Manto para Apresentação no céu – 30ª Bienal de SP Pinterest de Cíça Mora. *Pinterest*, [s. l.], c2024. Disponível em: <https://www.pinterest.fr/pin/603482418808706447/>. Acesso em: 5 maio 2024.

GAMWELL, L.; WELLS, R. (ed.). *Sigmund Freud and Art: His Personal Collection of Antiquities*. Binghamton: State University of New York, 1989.

MATHIAS, C.; VERÇOSA, N.; ANSELMÉ, C.; NARDI, A. E. One Hundred and Twenty Years from the Former ‘Pavilion for Clinical Observation’ to the National Lunatic Asylum, Later Institute of Psychiatry – Federal University of Rio de Janeiro. *Journal of Medical Biography*, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 376-379, Aug. 2016.

WIKIART: Visual Art Encyclopedia. [S. l.: s. n., c2024]. Disponível em: <https://www.wikiart.org/>. Acesso em: 5 May 2024.

WIKIPEDIA: the free encyclopedia. [San Francisco, CA: Wikimedia Foundation, c2024]. Disponível em: <http://wikipedia.org/>. Acesso em: 27 Apr. 2024.

AULA 9B

SONS E IMAGENS NA NARRATIVA DAS METÁFORAS MUSICAIS

Palestrante: Ronal Silveira (*Escola de Música/UFRJ*)

(*Transcrição: Pedro Barbosa*)

ADALBERTO VIEYRA:

O professor Ronal Silveira é diretor da Escola de Música da UFRJ e faz parte descendente da escola de Arnaldo Estrella e Magda Tagliaferro, da qual eu gostaria de lembrar, até porque eu os ouvi muito no passado. Ele é o neto dessa geração, um brilhante neto, um excelente pianista e realmente uma figura que abrilhantará esta noite com a sua conferência sobre sons e imagens na narrativa das metáforas musicais. O título desta conferência encontra raízes na tese de doutorado do professor Ronal Silveira. Certamente, ele nos emocionará com sua conferência, proferida de casa, para ser acompanhada ao piano.

RONAL SILVEIRA:

Obrigado, professor Adalberto. É um verdadeiro prazer. Eu estava ansioso nesses últimos meses para que este dia chegasse. É um orgulho fazer parte desta universidade tão plural, tão importante, tão transformadora. Eu me encho de orgulho, e eu espero estar à altura das palavras tão gentis do professor Adalberto. Espero contribuir também de alguma forma com este movimento, com esta série, com estas cátedras, que são uma das coisas positivas que pudemos tirar dessa situação tão terrível que a humanidade passou nestes últimos dois anos. Não vamos nem precisar entrar nesse assunto. De qualquer maneira, tenho a alternativa de estar agora em minha casa falando de uma coisa que me motiva muito, e de poder falar com colegas, professores e o público também, que está on-line e que

vai ser multiplicado ao longo dos meses, graças à possibilidade de estar onipresente, de certa forma, por meio desta modalidade. Então agradeço muito a oportunidade; agradeço a gentileza e o apoio de toda a coordenação desse projeto tão maravilhoso.

Farei minha exposição de maneira quase livre. Na verdade, trouxe aqui algumas lâminas para mostrar e algumas coisas tocarei ao piano para exemplificar. Vou mostrar algumas partituras, mas não de uma maneira “para músicos”, no sentido de que aplique uma linguagem muito voltada aos músicos. E aí eu me recordo do professor Nardi falando sobre a questão do curso de musicoterapia. Costumo dizer que puxamos a sardinha para a Escola de Música, dizemos que a musicoterapia é o 28º curso da Escola de Música. Mas claro que não, né? Nós somos parte do curso que envolve cinco unidades, e fazemos muita força para que ele se coloque cada vez mais relevante, mais presente, porque é uma área do conhecimento e uma área do atendimento que já demonstra eficácia e eficiência há muito tempo.

O título desta pequena palestra, “Sons e imagens na narrativa das metáforas musicais”, está fundamentado numa coisa que é muito comum ao músico, e ao artista de modo geral. Depois eu entendi, depois do meu trabalho de doutorado, defendido em 2012, que é muito comum no cotidiano das pessoas, mas é um dos elementos mais importantes como condutor de ideias e informações no mundo da música.

Eu apresento, inicialmente, esta partitura, que é um pedaço de uma obra muito rara e que é outro grande tesouro que nós temos na UFRJ — é a partitura original do Hino Nacional Brasileiro, de Francisco Manuel da Silva. Ela se encontra sob a guarda da Biblioteca Alberto Nepomuceno, da Escola de Música, assim como outros hinos pátrios, que, por uma questão de acordos e necessidade, até para poder demonstrar e proteger o patrimônio, saíram da Escola de Música e foram ao Palácio da Liberdade, em Minas Gerais, em meados de agosto, ou de julho, com uma parceria da qual a contrapartida foi o restauro integral desses documentos. Agora estão expostos em Brasília, no Palácio do Planalto.

Apresento esta partitura aqui porque ela tem grande força representativa, especialmente quando eu lembro a emoção que foi vê-la sair da Escola de Música pela primeira vez em muitas décadas. Eu não tenho registro de quando ela saiu, quando foi lá depositada pela primeira vez. Não há esse registro. E eu me lembro muito bem que,

quando nós fizemos uma apresentação com uma banda marcial da Polícia Militar, a emoção dos músicos tocando com a presença do documento no palco foi muito forte, a ponto de levar alguns às lágrimas. Com isso, notamos a força que um símbolo tem, e como isso de certa forma também reforça a imaginação e faz com que as pessoas possam compartilhar alguns ideais, inclusive de pertencimento.

Então eu vou falar sobre metáfora, vou falar sobre analogia, símbolos, e, evidentemente, todas essas coisas são *linkadas* pela imaginação. Preciso fazer algumas conceituações aqui. Inicialmente e do ponto de vista da linguística, a metáfora é uma figura de linguagem que consiste na alteração do sentido de uma palavra ou expressão pelo acréscimo de um segundo significado; é também concebida como uma transferência de significados. Na *Poética*, Aristóteles (1999, p. 63) diz “a metáfora é a *transferência* do nome de uma coisa para outra, ou do gênero para a espécie, ou da espécie para o gênero, ou de uma espécie para outra, ou por analogia”. Também Silveira (2012) aponta que a metáfora é, portanto, um instrumento linguístico, e dentro dessa ciência assume categorias distintas de acordo com a sua utilização.

Com o passar do tempo, as questões de natureza linguística se tornaram secundárias, passando o foco da semântica para a cognição. Segundo Vereza (2007), o paradigma cognitivista do estudo da metáfora passa a ser primeiramente como figura de pensamento e não apenas de linguagem. Assim, continua essa autora, mais recentemente, vários teóricos vêm destacando a dimensão discursiva da metáfora, propondo uma articulação entre discurso e cognição. A metáfora passa a ser abordada neste paradigma como parte de um sistema tanto da dimensão do pensamento quanto da linguagem. Na verdade, sempre foi assim, começamos a perceber outros níveis de realidade.

Nas últimas décadas, o número de publicações e pesquisa sobre metáfora aumentou consideravelmente. Dois dos pesquisadores mais importantes são George Lakoff (1941-) e Mark Johnson (1949-), que, com a publicação em 1980 do livro *Metaphors We Live By*, mostram a “onipresença da metáfora até mesmo no discurso cotidiano”, e “introduzem a sua revolucionária tese de que a metáfora não seria somente uma figura de linguagem, mas sim uma figura de pensamento, que subjaz não somente à linguagem, como também a nossas ações” (Vereza, 2007, p. 489). Assim, as metáforas dessa natureza surgem como um processo para se compreender e legitimar

social, cognitiva e linguisticamente um domínio de natureza abstrata a partir de outros domínios. Essa teoria ficou conhecida como teoria da metáfora conceitual.

Bom, passada essa tentativa bastante breve de definir o que vem a ser a metáfora e como o entendimento do termo vai sendo atribuído a outras naturezas, na realidade, o nosso hábito de nomear, identificar ou classificar qualquer coisa ou uma situação tão viva como a língua ou a linguagem é sempre uma tentativa frustrada, porque todas as coisas são ao mesmo tempo.

Mas eu vou me valer também de um artifício aqui para tentar explicar algumas coisas de maneira muito simples — no sentido de não haver necessidade do aprofundamento de alguns conceitos que explicariam a música. O primeiro deles é a música, porque, quando pensamos numa certa explicação do mito grego, por exemplo, “música” ou “mousikē” é o ato ou a ação das musas. Encontramos este tipo de definição com alguma frequência: “Música é a arte das musas”. Do ponto de vista da origem, de como surge essa explicação de música dentro do mito grego, as musas são as nove filhas do casamento de Zeus, que havia vencido o pai Cronos, e, ao vencê-lo, ele se coloca no estado de Deus maior dentro do panteão, estabelecendo uma nova relação e organização de todo o mundo e todas as coisas. Ele se casa, e uma das esposas é a deusa Mnemósine, que é a personificação da memória. Dessa junção nascem as nove musas, portanto elas nascem com a função, com a natureza de cantar, ou seja, de comunicar os feitos de um mundo completamente organizado, ou reorganizado, a partir da memória.

Quando imaginamos, então, que a música é na verdade o poder de narrativa, as coisas começam a fazer um pouco mais de sentido. É uma explicação mitológica que faz bastante sentido. O nome do elemento do ritmo vem de *rhythmos*, do grego, que quer dizer, de maneira simples, “forma”. Quando dizemos que ritmo é forma, é uma qualidade diferente de forma, porque a gente não fala *rhythmos*. Eu não estudo grego, mas estudei o suficiente para a minha dissertação de mestrado. Ao falar de *rhythmos* de alguma coisa, falamos da forma de alguma coisa que está em movimento, e não de uma forma estática. Não posso falar, então, de *rhythmos* de uma cadeira, mas eu posso falar de *rhythmos* de uma música, porque é uma forma, é um acontecimento em movimento, é uma constante. Enfim, de maneira mais simples, o ritmo nada mais seria do que a nossa capacidade de perceber pulsações. Eu estabeleço então algum ritmo na minha fala; as

ondas do mar têm um ritmo mais ou menos regular; o barulho de uma sirene tem um determinado ritmo que pode ser reproduzido; e assim por diante.

No caso da melodia, como um dos elementos mais importantes da música, ela tem a capacidade de expressar — talvez justamente junto ao ritmo — o segundo elemento mais humano de todos, porque dentro de uma música está a capacidade de falar ou mesmo cantar. Então, quando se ouve uma música, e quando se fala em melodia, temos a nossa capacidade de reconhecer isso aqui [SOM DE PIANO], a nossa capacidade de reproduzir ou identificar uma melodia, seja ela cantável ou não, conhecida ou não. É esta nota, esta altura que é reproduzida uma após a outra, mas uma de cada vez. A melodia é diferente do conceito que chamamos, por exemplo, de harmonia, que é quando várias notas são ouvidas ao mesmo tempo.

Eu tenho uma sonoridade aqui de um acorde menor, que tem uma característica e passa um tipo de sensação que é diferente deste [SOM DE PIANO], que é um acorde maior. Então, quando eu tenho uma melodia, eu posso pensar, por exemplo, em Chopin, com a harmonia da mão esquerda.

Então, aqui no piano, estou fazendo a melodia com a mão direita e a harmonia com a mão esquerda. E ainda há um outro elemento, que é o timbre. O timbre é justamente aquela qualidade sonora que faz com que consigamos identificar uma coisa diferente da outra. Por exemplo, o timbre da minha voz é diferente do timbre de voz da minha esposa. O timbre do piano é diferente do timbre de um violoncelo. Então, eu posso cantar as mesmas coisas que minha esposa canta, o violoncelo pode tocar a mesma melodia que um piano toca, mas são timbres diferentes.

Com essa explicação, básica, ainda, mas suficiente para o que precisamos, eu avanço um pouquinho. Falei já sobre ritmo, melodia, harmonia e timbre. E aí se apresenta, já que este é o centro da nossa conversa, a questão das metáforas musicais, e o que vem a ser isso dentro desse universo sonoro e organizado, identificável, criativo.

Começo então fazendo uma pequena citação também da minha tese, que é, digamos, mais para especialistas, mas vocês vão entender já por que esta situação está aqui. Eu trabalhei em cima de uma obra chamada *Aurora para piano e orquestra*, do compositor José Antônio de Almeida Prado (1943-2010), excelente compositor que escreveu uma obra para piano e orquestra, com características da

música dos séculos XX e XXI, com muitas dissonâncias. No prefácio, ele descreve o que vem a ser a música, dizendo simplesmente o seguinte: esta música para piano e orquestra é uma descrição de um dia que está nascendo, da escuridão para o nascer do dia, até que o Sol atinja o seu ponto mais alto no meio-dia. É isso que ocorre na música. Quando ouvimos a música pela primeira vez, percebemos de fato que existe uma diferença sonora muito grande ao longo dos seus vários minutos. Toda a orquestra começa com sons quase que inaudíveis, muito suaves, mas muito estranhos, muito escuros, como costumamos dizer, e de repente vai assumindo uma outra cor, uma outra percepção, chegando a sons muito agudos. Do ponto de vista de um gráfico, que é a própria partitura, percebe-se que há uma subida, como se as notas todas fossem ficando cada vez mais agudas.

Ainda vou abordar um pouco desses conceitos também. Elas vão ficando cada vez mais agudas, e, com isso, alcança-se tal resultado. Só que, para minha surpresa, quando eu realmente tive a partitura em mãos, graças à Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), que detém a partitura original, eu descobri uma coisa muito interessante pesquisando e fazendo a análise: apenas no compasso 37 e no meio de toda aquela confusão sonora quase não identificável do som — parece uma trilha de filme —, a clarineta apresenta pela primeira vez, depois de milhares de notas que foram tocadas, a nota sol. Isso é algo que, do ponto de vista da escuta, não faz muita diferença. Mas existe aí embutida certamente uma intenção, um símbolo na cabeça do compositor, de quando aquela transformação começa a acontecer, com o Sol saindo e aparecendo pela primeira vez na partitura. Mesmo em seu registro grave, esse instrumento consegue destacar o seu timbre acima da massa sonora, realçando a metáfora do primeiro raio de Sol da manhã (Silveira, 2012, p. 68).

E com isso eu mostro a partitura, para vocês entenderem o que acontece neste esquema gráfico. Eu tenho nove naipes de instrumentos, o que significa que cada instrumento está tocando numa linha e todos tocam ao mesmo tempo. A leitura é feita como um gráfico, em que todas essas linhas correm ao mesmo tempo. Então, por exemplo, esta notinha aqui que é tocada pelo fagote está sendo tocada ao mesmo tempo que esta nota ao piano, e assim por diante. Aqui, circulado, está um sol. E curiosamente, este sol vem de uma nota mais grave, que é este fá. Então, quando ocorre este efeito, ocorre na verdade isso [SOM DE PIANO]. Esse simples ato e a ideia de que está subindo, se olharmos esse gráfico percebemos, embora

seja um manuscrito, que há uma relação de altura. Esta nota é um pouco mais alta, portanto ela é um pouco mais aguda. Com isso, ele representa este efeito, que é muito particular. Não é possível ouvir isso com essa clareza até que a nossa audição seja enviada para lá; e, ao mesmo tempo, menos de um segundo depois, a viola toca a mesmíssima nota, portanto começando a reforçar a presença da nota sol.

Uma das coisas mais interessantes relacionada à nossa capacidade de fazer, ouvir e entender música está ligada justamente à capacidade de criar relações, ou seja, de fazer analogias. Eu trouxe alguns exemplos aqui que depois vou demonstrar ao piano. O que vocês vão ouvir e ver agora por um link do YouTube é a obra *Scheherazade*, de Nikolai Rimsky-Korsakov (1844-1908). Rimsky-Korsakov foi um grande compositor e professor russo, e escreveu essa obra baseada nas *Mil e uma noites*. É, portanto, um poema sinfônico, o que significa que é uma pintura musical que busca expressar algum acontecimento, alguns estados de espírito. Observaremos como, a partir de alguns elementos musicais, a música toma a forma de uma ideia. Isso ocorre através de alguns elementos que à primeira vista podem passar despercebidos, mas depois da indicação ficam muito claros.

Ouviremos um trecho do primeiro movimento. A suíte se divide em quatro partes, e ouviremos “O mar e o navio de Simbad”. Logo no início, percebemos uma sonoridade muito densa, suntuosa, e depois um violino solo. Esse violino vai utilizar algumas notas de escala que já vão nos colocar dentro de um contexto sonoro que lembra muito a música árabe, e com isso começamos a entrar nessa atmosfera. Em seguida, a orquestra inicia um tipo de acompanhamento, e depois entra o tema principal, que representa o próprio navio. Então o que ouviremos é o navio de Simbad navegando.

[PERFORMANCE DA ORQUESTRA FILARMÔNICA DE VIENA]

Vou explicar um pouco agora o que vocês ouviram e como isso se processa dentro da partitura. Esta partitura é, mesmo para um leigo, ou seja, para alguém que não está habituado a ler música, bem mais simples do que parece. Essencialmente, o que temos nesse movimento da peça chamado “O navio de Simbad” é a representação do navio e do movimento do mar. Essas notas aqui, que se representam em bolas que sobem e descem, figuram o movimento do mar. Eu vou tocar daqui a pouco no piano e vocês verão como esse efeito aparece.

Depois do solo de violino, quando há essa ambientação árabe, o que os violoncelos fazem é isso: [SOM DE PIANO].

Esse movimento de vai e vem representa justamente a água, ou seja, o balanço do mar. A melodia, que é muito séria, muito intensa, representa a grandiosidade do navio.

Então, tudo junto, soa assim [SOM DE PIANO]. Ouviremos uns oito minutos de uma orquestração incrível, que realmente gruda essa ideia quase como se fosse um chiclete; porém a sensação que se tem realmente é de uma movimentação, quase um balé, com essas notas mais graves da orquestra e com esse tema do navio, que vai se alternar com outros temas que vão aparecer depois, fazendo menção à princesa, enfim. Há uma história a ser contada; não do ponto de vista cronológico, porque um poema sinfônico não busca isso exatamente, mas busca mostrar imagens que possam representar aqueles significados.

Apresentando de novo agora, há uma outra “imagem” muito forte que está no inconsciente coletivo e em qualquer lugar do mundo, em qualquer filme ou desenho animado. Uma obra de um genial compositor polonês, o famoso Frédéric François Chopin (1810-1849), é de notável força representativa. No terceiro movimento da sua *Sonata n.º 2*, há a marcha fúnebre, que representa, pela sensação da música, uma marcha constante, lenta; pesada, pela região em que ela é escrita no instrumento; uma sensação escura, de amargura; e, pela melodia repetitiva, muito marcada, há a ideia de um lamento; ou seja, existem técnicas que são representadas na escrita que reproduzem um tipo de sonoridade específica para realizar tais efeitos.

Então, a marcha é essa [SOM DE PIANO], e a melodia [SOM DE PIANO]. Depois, acrescenta-se a ideia de um coral. Com isso, é estabelecido um padrão de escuta que facilmente se associa a muitos outros elementos. Chega um determinado momento em que começamos a perceber essas informações sem nos darmos conta. Há uma ideia, cada vez mais aceita na pesquisa, de que boa parte do que absorvemos como cultura, como nossa vivência cotidiana, o país em que habitamos, a família em que crescemos, os amigos, enfim, tudo aquilo que se relaciona ao nosso modo de estar no mundo, está tão impregnado em nós que já se apresenta de uma maneira subliminar. Então, há várias teorias que explicam como conseguimos, quase em qualquer lugar do mundo, ter a mesma ideia sobre um determinado fenômeno sonoro. Há muitas teorias sobre o assunto, mas

o interessante é que, como professor de música — e pianista que eu sou, mas especialmente como professor —, todos esses elementos da linguagem que utilizamos para tentar representar a partir de uma coisa outra coisa, por analogia, ou seja, metáfora, fortalece justamente a nossa comunicação expressiva com o aluno e com o público.

Evidentemente, há uma grande vantagem quando dispomos de um roteiro para poder ouvir essa música, que é o que a ópera faz. Quando temos o conhecimento de um libreto — ou seja, da história de uma ópera e da sua sonoridade —, os atores dançando, cantando, todo o gestual, toda a informação será passada de maneira muito mais intensa e clara. Mas, no caso da música sinfônica, da música instrumental solo ou música de câmara, essa informação nem sempre existe.

Agora, ela tem uma força representativa também muito intensa. O que é interessante notar é que não obrigatoriamente as pessoas devem ter a mesma ideia sobre uma determinada música. Os elementos que são utilizados para poder causar alguns efeitos são quase universais. Mas a nossa maneira de perceber a música também está muito ligada ao nosso estado de espírito.

Eu vou dar mais alguns exemplos. Tenho alguns colegas que provavelmente me criticaram — estou brincando, evidentemente — por eu apresentar isso de forma muito mais simples; mas ela é simples e verdadeira. Quando eu toco esta melodia [SOM DE PIANO] e pergunto a alguém o que essa música significa, a pessoa, quer ela conheça ou não, dirá, entre outras coisas, que é uma melodia triste. A pessoa não saberá explicar por que ela é triste; especialmente quem não é músico não saberá explicar. E até muitos músicos não sabem explicar por que isso nos remete a uma sensação de tristeza, ou pelo menos de uma certa apatia emocional; algum tipo de estado de espírito, enfim, que é contrário à alegria. Não necessariamente à tristeza profunda. Mas, nesta música, já há alguns elementos em que a melodia e a harmonia contribuem para que essa sensação seja quase universal.

A melodia, neste caso, tem um ritmo; está associada ao ritmo que eu acabei de tocar na marcha fúnebre. É praticamente o mesmo. Além disso, a harmonia, ou seja, toda a ambiência sonora que está além da melodia, tem um caráter muito sombrio, por estar numa tonalidade que chamamos de tonalidade menor. Com isso, a

sensação da linha descendente da melodia como que remete o ouvinte ao próprio ventre, sugerindo uma relação direta a fechar-se.

Tudo aquilo que é muito expansivo, muito aberto, do ponto de vista melódico, que sobe e desce, remete muito ao movimento de dança, e por isso é expansivo fisicamente. Agora, quando uma melodia caminha continuamente para baixo, dentro de uma pulsação que lembra muito a ideia de caminhar lentamente, ela remete à tristeza.

Eu trouxe um outro exemplo pelo qual vou passar bastante rápido. Trata-se de uma das obras mais famosas do compositor italiano Antonio Vivaldi (1678-1741), que é o concerto “O inverno” de *As quatro estações*. A música barroca surge na história da música juntamente à ópera, e nas cameratas italianas, Fiorentina. Naquele momento da transição do século XVI para o século XVII, os músicos, que eram pensadores — porque havia uma relação direta entre música e pensamento —, imaginavam como deveria ser a música do teatro grego ou as músicas dos gregos. Há registros de cartas trocadas com cameratas da época, e chegaram a uma conclusão muito interessante: eles acreditavam que a música, no teatro grego, certamente acompanhava o significado das palavras. Isso é um elemento muito forte dentro da ópera, porque a música na ópera é exatamente a ideia de acompanhar o que está sendo cantado, mas reforçar a emoção daquilo que está sendo dito na letra. Então a música barroca nasce quando nasce a ópera.

Vivaldi é um compositor também barroco. Ouviremos um trecho agora não de uma ópera, mas de uma música também programática, ou seja, que tem uma ideia por trás, anotada pelo próprio compositor na partitura, que remete à seguinte percepção: quando a música começa — e ela é feita por trinados, por notas muito rápidas e muito dissonantes —, ela representa o ato do frio, ou alguém que está com muito frio, tremendo de frio. Em seguida, o violino solo, tocando muito rápido, virtuosisticamente, representa, segundo o próprio compositor, a ideia de um vento cortante que agride quem está andando na neve e sentindo o efeito do frio. Então é o vento passando e cortando a pele. Logo a seguir, a música começa a ficar cada vez mais compassada, e Vivaldi escreve “correr apoiando um pé de cada vez”, ou seja, batendo forte o pé e se movimentando para se aquecer. Por último, quando toda a orquestra entra, ele diz “dentes batendo no frio extremo”. Esta é uma música programática, na qual ele se utiliza de alguns elementos teoricamente bastante simples, embora seja uma música difícil, de alta virtuosidade. Os

instrumentistas precisam ser realmente muito bons para conseguirem tocá-la, mas o efeito da música em si remete a poder criar essa ideia do frio ou de alguém que está sofrendo dele.

Então esse é o programa dele: quando começa, representa o frio com as notas muito rápidas, em trinados e sonantes. Depois, o violino solo, que remete à ideia do vento que passa cortando, o movimento cada vez mais rápido. A orquestra entrando traz a ideia de correr do frio, e, por último, quando toda a orquestra está junto, remete-se aos dentes batendo pelo frio extremo.

[[PERFORMANCE POR VOICES OF MUSIC E CYNTHIA MILLER FREIVOGEL](#)]

Eu acho que acaba sendo realmente muito mais interessante quando temos a ideia programática em mente. Isso, porém, não é uma condição *sine qua non* para que venhamos aproveitar a música, até porque a música é aberta em suas possibilidades. Como eu disse há pouco, uma mesma obra pode significar coisas diferentes para pessoas diferentes ou para a mesma pessoa, dependendo do seu estado de espírito.

Há mais um exemplo ainda que eu gostaria de mostrar. Este eu acho um dos mais interessantes, por sua força representativa. Ouviremos “Der Erlkönig”, um poema de Goethe e música de Franz Schubert (1797-1828). Eu não vou explicar o que significa, por enquanto.

[[PERFORMANCE POR DIETRICH FISCHER-DIESKAU E GERALD MOORE](#)]

A menos que se fale alemão, o alemão do Fischer-Dieskau é fantástico. Ele é um dos maiores cantores do século XX e está contando a história do rei dos elfos. “Der Erlkönig” conta a história de um pai que está cavalgando na noite com o filho em seus braços, e o filho está tendo visões. Essa obra é genial porque a música representa a cavalgada do cavalo, a ansiedade, a corrida cada vez mais rápida, ameaçadora. Vários climas são criados, e, por incrível que pareça, o cantor, o que ficará muito claro agora, está interpretando quatro personagens diferentes: o narrador da história, descrevendo a cena do pai cavalgando na noite; o filho, dizendo ao pai que está vendo o Erlkönig, o rei dos elfos; o pai, pedindo que ele não se apavore, que são apenas imagens, sombras, brumas, o vento... O filho diz, cada vez mais desesperado, que está sendo ameaçado por Erlkönig. E o rei dos elfos aparece três ou quatro vezes ao longo da música, inicialmente de maneira muito sedutora, muito brincalhona, oferecendo coisas para o filho;

vai mostrar às filhas dele, que vão dançar, que vão alimentá-lo, que vão tratá-lo muito bem; e o filho vai ficando cada vez com mais medo. Até o momento em que o pai perde a paciência e o ameaça. No final da história, quando finalmente o menino e o pai chegam ao castelo, aonde eles teriam que ir, o menino está morto. Tudo isso é contado em torno de cinco minutos. Veremos um pequeno trecho agora da mesma obra, mas mostrada desta vez por uma animação.

[ANIMAÇÃO]

Acabamos de ver agora um trecho um pouco mais avançado em movimento da história. Na letra, no poema, a criança está no braço do pai; na animação aparece um pouco diferente, mas o conceito acaba sendo o mesmo. Então há o narrador, o início da história, o pai, o filho que fala que está sendo ameaçado, e Erlkönig, que aparece primeiro muito sedutor. O filho se desespera cada vez mais e o pai diz que não é nada, até o momento em que Erlkönig o ameaça e, enfim, ele conclui. Quando se chega ao destino, a criança já está morta.

O que eu acho de Erlkönig, e uma coisa muito interessante com relação à música que acompanha, é que ela também, assim como uma ópera, reforça o sentido das palavras: quando Erlkönig está sendo sedutor, está chamando para dar doces, presentes e tudo mais, a música é muito leve, divertida, é quase uma valsa, uma brincadeira. Esse constante estado de ânimo alternado ao longo de cinco minutos é o que torna a música muito impressionante, de um poder narrativo muito forte. Existe uma versão para piano solo de Franz Liszt (1811-1886), e, quando ouvimos essa obra com alguns pianistas, quando ouvimos esta peça solo, ouvimos claramente os quatro personagens dialogando. Isso é muito interessante.

[NOVAMENTE A PERFORMANCE POR DIETRICH
FISCHER-DIESKAU E GERALD MOORE]

Esse para mim é um dos maiores exemplos da força representativa da música. Evidentemente, quando temos a letra à mão, a tradução, ou falamos alemão, as coisas são mais claras. Mas a força representativa da música em si não se perde por falta da letra, que é o que acontece quando ouvimos o solo de piano. Muito obrigado.

PERGUNTAS

MARCIUS ALMEIDA:

Parabéns. Eu fiquei bem curioso, conforme você foi desenvolvendo sua apresentação. Adorei, obviamente, o quanto essas metáforas musicais — aí eu posso começar a pensar em representações de tristeza, representações de alegria, representações de algum clima, alguma situação — conseguem efetivamente transpassar a barreira cultural. Então eu fiquei pensando: o quanto uma música oriental realmente vai conseguir passar essas expressões, essas metáforas, para, por exemplo, alguém aqui no Ocidente, na América do Sul? Obrigado.

RONAL SILVEIRA:

Obrigado. Na realidade, essas fronteiras são cada vez mais sutis. Porque a globalização está fazendo com que percamos referências particulares de culturas especiais. Mas, antes de entrar um pouco mais nesse assunto, Marcius, deixa eu lhe contar uma experiência muito interessante da qual eu fiz parte ainda no meu trabalho de doutorado, que foi a de experimentar uma narrativa musical contrária à imagem descrita. Então, por exemplo, se removemos o som de uma cena que é aparentemente triste por alguma razão e colocamos uma música leve, ela passa uma ideia caricata, passa a ser engraçado. O contrário também funciona, não tão bem quanto, mas também funciona. Então, se você tem uma cena alegre e uma música um pouco pesada, você fica ansioso, pensando que alguma coisa estranha vai acontecer, que não está normal. Então, a força representativa da música está diretamente conectada com a experiência, que é cultural, que temos dela.

Então, sim, evidentemente, há situações em que vamos entender, assim como o tom da própria voz. Por exemplo, numa conversa em língua estrangeira, quase sempre conseguimos perceber — mesmo que não conheçamos a língua, os fonemas, nada — quem está perguntando e quem está respondendo. Por quê? Porque isso é uma situação universal. Assim como as expressões faciais. Então, existe muito de subliminar ou de subconsciente, ou não sei que outras várias explicações são possíveis, e existem várias, várias correntes sobre o assunto. O fato é que a música é uma linguagem não necessariamente do ponto de vista descritivo, como é a própria língua, mas ela é uma linguagem no sentido de comunicar muitas emoções em comum; isso é certo. E cada vez mais, graças ao cinema, graças

à internet também, enfim; graças a esses símbolos, essas grandes corporações que cada vez mais dominam a cena.

MANOEL LUIS COSTA:

Parabéns, Ronal, excelente apresentação. Eu estava tentando juntar um pouco das duas questões, e como, na primeira apresentação, falou-se tanto da representação pictórica de uma imagem da loucura e de vários estágios da mente, eu fiquei pensando se existe algum paralelo. Eu entendo a musicoterapia como uma forma de tratar um transtorno mental usando a música, mas eu fico pensando se existe uma música de um estado mental alterado: se existe a música da loucura, como existe o quadro da loucura, e tantas representações pictóricas de estados alterados. Será que existem exemplos disso? A gente consegue ouvir, distinguir, perceber e apreciar essa música?

RONAL SILVEIRA:

Obrigado pela pergunta. Existem exemplos de quase todos os estados de espírito, só que não são tão facilmente identificáveis, porque estão diretamente relacionados ao aspecto pessoal, à cultura pessoal, à experiência pessoal. Eu vou lhe dar um exemplo que não tem a ver com a loucura, mas que também é pictórico, por exemplo: a *Divina comédia*, de Dante Alighieri, que tem uma importância muito grande para a formação italiana, da língua italiana. Nela temos o trânsito do poeta que vai do inferno ao purgatório e até o paraíso. Existe uma obra de Liszt, compositor húngaro também do século XIX, contemporâneo de Chopin e Schumann e outros grandes compositores do período romântico, que retrata exatamente esse aspecto demoníaco na obra de Dante Alighieri. Ele faz isso a partir de um símbolo da Idade Média, um intervalo sonoro considerado diabólico à época, que era proibido de ser cantado. É o chamado *diabolus in musica*, que nada mais é do que esse som aqui [SOM DE PIANO], ou seja, ele é muito dissonante. Agora, é um dissonante que, quando ouvimos desta forma, soa estranho, mas dentro de um acorde soa assim [SOM DE PIANO]. Este som que eu estou fazendo agora de certa forma mascara um pouco essa dissonância. Eu estou usando esse exemplo porque, a partir desse intervalo, Liszt escreve com notas descendentes a descida de Dante para o inferno. E com isso ele descreve este som [SOM DE PIANO], que, mesmo que numa determinada época da história da música tenha sido proibido, com o passar do tempo se tornou praticamente necessário, porque ele causa o que chamamos de dissonância. A dissonância pede uma

resolução, ou seja, um estado de tranquilidade, que é este [SOM DE PIANO].

Então, toda vez que eu tenho uma sonoridade assim [SOM DE PIANO], eu tenho a sensação, a necessidade de ouvir algo assim [SOM DE PIANO]. É uma tensão que é seguida da sua resolução, ou seja, é um jogo, né? É uma dinâmica entre algo que é agressivo, tenso, que se segue de uma coisa que temporariamente ou por muito tempo vai causar esse estado de estabilidade. Se, na Idade Média, o *diabolus in musica* leva esse nome porque era um som proibido, mas já desde o século XVIII passa a ser um som necessário para que tenhamos parte da própria ideia musical que compõe a cultura de lá para cá, eu imagino que o que dá a ideia de uma loucura também possa ter mudado com o passar do tempo. Vou dar outros exemplos. Quando estamos, por exemplo, num cinema, e vem uma imagem aberta, de um plano muito aberto, de um acontecimento muito importante, um ápice qualquer, geralmente a música faz algo como... [SOM DE PIANO]. A melodia sobe muito, porque dá justamente essa ideia dessa expansão, né? E o público respira pela arte, ele absorve o que está vendo e ouvindo ao mesmo tempo. Então, fazendo o contrário disso, eu posso imaginar. Existem poucos exemplos que eu conheça propriamente da loucura na música, mas, conhecendo um pouco da musicoterapia, tendo inclusive entrevistado musicoterapeutas, geralmente a ideia da loucura, dessa sensação instável, organicamente alterada, se reflete na dissonância, ou seja, em sons como esse [SOM DE PIANO]. Só que exatamente esse tipo de som também serve para fazer coisas que não são tão ligadas diretamente à loucura, ou seja, o material sonoro é moldado sob vários aspectos, com várias técnicas, para que a soma da dissonância, ou seja, da harmonia, da melodia estranha, do tipo de orquestração, remeta a algum aspecto de loucura. Basta ver, por exemplo, *Psicose*, de Alfred Hitchcock, que faz alguma coisa do tipo [SOM DE PIANO]. Quer dizer, é um acúmulo de dissonância que vai causando cada vez mais esse estado alterado. Então eu acho que vai um pouco por essa linha, mas não necessariamente um acorde dissonante vai representar o demoníaco ou um estado de loucura.

REFERÊNCIAS

ARISTÓTELES. *Poética: os pensadores*. São Paulo: Abril, 1999.

SILVEIRA, Ronal. *Aurora para piano e orquestra de Almeida Prado e a metáfora do amanhecer*. 2012. Tese (Doutorado em Música) – Programa de Pós-Graduação em Música, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

VEREZA, Solange Coelho. *Metáfora e argumentação: uma abordagem cognitivo-discursiva*. *Linguagem em (Dis)curso*, Tubarão, v. 7, n. 3, p. 487-506, set./dez. 2007.

AULA 10A

PINTURA E AS IMAGENS: CONEXÕES E AFETIVIDADES ATRAVÉS DO CAMPO POÉTICO

**Palestrantes: Martha Werneck
e Lício Bossolan**

*(Departamento Artes Base/Setor Pintura
Escola de Belas Artes/UFRJ)*

(Transcrição: Karoline Horsai Manhães)

Esta comunicação visa traçar uma rápida reflexão sobre metodologias de análise da imagem direcionadas principalmente ao campo pictórico. Com isso, visamos discorrer sobre a poética do pintor e relacioná-la ao processo criativo. Abordaremos, assim, a complexidade da linguagem da pintura conectada à poética autoral no campo da criação, exemplificando o que será exposto a partir da nossa própria produção pictórica como artistas e pintores. Para tanto, primeiramente achamos necessário apresentar a natureza do nosso trabalho acadêmico como docentes pintores, artistas-pesquisadores do curso de Pintura da Escola de Belas Artes da UFRJ, que, por sua vez, possui algumas especificidades. Gostaríamos de advertir o leitor de que, por sermos dois autores artistas, nos referiremos aos nossos trabalhos em terceira pessoa, para que haja clareza de referências ao longo do texto.

Enquanto docentes, nossa observação investigativa se soma a toda a riqueza que atravessa a pesquisa artística por materiais, procedimentos e experimentações direcionadas às necessidades tanto instrumentais, técnicas, plásticas, quanto semânticas. Esse cenário de adições epistemológicas impulsiona e motiva o ensino em si e as afetividades amalgamadas dentro da troca dialógica

discente-docente. A estreita relação entre pesquisa, produção artística autoral e docência possibilita a reavaliação dos métodos de ensino, exigindo constantes adequações.

Ao realizarmos nossos trabalhos autorais como pesquisadores no campo da imagem com ênfase na pintura, somos motivados a produzir conhecimento e novas conexões epistemológicas para trazer à luz da consciência novas informações, descobertas ao nível artístico — este sempre permeado pela personalidade —, e novas metodologias de criação. Esse conjunto de descobertas-conhecimentos acaba sendo aplicado à docência em ateliê coletivo, nossa sala de aula. Ressaltamos aqui, portanto, a importância do ateliê de pintura da Escola de Belas Artes (EBA/UFRJ) que leva o nome de Cândido Portinari (1903-1962), homenagem justa a um dos maiores expoentes da arte brasileira. Também carinhosamente conhecido como Pamplonão, esse espaço imenso — provavelmente um dos maiores ateliês coletivos da América Latina — congrega estudantes de todos os períodos do curso de Pintura e também de outras graduações da EBA. Em decorrência do seu espaço generoso, realmente único como laboratório de arte amplo e plural, os estudantes potencializam o seu aprendizado por meio da convivência que se dá entre o corpo acadêmico que por lá transita.

Através dessa rede de trocas, como autores do presente artigo, no papel de artistas-pesquisadores, levamos para nossos trabalhos pessoais influências advindas das questões suscitadas por nossos discentes, assim como suas referências e achados. Com isso há constante troca, mútua retroalimentação consciente e inconsciente. Também gostaríamos de ressaltar o fato de que somos casados e convivemos há mais de 20 anos. Dessa forma, além da atuação como docentes no mesmo curso de graduação, ministrando aulas de pintura para diferentes períodos, também produzimos no mesmo ateliê particular, havendo influência mútua e constante entre nossos interesses e pesquisas. Fazer esse apontamento é relevante porque nossas poéticas conversam entre si, e o resultado dessa convergência pode ser observado em nossa produção. Indicamos para isso consulta do website www.anomia.art e de nossos perfis no Instagram [@martha.werneck](https://www.instagram.com/martha.werneck) e [@liciusbossolan](https://www.instagram.com/liciusbossolan).

Ainda sobre a docência, lembremos também dos grupos de pesquisa que contribuem enormemente para alargar nossa bagagem de conhecimento. Graças a eles é possível aprofundar investigações particulares, especialmente as desenvolvidas no campo da conexão

entre fotografia e pintura e das suas relações com temas que orbitam a representação da figura humana e do corpo. Nossa pesquisa autoral, portanto, pode ser definida como sendo resultado de trocas e influências mútuas que ocorrem em nossas pesquisas particulares, na pesquisa institucional, na docência e no contato com o público, seja através de exposições extrainstitucionais — individuais ou coletivas —, seja através de projetos universitários extensionistas e desenvolvidos com os discentes.

Portanto, quando falamos de processo de criação artística, estamos nos referindo ao fazer dentro de uma rede de conexões, de vivências, e de tomar como bagagens pessoais as memórias, as experiências artísticas e socioculturais de toda uma vida. A compreensão desse fenômeno é importante não apenas para entendermos o processo de criação do artista em si, mas também para se compreender o que reflete e o que é desdobrado em sua poética.

Ao observarmos as obras de diferentes pintores através da visualidade, ficam evidentes particularidades de suas criações. Isso porque cada artista vai trazer para seu trabalho questões relativas à sua bagagem pessoal, cultural e do seu tempo, cristalizando seu modo de pintar e a sua escolha do que pintar.

Essas particularidades caracterizam cada pintor e estão presentes tanto no conteúdo semântico quanto plástico de cada pintura. De forma simplificada, podemos definir o conteúdo semântico como o tema da pintura, ou, se preferirem, as questões simbólicas presentes na obra. Já os conteúdos plásticos são basicamente aqueles formados pela visualidade que constitui a própria obra e sua composição, como, por exemplo, sua dimensão, tipo de suporte, materiais que a integram, formas, texturas visuais e materiais, cores e fatura. Essa última é a pincelada do pintor, a memória da tinta, aquilo que seria sua “caligrafia”, o seu modo de pintar, incluídas todas as marcas impressas na superfície pictórica provenientes da gestualidade do pintor.

Mas o que o artista deseja expressar ou comunicar? Para ajudar a compreender essa questão nevrálgica no universo da criação, recorreremos à artista e teórica brasileira de origem polonesa Fayga Perla Ostrower (1920-2001):

Ele [o artista] pensa diretamente nos termos de sua linguagem visual, ou seja, ele pensa em cores, linhas, ritmos, proporções. [...] Mas ele teria que permitir que todas essas noções, as informações,

os conhecimentos e as experiências, se sedimentassem no íntimo de seu ser em alguma região profunda, onde então se entrelaçariam com seu potencial de afetividade e com seus valores. Lá, em regiões não-verbais, se fundem num sentimento de vida. E de lá o artista retira livremente, espontaneamente, portanto intuitivamente, aquilo de que necessita para seu trabalho (Ostrower, 1991, p. 59).

E como o espectador consegue captar e entender aquilo que aflora dos sedimentos interiores do artista?

Ao apreciarmos uma obra de arte, procuramos entender o seu conteúdo expressivo a partir da forma global da imagem. [...] essa forma de espaço, forma estruturada, é um dado objetivo para todos. É ela que conterà os possíveis significados da obra e, também, o leque de possíveis interpretações que serão dadas, de acordo com a personalidade e a experiência de vida de cada um (Ostrower, 1991, p. 61).

A partir de agora mencionaremos alguns teóricos que tratam da percepção das imagens e do seu entrelaçamento com a memória e a cultura. São metodologias diversas que ilustram possibilidades investigativas e de olhares sobre a imagem.

Ver imagem e criar imagem são atos conectados à nossa memória individual e coletiva, à nossa história e cultura. O historiador de arte francês Georges Didi-Huberman (1953-), na esteira da filosofia do alemão Walter Benjamin (1892-1940), pensa a imagem como sendo uma cristalização da cultura. Para Didi-Huberman:

A imagem seria, portanto, a malícia na história: a malícia visual do tempo na história. Ela aparece, torna visível. Ao mesmo tempo, ela desagrega, dispersa aos quatro ventos. Ao mesmo tempo, ela reconstrói, cristaliza-se em obras e em efeitos de conhecimento (Didi-Huberman, 2015, p. 131).

Logo, as imagens — portanto toda e qualquer pintura — são resultantes de movimentos e tensões culturais dinâmicas que são cristalizadas e voltam a se reconfigurar em novas leituras e cristalizações. Isso ocorre de acordo com contextos diversos, abarcando

tanto o contexto histórico e cultural quanto as possibilidades de leituras individuais. Há, portanto, uma constante montagem de sentidos e de percepções a cada visualização da imagem, de acordo com o “leque de possíveis interpretações” apontados por Fayga.

Nessa direção, Didi-Huberman vem revendo a metodologia de Aby Warburg (1866-1929) e, podemos dizer, mais do que isso, vem remodelando a metodologia pioneira criada pelo referido historiador da arte alemão. Warburg propôs uma alternativa para o entendimento e análise das imagens ao compreendê-las dentro de conexões em constante mutação.

Para Warburg, a imagem deve ser compreendida dentro de outro tempo, um tempo próprio da sua natureza, um tempo anacrônico, como se a imagem houvesse sido retirada do seu tempo histórico e cronológico. Assim, a imagem pode ser vista através do conceito de além-vida/sobrevivência (*Nachleben*), conceito que auxilia no entendimento da imagem como pertencente a um campo com conexões complexas estabelecidas com o campo da memória, com um mar infindável de imagens e percepções dessas imagens, que, por sua vez, estão a crescer indefinidamente para além das suas margens e horizontes. Essa abordagem, um tanto quanto paradoxal para um historiador, transforma a história da arte em uma “história de fantasmas para gente grande”, conforme registrara Warburg em 1927, um ano antes da sua morte (Didi-Huberman, 2013, p. 72). Nessa história de assombrações, Warburg parte da hipótese histórica de que há a estranha transmissibilidade de formas e símbolos entre culturas, mesmo que distanciadas temporalmente e/ou geograficamente.

Atrelados a essa pós-vida da imagem, Didi-Huberman reforça aspectos sintomáticos que identifica na imagem: toda imagem rompe a normalidade do seu tempo através do seu anacronismo, como se ela atravessasse paredes, trazendo questões ocultas e imersas para além da consciência cultural da sua época. Assim, a imagem age como um sintoma ao romper seu tempo. Ao aflorar por diversas vezes, suscita inúmeras percepções e leituras. A consequência dessa metodologia nos leva a entender a imagem como conectada a outras imagens, e como sendo uma reverberação na memória e no tempo.

Se as imagens são sempre vistas dentro de um campo conectado entre imagens e entre memórias, em constante transformação, o imaginário também pode ser entendido como uma rede complexa

de conexões. Quando falamos sobre a criação de imagens, também estamos falando sobre aspectos do nosso imaginário.

Para o filósofo e antropólogo francês Gilbert Durand (1921-2012), o imaginário é uma disciplina de “entressaberes”. Ele considera o imaginário algo que não pode ser tratado fora de uma interdisciplinaridade e de uma transdisciplinaridade (Durand, 1996). Podemos assim dizer que imaginar e criar através do poder imaginativo é conectar diferentes epistemologias. Essa concepção é muito importante, pois converge para o entendimento de que a imagem, como fenômeno perceptivo, se conecta aos campos abertos, que são a memória e o próprio imaginário que a imagem ajuda a constituir.

Dentro desse contexto e da relação entre imagem e afetação do nosso imaginário através de fenômenos perceptivos e psicológicos, como pensar a pintura como imagem? Para tanto, é necessário que se compreenda as diferentes camadas perceptivas que englobam a visualidade por si e também o entendimento das reverberações simbólicas da imagem. Nesse último caso, podemos nos referir àquilo que é imediatamente reconhecível como representação (que sobressai no caso de pintura figurativa), ou ao que está exposto com ênfase nos elementos puramente plásticos (como ocorre no caso da pintura abstrata).

De forma genérica, muitos dos métodos utilizados para analisar a imagem envolvem duas etapas básicas e relativamente semelhantes: a identificação dos elementos representados, que é a etapa reconhecível, e a compreensão semântica daquilo que foi identificado, que é a etapa simbólica. Já nos desculpando e fazendo as devidas ressalvas quanto a essa generalização, trazemos aqui dois teóricos que apresentam metodologias similares para tais leituras. São eles o crítico e historiador de arte alemão Erwin Panofsky (1892-1968), no campo da iconografia, da história da arte, e o filósofo francês Roland Barthes (1915-1980), no campo teórico da semiologia aplicada à fotografia.

A análise das imagens através da iconografia faz parte dos métodos e modelos de análise daquilo que é representado e do sistema de significação em que se insere, inicialmente aplicado às pinturas e com a preocupação de observá-las dentro de uma cronologia histórica. O método iconográfico propõe responder a algumas perguntas: o que está representado no quadro? Qual o sentido desta pintura? Qual era a intenção do artista?

No século XIX, surgiu na França a disciplina da iconografia (do grego *eikón*, imagem, e *graphia*, descrição, escrita), que tinha como proposta ser uma teoria e metodologia contribuinte para o crescimento das ciências religiosas. Em 1848, o historiador francês Augustin-Joseph Crosnier (1804-1880) a definiu como sendo uma “ciência das imagens”. Nesse mesmo século, a escola histórica alemã aprofundou o método e “a iconografia se torna um método de análise cujos progressos se baseiam num relacionamento constante das formas visuais com redes de referências textuais” (Lichtenstein, 2005, p. 13).

Erwin Panofsky define a iconografia como sendo o “ramo da história da arte que se relaciona ao tema ou à significação das obras de arte, por oposição à forma” (Lichtenstein, 2005, p. 14). Ele define três níveis de significação para o entendimento da obra de arte: o nível primário (sentido fenomênico, pré-iconográfico), que ocorre através da percepção imediata, havendo o reconhecimento do que está sendo representado de forma básica, sendo um nível reduzido ao que pode ser puramente descritivo. Também há o nível secundário (sentido semântico), que carrega o conhecimento iconográfico, ou seja, o entendimento simbólico daquilo que está sendo representado. Como terceiro e último, o nível do significado intrínseco (sentido documental), que é aquele que confere à iconologia, ou seja, ao entendimento mais profundo daquela imagem, levando-se em consideração aspectos do contexto em que a obra foi realizada, tais como sua época, cultura, autoria e técnica (Lichtenstein, 2005, p. 14-15). Esse último nível, portanto, pretende totalizar o conjunto das relações possíveis compreendidas no ato da interpretação e existentes no próprio objeto, observando a estrutura simbólica mais profunda de uma obra.

Para exemplificar esses níveis existentes através do método iconológico, trazemos uma pintura de Martha Werneck. No contexto da quarentena estabelecida na pandemia que chegou ao Brasil em 2020, Werneck realizou a pintura intitulada *Autorretrato com luvas de procedimentos* – Série Quarentena 2020 (FIGURA 1). Ao encerrar esse trabalho, a pesquisadora postou a imagem da pintura e escreveu sobre o seu processo criativo na sua conta de Instagram [@martha.werneck](https://www.instagram.com/martha.werneck/):

Nesta travessia, os finais são longos, lentos, e os inícios, penosos. Para um renascimento, precisamos estar dispostos às correntezas.

Submersos em um tempo que parece estático, isolados, agarramos o que é vida, o que resta, as pequenas felicidades cotidianas, para não afogarmos na dor e frieza que nos rondam. O mundo lá fora manda notícias. Escutemos o futuro. O vírus, como dente-de-leão, espalha-se e vinga, fora de controle. Flutuamos e esperamos que uma lua nova nos atravesse e nos renasça. Ponham suas máscaras, vistam suas luvas. Sobreviveremos à dor das irreparáveis perdas, ao desgoverno e seu desamor, àqueles que navegam o macabro, em carreatas da morte, anunciando o fascismo (Werneck, 2020).

O texto ressalta elementos simbólicos da pintura, tais como o fone de ouvido, a lua nascente que figura dentro do vão aberto na geleira, a flor dente-de-leão que simboliza o vírus que se espalha pelo ar, a mão enluvada que se agarra a um buquê que não sobreviveria ao ambiente glacial, de azul esverdeado, hospitalar.

Figura 1 – *Autorretrato com luvas de procedimentos*, de Martha Werneck. Série Quarentena 2020. Óleo sobre painel de madeira, 79,5 x 85 cm, 2020.



Fonte: Registro fotográfico de Lícius Bossolan. Acervo de Martha Werneck.

O texto poético de Werneck elucida a referida pintura, a contextualiza, orientando a complexidade da leitura dessa imagem de forma mais profunda, tal qual nos propõe o método iconológico. Aqui temos uma particularidade: é a própria artista a analisar sua pintura, direcionando seu entendimento. Entretanto, a obra é aberta e outras leituras serão e devem ser sempre possíveis.

Quando essa pintura é contextualizada no momento histórico da pandemia, mesmo que os referidos textos da autora não sejam lidos, ela traz consigo significados relacionados às nossas vivências, à nossa época. Sendo aberta às variadas interpretações, essa imagem impactará e emocionará o observador de hoje de modo singular. Futuramente, fora de seu momento histórico de concepção, esse trabalho terá um sentido mais difuso, e um historiador poderá, através de fontes historiográficas, recuperar seu nível de significação original através de uma análise iconológica. Nesse caso, poderá acessar a rede social da autora e suas anotações pessoais, por exemplo. Voltaremos, mais adiante neste artigo, a um aprofundamento e contextualização desse mesmo trabalho.

Como outro exemplo de método analítico aplicável às imagens, na busca da compreensão e entendimento das complexidades de criação e percepção da pintura, trazemos o entendimento teórico da imagem pelo francês Roland Barthes no campo da semiologia, especificamente relativo à natureza da imagem fotográfica.

Barthes compreende a mensagem fotográfica como possuidora de duas etapas para a compreensão da sua mensagem: uma etapa interpretativa denominada denotação, onde o entendido como análogo do real é aquilo que está sendo identificado, e outra denominada conotação, que seria um sentido construído pela mensagem fotográfica propriamente dita. Em outras palavras, esse sentido é percebido de acordo com a carga cultural existente na imagem e com quem visualiza a imagem (Barthes, 1990). Em seu trabalho, Barthes fez importantes análises da pose fotográfica.

Para ilustrar o sentido de denotação e de conotação barthesianos, trazemos aqui uma fotografia da autoria de Lícius Bossolan (FIGURA 2), resultado de ensaio fotográfico realizado em julho de 2021, no contexto pós-pandêmico. Neste exemplo, através da leitura daquilo que está no recorte fotográfico — da figura humana presente, dos objetos e da ambientação identificados —, poderemos observar o sentido de denotação. É relevante lembrar aqui que Barthes se

opunha à simples descrição como capaz de abarcar todo o sentido denotativo da fotografia.

Figura 2 – Fotografia de Lício Bossolan. Modelo: Eliza Rizo. 15 de julho de 2021.



Fonte: Acervo de Lício Bossolan

A denotação da imagem seria a etapa interpretativa das formas e elementos visuais presentes. Na imagem mencionada, identificamos uma mulher de etnia branca cujo rosto está deitado sobre uma superfície lisa, aparentemente um tampo de vidro de uma mesa. Seus olhos estão fechados e seus cabelos estendidos ao longo da horizontal divisora da imagem. A extremidade do cabelo da mulher penetra em um copo de vidro que se encontra deitado sobre a mesma superfície vítrea que duplica, através do reflexo, a imagem da mulher e do copo. Já a mensagem conotativa dessa fotografia poderia ser tida como uma imagem que transmite a melancolia, o isolamento, a ausência e até o abandono conectados ao universo feminino. No entanto, os desdobramentos conotativos podem ganhar maior complexidade. No caso dessa fotografia, podem ser aventadas outras leituras, como as que se seguem.

Na imagem, podemos interpretar o cabelo da mulher represado no copo de vidro como uma simbologia para a repressão do poder feminino, dado que simbolicamente o cabelo na cultura ocidental remete a poder. De forma simultânea, por estar em um copo, o cabelo remete ao que é líquido, à água, elemento feminino que tem a propriedade de romper barreiras. Observamos que o copo é de

vidro e, portanto, frágil, podendo ser quebrado a qualquer momento; ou seja, anulado. A mulher está de olhos fechados, e nos perguntamos o que isso significaria: a deliberação por não ver a repressão de seu poder? Conivência? Fuga? E, se ela quisesse, teria ela autonomia para retirar o cabelo daquilo que lhe está impondo uma forma de viver, moldando esse poder?

Quando Fayga Ostrower (1991, p. 59) destaca que uma imagem “é sempre uma forma estruturada. Nela se condensa toda uma gama de pensamentos, emoções e valores”, a teórica está nos lembrando de uma questão nevrálgica: imagens são resultantes de movimentos e tensões culturais dinâmicas. Podemos acrescentar que, no contexto da criação artística, é a poética do artista aquilo que direciona a produção dentro do campo da imagem. Logo, a partir daqui podemos nos perguntar: afinal, o que seria a poética do artista?

O conceito de poética provém de poetas como Charles Baudelaire (1821-1867) e Stéphane Mallarmé (1842-1898). Ele deriva, inicialmente, de caracteres normativos e prescritivos da poética clássica do filósofo Platão (c. 427-347 a.C.) e do poeta e também filósofo Horácio (65-8 a.C.). Tal concepção traz à tona a necessidade de expressão da consciência crítica acerca do próprio fazer artístico. Em nosso artigo escrito para a *Revista Apotheke* (PPGAV/UEDESC), intitulado “Um campo para a criação: o desenvolvimento poético através do diário de pesquisa do pintor em formação”, observamos que o conceito de poética “traz à tona a necessidade de expressão da consciência crítica acerca do próprio processo artístico no sentido de analisar, teorizar, refletir, revelar e confessar os caminhos da criação” (Werneck; Bossolan, 2020, p. 17).

O escritor, filósofo e poeta francês Paul Valéry (1871-1945) veio a adotar, acentuar e aprofundar tal paradigma, denominando por poética a simples noção do fazer artístico: “Porque é na execução das coisas que, para o poeta, o valor das coisas adquire legitimidade” (Pimentel, 2008, p. 134).

Ao pensar questões relativas ao fazer artístico, René Passeron (1920-2017), poeta e artista plástico francês, define *poética* como ciência e consciência das condutas criativas e, mais do que isso, como a construção de um pensamento que busca elucidar o fenômeno da criação. Suas considerações colocam a questão no campo da antropologia e chamam a atenção para seus problemas epistemológicos. Afinal, como definir e analisar o processo de criação

sendo o próprio criador? Nessa conduta, Passeron reconhece subsistir certa obscuridade, parcial ou crepuscular, da consciência do artista em relação ao próprio trabalho.

A *poiética*, oriunda da palavra grega *poiēn* (conduta), estará sempre à beira de um abismo de onde o artista mira a criação e ao mesmo tempo quer a ela se lançar. É justamente dentro desse universo da poética que o teórico Luigi Pareyson (1918-1991) investiga a experiência estética do artista enquanto faz arte.

Em *Estética: teoria da formatividade*, de Pareyson (1993), o filósofo italiano propõe um conceito operativo que regule e oriente a experiência artística, entendendo que produção e invenção se fazem juntas, sendo a obra “lei e resultado de um processo de formação” (Pareyson, 1993, p. 13). Esse processo, por seu dinamismo, está calcado na ação do próprio artista. Esta, por sua vez, está inserida naquilo a que costumamos nos referir como “campo”, palavra-conceito que auxilia a compreensão do desenvolvimento do processo de criação e de seu eixo condutor. Tal conceito também nos auxilia no entendimento da poética, suas conexões, ramificações e desdobramentos.

Campo significa uma área, um espaço aberto que necessariamente não tem limites definidos. Suas margens podem ter contornos difusos, verdadeiras áreas cinza. Quando operamos o conceito de poética dentro desse entendimento, queremos dizer que ela não é estática, rígida, mas sim fluida em suas conexões com aquilo que a orbita. Essa geografia imprecisa, apesar de termos um chão seguro e a princípio conhecido, confere à poética potencialidade para se expandir e desdobrar em novas investigações.

A indefinição e a fluidez são parceiras e nos fazem navegar como artistas. Prosseguir com a pesquisa dessa forma nos proporciona — e deve ser assim! — estar em constante construção. Diríamos que daí brota aquilo que muitos chamam de criatividade. Assim, de maneira basilar, podemos definir a poética como a área de conhecimento em que o artista opera elementos expressivos, conceitos e signos a partir de uma sequência de tomadas de decisões, objetivando um determinado resultado para se expressar, comunicar e se conectar afetivamente com o que é criado. Mesmo tendo um rumo, um objetivo prévio, todo o processo de criação é constantemente avaliado e redefinido.

O que há de mais fantástico nisso tudo é que podemos tatear por essa área sem sabermos ao certo para onde estamos indo. A cada

passo, descobrimos que este plano em que caminhamos está contido em um espaço tridimensional, a ponto de abarcar questões amplas e plurais que estejam acima ou abaixo daquilo que vislumbramos da nossa zona de conforto. Dessa forma, para além dessa área já conhecida, podemos nos deparar com outras epistemologias.

Neste momento, o leitor deve estar se perguntando acerca do papel do inconsciente e da intuição quando o artista cria imagens. A consciência do artista, durante o processo criativo, sempre cria questionamentos e atitudes que direcionam a investigação, que, por sua vez, é balizada e equilibrada pela intuição, poderoso guia que se utiliza da ponte entre consciente e inconsciente. A intuição, portanto, conduz a inusitadas direções e é importante coautora nesse processo.

Da mesma forma que Gilbert Durand atribuiu ao imaginário características de uma disciplina formada nos “entressaberes”, Fayga Ostrower também parece conferir ao processo criativo — fruto do nosso imaginário, diga-se de passagem — características equivalentes. A partir dessa consideração, Ostrower aponta a dupla participação do inconsciente e do consciente durante o processo criativo:

Além dos impulsos do inconsciente, entra nos processos criativos tudo o que o homem sabe, os conhecimentos, as conjecturas, as propostas, as dúvidas, tudo o que ele pensa e imagina. Utilizando o seu saber, o homem fica apto a examinar o trabalho e fazer novas opções. O consciente racional nunca se desliga das atividades criadoras; constitui um fator fundamental de elaboração (Ostrower, 2014, p. 55).

Se os processos criativos provêm desse amálgama que denominamos “mente” e são intermediados pelo “consciente racional” apontado por Ostrower, seria lógico compreendermos a pesquisa poética como proveniente do diálogo entre consciente, intuição, memória, inconsciente, observação dos fenômenos e autoavaliação crítica dos esforços empregados. Dessa forma, desenvolver uma poética significa transitar em um mapa mental de conceitos, sentimentos, sensações, afetividades, memórias e simbologias oriundas de diversos saberes e visualidades, imersas em eterno aprendizado e em constante mutação.

Desse fluxo contínuo, há o pensar e a produção criativa a partir da convergência e intercomunicação entre duas áreas nevrálgicas

constitutivas da construção da visualidade artística: a de características estéticas — aspecto visual, formal, conectada à natureza da imagem — e aquela formada pela união dos conteúdos semânticos, responsáveis por abranger a significação da imagem, o seu simbolismo emanado, tema etc. Assim, tanto a visualidade formativa da imagem, por sua vez constituída de formas, cores, composição, relação altura/largura da imagem, suas dimensões, textura visual, a própria identificação da natureza da imagem, entre outros atributos, quanto a significação nela contida, são indissociáveis e materializam pouco a pouco a pesquisa poética. Esse surgir criativo sucessivo, ou seja, presente no trabalho em elaboração, nos trabalhos passados e naqueles que o artista projeta como futuros, constitui-se no eixo condutor da poética.

Na metodologia aplicada às nossas pesquisas pessoais em imagem e pintura, observamos uma etapa fundamental durante todo o desenvolvimento autoral: a pesquisa de imagens referenciais. Essa etapa não apenas antecede cada trabalho como também permanece reverberando a todo momento através da nossa memória e imaginário. Dessa forma, a visualidade é sempre o trampolim para a pesquisa, sendo fundamental aprender a “ver” imagens e, mais do que isso, aprender com elas.

A partir dessa premissa, consolidamos conjuntos de imagens que nos auxiliam na construção e condução dos nossos campos poéticos. A esse conjunto de imagens empregamos o conceito de “corpo”: um corpo de imagens. A partir do agrupamento das imagens, constantemente reordenadas e observadas, traçamos interconexões formais ou simbólicas de acordo com escolhas que obedecem a certa lógica signíca em comum. Tal conjunto de imagens pode abarcar diferentes naturezas imagéticas e cresce constantemente. Seu ato coletor assemelha-se a um colecionismo compulsivo que, cada vez mais, anexa elementos que fortalecem determinados aspectos desse conjunto.

A importância de se criar um corpo de imagens referenciais é auxiliar na formação do olhar e ampliar um aprendizado já natural ao ser humano, tornando-nos cada vez mais conscientes do processo operatório para potencializarmos nossas pesquisas poéticas.

Como exemplo, trazemos a pintura intitulada *Narciso* (FIGURA 3), de Lícius Bossolan, realizada a partir de um conjunto formado por imagens de diferentes autorias e origens, através do qual é

construída uma atmosfera simbólica que emana da conexão entre as imagens. Desse conjunto de imagens foram extraídas formas, símbolos e sensações. No caso, a pintura de Lícus dialoga não apenas com diversas fotografias e com o cinema — como, por exemplo, o filme *Stalker* (1979), de Andrei Tarkovsky (1932-1986) —, mas também com outras pinturas, como *Narciso* (c. 1598), do pintor barroco italiano Michelangelo Merisi “Caravaggio” (1571-1610) (FIGURA 4), e *Betty* (1977), do pintor contemporâneo alemão Gerhard Richter (1932-). Assim, o pintor traça conexões com a história da arte e com outros campos epistemológicos. Nessa pintura de Bossolan, o reflexo não surge nas águas, tal como ocorre na mitologia clássica grega, mas da tela preta dos nossos dispositivos digitais, dialogando com questões contemporâneas. No entanto, parecendo negar a si mesma, a mulher representada como Narciso não fita o olhar em si mesma, mas no espectador.

Figura 3 – *Narciso*, de Lícus Bossolan. Modelo: Mariana Dias. Série Anomia. Óleo sobre tela encolada em painel de madeira, 40 x 58 cm, 2019.



Fonte: Registro fotográfico de Lícus Bossolan. Acervo de Lícus Bossolan.

Figura 4 – *Narciso*, de Caravaggio. Óleo sobre tela, 113,3 x 97 cm, c1598. Pertencente ao acervo da Gallerie Nazionali d'Arte Antica (GNAA) – Palazzo Barberini/Palazzo Corsini, em Roma, Itália. Inventário n. 1569.



Fonte: Caravaggio (c1597-1598)

Logo, quando as imagens são vistas em conjunto, o agrupamento parece trazer um campo semântico — ou campo simbólico, como preferimos conceituar — e gerar potencialidade para novos entendimentos, qualificações e ressignificações. Essa nuvem simbólica em suspensão, com fronteiras difusas e energia potencial pronta para entrar em movimento, pode ser traduzida por termos como “atmosfera” ou “clima” da imagem. Cada imagem não necessita ser perfeitamente equivalente a outra do conjunto. Basta haver semelhança ou similaridade em algum nível, mesmo que de maneira puramente intuitiva, aferida pela percepção do artista. A atmosfera simbólica que transpira e se desdobra nas imagens e entre as imagens, portanto, é difusa, sem limites. É também densa em sua manifestação, carregada tanto de significações quanto de potencialidades latentes de leituras.

O pintor contemporâneo alemão Gerhard Richter é um exemplo notório de artista que viu a importância de se utilizar de um corpo de imagem durante décadas de criação. Ele adotou uma metodologia que evidencia a importância da atmosfera gerada pela conexão entre as imagens. Entre os anos de 1962 e 2013, reuniu e organizou centenas de fotos, recortes de jornais, tabelas de cor e *sketches*, criando um grande arquivo de imagens. Intitulado pelo artista de projeto *Atlas* (FIGURA 5), esse conjunto de imagens tornou-se uma pequena antologia visual do mundo.

Figura 5 – *Atlas*, de Gerhard Richter. Imagens recolhidas entre 1962 e 2013. Papéis de dimensões variáveis organizados em folhas de papel.



Fonte: Richter (1962-2013)

Segundo o historiador da arte contemporâneo Helmut Friedel (1946-), *Atlas* de Richter é “um ‘organismo’ que se desenvolve e se transforma, refletindo fatos biográficos, artísticos e históricos” (Richter, 2007, p. 17, tradução nossa). Esse “organismo” apresenta várias séries de imagens que parecem perseguir uma narrativa em comum, circular, mas que podem ser lidas em várias direções. A convergência narrativa apontada por Friedel no corpo das imagens selecionadas durante décadas por Richter é a gestora poética do

artista. No caso do pintor alemão, é a imagem falando sobre a imagem o próprio eixo condutor do seu processo de criação.

Importante aqui observar que o *Atlas* de Richter foi claramente inspirado pela pesquisa do já citado historiador da arte Aby Warburg. Em seu trabalho, intitulado *Atlas Mnemosyne* em homenagem à musa grega da memória, Warburg buscava observar o modo pelo qual as imagens funcionam como formas de transmissão de características visuais ao longo do tempo, carregando consigo questões relativas à cultura que eclodem em diferentes momentos ao longo da história das civilizações. Warburg montou, em um prédio por ele construído para ser uma imensa biblioteca, uma série de painéis com fotografias de obras de arte das mais diferentes épocas e as agrupou de modo não cronológico, observando características e elementos que desapareciam e voltavam a ser utilizados em tempos diferentes, como se na história das imagens houvesse sempre uma sobrevivência de estéticas e temas.

Formar um corpo de imagens, portanto, é um exercício que permite observar as interconexões entre os componentes do conjunto imagético, capaz de evocar novas significações e transformar o olhar do artista-pesquisador. Esse, cada vez que retorna ao conjunto e passeia por cada uma dessas imagens — reagrupando-as com o olhar e mapeando-as com a memória —, vai deparar-se com uma dada atmosfera, emanada por esse agrupamento, e encontrará novas direções e bifurcações simbólicas, assim enriquecendo seu imaginário.

O simbólico, portanto, é a matéria-prima para o artista. Particularmente, dentro da teorização do campo das artes, acreditamos serem esclarecedoras as definições conceituais definidas pela psicanálise do suíço Carl Jung, influenciador de Durand e de outros teóricos que trabalharam com a conceitualização do imaginário.

Ao analisar a psique humana, Jung abordou a forma operacional do símbolo na mente, atribuindo-lhe a capacidade de carregar um conteúdo que define como vago:

O que chamamos de símbolo é um termo, um nome ou mesmo uma imagem que nos pode ser familiar na vida cotidiana, embora possua conotações especiais além de seu significado evidente e convencional. Implica alguma coisa vaga, desconhecida ou oculta para nós (Jung, 2016, p. 18).

Assim, uma palavra ou uma imagem é simbólica quando implica alguma coisa além do seu significado manifesto e imediato. Essa palavra ou essa imagem tem um aspecto inconsciente mais amplo, que nunca é precisamente definido ou inteiramente explicado. E nem podemos ter esperanças de defini-lo ou explicá-lo:

Quando a mente explora um símbolo, é conduzida a ideias que estão fora do alcance da nossa razão. [...] Por existirem inúmeras coisas fora do alcance da compreensão humana é que frequentemente utilizamos termos simbólicos como representação de conceitos que não podemos definir ou compreender integralmente (Jung, 2016, p. 19).

Essas considerações de Jung sobre a natureza simbólica e sua presença nos mecanismos do que é consciente e inconsciente, aliadas ao nosso entendimento de poética, nos auxiliam a compreender o potencial existente na criação do artista: ao operar dentro do seu campo poético e da atmosfera simbólica das imagens, o artista é capaz de acessar o campo oculto dos símbolos e trazer novas significações ao vago, indefinido e desconhecido. Como agente criador, o artista é capaz de intuir e concretizar novas possibilidades de manifestação simbólica e de realizar novas conexões entre elas.

Retornando ao trabalho anteriormente mencionado, de autoria de Martha Werneck, intitulado *Autorretrato com luvas de procedimentos* (2020), a partir dele abordaremos o fato de que alguns elementos foram pensados de forma consciente e, apenas após o fim do trabalho, outros foram conectados ao sentido daquilo que a autora estava produzindo, como se a ideia contida naquela imagem fosse aos poucos se formando, revelando-se com o uso da intuição e da razão.

No percurso da criação, frequentemente o trabalho de um pintor conta com interconexões entre séries e fases de sua produção. Nesse caso, as pinturas de Werneck realizadas do momento pandêmico e pós-pandemia aproximam-se da série por ela desenvolvida anteriormente, nomeada “Pequenas Ofélias e Icebergs”. Pontuamos, então, que nos últimos anos o trabalho autoral da artista provém da pesquisa da representação do corpo feminino e da autoimagem, versando sobre a representação de mulheres posando como a personagem Ofélia da obra *Hamlet*, de William Shakespeare (1564-1616). Porém as pinturas não constituem uma dramatização fiel da peça, mas uma forma de representação e autorrepresentação

com conteúdos pessoais e biográficos específicos, dialogando com os temas tabus da morte e do suicídio, apontando a possibilidade de autorredenção através dos caminhos da sublimação pelo fazer artístico feminino. Então, entre os trabalhos encontramos, além dos autorretratos, a representação de mulheres artistas de um círculo de amizade próximo, retratadas com suas características individuais amalgamadas à representação de Ofélia.

Ofélia é uma personagem feminina que sempre seduziu a autora pela imagem, em especial pelas representações elaboradas pelos pintores ingleses denominados pré-rafaelitas, tais como Sir John Everett Millais (1829-1896) e John William Waterhouse (1849-1917). Segundo a pesquisadora Cristiane Busato Smith (2022), funcionou, assim, como ícone do feminino na sociedade vitoriana do século XIX. Sua figura emerge na cultura ocidental pelo viés de associação do feminino à morte, à loucura, à doença. Personagem símbolo do suicídio feminino através do afogamento, ela encontra na morte pela água “seu próprio elemento”, como está na fala da personagem Gertrudes, rainha e mãe do príncipe Hamlet, ao narrar a morte de Ofélia. Seu afogamento, relatado como algo destituído de dor e qualquer realismo na peça, acaba por trazer à tona imagens ricas, um espetáculo.

Segundo Gaston Bachelard (1884-1962), filósofo e fenomenólogo francês, “é a água do lago que por si mesma ‘se ofeliza’, se cobre naturalmente de seres dormentes, de seres que se abandonam e flutuam, de seres que morrem docemente. Então, na morte, parece que os afogados, flutuando, continuam a sonhar” (Bachelard, 2013, p. 85-86).

A influência das referências à pandemia no Brasil no conjunto de pinturas de Martha Werneck desenvolvidas a partir de 2020 traz, além da carga simbólica da personagem Ofélia, um mundo conectado, repleto de acontecimentos políticos, ameaças, inseguranças e novos modos de relacionar-se remotamente através de dispositivos digitais, momentos em que a solidão e a coletividade se interconectam.

Entendido o contexto e eixo temático da pintura em questão, é importante informar ao leitor que há elementos escolhidos intuitivamente, enquanto outros são elaborados de forma consciente e mais objetiva. Para a realização da pintura foi elaborado um projeto a partir de uma imagem fotográfica na qual a autora posa como Ofélia, obtida em um ensaio realizado por Lícius, sob a direção da própria pintora. A partir dessa fotografia, foi inserida na representação

outra das imagens-tema recorrentes nas obras de Werneck: a representação de icebergs, utilizados no conjunto de suas produções como elementos que remetem ao simbólico, representando aquilo que está submerso e invisível, inconsciente, e o que está sobre as águas e pode ser visto.

Entre aquilo que foi intuitivo, a artista optou por pintar uma geleira com uma abertura em seu paredão. Uma referência fotográfica de seu banco de imagens, inicialmente escolhida, tinha essa forma, o que a atraiu plasticamente. Esse vão, depois de alguma análise, pode simbolizar o próprio nascimento do útero materno, sendo a mãe representada pelo oceano, simbologia que figura tanto na fenomenologia quanto na psicanálise. Nesse caso, uma contradição se manifesta: o oceano, que simboliza a imensidão acolhedora, apresenta-se gelado e inóspito.

A lua nova foi pintada também de forma intuitiva, pois a princípio a artista queria apenas uma dualidade entre dia e noite. Após analisar esse elemento de forma mais profunda, conectado aos demais, percebeu que eles funcionam simbolicamente como o início de um novo ciclo. Isso foi algo que curiosamente só veio como revelação para a autora ao final do processo, adicionando a isso o fato de que é um autorretrato, e o horário de nascimento da artista foi às 18 horas, a hora mística, em que dia e noite coexistem no mesmo céu.

Já os fones de ouvido são objetos que aparecem em muitos dos trabalhos de Werneck. A artista tem o hábito de usá-los conectados ao celular enquanto pinta. Foi pela escuta que ela se informou sobre o mundo na época da pandemia, através de entrevistas com especialistas, professores, cientistas, e de noticiários, que traziam as questões referentes ao mundo e ao Brasil, em especial ao que era feito a respeito das políticas públicas de combate à pandemia. Logo, esse fio dos fones parece conectar-se a algo que está além dos limites do quadro, em direção ao céu, como se fosse a conexão a uma grande rede: a internet. Somado a isso, a artista também interpretou ao final que tal elemento pode funcionar como uma espécie de cordão umbilical que a conectaria a uma imensidão de informações através das quais ela se nutriria naquele momento de desagregação e solidão, sendo o ambiente em que se autorrepresenta com lágrimas nos olhos um grande útero gelado.

Outra coisa que chamou a atenção ao fim do trabalho foi o desejo de trabalhar apenas em tons de azul. Podemos então refletir sobre o

fato de que as imagens que invadiam nossas casas à época eram de hospitais, cujas cores tradicionalmente variam entre verdes e azuis. Cores frias foram as predominantes nessa pintura que representa a distância entre as pessoas e o ambiente gelado e impessoal dos hospitais, onde tantos agonizavam e morriam enquanto navegávamos em águas desconhecidas, em um oceano de incertezas.

O buquê de flores, mais tarde conectado às flores dos mortos, está submerso nas águas geladas, onde não sobreviveria. Em trabalhos subsequentes dessa mesma época, como os intitulados *Para se lapidar um coração é necessário escutar suas trincas – autorretrato como Ofélia Topázio Imperial* (FIGURA 6) e *Ofélia gamer: o jogo da morte – retrato de Remieroox como Ofélia* (FIGURA 7), as flores são representadas como coroas de defunto, e observamos também fones de ouvido, apontando a repetição de elementos nos trabalhos da pintora.

Figura 6 – *Para se lapidar um coração é necessário escutar suas trincas – autorretrato como Ofélia Topázio Imperial*, de Martha Werneck. Óleo sobre papel Canson Figueras. Tríptico: 64 x 49,5 cm (cada peça), 2021.



Fonte: Registro fotográfico de Licius Bossolan. Acervo de Martha Werneck.

Figura 7 – *Ofélia gamer: o jogo da morte* – retrato de Remieroxx como Ofélia, de Martha Werneck. Série Quarentena 2020. Óleo sobre painel de madeira. Tríptico, módulos de 60 x 80 cm, 2020.

Fonte: Registro fotográfico de Lícius Bossolan. Acervo de Martha Werneck.

Para concluirmos esta exposição, abordaremos os trabalhos e poética de Lícius Bossolan. É importante contextualizarmos sua pesquisa de doutoramento na linha de pesquisa Imagem e Cultura do Programa de Pós-Graduação em Artes Visuais da Escola de Belas Artes da UFRJ, sob orientação da profa. dra. Rogéria de Ipanema. Bossolan visa investigar a relação entre as linguagens da fotografia e da pintura em poéticas conectadas, em hipótese, ao *infamiliar*. Seu trabalho autoral transita no campo da pintura fazendo conexões com a epistemologia da imagem, com a fotografia, manipulações digitais e desenhos direcionados à poética do espaço urbano e do corpo. Atualmente em sua pesquisa observa a relação entre a pose e uma certa atmosfera de estranhamento emanada pela pintura.

Para atingir seus objetivos, Bossolan opera a poética a partir de dois conceitos centrais: anomia — segundo o estabelecido pelo sociólogo francês Émile Durkheim (1858-1917) e posteriormente lapidado pelo antropólogo francês Jean Duvignaud (1921-2007) — e *infamiliar* (*Das Unheimliche*) — conceito amadurecido e consolidado pelo criador da psicanálise Sigmund Freud.

Segundo Durkheim e Duvignaud, anomia é um “estado de desregramento”, de grande agitação e desequilíbrio vivenciado pelas



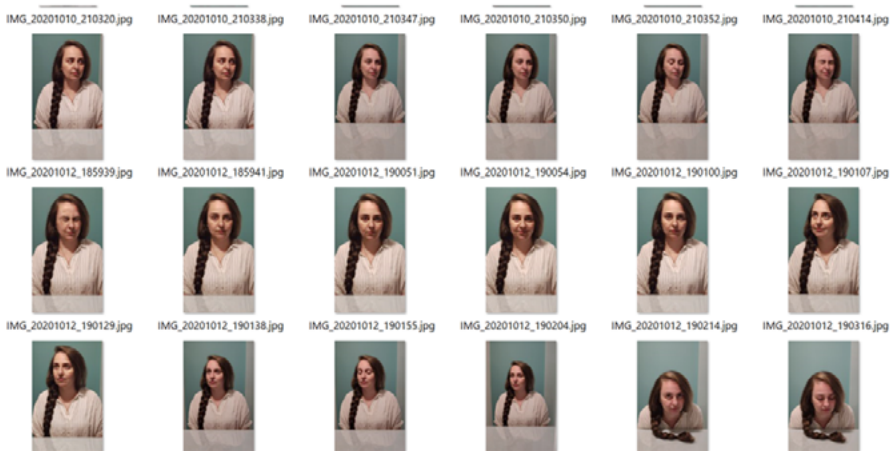
sociedades em períodos de transformação e de reestruturação dos seus limites morais. Mais do que isso, podemos compreender anomia como sendo uma problemática do tempo, um tempo de “entres”, um intervalo que se impõe entre uma situação definida e outra ainda em construção.

Já o conceito freudiano do *infamiliar* (*Das Unheimliche*) é normalmente traduzido como o estranho, o inquietante, e, mais recentemente, o *infamiliar*, sendo ele um sentimento difuso de estranhamento, gerador de enorme angústia.

Nas palavras de Freud (2020, p. 33), “*infamiliar* é uma espécie do que é aterrorizante, que remete ao velho conhecido, há muito íntimo”. Nesse sentido, é o sentimento despertado por “pessoas e coisas, impressões sensíveis, vivências e situações” (Freud, 2020, p. 33) provenientes da percepção de algo oculto, inanimado, mas que, por estar recalcado, em algum momento já foi por nós conhecido, e por isso nos parece tão familiar. Há, portanto, nesse sentimento, uma incerteza intelectual gerada por algo desconfortável que quer retornar à nossa consciência.

Todo o processo de criação de Bossolan parte do universo fotográfico e, antes da etapa pictórica, o artista realiza ensaio fotográficos para obter a imagem que servirá de referência para a pintura. A cada ensaio fotográfico é muito comum haver a produção de dezenas de fotografias, podendo chegar a 200, 300 fotos (FIGURA 8). Curiosamente, quase sempre as últimas são consideradas pelo artista como sendo as melhores e é muito provável que delas se extraiam as referências definitivas para as pinturas. Mas esse procedimento não é algo gratuito. Existe explicação lógica conectada às próprias dinâmicas do processo criativo e da poética. Essa etapa é muito mais do que a obtenção da imagem-chave para a realização da pintura: ela rege todo o processo criativo, inclusive o pictórico que a sucederá.

Figura 8 – Fotografias obtidas no ensaio fotográfico de Lício Bossolan com a modelo Eliza Rizo, realizado em 10 de outubro de 2020. Fotografia digital.



Fonte: Acervo de Lício Bossolan

Dentro dessa lógica formativa, não resulta apenas a imagem para referência da pintura, observando que a fotografia também é trabalhada digitalmente. O próprio *work in process* do ensaio fotográfico será agente definidor da imagem final. O ensaio é orgânico e seu resultado não cumpre objetivo previamente definido: ele é o próprio agente formador e constituinte causal do resultado final. Em outras palavras, é durante o transcórre do ensaio que surge a maior parte das ideias de enquadramento, luz, pose e de situações a serem fotografadas.

O processo é fluido e a familiaridade com as modelos, para Bossolan, torna-se algo fundamental para a dinâmica da criação e obtenção do resultado. É importante destacar que os ensaios que o artista empreende são realizados com modelos que se identificam como mulheres, em geral pessoas próximas e de sua convivência. Quase sempre amigas, artistas pintoras, fotógrafas ou estudantes universitárias que tiveram aulas com ele, conhecedoras de sua poética. Ressaltamos um detalhe: por ser homem, Lício Bossolan está a par de seu olhar masculino, carregado de preconceitos dados por uma cultura patriarcal. Dessa forma, está consciente de que operar com questões relativas ao feminino é para ele um campo minado, já que o próprio artista se coloca como crítico à presença do patriarcado no imaginário coletivo. Em seu processo criativo, ele sempre se pergunta como neutralizar o máximo possível os preconceitos

que porventura sobrevivem em seu olhar. Para lidar com essa problemática e minimizá-la, Bossolan busca investir na representação de situações que trazem carga dramática mais contida, uma certa neutralidade nas poses e semblantes das retratadas.

Assim a conexão fotógrafo-modelo faz aflorar algo que, por falta de melhor designação, poderemos definir como certa “intuição dialógica” entre os envolvidos. Ao longo do ensaio, as ideias vão sendo lapidadas e o eixo condutor poético segue se retroalimentando e amadurecendo. Tudo isso acontece em decorrência da compreensão intuitiva, por parte dos participantes, da tênue atmosfera simbólica que envolve o processo.

Como artista, Bossolan sempre lida com a bagagem de imagens que carrega consigo em sua memória e imaginário. Assim, a conexão com essas duas instâncias mentais é definidora e soma-se à constante visitação ao seu acervo fotográfico digital, acumulado ao longo de anos. Observar o campo simbólico emanado desse corpo de imagens, formado tanto por fotografias autorais quanto por outras imagens, é algo que impregna seu imaginário e influencia o olhar na hora do ensaio fotográfico.

Essa permanente conexão com um repertório imagético faz o artista estabelecer, num primeiro momento, uma análise intuitiva das imagens obtidas de forma plena, ampla. Em um segundo momento, de maneira mais específica, observa o que fisga seu olhar, os pequenos detalhes que lhe chamam a atenção, uma pose com certo estranhamento, enfim, algo que punge o olhar e emana grande desconforto ou angústia. Conforme relatamos anteriormente, muito provavelmente as últimas fotografias do ensaio carregarão o potencial simbólico almejado. Dentro dessa preocupação, Bossolan busca aquilo que estaria conectado aos dois conceitos centrais para a sua poética — anomia e *infamiliar* —, incluindo as atmosferas de ausência e melancolia ligadas à representação do feminino através das retratadas.

A elaboração das pinturas também seguirá essa lógica de construção simbólica e refletirá a relação do artista com a imagem: em um primeiro olhar, de forma superficial, tudo parecerá estar dentro de certa normalidade, apesar de alguma percepção angustiante ou melancólica. Entretanto, em um segundo momento, algum detalhe chamará a atenção do espectador e chancelará o estranhamento, como pode ser visto no resultado final intitulado *Acreditar* (FIGURA 9).

Figura 9 – *Acreditar*, de Lícius Bossolan. Modelo: Eliza Rizo. Série Anomia. Óleo sobre papel, 41 x 33 cm, 2021.



Fonte: Acervo de Lícius Bossolan

Convergindo para a atmosfera simbólica almejada por Bossolan, há outros aspectos importantes para a sua abordagem. O tratamento do claro-escuro é um dos elementos plásticos reveladores do clima que pretende imprimir, assim como a maneira pela qual a ambientação é representada, a escolha da dimensão e a orientação do suporte (se horizontal ou vertical), além do tipo e material do suporte que utilizará.

É interessante notarmos que muitas vezes o artista realiza trabalhos em suportes alternativos, como, por exemplo, gavetas de madeira resgatadas de áreas de descarte da própria universidade em que leciona, neste caso as antigas gavetas de mapoteca com mais de meio século da Escola de Belas Artes, pertencentes a mobiliário desmontado e substituído (FIGURA 10). A escolha cautelosa do suporte é importante porque empresta à pintura questões que são

inerentes ao próprio objeto, como, nesse caso, a história das gavetas que guardam memórias residuais. Outrora esse mobiliário armazenava desenhos de muitos estudantes, hoje acomoda de modo definitivo uma pintura que dialoga com sua antiga funcionalidade. Por outro lado, a simbologia se amplifica ao pensarmos a função utilitária de uma gaveta: podemos nela guardar objetos íntimos, e, por isso, simbolicamente são conectadas a espaços privados. Dessa forma, se a pintura é feita sobre tal suporte, a imagem pintada, aquilo que é representado, dialoga com essa significação, e passa a existir uma conversa entre a pintura e o objeto em si. Como consequência, a atmosfera criada favorece o pensamento aberto e a poética ganha significação ampliada.

Figura 10 – *A espera*, de Lícius Bossolan. Modelo: Alessandra Tolc. Série *Melancolia* (2020-2021). Dimensões 118,5 x 76 x 11 cm.



Fonte: Acervo de Lícius Bossolan

Retomando a premissa inicial, partimos das nossas poéticas como artistas para evidenciar como o processo de criação no campo da pintura está estritamente relacionado às nossas vivências, referências imagéticas e pesquisa poética. Por conseguinte, é essa experiência que gera uma bagagem de memórias e de práticas que acabam sendo trazidas para pintura, numa complexidade que traduz o que é humano em nós, o que é próprio de cada indivíduo e de sua psique.

Em síntese, observamos que o eixo condutor do processo criativo pode ser compreendido como a soma da estética (correspondente à visualidade) ao assunto (correspondente ao tema) e à análise crítica do processo de criação, conectada à memória e afetividade do artista.

A partir das considerações aqui elencadas, compreendemos que as imagens não podem ser reduzidas a uma síntese. Elas não conduzem a um único significado, a algo que seja fixo. Eclode de cada imagem muito mais do que podemos apreender e organizar, porque por elas somos tomados por sensações e intuições, direcionados a determinados sentidos. Isso se dá porque uma imagem não se restringe a si mesma. Ela atua como mediadora de tempos, olhares e saberes, sendo impossível reduzi-la às questões técnicas, materiais e de semântica exclusiva. É a incerteza, a imprecisão de onde se localizam no âmbito do saber, que lhes confere o poder de compor uma experiência em nosso imaginário. Uma imagem não tem início, meio e fim. Ela transcende os limites de suas bordas e se conecta a toda experiência que o observador possui. Aí ela se transforma e se expande.

REFERÊNCIAS

BACHELARD, G. *A água e os sonhos: ensaio sobre a imaginação da matéria*. 2. ed. São Paulo: Martins Fontes, 2013.

BARTHES, R. *O óbvio e o obtuso: ensaios críticos III*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1990.

CARAVAGGIO, M. M. D. Narciso. *Gallerie Nazionali d'Arte Antica*, Roma, c1597-1598. Disponível em: <https://www.barberinicorsini.org/artwork/?id=WE4286>. Acesso em: 8 maio 2024.

DIDI-HUBERMAN, G. *A imagem sobrevivente: história da arte e tempo dos fantasmas segundo Aby Warburg*. Rio de Janeiro: Contraponto, 2013.

DIDI-HUBERMAN, G. *Diante do tempo: história da arte e anacronismo das imagens*. Tradução de Vera Casa Nova e Márcia Arbex. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2015.

DURAND, G. *Campos do imaginário*. Lisboa: Ellug, 1996. (Coleção Teoria das Artes e Literatura).

FREUD, S. *O infamiliar [Das Unheimliche] e outros escritos: edição comemorativa bilingue (1919-2019): seguido de O homem da areia de E. T. A. Hoffmann*. Tradução de Rogério Freitas, Ernani Chaves e Pedro Heliodoro Tavares [O homem da areia]. Belo Horizonte: Autêntica, 2020.

JUNG, C. Chegando ao inconsciente. In: JUNG, C. (org.). *O homem e seus símbolos*. Rio de Janeiro: HarperCollins Brasil, 2016.

LICHTENSTEIN, J. (org.). *A pintura: textos essenciais*. São Paulo: Editora 34, 2005. (Descrição e interpretação, v. 8).

OSTROWER, F. P. *Criatividade e processos de criação*. Rio de Janeiro: Editora Vozes, 2014.

OSTROWER, F. P. *Universos da arte*. Rio de Janeiro: Editora Campus, 1991.

PAREYSON, L. *Estética: teoria da formatividade*. Petrópolis: Editora Vozes, 1993.

PASSERON, R. Entrevista: poética e psicanálise. [Entrevista cedida a] Conceição Beltrão e Mario Fleig. *Revista APPOA*, Porto Alegre, n. 18, p. 91-105, jun. 2000. Disponível em: http://www.appoa.org.br/uploads/arquivos/revista_18_3.pdf. Acesso em: 9 maio 2024.

PIMENTEL, B. A. F. *Paul Valéry: Estudos filosóficos*. 2008. Tese (Doutorado em Filosofia) – Programa de Pós-Graduação em Filosofia, Departamento de Filosofia, Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

RICHTER, G. *Atlas. Gerhard Richter*, [s. l.], [1962-2013]. Disponível em: <https://gerhard-richter.com/en/art/atlas/atlas=17677-/?p-1&sp=32>. Acesso em: 8 maio 2024.

RICHTER, G.; FRIEDEL, H. *Atlas*. New York: D.A.P./Distributed Art Publishers, 2007.

SMITH, C. B. *Ofélia e a arte*. Curitiba: Kotter Editorial, 2022.

WERNECK, M. *Autorretrato com luvas de procedimentos*. Rio de Janeiro, 12 nov. 2020. Instagram: @martha.werneck. Disponível em: <https://www.instagram.com/p/CHgaSdsp-hD/>. Acesso em: 8 maio 2024.

WERNECK, M.; BOSSOLAN, L. Um campo para a criação: o desenvolvimento poético através do diário de pesquisa do pintor em formação. *Revista Apotheke*, Florianópolis, v. 6, n. 2, p. 14-30, ago. 2020. Disponível em <https://www.periodicos.udesc.br/index.php/apotheke/article/view/18406/11805>. Acesso em: 20 jan. 2021.

AULA 10B

AS IMAGENS NO MUNDO DA ARQUITETURA

Palestrante: Andrea Queiroz Rego

(Faculdade de Arquitetura e Urbanismo/UFRJ)

(Transcrição: Mabily Zaias)

Eu sou arquiteta e urbanista, professora de Projeto Urbano e Paisagístico da Faculdade de Arquitetura e Urbanismo (FAU) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e trago a esta palestra algumas imagens do nosso ofício. Imagens que são ferramentas, imagens que são produtos, imagens que são a criação arquitetônica em si.

Estudo a paisagem urbana, em especial a da cidade do Rio de Janeiro, em suas múltiplas dimensões e com múltiplas imagens. Apresento aqui como primeira imagem (FIGURA 1) uma montagem inspirada no trecho que está no programa da própria Cátedra Fernando de Souza Barros – Imagens dos Mundos Reais e Imaginários: dos Átomos às Catedrais Passando pela Mente, que diz: “Mas, aos poucos, foi sendo desenhada uma aquarela de imagens capaz de incluir a ciência, as artes, as letras, o processo social de criação de uma identidade nacional e, por que não, as imagens do cosmos?”.

A leitura inspirou uma montagem que é um devaneio poético, que teve como base uma imagem da NASA que respalda a minha pesquisa “Paisagem Noturna”. Nela, a constelação que brilha são as luzes emitidas pela rede de cidades brasileiras, e, sobre a constelação, está uma das aquarelas de Margaret Mee (1909-1988) chamada *Flor da Lua*, representação artística e botânica muitas vezes apresentada no ensino do projeto paisagístico.

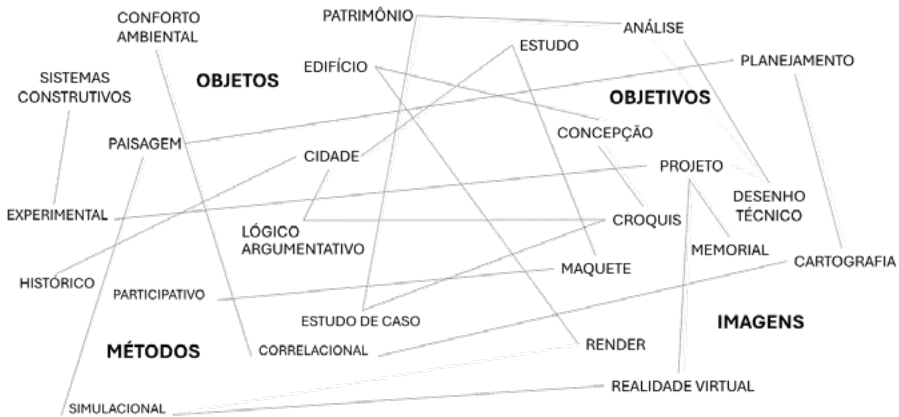
Figura 1 – Montagem da autora Andrea Queiroz Rego com a aquarela *Flor da Lua*, de Margaret Mee, sobre imagem da NASA



Fonte: Desenvolvida pela autora

Estruturo minha apresentação nas imagens da prática, do ensino, da pesquisa e da extensão em Arquitetura e Urbanismo, com base em uma complexa rede de palavras (FIGURA 2) montada a partir de métodos usados na pesquisa, dos principais objetos de atuação e de alguns dos objetivos da Arquitetura e Urbanismo. Destaco que, no campo das Ciências Sociais Aplicadas, grande parte de nossos objetos são empíricos, tais como: o conforto do ambiente, sistemas construtivos, o patrimônio, o edifício, a cidade e a paisagem. Nossas pesquisas se voltam para a construção de novas teorias e práticas que gerem subsídios para planejar e projetar espaços que deem respostas para as demandas sociais contemporâneas, mas também que prospectem novas atmosferas para novos fazeres.

Figura 2 – Rede de métodos, objetos e objetivos que se apoiam em diferentes etapas do processo de pensar e fazer Arquitetura e Urbanismo em imagens



Fonte: Desenvolvida pela autora

Busco demonstrar como as imagens em nosso campo não são apenas ilustrações, mas a própria base do pensamento, um meio ou, principalmente, um fim para a concepção de novos espaços penetrados, percebidos, vividos e sentidos pelo corpo humano, criados para a sua proteção, para o desempenho de suas atividades e para a ampliação da experiência. Nossas imagens são representações de um mundo idealizado, capazes de simular os ambientes projetados e antecipar fruições espaciais. Abordo aqui não somente as imagens bidimensionais, mas todas as representações do mundo da Arquitetura e do Urbanismo que buscam representar essa tridimensionalidade.

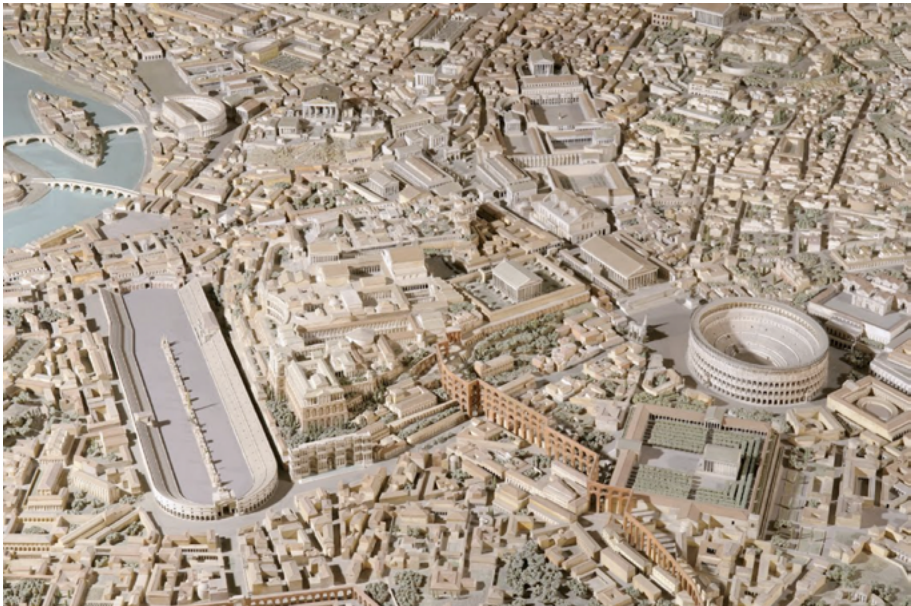
Síntese cronológica e tipológica das principais representações arquitetônicas

Na primeira parte, trato, de modo retrospectivo, das principais representações utilizadas no ofício desde seus primórdios. Início, deste modo, pela maquete ou modelo, primeiro tipo de representação utilizado, primordial desde o processo de concepção até a execução dos projetos. Os modelos antigamente eram somente físicos, mas hoje há inúmeros modelos digitais, nos quais a experiência deixa de ser tátil para se tornar realidade virtual ou realidade aumentada.

Maquetes/Modelos

A primeira maquete que apresento é da cidade de Roma (FIGURA 3) no tempo de Constantino (272-337), uma das maiores maquetes do mundo. Sua execução foi encomendada por Benito Mussolini (1883-1945) e levou 36 anos (1935-1971) para ser feita pelo arqueólogo e arquiteto Italo Gismondi (1887-1974). Hoje, está permanentemente exposta no Museu da Civilização Romana. Essa maquete já foi digitalizada pelo processo de nuvem de pontos e serviu de base para diversos projetos de realidade virtual que simulam o ambiente daquele tempo.

Figura 3 – Maquete de Roma de Constantino, no Museu da Civilização Romana



Fonte: Museo [...] (c2024)

Apresento, também, as maquetes de Renzo Piano (1937-), pois, para esse renomado arquiteto, as maquetes são o grande momento da concepção das suas obras. Seu escritório dedica um grande tempo e recursos para o desenvolvimento delas, que permitem o estudo volumétrico e compositivo (FIGURA 4A E FIGURA 4B).

Figura 4

A – Maquete da expansão e renovação da Morgan Library & Museum, NY



B – Morgan Library & Museum

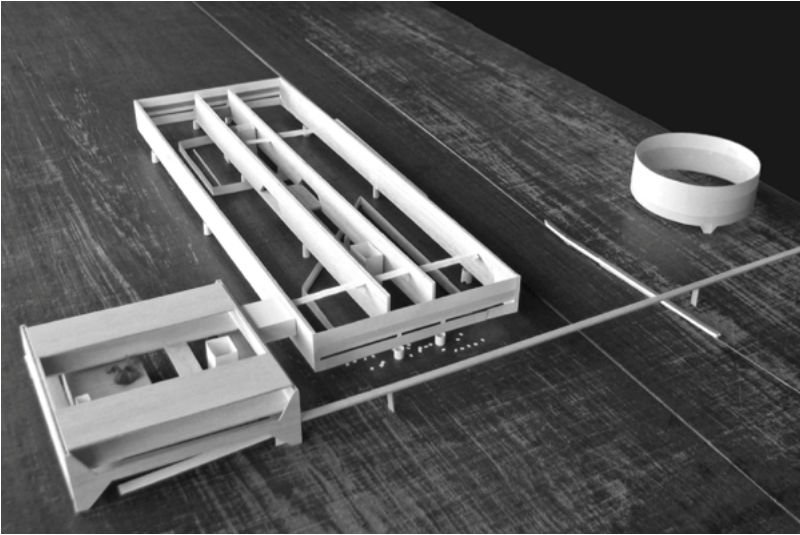


Fonte: 2006: The Renzo [...] (c2024) e Morgan [...] (2012)

Do mesmo modo, o arquiteto brasileiro Paulo Mendes da Rocha (1928-2021), ganhador do Prêmio Pritzker, sempre falou da importância das maquetes para a concepção de uma obra — maquetes de estudo, maquetes de trabalho, e suas famosas maquetes de papel, que ele usava como um método muito rápido em seus estudos volumétricos, avaliando a inserção da obra no entorno e as relações entre as partes (FIGURA 5A E FIGURA 5B).

Figura 5

A – Maquete de papel do Museu dos Coches, Lisboa



B – Foto do Museu dos Coches, 2023



Fonte: Museu [...] (2015) e acervo da autora

Na Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, não poderíamos de deixar de usar tal precioso ensinamento, e o uso das maquetes na concepção dos projetos se faz quase obrigatório em todos os momentos do curso, sejam as maquetes físicas nos primeiros períodos, sejam as maquetes digitais nos períodos mais avançados. Assim, de modo similar, os estudantes se valem das maquetes para o estudo volumétrico do objeto arquitetônico e de sua inserção na grande arquitetura urbana, a cidade.

Apresento, a seguir, algumas maquetes do quarto período do curso. Na FIGURA 6, há três situações de composição volumétrica muito distintas para a resolução de um mesmo problema. Isto é um mesmo programa arquitetônico em um mesmo lote. Já na FIGURA 7, são dois estudos distintos de inserção urbana, com diferentes projetos urbanos e paisagísticos.

Figura 6 – Maquetes de estudantes do quarto período do curso de graduação da FAU/UFRJ, para estudos volumétricos e de implantação



Fonte: Disciplina Ateliê Integrado I, 2012

Figura 7 – Maquetes de estudantes do quarto período do curso de graduação da FAU/UFRJ, para estudos urbanos e paisagísticos



Fonte: Disciplina Ateliê Integrado I, 2012

Croquis

Os croquis são a segunda representação do mundo da Arquitetura e Urbanismo que apresento. Bidimensionais e à mão livre, basta um pedaço de papel e um lápis para o registro de uma ideia arquitetônica, para a concepção de um novo espaço ou para a documentação de um espaço existente.

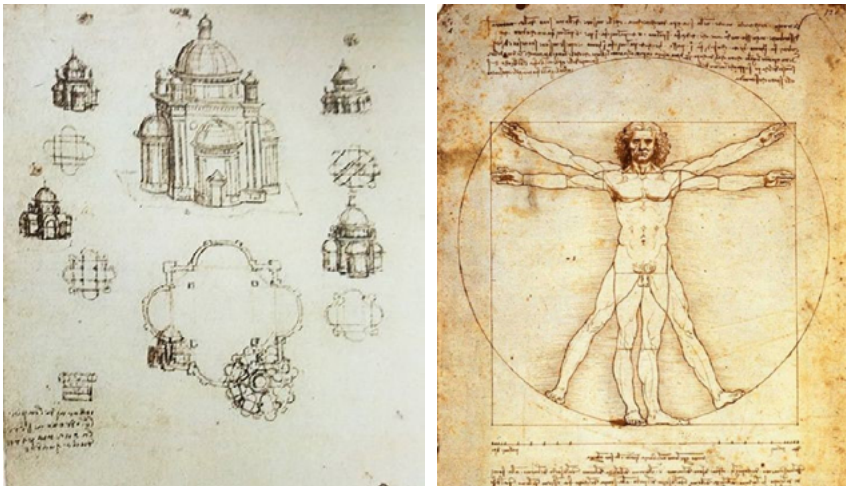
Croquis são representações atemporais. Exploro inicialmente três desenhos de Leonardo da Vinci, em três escalas muito trabalhadas — da cidade, do edifício e do corpo. A primeira é o plano da cidade de Ímola (FIGURA 8A), a segunda imagem contém estudos para a Catedral de Milão (FIGURA 8B) e a terceira imagem é do *Homem vitruviano* (FIGURA 8C), tendo o corpo humano como a principal referência para o espaço que ele ocupa. A consciência da dimensão humana é fundamental para a criação de espaços acolhedores, mais facilmente sentidos e experimentados pelo corpo, ou para concepção dos espaços monumentais, das representações de poderes (religioso, político, econômico) e do subjugo humano.

Figura 8

A – O plano de Ímola



B – No centro, estudos para a Catedral de Milão. C – O homem vitruviano



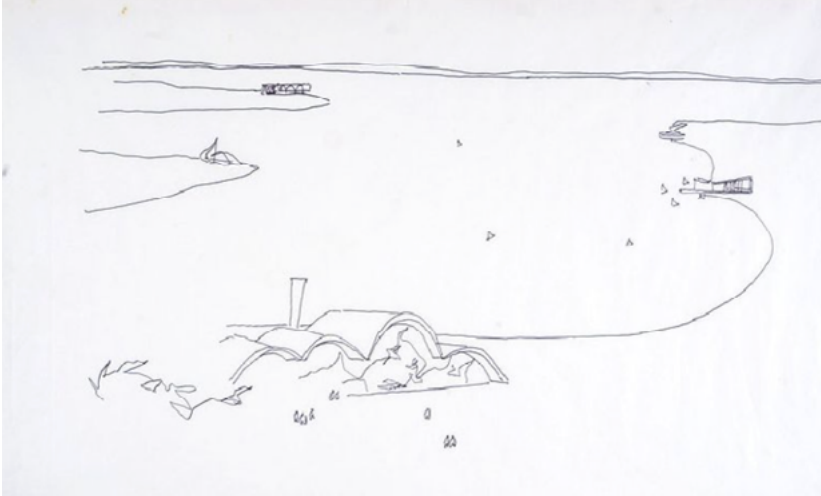
Fonte: O mapa [...] (2022), Estudos (c2024) e Secretaria Geral (2017)

É quase impossível falar de croquis e não falar de Oscar Niemeyer (1907-2012), que utilizava esse tipo de representação no ofício, em apresentações, em palestras, em entrevistas. Seus croquis mostram traços de linhas puras e contínuas com alguns elementos

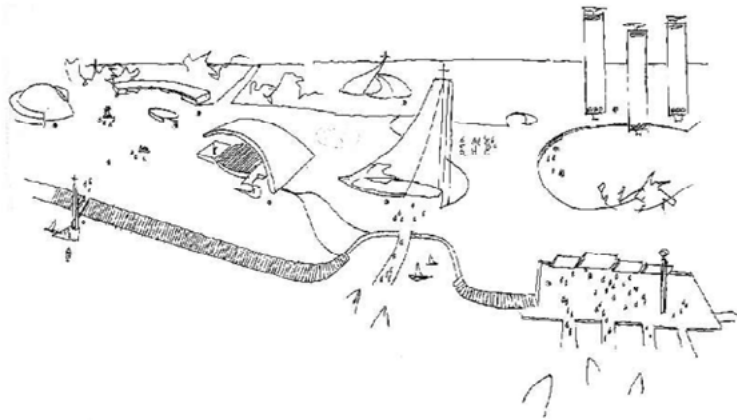
estruturadores da paisagem, capazes de juntos passarem a ideia do projeto (FIGURA 9A E FIGURA 9B).

Figura 9

A – Croqui de Pampulha, Belo Horizonte, 1940



B – Caminho Niemeyer, Niterói, 1997



Fonte: Niemeyer (1940) e Niemeyer (1997)

A produção de croquis, tal como a de maquetes, é sempre estimulada no curso de graduação da FAU/UFRJ, não só para servirem como representações da concepção inicial, mas ao longo de todo o processo projetual (FIGURA 10). Eles representam as relações espaciais

entre as partes e, entre elas, o contexto urbano, mas também representam as principais ideias definidoras do projeto como: os espaços livres estruturantes e os volumes criados, a insolação e a orientação dos planos, os fluxos nos planos e entre os diferentes planos.

Figura 10 – Pranchas com croquis dos estudantes do quarto período da FAU/UFRJ





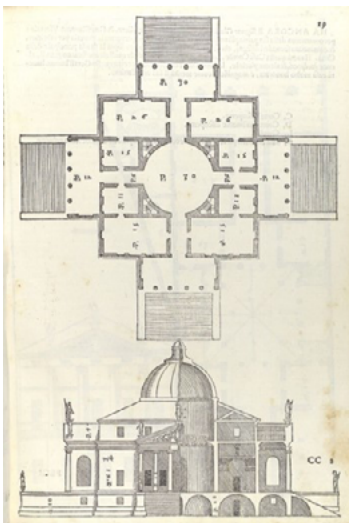
Fonte: Disciplina Ateliê Integrado I, 2012

Desenhos técnicos arquitetônicos

A terceira representação que apresento nesta retrospectiva é o conjunto de desenhos arquitetônicos composto basicamente de seções horizontais — as plantas, as seções verticais; os cortes e as elevações; as vistas dos diferentes planos das fachadas. Tais representações já fazem parte do processo projetual há muito tempo, tendo sido expressões gráficas de grande presença no Renascimento com os desenhos de Filippo Brunelleschi (1377-1446), Donato Bramante (1444-1514), Andrea Palladio (1508-1580), Leon Battista Alberti (1404-1472), Leonardo da Vinci (FIGURA 11A E FIGURA 11B).

Figura 11

A – Desenho de Andrea Palladio, Villa Rotonda (c1566): planta, corte e fachada



B – Foto da Villa

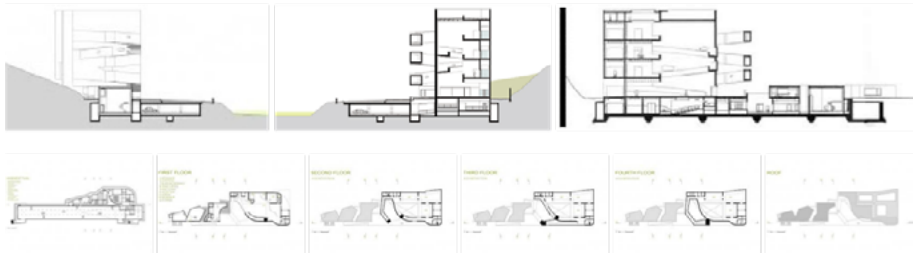


Fonte: Palladio (1570) e Villa la Rotonda (c2024)

Os desenhos arquitetônicos se aperfeiçoaram muito após a criação, pelo matemático Gaspard Monge (1746-1818), da geometria

descritiva, que é a base até hoje das representações técnicas da arquitetura e do urbanismo (FIGURA 12).

Figura 12 – Desenhos da Fundação Iberê Camargo, em Porto Alegre (1995), projetada pelo arquiteto Álvaro Siza



Fonte: Portal Vitruvius (2008)

Representações no ensino, pesquisa e extensão na FAU/UFRJ

Na segunda parte, apresento imagens de experiências mais pessoais que integram a pesquisa, o ensino e a extensão ao longo dos meus anos na FAU/UFRJ — imagens da paisagem metropolitana, imagens das águas, imagens das luzes, imagens dos sons e imagens das crianças. Trabalhos desenvolvidos com diferentes objetivos, que envolvem objetos de diferentes escalas, perpassam métodos de abordagem, resultando em inúmeras representações distintas, ou imagens, como aqui estão sendo denominadas.

Imagens da paisagem metropolitana

O que eu chamo de “Paisagem Metropolitana” foi um projeto de extensão desenvolvido entre 2010 e 2012, coordenado pela professora Vera Regina Tângari, com a verba da FAPERJ, no Programa de Pós-Graduação em Arquitetura (PROARQ). A proposta foi analisar a paisagem metropolitana transformada pela rodovia de logística — o Arco Metropolitano do Rio de Janeiro, criado com o objetivo de conectar o Complexo Petroquímico do Rio de Janeiro (COMPERJ) ao Porto de Itaguaí.

Na época, em 2010, estava sendo desenvolvido o Plano Diretor do Arco Metropolitano do Rio de Janeiro, com uma abordagem não participativa, avaliando os efeitos econômicos e mitigações ambientais, principalmente. Em contraponto, a pesquisa envolveu um

amplo projeto de extensão para a escuta das comunidades diretamente impactadas ao longo de importantes trechos da rodovia, por meio de oficinas participativas.

O preparo para o desenvolvimento das oficinas participativas envolveu a coleta de dados bibliográficos e demográficos, mas principalmente dados coletados em campo, por meio de visitas técnicas feitas por todo o percurso da rodovia e nas áreas adjacentes com probabilidade de serem mais impactadas. Desse modo, o conhecimento do extenso território (o Arco Metropolitano possui cerca de 150 km) foi adquirido por meio de sobrevoos, por terra e por mar, principalmente, na área da APA de Guapimirim, na Baía de Guanabara, local de uma comunidade pesqueira, bastante vulnerável com a implantação do COMPERJ (FIGURA 13). Na época, o Arco estava sendo construído, e em muitos trechos os serviços ainda não haviam começado. Logo foi possível acompanhar todo o processo, desde a implantação até sua consolidação, anos depois.

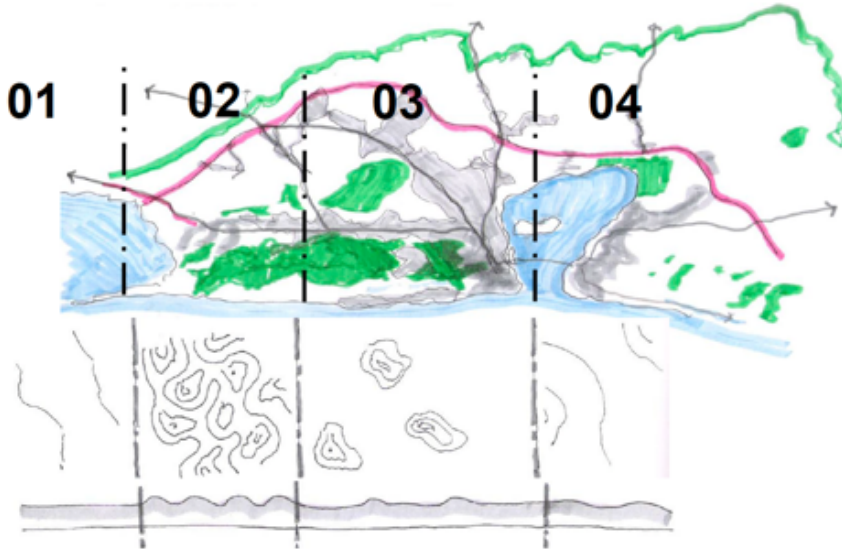
Figura 13 – À esquerda, fotografia da obra do Arco Metropolitano em visita técnica por terra; no centro, fotografia da APA de Guapimirim, Baía de Guanabara, em visita técnica por mar; e, à direita, fotografia aérea em sobrevoo da obra do Arco.



Fonte: Grupo Lugares e Paisagens (2010)

Como resultado do primeiro sobrevoo, o professor Jonathas Magalhães da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PU-C-Campinas) sintetizou, com o uso de croquis, as quatro principais unidades de paisagem (paisagens que guardam entre si aspectos homogêneos) usando o suporte geobifísico — a topografia, as águas, as grandes massas de espaços livres vegetados — e as áreas urbanas como os principais elementos estruturadores (FIGURA 14).

Figura 14 – Croquis demonstrando as quatro unidades de paisagem interceptadas pelo Arco Metropolitano do Rio de Janeiro



Fonte: Prof. Dr. Jonathas Magalhães (2010)

Esses croquis, durante as discussões na primeira Oficina de Arquitetura da Paisagem do Arco Metropolitano, realizada na FAU/UFRJ, contribuíram para a definição da localização das Oficinas Locais de Arquitetura da Paisagem, quatro no total: Itaguaí, Seropédica, Nova Iguaçu e Guapimirim (FIGURA 15). A primeira oficina discutiu a paisagem metropolitana interceptada e impactada pela rodovia, e as demais discutiram os impactos nas escalas locais.

Figura 15 – Cartazes de divulgação das Oficinas de Arquitetura da Paisagem – Arco Metropolitano do Rio de Janeiro

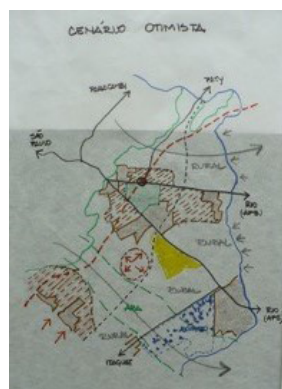
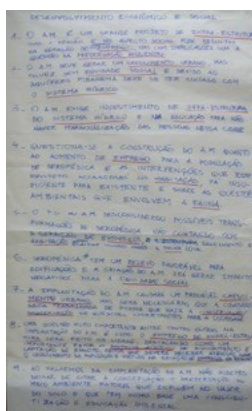


Fonte: Grupo Lugares e Paisagens

São as representações — imagens — geradas nessas oficinas pelos atores urbanos convidados, entre os quais estão os mais excluídos no processo de desenvolvimento do Plano Diretor do Arco, o objeto que destaco aqui.

As oficinas eram iniciadas com breves apresentações técnicas, e depois se desenvolviam em torno de duas atividades (FIGURA 16): a primeira era o jogo das palavras, e a segunda, a cartografia. Ambas eram participativas, construídas pelos grupos de trabalho formados, incluindo diferentes representações sociais. Na primeira atividade, os participantes formulavam orações sobre os impactos esperados no local, com o uso de palavras-chave pré-definidas abordando quatro temas: (I) desenvolvimento econômico e gestão, (II) transportes e redes, (III) centralidades urbanas e (IV) paisagem e planejamento. Na segunda atividade, os participantes buscavam espacializar as orações criadas de modo cartográfico, criando dois cenários: um otimista (se o Arco trouxesse benefícios para o local e, em especial, para a população invisibilizada pelo Plano Diretor) e outro pessimista (se o Arco não trouxesse benefício algum para a população invisibilizada pelo Plano Diretor).

Figura 16 – Oficina em Seropédica. À esquerda, foto dos participantes; no centro, o jogo de palavras; e à direita, a cartografia otimista gerada.

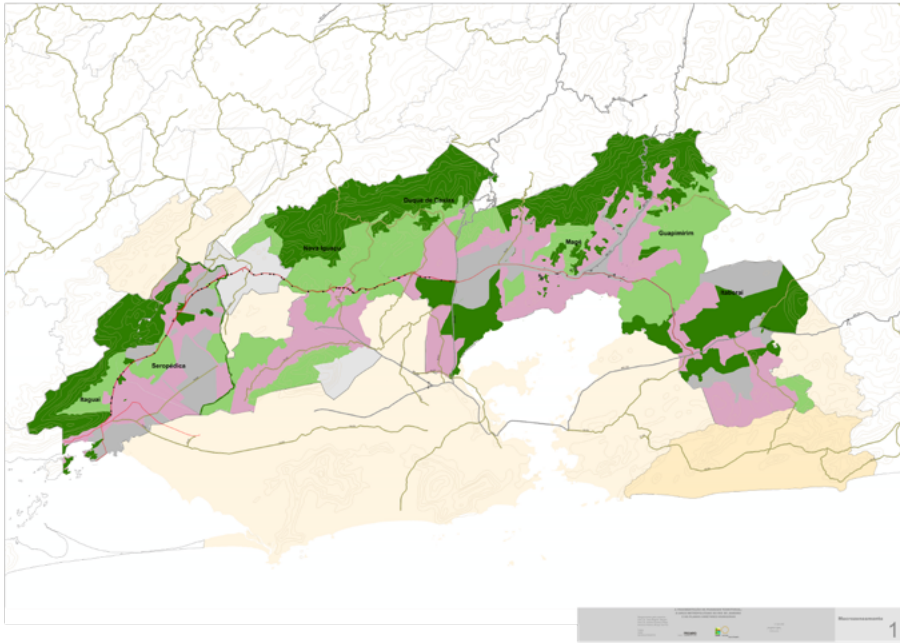


Fonte: Grupo Lugares e Paisagens

Essas representações cotejadas com os Planos Diretores Municipais dos municípios interceptados pelo Arco foram a base para a construção de um mapa de síntese de conflitos, fossem conflitos gerados entre o planejamento dos municípios vizinhos — conflitos

de fronteira —, fossem conflitos gerados entre o planejamento municipal e a realidade da paisagem socioambiental (FIGURA 17).

Figura 17 – Mapa de síntese de conflitos



Fonte: Grupo Lugares e Paisagens

Imagens da paisagem das águas

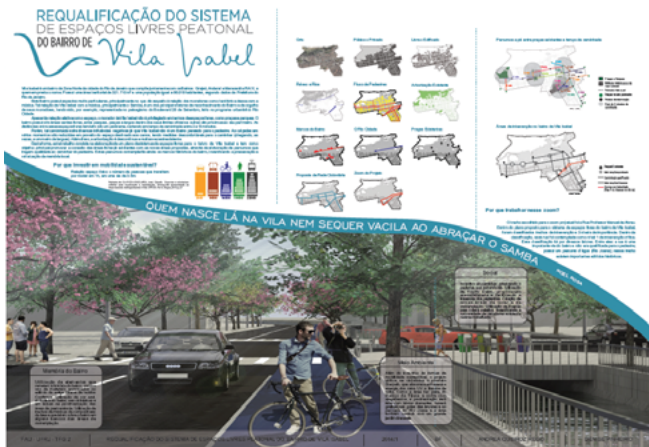
A segunda é a paisagem das águas, paisagem sempre estudada em parceria com a professora Aline Pires Veról, com quem lidero o grupo de pesquisa CNPq Projeto e Representação do Ambiente (proAMB). As imagens aqui apresentadas são de trabalhos de conclusão do curso de Arquitetura e Urbanismo associados às pesquisas desenvolvidas na Pós-Graduação em Arquitetura (PROARQ).

As imagens cartográficas buscam entender o problema na macroescala, sempre cotejando os aspectos da paisagem com a forma urbana e os dados socioambientais. Na mesoescala, muitas vezes são utilizados cortes e plantas cadastrais, e na microescala, além de cortes e plantas, são utilizadas perspectivas e maquetes; essas últimas principalmente como representação das soluções arquitetônicas propostas, representações prospectivas.

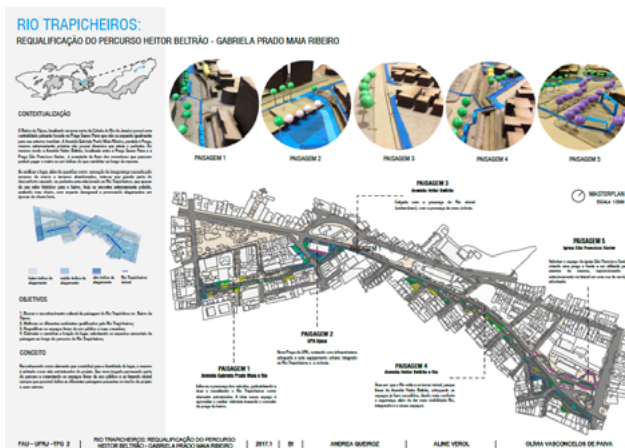
Os dois primeiros trabalhos apresentam soluções para a Sub-bacia do Canal do Mangue. O primeiro trabalha com a questão da mobilidade urbana associada à paisagem do Rio Maracanã (FIGURA 18A), e o segundo propõe projetos de intervenções nas áreas livres públicas ao longo do Rio Trapicheiros, como ação para minimizar as enchentes na área (FIGURA 18B).

Figura 18

A – TCC de requalificação da paisagem do Rio Maracanã



B – TCC de requalificação da paisagem do Rio Trapicheiros

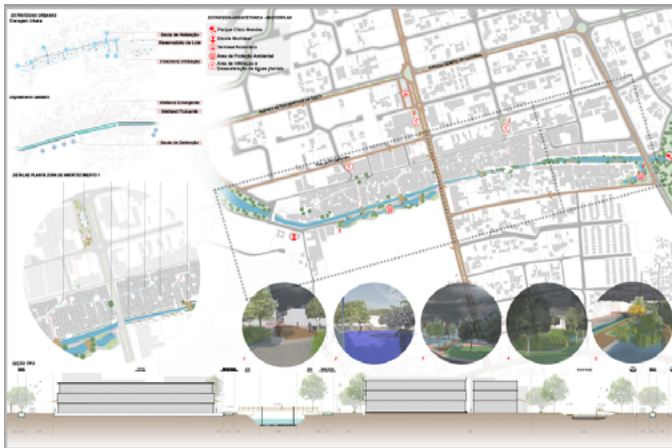


Fonte: Denise Pinheiro (2014) e Olívia Paiva (2017), egressas da FAU/UFRJ

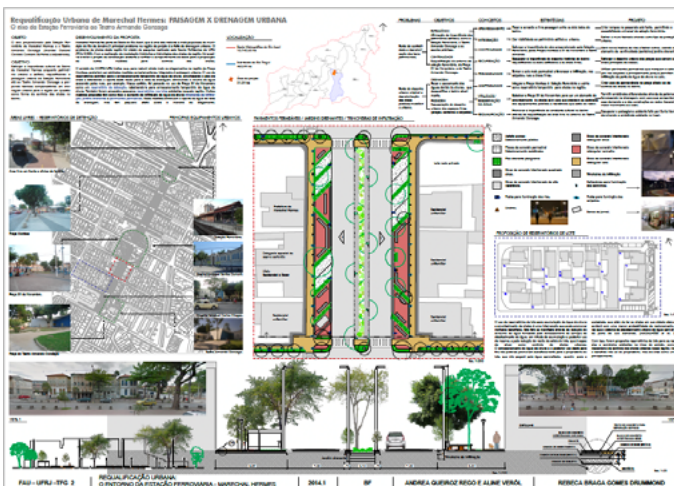
O terceiro trabalho apresenta propostas para a melhoria das enchentes na comunidade situada às margens do Canal das Taxas (Bacia de Jacarepaguá) com a criação de infraestrutura verde e azul (FIGURA 19A), sendo esta a mesma abordagem do quarto trabalho para a solução de problemas de enchentes em Marechal Hermes, no Rio Tingui, Sub-bacia dos Rios Acari/Pavuna/Meriti (FIGURA 19B).

Figura 19

A – TCC de requalificação da paisagem com Canal das Taxas



B – TCC de requalificação da paisagem do Rio Tingui



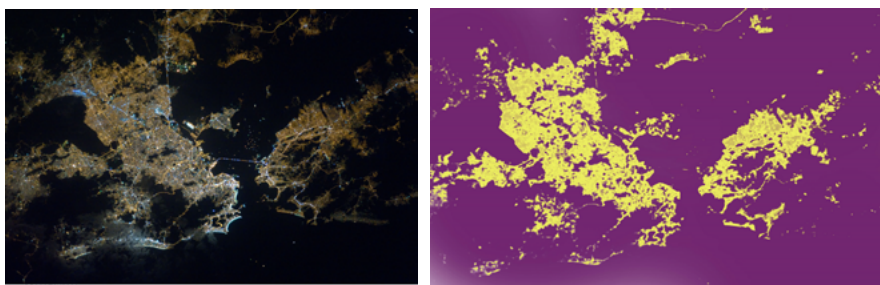
Fonte: Caroline Pignaton (2015) e Rebeca Drummond (2014), egressas da FAU/UFRJ

Imagens da paisagem noturna

A paisagem noturna é uma pesquisa iniciada com a professora Mariana Lima da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) que teve prosseguimento com a doutoranda Desirée Kuhn, na qual as imagens noturnas de satélites são utilizadas com uma nova abordagem para o estudo das redes urbanas, na escala territorial, e da forma urbana e das dinâmicas noturnas das cidades. Esta pesquisa é limitada às imagens noturnas brasileiras produzidas pelos satélites da NASA disponibilizadas gratuitamente e, até o momento, focou as regiões metropolitanas do Rio de Janeiro e de Porto Alegre.

A primeira análise é desenvolvida a partir da transformação da imagem noturna em uma imagem binária — luz X escuro (branco e preto). Desse modo, independentemente da qualidade da iluminação pública, é possível atestar as porções territoriais providas de energia elétrica e com uso noturno (FIGURA 20A E FIGURA 20B).

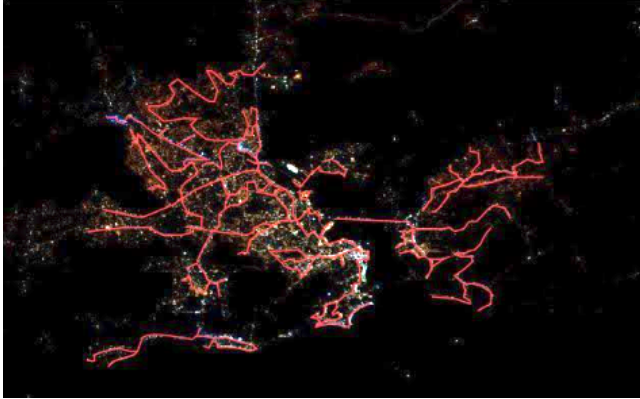
Figura 20A – Imagem noturna da Região Metropolitana do Rio de Janeiro.
Figura 20B – Imagem binária – luz X escuro.



Fonte: NASA, Earth Observatory e Grupo Projeto e Representação do Ambiente

A segunda análise, feita com a aplicação de filtros sobre a imagem, permite saber em função da energia radiante dos faróis dos veículos quais os principais eixos de circulação utilizados à noite; não só rodovias, mas avenidas e ruas (FIGURA 21).

Figura 21 – Representação dos eixos lumínicos: vias de maior fluxo à noite a partir de filtros aplicados em imagem noturna



Fonte: NASA, Earth Observatory e Grupo Projeto e Representação do Ambiente

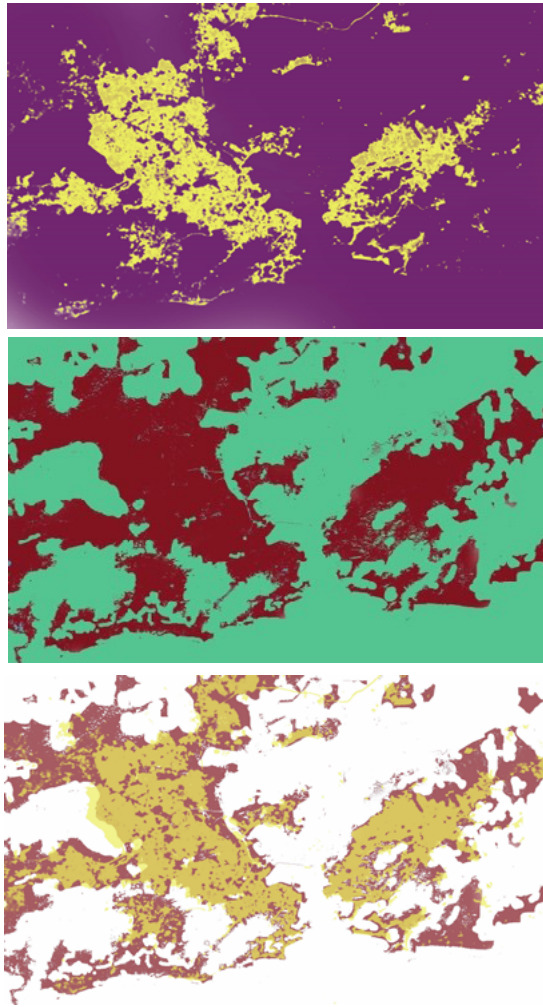
Outra análise desenvolvida envolve o cotejamento das imagens de satélite diurnas e noturnas (FIGURA 22). A partir da imagem diurna, é feita uma cartografia também binária, de espaços livres e espaços ocupados (urbanizados). As duas cartografias binárias — luz X escuro e espaços livres X espaços ocupados — são comparadas, podendo-se avaliar: (I) espaços iluminados e ocupados — a maioria do território urbanizado; (II) espaços iluminados e livres — situações de ocupações irregulares encobertas pela arborização, áreas de lazer noturno, como quadras na praia ou em parques, navios fundeados na Baía de Guanabara; (III) espaços escuros e ocupados — áreas de uso apenas diurno; e (IV) espaços escuros e livres, como áreas de proteção ambiental ou corpos hídricos (FIGURA 23).

Figura 22 – À esquerda, imagem noturna da Região Metropolitana do Rio de Janeiro. À direita, imagem diurna.



Fonte: NASA, Earth Observatory e Google Earth

Figura 23 – Acima, a imagem binária luz X escuro; ao centro, a imagem binária espaços livres X espaços ocupados; e abaixo, a imagem comparada com a sobreposição das duas cartografias anteriores.



Fonte: Grupo Projeto e Representação do Ambiente

Uma outra análise também é feita a partir das imagens noturnas, mas na escala das quadras, na qual já é possível identificar diferentes traçados e formas de ocupação. Nesta análise é considerada a qualidade da iluminação (vapor de sódio, vapor de mercúrio, LED etc.) entendendo que os diferentes tipos de técnica de iluminação empregada têm relação direta com os aspectos socioeconômicos do ambiente (FIGURA 24). Assim, os diferentes tecidos lumínicos são

comparados com dados de IDS ou IDH e com a densidade populacional, buscando relacionar as formas lumínicas aos aspectos sociais e urbanísticos.

Figura 24 – Conjunto de recortes de diferentes tecidos lumínicos, diferentes tecnologias de iluminação e malhas urbanas



Fonte: NASA, Earth Observatory

Imagens da paisagem sonora

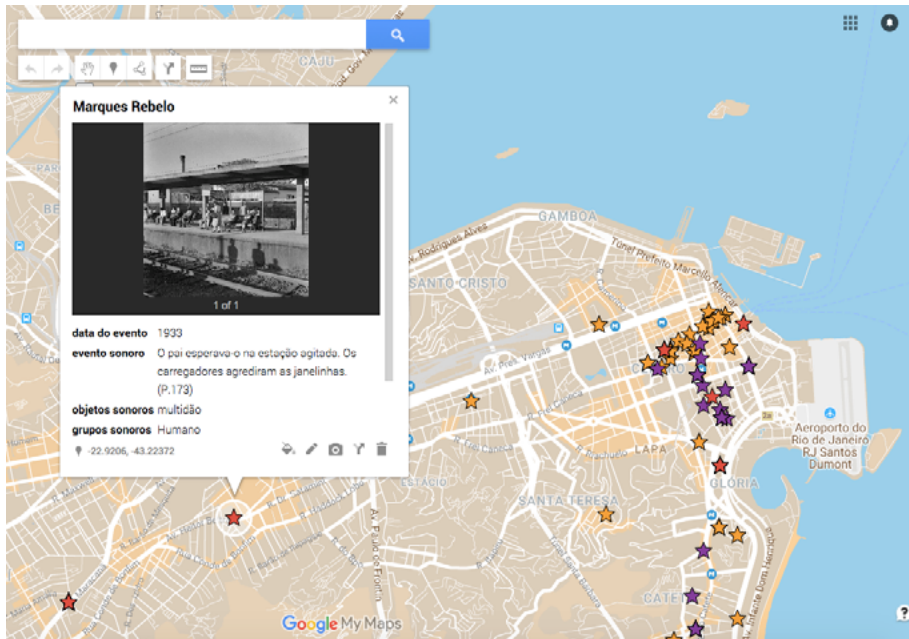
Imagens de sons é o desafio da pesquisa Paisagem Sonora, Memória e Cultura, objeto da bolsa Cientista do Nosso Estado FAPERJ, desenvolvida no âmbito do PROARQ/UFRJ. Como representar os sons de uma cidade? Como transformar sons em imagens sem usar um QR code?

As cidades sempre soaram, mas dificilmente temos registros audíveis desses sons do passado. Deste modo, busco, nos relatos de escritores, em especial dos cronistas, fragmentos desses sons. Escritores da Academia Brasileira de Letras (Machado de Assis [1839-1908], Paulo Barreto [1881-1921], Álvaro Moreira [1888-1964], Marques Rebelo [1907-1973], entre outros) nos permitem escutar a cidade do Rio de Janeiro do passado.

A pesquisa avalia cada fragmento sonoro encontrado nas crônicas publicadas em livros quanto à sua localização e tipo de fonte sonora. Nem todos os sons são passíveis de serem localizados no espaço público da cidade, e os tipos de fontes sonoras são agrupadas em função do meio que as produzem (animal, humano, transporte etc.). Assim, podemos verificar como a paisagem sonora vai se transformando, de modo geral, ao longo do tempo, acompanhando

as transformações da forma urbana, das técnicas e da cultura. Os fragmentos sonoros são então espacializados em uma cartografia interativa, que permite conhecermos o texto da crônica e visualizar, sincronicamente, o ambiente de sua produção (FIGURA 25).

Figura 25 – Mapa sonoro literário



Fonte: Grupo proAMB <www.riosoundscape.org>

Os sons da cidade contemporânea são gravados por meio de passeios sonoros e adicionados a um banco de dados sonoros. Os passeios sonoros são definidos por todas as pesquisas em desenvolvimento (IC, extensão, mestrado e doutorado). Paralelamente, nos passeios sonoros também é avaliado quantitativamente o ambiente. Os passeios sonoros são, portanto, representados pela cartografia, fotografias, medições e gravações (FIGURA 26).

Figura 26 – Registro de um passeio sonoro

Passeio Sonoro Lido
Lido Soundwalk



Legenda:



Do acesso principal da Escola Municipal Roma, pela Avenida Nossa Senhora de Copacabana virando à Rua Belford Roxo por esta até a Avenida Atlântica, virando à Rua Ronald de Carvalho (contornando a Praça do Lido) entrando na praça pelo portão lateral, circulando nas suas diferentes zonas, saindo pelo mesmo portão e caminhando pela Rua Ronald de Carvalho até a Rua Ministro Viveiros de Castro.

From the main access of the Roma Municipal School, through Nossa Senhora de Copacabana Avenue turning to Belford Roxo street until Atlântica Avenue, turning on Ronald de Carvalho street (going around Lido Square) entering in the square through the side gate, moving by its different zones exiting for the same gate and walking through Ronald de Carvalho street until Ministro Viveiros de Castro street.

Desde el acceso principal de la Escola Municipal Roma, por la Avenida Nossa Senhora de Copacabana, girando a la Rua Belford Roxo por esta hasta la Avenida Atlântica, girando hacia la Rua Ronald de Carvalho (alrededor de la Praça do Lido) entrando a la plaza por la puerta lateral, circulando en sus diferentes zonas, saliendo por el mismo portón y caminando por Rua Ronald de Carvalho hasta Rua Ministro Viveiros de Castro.

Percurso 1-2 . Soundwalk 1-2 . Rota 1-2
(09/08/2012; 10H50)



Ponto 2 . Point 2
(09/08/2012; 11H15)



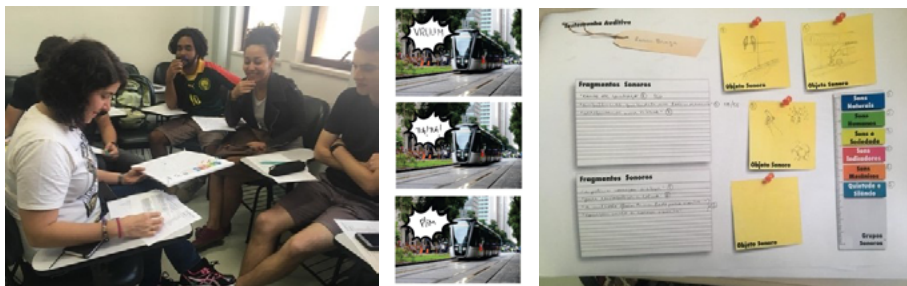
Percurso 2-3 . Soundwalk 2-3 . Rota 2-3
(09/08/2012; 11H25)



Fonte: Grupo proAMB <www.riosoundscape.org>

Além das representações desenvolvidas pelos pesquisadores, coletamos, nas Oficinas de Educação da Escuta, realizadas em parceria com outras instituições, as representações sonoras de inúmeros atores urbanos, como técnicos da Fiocruz ou crianças da rede municipal (FIGURA 27).

Figura 27 – À esquerda, oficina desenvolvida na Fiocruz; no centro, o uso da onomatopeia por uma criança; e à direita, quadro interativo com sons da memória e percebidos no ambiente agrupados por grupo sonoro de tipo de fonte.



Fonte: Grupo proAMB <www.riosoundscape.org>

Imagens da paisagem afetiva

São mais de 50 mil imagens produzidas por crianças e jovens da rede pública municipal da cidade do Rio de Janeiro que responderam, em dois dias mundiais do urbanismo (8 de novembro de 2019 e 2022), suas percepções e desejos para a cidade por meio de palavras e desenhos.

As perguntas foram:

1. O que você vê, ouve e sente no caminho de sua casa até a escola?
2. Como você deseja que seja esse caminho?

Essas perguntas suscitaram representações críticas poderosas que abordam problemas socioambientais, de infraestrutura, de segurança pública, de carência de equipamentos urbanos, entre outras questões.

As seguintes representações/imagens são fruto de convênio firmado pelo PROARQ/FAU/UFRJ com a Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro, por meio do Escritório de Planejamento, que objetiva incluir as crianças e jovens no planejamento urbano da Cidade (Criança Participa, c2024).

Esse projeto de extensão liderado pelas professoras Giselle Arteiro, Vera Tângari e por mim já envolveu mais de 120 estudantes da FAU/UFRJ e possui relação direta com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, isto é, a análise das respostas obtidas se apoiam nos 17 ODS (FIGURA 28).

Figura 28 – Pannel montado com os desenhos das crianças e apresentado no Fórum Mundial de Urbanismo, Abu Dhabi (2020)



Fonte: Grupos GAE, ProLUGAR e proAMB – PROARQ/FAU/UFRJ

Denomino “paisagem afetiva”, pois a síntese deste projeto é o mapeamento afetivo, isto é, a espacialização dos afetos e desafetos das crianças com a cidade onde moram, por meio de imagens.

Por fim, agradeço o apoio da FAPERJ em todas as pesquisas aqui apresentadas, e a oportunidade de trazer um pouquinho deste mundo infinito das imagens estudadas, trabalhadas, criadas pela e para a Arquitetura e Urbanismo.

REFERÊNCIAS

2006: THE RENZO Piano Expansion and Renovation. *The Morgan Library & Museum*, New York, c2024. Disponível em: <https://www.themorgan.org/architecture/renzo-piano>. Acesso em: 8 maio 2024.

CRIANÇA PARTICIPA. *Criança Participa*, Rio de Janeiro, c2024. Secretaria Municipal de Fazenda e Planejamento | Subsecretaria de Planejamento e Acompanhamento de Resultados | EPL - Escritório de Planejamento. Disponível em: <https://participacao-infantil-pcrj.hub.arcgis.com/>. Acesso em: 8 maio 2024.

DRUMMOND, R. Projeto urbano em sítio histórico aliado a técnicas compensatórias em drenagem urbana, Marechal Hermes, RJ. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Arquitetura e Urbanismo) – Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

ESTUDIOS para un Edificio en Planta Centralizada I. *Leonardo da Vinci*, [s. l.], c2024. Disponível em: <https://www.leonardo-da-vinci.net/es/estudios-para-un-edificio-en-planta-centralizada-i/>. Acesso em: 8 maio 2024.

MORGAN Library & Museum McKim Building. *Architect*, [s. l.], 17 July 2012. Disponível em: <https://www.architectmagazine.com/project-gallery/morgan-library-museum-mckim-building-293>. Acesso em: 8 maio 2024.

MUSEO della Civiltà Romana. *Google Arts & Culture*, [s. l.], c2024. Disponível em: <https://artsandculture.google.com/partner/museo-della-civiltà-romana>. Acesso em: 8 maio 2024.

MUSEU dos Coches / MMBB Arquitetos. *Archdaily*, [s. l.], 2015. Disponível em: <https://www.archdaily.com.br/br/767363/museu-dos-coches-paulo-mendes-da-rocha-mmbb-arquitetos-bak-gordon-arquitectos/55626ad7e58ece191b000291-museu-dos-coches-paulo-mendes-da-rocha-mmbb-arquitetos-bak-gordon-arquitectos-maquete>. Acesso em: 8 maio 2024.

NIEMEYER, O. Caminho Niemeyer. *Oscar Niemeyer*, [Niterói], [1997]. Disponível em: <https://www.oscarniemeyer.org.br/obra/pro478>. Acesso em: 8 maio 2024.

NIEMEYER, O. Conjunto da Pampulha. *Oscar Niemeyer*, [Belo Horizonte], [1940]. Disponível em: <https://www.oscarniemeyer.org.br/obra/pro008>. Acesso em: 8 maio 2024.

O MAPA de Leonardo da Vinci que transformou cartografia em ciência. *Geocracia*, Brasília, 24 abr. 2022. Disponível em: <https://geocracia.com/o-mapa-da-vinci-que-transformou-cartografia-ciencia/>. Acesso em: 8 maio 2024.

PAIVA, O. Rio Trapicheiros: requalificação do percurso Heitor Beltrão–Gabriela Prado Maia Ribeiro. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Arquitetura e Urbanismo) – Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

PALLADIO, A. Villa Almerico (Villa Rotunda), from I quattro libri dell'architettura di Andrea Palladio (Book 2, page 19). *The Met*, New York, [1570]. Disponível em: <https://www.metmuseum.org/art/col-lection/search/698054>. Acesso em: 8 maio 2024.

PIGNATON, C. Projeto do sistema de espaços livres da Favela do Terreiro e seu entorno. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Arquitetura e Urbanismo) – Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

PINHEIRO, D. Requalificação do sistema de espaços livres peatonal do bairro de Vila Isabel. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Arquitetura e Urbanismo) – Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PORTAL VITRUVIUS. Sede da Fundação Iberê Camargo. *Projetos*, São Paulo, ano 8, n. 093.01, Vitruvius, set. 2008. Disponível em: <https://vitruvius.com.br/revistas/read/projetos/08.093/2924>. Acesso em: 8 maio 2024.

RIO SOUNDSCAPE. Mapa sonoro literário. *Rio Soundscape*, Rio de Janeiro, c2024. Disponível em: <http://www.riosoundscape.org/mapa-sonoro--soundmap.html>. Acesso em: 8 maio 2024.

SECRETARIA GERAL. “Homem Vitruviano” de Da Vinci ganha versão em 3D. *ASMETRO-SI*, Duque de Caxias, 17 jul. 2017. Disponível em: <https://asmetro.org.br/portalsn/2017/07/17/homem-vitruviano-de-da-vinci-ganha-versao-em-3d/>. Acesso em: 8 maio 2024.

VILLA LA ROTONDA. Esperienze. *Villa la Rotonda*, Vicenza, c2024. Disponível em: <https://www.villalarotonda.it/esperienze>. Acesso em: 8 maio 2024.

AULA 11

A POÉTICA DOS FRACTAIS

Palestrante: Marco Lucchesi
(Academia Brasileira de Letras
e Faculdade de Letras/UFRJ)

(Transcrição: Marianna Reis Seixas)

Gostaria de evocar dois ou três pontos acerca da minha relação com os fractais, a matemática e o diálogo com Benoît Mandelbrot (1924-2010).

Começo com essa belíssima imagem do grupo Fractarte, de Rodrigo Siqueira: uma fascinante *explosão fractal* — imagem que usei na curadoria da exposição de Leonardo da Vinci, na Biblioteca Nacional (FIGURA 1). O grupo Fractarte é um selo de qualidade na relação poesia e matemática, de forma conjunta e inafastável, como é próprio de certa tradição.

Figura 1 – Explosão fractal



Dos gregos a Godfrey Hardy (1877-1947), trata-se de uma vertente matemática. O belo e a geometria guardam matrizes de diálogo, como pensava Paul Valéry (1871-1945), em *Eupalinos*. A tradição platônica advoga o princípio da beleza no *Teeteto*, no *De docta ignorantia*, nos *Principia mathematica*.

Os fractais encantam e redimem. Salvaram-me da didática do ensino médio, confirmando uma atração, inconfessável, que a matemática exercia sobre mim, de forma ambígua e atormentada.

Um sentimento misto me abrigava e confundia. Temor e tremor, medo e fascínio desde cedo. Penso no susto aritmético, ao descobrir, na casa dos seis anos, que era impossível atingir o último número. Foi quando ouvi, pela primeira vez, a palavra *infinito*.

Já adolescente, por volta dos quinze anos, seguia capturado pela tradição platônica, por uma espécie de relação híbrida, renascentista, heterodoxa, entre número e palavra. Assistia ao debate do grande *não* aristotélico à condição ôntica dos números, à sua presumida autonomia, enquanto entes que existissem em si e por si. Ou, como diria Giovanni Reale (1931-2014), as *ideias-número*, que presidem à construção platônica, bem apontadas por Elisabetta Cattanei (1966-). O problema permanece vivo na história (e na filosofia) da matemática. Basta pensar nas obras de Alain Badiou (1937-) ou Gilles Deleuze (1925-1995), para não sair do ambiente filosófico. Reporto-me ao cerne da questão que dialoga indiretamente com os fractais: a relação da *ideia* com o *real*, entre *mimesis*, *metéxis* ou *parousia*. Toda uma série de altos desafios no campo da ontologia.

Minha paixão pela *mathesis* vem de longe. Tormento e desespero, de forma bífida e mercurial, entre repulsa e adesão.

O velho ensino insistia na tese das duas culturas — criticadas por C. P. Snow (1905-1980) —, ao contrário dos autores com os quais operava, que defendiam uma cultura ampla, sem excluir a matemática. A dupla divisão é irreal, artificialmente construída, como demonstrou Keith Devlin (1947-). Existem aptidões e hemisférios cerebrais, que não implicam barreira epistemológicas.

Cresci com o poema de Novalis (1772-1801) *Wenn nicht mehr Zahlen und Figuren / Sind Schlüssel aller Kreaturen*: diálogo entre números, figuras, sentimentos. A partir de seus escritos esparsos, viziños, em alguns pontos, da visão de Gottfried Leibniz (1646-1716), busquei a *poesia da matemática* e a *matemática da poesia*, apontados por Novalis. E, com ele, Eugène Guillevic (1907-1997), Leonardo

Sinisgalli (1908-1981), Hans Magnus Enzensberger (1929-2022), tão diferentes entre si, filhos indiretos do poeta alemão. O mais profundo de todos, nesse diapasão, foi o poeta e matemático romeno Ion Barbu (1895-1961), autor de um livro maravilhoso, intitulado *Joc secund*, para o qual existe um lugar, um *tópos noétos*, no qual a geometria e a poesia dialogam.

Dou apenas algumas referências sobre meu resgate pessoal acerca de uma poética da matemática.

Os fractais me arrebataram. Um divisor de águas. Imagens inesquecíveis, a partir de uma visão estruturante. Começam aqui minhas bodas numéricas.

Mandelbrot abriu caminho no coração da epistemologia. Uma tensão entre *imago* e número.

A figura na matemática deixou de ser um insulto, passando a feramental, espécie de telescópio (ou microscópio) para visualizar o plano complexo como quem olha de perto o número selvagem, que escapa à tradição antiga, segundo a qual os racionais são divinos, e os irracionais, demoníacos. Hoje, a teologia numeral diz o oposto: os racionais vêm do demônio, ao passo que os irracionais, de Deus. E a metáfora teológica corresponde a um dispositivo freudiano: recalque entre a ciência e teologia, campo de conflagração e paz.

Mandelbrot legitima a episteme da imagem, na contramão dos velhos matemáticos — como vemos na obra *Objetos fractais* — que se jactavam de não abrigarem uma só imagem em seus livros. Representava uma capitulação racional, um adjutório reprovável.

Objetos fractais varreu parte da herança platônica, via Euclides (não o do quinto postulado, cuja dissonância é clara), segundo a qual a natureza é feita de círculos, quadrados ou triângulos. São antes simplificações do real, formas de abordagem que correspondem a uma estética helenizante, *stricto sensu*, a uma “cosmética no mundo” (κόσμος: ordenamento, coesão, harmonia).

O neologismo fractal é, de per si, uma conquista, poética de contrários que se relacionam, a parte e o todo, cuja ponte é uma transição, quebrada e irregular, com mudança de ótica. Um pequeno exemplo, específico, vai além da geometria. Considerando a parte maior que o todo, no domínio fractal, caem diversos argumentos de ordem aristotélico-tomista.

Contemplar o olho do abismo: eis a vertigem fractal, a partir da homotetia, da figura que se expande para dentro, infinitamente, ancorada na autossemelhança, o precioso fio de Ariadne. Lembro o famoso artigo “Quanto mede o litoral da Inglaterra?”. Um verme, um ser humano e um satélite medem a costa. Ao fim e ao cabo, em que pese a diversidade dos resultados, permanece a proporção, a escala, sob as mesmas propriedades apontadas acima.

Também as cores representam um corte. A novidade não se esgota na cor propriamente dita, mas na reeducação do olhar, como na astronomia, sem cuja distinção cromática não saberíamos ler as camadas abissais de anos-luz, que reconquistam profundidade.

Mandelbrot, poeta da matemática, tornou-se uma espécie de Colombo da nova geometria, formando um amplo glossário tal qual os navegadores portugueses na descoberta de ilhas e continentes a cujos relevos atribuíram nomeação, diante de um mundo que mal conheciam. Penso nas trombas de elefante, nos tremas. Como diria o poeta Mario Luzi (1914-2005): batismo de fragmentos.

Cores e imagens deixaram o exílio oitocentista, laplaciano. Já não encarnam formas demoníacas, antes exorcizáveis, nos templos assépticos da *mathesis*. De inimigas, passam a colaboradoras, parte integrante da epistemologia. Não mais adorno, ou estrutura vicária, mas inerente ao fazer matemático, à capacidade intelectual de *enxergar*, enquanto os motores da homotetia aceleram a vertigem visual.

Os fractais trouxeram-me de volta aos estudos geométricos, a toda uma série de pressupostos e reflexões, sem os quais, obviamente, eu acabaria naufragando na vastíssima superfície, sem os compreender verticalmente, ao longo do plano complexo.

Esse diálogo me levou a estreitar laços de amizade com Solomon Marcus (1925-2016), discípulo de Barbu, e Ubiratan D'Ambrosio (1932-2021), fundador da *etnomatemática*; retomar diálogos havidos com Devlin, diante da *soft mathematics*; com a professora Ana Maria Haddad, na interface da semiótica e da linguagem de Frege. E a meus leitores dos *Hinos matemáticos*, na contramão do Casanova freudiano, citado na *Psicopatologia da vida cotidiana*.

Este tem sido o meu desejo: recuperar a Cultura com C maiúsculo. Não duas formas redutivas e antagônicas, mas a humanista e a científica, que se limitam ao ruído e ao desacordo. Esse tem sido o meu grande não!

Lembro de Oswald Spengler (1880-1936), ao emprestar história à matemática, como se fosse a narrativa de *estilos de época*: a matemática *grega* é diferente daquela *barroca*. Vejam o lugar dos irracionais entre a primeira e a segunda. Não aprofundo o tema de que tratei alhures. Sublinho tão somente a inserção da matemática na cultura, dentro de uma história não linear, descontínua.

À altura de meus 25 anos, enviei quatro perguntas a Mandelbrot. Sem resposta, guardei o recibo do correio. Eu questionava até que ponto a tentativa de domar o caos, segundo uma geometria *quebrada*, não seria uma astúcia da razão platônica, para amansar o que foge aos domínios euclidianos. A ordem que saiu pela porta voltou pela janela. Havia outras questões derivadas.

Penso no admirável *The Unreasonable Effectiveness of Mathematics*, de Eugene Wigner (1902-1995), ao criticar uma aplicação ingênua e mecânica da matemática, sobretudo na economia. Combatia ele também certas formas de controle, vieses dogmáticos, que, de algum modo, se mostravam claros para mim no campo fractal. Algo da autonomia do mundo três de Popper.

Assim, passei a conviver com os fractais, sem perder esse misto de tormento e abandono, aplacado pela beleza.

Busquei o desenho de uma breve ego-história, espécie de declaração de princípios, sobre dois ou três pontos que informam certo laboratório de minha criação poética. Tanto a dizer, tornei-me caçador da brevidade. A síntese me atrai de modo visceral. Insisto, mais uma vez: a poesia e a matemática não são inimigas.

AULA 12

AS IMAGENS DO UNIVERSO E SUAS CONSTELAÇÕES

Palestrante: Helio Jaques Rocha Pinto

(Observatório do Valongo/UFRJ)

*(Transcrição: Maria Eduarda Fionda,
Mariana Soares de Alencar
e Nathan Siqueira Muniz do Amaral)*

Vou abordar o tema do emprego de imagens na astronomia e destacar a evolução desse uso desde os seus primórdios.

Não podemos discutir o papel das imagens na astronomia sem primeiro observar atentamente o céu noturno. É no firmamento que encontramos um mundo novo, um universo e um contexto completamente desconhecido que merece ser compreendido, inclusive para a nossa sobrevivência. Quando os primeiros seres humanos conseguiram identificar que o céu estava repleto de imagens e informações, perceberam que muitas dessas informações eram essenciais para a sobrevivência da nossa espécie. O céu não apenas anunciava a chegada da chuva ou a previsão de períodos mais secos, mas também servia de guia para a navegação geográfica, previsões climáticas sazonais e descobertas relacionadas à agricultura. Tudo isso se tornava possível graças à observação das estrelas.

Não há uma região do céu que talvez seja mais digna de merecer essa atenção, e de causar maravilhamento, do que esta que eu selecioni. À esquerda vemos a *constelação de Órion*, um grande caçador. Mais ou menos pelo centro vemos a *constelação de Touro*, e bem no cantinho direito as *Plêiades*. Essa região do céu despertou o interesse de diversas culturas ao longo da história. Praticamente todas as grandes civilizações possuíam narrativas destinadas a explicar o arranjo das estrelas e, ao mesmo tempo, justificar a sua aparição

nos céus. Até mesmo os nossos antigos tupis-guaranis atribuíam significado às Plêiades, aquele pequeno aglomerado no canto direito, chamando-os de *seïru*. Esse nome sugeria a imagem de um pequeno enxame de abelhas, e eles utilizavam o aparecimento dessa constelação, a rigor, desse aglomerado — um pouco antes do nascer do sol —, como um meio de calcular a passagem dos anos.

O progresso gradual no entendimento da astronomia está intrinsecamente ligado ao reconhecimento de que muitos desses eventos seguiam padrões regulares. Se, por algum motivo, o céu fosse completamente caótico e mudasse a cada ano ou mês, não teríamos alcançado os avanços significativos que conquistamos desde a Idade da Pedra. A primeira observação de regularidade estava relacionada com o ciclo do dia. Uma mesma localização e paisagem apresentava variações distintas de luminosidade durante o dia e a noite. Essa regularidade, juntamente com outros padrões relacionados às estações do ano, decorre dos movimentos do nosso planeta. Os movimentos de rotação, responsáveis pelo ciclo dos dias e noites, e de translação ao redor do Sol determinam o campo de estudo da astronomia desde o seu início. Assim, desde sua origem, a astronomia consiste em uma disciplina dedicada à observação, e essa observação implica, literalmente, a análise de imagens — que é o tema central da nossa Cátedra.

Na astronomia usualmente não temos acesso direto aos objetos de estudo. Na maioria das vezes, não podemos conduzir experimentos da mesma forma que nas disciplinas da física, biologia e química; nosso principal método é a observação. Portanto, a imagem e as diversas formas de visualização desempenham um papel crucial em nossa disciplina. Para um leigo, uma imagem astronômica pode parecer, em primeiro lugar, uma expressão de arte e beleza. No entanto, para o astrônomo, a imagem carrega informações diretas sobre os processos físicos que ocorrem. É por essa razão que muitas vezes as imagens astronômicas são cuidadosamente elaboradas e processadas.

Para as civilizações antigas, o céu era uma fonte de informações diretas, e essas informações eram particularmente valorizadas quando se tratava de regularidades que podiam ser utilizadas para o benefício da comunidade. No entanto, também havia eventos inexplicáveis dentro da cosmologia da época. Sabemos que o aparecimento de cometas frequentemente era associado a desastres. A própria palavra “desastre” tem sua origem em eventos astronômicos, referindo-se a astros que não seguiam os padrões convencionais.

Cometas, bem como o surgimento de novas estrelas (uma classe específica de estrelas em erupção) e supernovas (quando estrelas maciças explodem), frequentemente eram recebidos com certo terror. Embora nem todos esses eventos tenham registros, sabemos que os cometas, em particular, provocavam pânico regularmente entre a população local. Isso levou as civilizações antigas a dedicarem-se à observação do céu, a fim de detectar o aparecimento de novas estrelas, cometas e outros fenômenos que talvez fossem interpretados como mensagens das divindades que habitavam o céu. Essa necessidade de observação celestial foi um fator crucial para o desenvolvimento do mapeamento do céu. O que nos referimos como o “céu”, do ponto de vista astronômico, é a esfera celeste.

Esse processo de mapeamento ocorre de duas maneiras distintas: a abordagem matemática, na qual são traçados planos, pontos cruciais e os trajetos celestiais do Sol, um trabalho que corresponde ao que os astrônomos profissionais fazem, resultando na criação da esfera celeste astrométrica, com sua completa métrica. Ao mesmo tempo, o céu é enriquecido com histórias que dão origem às constelações, das quais o zodíaco representa o conjunto mais reconhecido. Essas narrativas não foram criadas por mero capricho; em vez disso, nasceram da necessidade de observar o céu e identificar suas estrelas. As histórias deram origem a alinhamentos entre as estrelas e, além disso, serviram para transmitir conhecimento oralmente, facilitando que as gerações futuras reconhecessem essas constelações. Afinal, naquela época, as representações visuais eram rudimentares, tornando essas narrativas fundamentais para a compreensão e memorização das constelações no vasto céu estrelado.

A escultura feita no ano 200 a.C. e conhecida como *Atlas Farnese* encontra-se atualmente em um museu na Itália. Ela mostra a representação da esfera celeste, na forma de constelações, daquela época — as constelações que eram reconhecidas pelos gregos e romanos. Essas constelações são as chamadas *48 constelações clássicas reconhecidas por Ptolomeu*, e todas elas ainda existem e estão também no nosso céu. Desde então, outras constelações novas foram criadas.

A esfera celeste daquelas duas formas, tanto na sua forma metrificada quanto na sua forma poética — povoada de histórias —, desenvolveu-se em novos conceitos. Como, por exemplo, na *esfera armilar*, que são esses instrumentos utilizados para acompanhar o movimento tanto da Terra, que está representada no centro da esfera, quanto desses planos fundamentais. Já a esfera igual àquela

do Atlas de Farnese é representada, às vezes, em globo, como esse grupo que está abaixo da esfera armilar, onde há as mesmas constelações de Ptolomeu, mas representadas em versão arabizada (inclusive totalmente escrito em árabe). Esse globo data de cerca de 1700. A esfera armilar, por sua vez, devido ao fato de a astronomia ser utilizada para ajudar a navegar e mover-se, veio ser utilizada pelos portugueses como um símbolo do seu império, representada (desenhada) na bandeira do Principado do Brasil. Essa mesma esfera, já modernizada, vai ser, posteriormente, atualizada na esfera celeste que vemos no centro da bandeira da República — é uma consequência direta da outra. E cabe aqui dizer que, embora essa bandeira tenha diversos autores, quem fixou a disposição das estrelas foi justamente o astrônomo Manuel Pereira Reis (1837-1922), que fundou o Observatório do Valongo e era professor da Escola Politécnica. Ainda não existia a UFRJ, mas ele é um dos nossos precursores.

Do ponto de vista da representação poética, observaremos um céu cada vez mais rico em imagens. O mesmo maravilhamento que experienciamos hoje em dia vendo uma imagem de uma sonda espacial pode corresponder ao maravilhamento da surpresa, da alegria que uma esfera celeste representada dessa forma causava nos povos antigos. Pois aqui vemos uma representação mitológica do céu inteiro. Este é o atlas celeste da *Sala del Mappamondo*, que fica em um palácio papal. Pode-se observar todas as constelações antigas representadas, e o autor desse afresco tomou a iniciativa de colocar alguns mitos adicionais que nem estão no céu, mas que eram mitos gregos. Por exemplo, no cantinho superior esquerdo, Zeus sentado na águia; e, no cantinho inferior direito, o carro do Sol, com Faetonte sendo arremessado para fora depois de queimar o céu e criar a Via Láctea.

Esse conceito de planisfério evoluirá. Durante os séculos XVII e XVIII, testemunhamos a criação de diversos planisférios, que eram marcados por sua notável qualidade artística, atraindo atenção até os dias atuais. No entanto, ao longo do século XIX, essa representação da esfera celeste começou a ceder espaço, uma vez que a astronomia passou a adquirir um caráter mais quantitativo. Nesse período, os astrônomos começaram a se concentrar no mapeamento preciso das posições estelares. Apesar disso, o contexto da imagem astronômica continuou a evoluir, porque, mesmo no passado, antes da invenção da fotografia, havia a necessidade de transmitir às gerações futuras o que era observado através de um telescópio. Afinal, nem todos teriam acesso a esse instrumento de observação,

tornando essencial a comunicação visual e descritiva do que os astrônomos viam nos céus.

Assim, as primeiras imagens astronômicas quantitativas começaram a surgir, rompendo com a exclusividade da poesia visual. Galileu desempenhou um papel pioneiro ao criar imagens das fases da Lua, expondo suas crateras e detalhes. Duzentos e cinquenta anos após Galileu, temos o trabalho de Étienne Trouvelot (1827-1895), que elevou esse tipo de desenho a um novo patamar. Trouvelot produziu representações lunares com um nível de detalhamento equiparado ao que seria observado por meio de um telescópio. Além disso, Trouvelot também desenhou outros objetos astronômicos. Na parte superior esquerda, vemos um eclipse solar, no qual ele desenhou pela primeira vez a coroa solar, uma estrutura radiante que só se torna visível durante o eclipse. Na parte inferior, há a tentativa de representar Marte, um planeta que, quando observado através de um telescópio, não apresenta padrões muito distintos. No início do século XX, muitos astrônomos acreditavam erroneamente que estavam vendo canais artificiais em Marte, uma ideia que posteriormente foi refutada. Na parte à direita, observamos o desenho da nebulosa de Orion, que impressiona pela semelhança com uma fotografia real, com exceção, é claro, da tonalidade utilizada. Essas representações visuais desempenharam um papel significativo na transmissão de observações astronômicas, especialmente quando a fotografia ainda não estava amplamente disponível.

Quando falamos sobre imagem, é preciso fazer uma pausa para dizer exatamente o que é luz, pois a imagem corresponde ao registro de ondas eletromagnéticas. Compreender a natureza da luz é essencial para a astronomia. A luz, em sua essência, é um fenômeno eletromagnético que nossos olhos podem detectar. No entanto, o espectro eletromagnético abrange uma gama muito mais ampla e rica de ondas carregando energia. O que comumente chamamos de “luz” é apenas uma pequena região desse espectro, que representa várias ordens de grandeza em termos de comprimento de onda e frequência. O espectro inclui radiações como raios gama, raios X, ultravioleta, infravermelho, micro-ondas e ondas de rádio. Cada uma dessas faixas do espectro carrega informações específicas sobre a fonte emissora. Por exemplo, usamos ondas de rádio para transmitir informações e comunicações a longas distâncias na Terra. No entanto, também podemos utilizar detectores para estudar emissões de raios gama, raios X, ultravioleta e outras radiações que emanam de objetos naturais no espaço. Por esse motivo,

muitas imagens astronômicas frequentemente têm características de “cores falsas”, ou seja, não representam a cor real que veríamos com nossos olhos. Algumas imagens, baseadas na luz visível, buscam ser a representação mais fiel possível das cores que veríamos se pudéssemos captar essa informação ao longo do tempo. Isso é possível por meio de exposições prolongadas, nas quais os detectores ficam abertos por um longo período, permitindo a coleta de luz e, conseqüentemente, a detecção de variações sutis na intensidade luminosa. Além da luz visível, a astronomia utiliza todas as regiões do espectro eletromagnético, incluindo imagens em ultravioleta, raios X e outras faixas, para explorar e estudar o espaço cósmico. Cada parte do espectro oferece informações únicas sobre os objetos celestes e os processos que ocorrem no universo.

A espectroscopia desempenha um papel fundamental na astronomia, permitindo-nos não apenas observar objetos celestes, mas também analisar a composição de sua luz. Essa técnica é crucial, especialmente quando se trata de decompor a luz de objetos astronômicos, incluindo a luz visível e outras faixas do espectro eletromagnético. A importância da espectroscopia reside na capacidade de identificar os elementos químicos presentes em um objeto. Cada elemento emite fótons em comprimentos de onda específicos, resultando em linhas brilhantes em um espectro. Essas linhas correspondem a transições eletrônicas dos átomos, nas quais elétrons se movem de camadas mais energéticas para camadas menos energéticas, emitindo fótons característicos dessas transições. Através da espectroscopia, podemos mapear as características químicas das estrelas e outros objetos celestes, não apenas com base no que vemos no céu, mas também na luz que recebemos. Portanto, quando pensamos em imagens astronômicas, é importante notar que também existem imagens de espectros. O espectro solar é um exemplo notável, frequentemente observado como um arco-íris na atmosfera. No entanto, a resolução do arco-íris visto a olho nu é limitada, e só conseguimos perceber variações na tonalidade da luz. Com instrumentos adequados, como um espectroscópio, podemos observar as linhas escuras no espectro solar, cada uma correspondendo a uma assinatura característica de um elemento químico. Por exemplo, a linha intensa no vermelho é uma linha do hidrogênio, e as linhas amarelas próximas umas das outras correspondem ao sódio. Com base no comprimento de onda dessas linhas, os astrônomos podem identificar e estudar a composição química não apenas do Sol, mas de outras estrelas e objetos no universo.

Agora, ao pensarmos em imagens na astronomia, o público provavelmente pensa nas imagens astronômicas obtidas pela NASA ou por grandes telescópios. Façamos então um apanhado dessas imagens, mostrando o quanto nosso conhecimento avançou desde a primeira imagem, que foi obtida da Terra, a partir da Lua, em uma das missões da NASA (em 1966), até as imagens atuais. Por exemplo, aqui vemos uma imagem que foi obtida por uma sonda chinesa em 1995. Eis uma diferença: na primeira, a Terra estava sendo vista em sua fase crescente a partir da Lua; na imagem de 2015, vemos a Terra cheia, em função da posição que a sonda estava com respeito à Terra, à Lua e ao Sol.

- **Lua**

A superfície da Lua nunca foi tão mapeada quanto hoje em dia. Vemos à esquerda a face visível da Lua, a face que a Lua sempre mostra para nós, com seus mares — que nada mais são do que planícies basálticas (preenchidas, de fato, com basalto, igual àquele que derrama de vulcões aqui na Terra). À direita, vemos o lado oculto da Lua. É uma sorte que esteja voltada para nós justamente a face mais interessante da Lua, porque o lado oculto é basicamente formado por grandes planaltos com crateras envelhecidas. No lado oculto há apenas um pequeno mar, aquele mar ali um pouquinho acima, na direita, chamado *mar de Moscou* — pois foram os russos que o fotografaram pela primeira vez. Temos acesso a muitas informações sobre a Lua. Sabemos que ela apresenta uma atmosfera muito pouco densa, muito irrisória, que não favorece projetos de colonização da Lua — a não ser que o oxigênio seja produzido localmente.

Aqui vemos a imagem do solo lunar. No passado, alguns escritores imaginavam que a Lua pudesse ter habitantes — os chamados de selenitas. Atualmente sabemos que a Lua nada mais é do que um deserto, cheio de granitos e basaltos de forma irregular, formados há quase 4,6 bilhões de anos.

- **Vênus**

Passando para Vênus, eis uma imagem obtida desse planeta a partir do espaço. Vênus é considerado um planeta muito parecido com a Terra, pois tem tamanho e massa bem próximos aos do nosso planeta. Por outro lado, Vênus experimenta um efeito estufa de forma desenfreada. Esse efeito estufa é tão intenso, que Vênus possui uma

camada atmosférica muito densa; a pressão atmosférica na superfície de Vênus é 90 vezes maior do que a que sentimos na superfície da Terra. Todas as imagens de Vênus feitas a partir do espaço são sempre assim, envoltas em nuvens. A única maneira de ver a superfície de Vênus é através de uma outra técnica, por meio de radares. Então, a rigor, o que vemos à direita é um mapa de Vênus produzido por radar. Por essa técnica, ondas luminosas são enviadas ao planeta, e o tempo que elas levam para voltar corresponde ao tamanho do acidente geográfico que está sendo observado naquele momento. Desta forma, Vênus pôde ser mapeado. Essas cores, então, são cores totalmente falsas; apenas representam a variação de relevo.

Vênus, na verdade, não tem muita graça quando visto no nível do solo. Essas são duas imagens de uma sonda soviética que pousou em Vênus. A pressão atmosférica destruiu a sonda e ela conseguiu bater algumas fotos antes de ser destruída. O que vemos é um terreno totalmente basáltico, com uma atmosfera completamente amarelada devido ao ácido sulfúrico.

- **Marte**

Marte é o planeta mais viável para a terraformação — isto é, a transformação em um planeta habitável. Aqui temos Marte, visto do espaço, não mais visto pelo telescópio. Não tem nada a ver com aquela imagem que Trouvelot havia desenhado. Marte possui algumas características interessantes, inclusive um grande desfiladeiro que tem, ao todo, um comprimento maior do que a extensão leste-oeste dos Estados Unidos. Ele é chamado *Valles Marineris* — este que está no centro da imagem, à direita.

Marte também é um mundo desértico, com sua própria história geológica. Além disso, é um dos locais que os humanos começaram a poluir. Há restos de sondas largadas em pontos da superfície. Nessas imagens vemos o traço das rodas do jipe robotizado que está caminhando por Marte. As imagens que mostram a paisagem marciana, com seu solo empoeirado e rochas dispersas, sugerem um passado em que a água desempenhou um papel significativo na formação da paisagem. A presença de óxido de ferro (ferrugem) na superfície é evidência de uma história aquosa em Marte. Só que a água de Marte foi, em grande parte, perdida. O que não evaporou deve estar congelado no subsolo. Isso ocorreu há mais de 2 bilhões de anos, de forma que, hoje em dia, Marte é, de fato, desértico. A atmosfera rosada se

deve à poeira em suspensão. Inclusive há tempestades de areia em Marte que são terríveis; uma delas fez parar de funcionar uma sonda da NASA. Aqui há uma outra imagem, agora mostrando terreno basáltico em Marte. Nela, podemos ver o Sol no céu marciano, bem pequenininho, porque Marte está mais distante do Sol do que a Terra.

- **Júpiter**

O sistema de Júpiter é conhecido através de quatro sondas que o visitaram. Uma das imagens que apresento agora é uma composição de imagens próximas de cada uma dessas luas. Embora não seja uma imagem obtida de uma única perspectiva, essa composição permite observar Júpiter com suas principais luas, conhecidas como as luas galileanas, as quais foram inicialmente descobertas por Galileu Galilei.

Nesta imagem de Júpiter, podemos observar a presença de auroras polares. Essa observação específica foi realizada em ultravioleta, destacando a importância de usar diferentes partes do espectro eletromagnético para obter informações científicas de alta qualidade. Auroras polares em Júpiter, assim como na Terra, são resultado da interação de raios cósmicos do Sol, como elétrons e prótons, que viajam a velocidades próximas à da luz e interagem com a magnetosfera do planeta. Esse fenômeno faz com que essas partículas sigam as linhas do campo magnético, espiralando ao longo delas até colidirem na alta atmosfera ao longo dos polos do planeta.

Vale mencionar também, em termos de imagem, a grande maravilha que cada um desses satélites galileanos traz. Cada um deles é como se fosse um mundo à parte, embora sejam pequenininhos e menores do que a nossa própria lua.

SATÉLITES GALILEANOS

- **Io**

Esta é Io, um mundo coberto de enxofre e óxidos sulfurosos. Vários desses pontinhos pretos são vulcões, que expõem lavas sulfúricas, não a lava magmática como a de nosso planeta, mas sim lava oriunda de rochas de enxofre. Por conta disso, toda a atmosfera e a superfície de Io é coberta desses óxidos de enxofre.

- **Europa**

Europa é um mundo totalmente gelado e deve possuir um oceano abaixo da sua crosta. O movimento desse oceano, junto às forças

de maré de Júpiter, faz com que a superfície eventualmente se quebre, e parte do líquido venha à tona, formando essas linhas. As linhas, então, seriam marcadas pelas substâncias que vêm do oceano, abaixo da crosta, e que depois voltam a ser congeladas.

- **Ganímedes**

Ganímedes mostra ser, provavelmente, um dos únicos mundos com placas tectônicas iguais às da Terra. A variação de relevo que aqui vemos é interpretada dessa forma. Várias dessas manchas brancas são crateras, que mostram o gelo que existe na parte mais interna. Do ponto de vista da constituição interna, a Terra possui um manto de rocha, enquanto esses corpos possuem um manto de gelo.

- **Calisto**

Esse manto de gelo pode ser visto em Calisto, que apresenta uma superfície escurecida por carbonatos lá presentes (basicamente fuligem). Também é ponteadado por manchas brancas, que são crateras que expõem o gelo mais interno.

- **Saturno**

Nada chama mais a atenção do que Saturno. Esse sistema de anéis de grande porte cativa a imaginação humana desde a Antiguidade. Nesta imagem ultravioleta vemos, no hemisfério norte de Saturno, tempestades que ocorriam no planeta no momento da fotografia. Existem várias imagens de Saturno, mas mostrarei apenas algumas devido ao tempo.

A primeira, à esquerda, mostra um dos mistérios de Saturno, algo ainda pouco conhecido, que é a existência desse hexágono no polo norte. Esse hexágono deve estar relacionado a algum tipo de movimento regular das nuvens, mas ainda não temos certeza do motivo. Na direita, vemos Saturno retroiluminado, isto é, o Sol está atrás dessa imagem. Então o que estamos vendo é, na sombra de Saturno, a luz do Sol passando através dos anéis. Na parte lá de baixo, temos uma pequena surpresa: aquela setinha ali é o planeta Terra, que se mostra como um pontinho luminoso (isto é, temos aqui o planeta Terra visto a partir de Saturno).

- **Titã**

Ao redor de Saturno, encontra-se um satélite intrigante chamado Titã. Titã apresenta características que sugerem a possibilidade de abrigar formas de vida, devido à sua atmosfera única, rica em

carbono, e à presença de compostos como metano, etano e outros hidrocarbonetos. Além disso, observações por radar revelaram a existência de oceanos e lagos de hidrocarbonetos, principalmente etano, em sua superfície. As imagens da superfície de Titã obtidas por sondas mostram que a maior parte de sua paisagem é composta de gelo e pequenas pedras, na verdade feitas de gelo misturado com hidrocarbonetos congelados. A busca por sinais de vida em Titã é um tópico de contínua investigação, embora se acredite que, se lá houver vida, seria bastante rudimentar, correspondendo aos estágios iniciais do desenvolvimento da vida, devido à composição química semelhante à que a Terra possuía em seu passado.

- **Encélado e seus criovulcões**

Outro satélite que tem despertado bastante atenção, especialmente devido às imagens que temos obtido, é Encélado. A superfície de Encélado é notável por apresentar características conhecidas como “listras de tigre” no jargão astronômico. Essas listras são o resultado do derramamento de uma substância semelhante a lava na superfície de Encélado, que, em sua maior parte, é composta de gelo. No entanto, é importante observar que essa “lava” não é composta de rocha derretida, como seria o caso dos vulcões na Terra. Em vez disso, em Encélado, estamos diante de criovulcões, que expõem água que a princípio estava congelada na forma de gelo de nitrogênio e de amônia.

- **Mimas**

Mimas, um dos satélites de Saturno, é um exemplo impressionante de como até mesmo corpos celestes relativamente pequenos no Sistema Solar podem sofrer impactos significativos. A imagem mostra uma cratera de impacto de tamanho considerável na superfície de Mimas. Essa imagem é um lembrete de que a Terra, mesmo sendo muito maior do que Mimas, também está sujeita a impactos no Sistema Solar. De fato, o histórico geológico da Terra mostra evidências de impactos passados, e é uma questão de “quando” e não “se” a Terra sofrerá impactos futuros.

- **Hipérion**

Esse estranho satélite é Hipérion, uma das luas de Saturno, que possui uma superfície muito diferente. A aparência de Hipérion é notável por se assemelhar a uma pedra-pomes devido ao grande número de crateras que cobrem sua superfície. O número significativo

de crateras e a complexa rede de depressões tornam até difícil definir claramente o que é a superfície de Hipérion.

As imagens até agora utilizadas foram feitas por sondas que conseguiram ir até lá.

Saindo do tópico do Sistema Solar, podemos utilizar imagens astronômicas que são obtidas a partir de telescópios, tanto a partir do espaço quanto da Terra. Elas mostram vários fenômenos que nos ajudam a entender o que está acontecendo no universo, começando pelos *berçários de estrelas*. Essa região extremamente avermelhada que estamos vendo é onde o hidrogênio está ionizado e emite essa luz vermelha muito intensa. Ali no meio há nebulosas, que correspondem a regiões onde o gás está se colapsando e formará novas estrelas. Nesta região vermelha (região de hidrogênio ionizado), vemos, inclusive, um par de estrelas (conjunto de estrelas) que já se formou. Essas estrelas são responsáveis por ionizar a nuvem e dar a ela esse aspecto vermelho. Na parte mais interna, há uma nebulosa que ainda está em colapso, e, se ampliarmos essa imagem, vemos a famosa imagem do telescópio Hubble conhecida como *Pilares da Criação* — chamada, na astronomia, de “Nebulosa da Águia”, pois lembra as asas de uma águia, o corpo de uma águia e sua garra. Tudo isso é uma região que ainda está colapsando para formar estrelas. Podemos ver, no topo de um desses pilares, uma emanção de luz que corresponde a estrelas recém-nascidas e que estão começando a ionizar seu redor. A imagem à direita está usando muito mais a variação de cor, pois é mais sensível à variação de densidade e de temperatura. Já a imagem à esquerda, muito mais vermelha, não explora esse espaço. Então, além do fato de estarem utilizando comprimentos de onda distintos, de forma a ver informações diferentes, a cor, neste caso, é utilizada para realçar algo que o pesquisador busca — pode ser variação de densidade e temperatura.

Já conseguimos encontrar imagens de planetas em formação ao redor de estrelas. Isso foi obtido pela primeira vez há cerca de seis anos atrás. Acima, há um modelo de como esperávamos que os sistemas planetários se formassem e, curiosamente (ou para o nosso espanto), pela primeira vez o radiotelescópio ALMA, que trabalha com micro-ondas, conseguiu constatar a existência desses discos planetários em formação ao redor de várias estrelas — trago duas delas aqui, *HL Tauri* e *TW Hydrae*.

Temos aqui as *Plêiades*, já vistas no início da apresentação, aquele amontoado bem pequenininho na primeira imagem que eu mostrei,

e agora as estamos vendo ampliadas. Notamos que as Plêiades são compostas de várias estrelas. Na verdade, é um dos aglomerados mais próximos do Sol, e também é bastante jovem. Todas essas estrelas possuem grande massa. Elas brilharão por pouco tempo em escala astronômica, cerca de uns 300 milhões de anos. Depois morrerão, dando origem a estrelas de nêutrons ou a buracos negros.

Há aglomerados de outra natureza. Esse aqui é um aglomerado mais distante, que chamamos de aglomerado globular. O que a imagem mostra são mais de 10 mil estrelas, de naturezas distintas daquela das Plêiades; aquelas eram estrelas de grande massa, azuladas, essas de agora são estrelas avermelhadas, mais parecidas com o Sol. Contudo, são mais velhas que o Sol, com quase o dobro de sua idade. Esses aglomerados existem em regiões muito externas da nossa galáxia, no que chamamos de *halo galáctico*.

Quando tratamos de imagens astronômicas, nada chama mais a atenção do que as imagens de nebulosas planetárias. Elas são consideradas os objetos astronômicos mais bonitos. Cada nebulosa tem sua característica própria. Nessa imagem, a variação de cor indica qual é o elemento químico que está sendo emitido ali. Na parte mais interna, hélio e oxigênio são emitidos em grande intensidade, que é essa parte mais azulada. Já na parte mais externa, vemos a emissão do hidrogênio. Essa nebulosa foi formada quando uma estrela, parecida com o Sol, chegou ao fim da vida. O Sol também se tornará uma nebulosa dessa maneira.

Eis outra: essa é a Nebulosa Borboleta. Cada uma delas é diferente porque cada estrela varia em termos de tamanho, massa, composição química, maneira que gira, e se há uma estrela companheira ou não. Tudo isso vai afetar a maneira como a expansão da atmosfera da estrela se dará ao chegar ao fim da vida. O objeto final que se forma, então, varia.

Bom, não se pode deixar de falar de galáxias. E, para falar de galáxias, precisamos falar de nossa galáxia. Ela é sempre vista de perfil por nós. Seu nome é *Via Láctea*. A Via Láctea, inicialmente, era apenas essa região escura e brilhante no céu. Hoje essa banda no céu é interpretada como o disco de nossa galáxia visto de perfil. Estamos dentro do disco da galáxia, por isso o vemos como uma banda no céu em 360 graus. No resto do céu, vemos parte do halo da nossa galáxia. A contemplação da galáxia, quando vista a olho nu, é de fato uma experiência impactante que pode afetar profundamente tanto leigos quanto

astrônomos profissionais. Isso ocorre em parte devido à realidade da poluição luminosa nas cidades, que muitas vezes obscurece o céu noturno e nos impede de apreciar a verdadeira beleza do universo. A falta de visibilidade do céu noturno nas cidades é um lembrete da importância de preservar a escuridão natural do céu. Isso não apenas permite que as futuras gerações tenham a oportunidade de fazer suas próprias perguntas sobre o cosmos e a possibilidade de vida em outros lugares, mas também tem implicações na nossa conexão com o universo e nossa compreensão do nosso lugar nele.

A imagem que temos aqui é de outra galáxia espiral chamada Andrômeda, que é uma das nossas vizinhas mais conhecidas no universo. Embora não seja a galáxia mais próxima de nós, é a maior galáxia espiral que está relativamente próxima. Andrômeda, assim como a nossa Via Láctea, apresenta galáxias satélites que aparecem como regiões brilhantes acima e abaixo dela na direção vertical. Essas galáxias anãs, apesar de pequenas quando comparadas com Andrômeda, ainda contêm mais de 100 milhões de estrelas cada. A galáxia de Andrômeda serve como um análogo interessante à nossa própria galáxia, a Via Láctea. Um fato curioso é que Andrômeda e Via Láctea estão em rota de colisão, devido às suas proximidades, massas e movimentos relativos. No entanto, esse evento de colisão só acontecerá daqui a 4-5 bilhões de anos, o que significa que não terá impacto durante nossas vidas. Além disso, essa colisão não afetará planetas, uma vez que as galáxias vão se misturar e formar uma única galáxia elíptica. Nenhuma estrela ou planeta individual colidirá, por conta da vastidão do espaço. Portanto, é um evento interessante, mas não com o qual precisamos nos preocupar no momento.

Quando Andrômeda e a Via Láctea finalmente colidirem, formarão uma única galáxia elíptica, semelhante à que estamos vendo no centro da imagem. Essa galáxia elíptica em particular é notável pelo seu tamanho, que é cerca de dez vezes maior do que a nossa Via Láctea. Ela é tão imensa que não conseguimos ver suas estrelas individuais, mas podemos estudar seu centro observando variações na luz ao longo dessa região. A imagem também nos mostra diversas outras galáxias que estão situadas umas mais próximas e outras mais distantes da galáxia elíptica no centro. A inclusão dessas galáxias em torno da central ajuda a ilustrar como seria uma galáxia elíptica e enfatiza a diversidade de formas e tamanhos que as galáxias podem ter no universo.

A interação entre galáxias é um fenômeno comum no universo, e aqui temos o exemplo de duas galáxias em processo de colisão. Durante essa colisão, a força gravitacional comprime o gás presente em cada galáxia, desencadeando a formação de novas estrelas. Essas estrelas recém-formadas, por sua vez, geram elementos químicos novos, contribuindo para o enriquecimento do meio interestelar. Dependendo de como a colisão ocorre, as galáxias envolvidas podem continuar a manter uma estrutura de disco. As áreas brancas que vemos na imagem não representam nuvens de gás, mas, na verdade, são aglomerados de estrelas. A galáxia está situada a uma distância tão vasta, que não podemos perceber suas estrelas individualmente; apenas enxergamos a luz combinada delas. Observamos ainda uma mancha estelar acima, que é uma corrente de estrelas em formação proveniente da galáxia menor que está colidindo com a maior. Esse tipo de colisão galáctica é uma ocorrência comum no universo, e as galáxias maiores crescem, em parte, absorvendo galáxias menores em um processo que pode ser descrito como “canibalismo” galáctico.

Para concluir, gostaria de apresentar um tipo diferente de imagem usada na astronomia: o mapa da radiação cósmica de fundo. Essa imagem não é percebida diretamente no céu, mas requer o processamento de várias informações para criar o mapa que aqui vemos. O mapa exhibe os “ecos do Big Bang” em todo o céu, representando variações na temperatura em uma escala de 10^{-5} K. Isso revela áreas ligeiramente mais quentes ou mais frias. No entanto, a amplitude dessa variação, da área mais escura à área mais vermelha, é da ordem de 10^{-5} K. Essas variações correspondem aos vestígios que deram origem à formação dos aglomerados de galáxias. Essa radiação é um eco do Big Bang, criado quando a matéria se separou da energia à medida que o universo se expandia. Devido à expansão do universo, essa radiação é agora detectada com uma temperatura muito baixa, na faixa das micro-ondas. As pequenas variações observadas nesse mapa representam as sementes que evoluíram para formar os aglomerados de galáxias que vemos hoje. Para estudar essas variações, que não são obtidas diretamente como uma fotografia, são aplicados métodos de harmônicos esféricos para identificar as frequências de espaçamento entre as áreas brilhantes. Isso nos ajuda a compreender a escala característica de separação entre os aglomerados de galáxias e a explorar a história do universo.

Tentei fazer um panorama do uso de imagens na astronomia, desde o seu início, à parte artística, e até a parte atual mais avançada. Obrigado!

PERGUNTAS

MARCOS FARINA:

Boa noite. Eu tenho algumas questões. De todas as imagens que você apresentou, alguma foi obtida com telescópio terrestre? Por exemplo, a Nebulosa Borboleta? A galáxia de Andrômeda? Ou tudo isso vem de telescópios tipo Hubble, ou seja, telescópios fora da Terra?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Eu não vou me lembrar de todas aqui, mas sim. A imagem de Andrômeda foi obtida por telescópio terrestre, apesar de não estar com a melhor resolução possível. A imagem da Via Láctea também, e aquelas das Plêiades.

MARCOS FARINA:

Agora eu tenho uma outra pergunta. Quando se diz que um telescópio tem uma capacidade maior do que outro, que você está olhando ali alguma coisa que aconteceu há “X” milhões de anos atrás, ou bilhões de anos atrás, qual seria o limite físico de um telescópio? Se eu construir um telescópio gigantesco, esse telescópio olhará para um tempo maior do que a idade do universo. Como isso se expressa na prática? Qual a interpretação disso?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Você não tem como ver algo maior do que a idade do universo. A gente não vê tempo, vemos a distância. Anos-luz é distância. Isso corresponde a algo que foi emitido há uma certa quantidade de tempo atrás.

MARCOS CASTRO:

E se fosse possível ver uma coisa que foi emitida há mais de 14 bilhões de anos, o equivalente em anos-luz, o que se estaria vendo?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Pelo nosso paradigma de formação do universo, não se é possível ver.

MARCOS CASTRO:

Então vai ter um limite do tamanho de um telescópio acima do qual não faz sentido se fabricar?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Sim. Mas a gente está muito longe disso.

MARCOS CASTRO:

E qual seria o tamanho teórico?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Não há um tamanho teórico. Os europeus estão trabalhando agora na construção de um telescópio de 40 m. Eles queriam partir direto para um de 100 m de diâmetro, mas o maior telescópio que existe hoje em dia tem 8 m de diâmetro, e aí parecia ser um desafio tecnológico muito grande partir de 8 m direto para 100 m. Quem financia na Europa pediu que eles ficassem um pouco mais calmos e tentassem um intermediário, começando com esse de 40 m. Ele tem um diâmetro muito grande, então é capaz de coletar luz em grande quantidade. Ainda vai ficar limitado a esse limite teórico de 14 bilhões de anos-luz, mas vai captar os objetos mais fracos que se encontram a essa distância.

MARCOS CASTRO:

No fundo, não será possível fazer uma espectroscopia mais alongada no tempo, né?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Se existisse um objeto mais velho que o universo, você não veria nada, pois existe um limite, que é o Big Bang. Tem uma outra questão também. Vamos supor que fôssemos capazes de olhar até o Big Bang. O grande problema disso é que tem um momento em que o universo em expansão é opaco, e não está produzindo radiação, impedindo que se olhe através dele, pois os fótons que o Big Bang emitiu não chegam até nós. Existe uma região, na história do universo, que está totalmente opaca, e aí os fótons são produzidos e absorvidos muito proximamente — então eles não têm como caminhar. Se eles não caminham longas distâncias, você não consegue vê-los. A fronteira do Big Bang é essa última imagem que eu mostrei, é até ali que a gente consegue ver. Um telescópio muito grande poderia ser capaz de ver radiação das primeiras estrelas, algo que buscamos há muito

tempo, mas nunca a encontramos. Achamos que surgiram antes das primeiras galáxias. Então, quando se pensa em aumentar o tamanho do telescópio, não é no sentido de ver objetos mais remotos no tempo, mas sim mais distantes. Pelo menos, para nós, existe uma fronteira temporal, que é o Big Bang — não conseguimos ir além disso. A não ser que a gente descubra outro tipo de mensageiro, por exemplo, ondas gravitacionais, pois o universo é opaco à radiação eletromagnética, mas não a ondas gravitacionais. Então, se os nossos detetores forem capazes de detetar ondas gravitacionais do início do universo, conseguimos vencer essa barreira e ir mais remotamente.

MANOEL LUIS COSTA:

Quando a gente faz imagens da natureza, com microscópios (ou telescópios), podemos compor vários campos do microscópio para fazer uma imagem composta que vai ter muito mais informação do que uma única imagem. Então, existe um limite para conseguirmos compor imagens? Uma galáxia dessas ser tirada (reproduzida) como uma única imagem, composta de várias imagens?

HELIO JAKES ROCHA PINTO:

Muitas dessas imagens são composições, que chamamos também de mosaicos. Então a gente é limitado pelo tamanho do CCD, o detetor. Esse detetor pega uma região do céu, então se é preciso combinar com outras para, às vezes, fazer uma imagem total. Muitas vezes o nosso objetivo não é obter a imagem. A imagem, para o astrônomo, serve para medir a variação de luz. Então por vezes seu projeto só ganha tempo do telescópio para observar uma pequena região. Os astrônomos não têm laboratórios, temos observatórios que são comunitários, e são sempre comunitários — com exceção de observatórios particulares, que são muito pequenos. Todos esses grandes “laboratórios” da astronomia são assim, comunitários. Portanto, você precisa se candidatar pedindo um projeto e tempo de observação, e aí você ganha as noites de observação. Se chover, ou se o telescópio quebrar, é um problema seu, você não vai ganhar tempo perdido de volta. E, com o tempo que você recebe, às vezes só se consegue pegar uma parte da galáxia, mas aquela parte pode ser suficiente para a sua pesquisa. Ao mesmo tempo, outros astrônomos se dedicaram a fazer um atlas fotográfico do céu todo. O céu inteiro já foi fotografado várias vezes, não só em fotografia analógica, mas também na digital, na luz visível, em infravermelho etc. Para observar ultravioleta, raios X, é preciso estar no espaço, pois da Terra

isso não é possível devido à atmosfera que bloqueia essas radiações, então a partir do espaço foram feitas imagens nesses outros comprimentos de onda do céu inteiro. E a gente tem acesso a isso, não só a astronomia profissional, mas também interessados leigos. Um exemplo disso é o Google Sky, que tem uma versão de céu inteiro — e aquilo ali é uma fotografia de composição de várias fotografias. Não é fácil. Não sei como é o uso do microscópio, mas a fotografia do céu depende de condições do céu, e não são feitas necessariamente no mesmo dia, e, mesmo que sejam feitas no mesmo dia, a noite está passando, o céu não está iluminado da mesma forma, pois uma cidade próxima pode ainda estar com as luzes majoritariamente acesas no começo da noite etc. Então o fundo da imagem varia de brilho, portanto, quando se junta essas imagens, fica um quadriculado de condições de luz desigual — às vezes se vê isso.

MANOEL LUIS COSTA:

A ideia de lente gravitacional de que você falou, que teria como comprovar a ideia da teoria de Einstein e ver a distorção que a gravidade pode fazer na luz, pode ser usada para gerar imagens? Pode ser usada para fazer uma imagem produtiva? Tirar alguma informação do objeto que se quer analisar?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Existe uma discussão sobre o uso da lente gravitacional como se fosse um imageador. A gente não tem controle, não se pode apontar a lente gravitacional; ela está ali porque é um objeto de grande massa e ele vai focalizar algo que está atrás. Mas a gente pode pensar em utilizá-la dessa maneira e ver o que tem disponível, o que ele está mostrando para nós. Temos um exemplo da estrela mais distante já fotografada do universo, apelidada de Earendel (Earendel é o nome de um personagem de *O Senhor dos Anéis*, de J. R. R. Tolkien, e em inglês antigo significa o nome de Vênus, “estrela da manhã”). Ela se encontra numa galáxia que foi distorcida por uma lente gravitacional. Então existe uma lente gravitacional, devido a um aglomerado de galáxias, e coisas que estão atrás dele (isto é, desse aglomerado) estão produzindo imagens duplas ou triplas de objetos. E entre esses objetos se descobriu um que foi tão ampliado que foi possível ver numa escala de uma estrela, e está muito mais distante do que aquele aglomerado. No aglomerado de galáxias, que funciona como uma lente, não se é possível ver as estrelas deles (das galáxias), apenas as galáxias que o compõem, mas ele ampliou o que está atrás, e,

de repente, por uma coincidência, foi possível ver uma estrela! E ela foi, inclusive, estudada por espectroscopia. Tiraram o espectro dela, viram a composição química, então é uma coisa muito interessante. Isso ocorreu no ano passado.

CLÁUDIA MERMELSTEIN:

Gostaria de fazer uma pergunta que foge um pouco das imagens relacionadas à astronomia. Quão difícil é fazer astronomia no Brasil? Visto que esta palestra é gravada, e outros alunos vão assistir a ela, como é a dificuldade — para uma pessoa que realmente não sabe — não só de desenvolver uma pesquisa, mas no mercado de trabalho também?

HELIO JAQUES ROCHA PINTO:

Eu diria que é tão difícil quanto fazer paleontologia. Eu acho que as duas ciências chamam a atenção das crianças — ou gostam do espaço, ou gostam de dinossauros. E as duas não têm aplicações diretas, elas simplesmente aumentam o nosso conhecimento. Você não vê aplicação comercial na criação de técnicas ligadas à paleontologia, a não ser talvez para a exploração. Talvez a paleontologia tenha um pouco mais de interesse no desenvolvimento de técnicas, pois os fósseis, às vezes, são comercializados de forma ilegal e criam um mercado paralelo. O mais análogo que a gente tem na astronomia são os meteoritos, que são mais raros; pois os fósseis até sabemos onde encontrar, já os meteoritos, é preciso esperar caírem. Mas é difícil fazer astronomia em função da falta de perspectiva ou da pressão com a qual os nossos dirigentes, políticos, a sociedade, imaginam ter retorno financeiro com respeito a quem eles formam. Boa parte das carreiras, a própria universidade, forma para o mercado, e na astronomia a gente forma para as universidades, ou para um instituto de pesquisa — visto que o próprio mercado não se interessa. Eu digo aos meus alunos que, daqui a uns 50 ou 80 anos, talvez a humanidade esteja minerando asteroides no espaço. Eu acho isso muito viável. E acho que, nesse momento, vai ser preciso ter consultores astrônomos, além de geólogos, pois eles sabem bastante também de terrenos e informações do Sistema Solar. Eu acho que robôs farão a coleta dos asteroides. Acredito que isso tudo vai ser robotizado, pois eu não vejo voo espacial como algo muito viável, em termos financeiros, pois é preciso dar muitas condições biológicas para manter as tripulações. Mas eu acho que seja muito viável que seja tudo robotizado. Além do mais, não é como na Terra, em que você precisa

procurar ferro. Existem asteroides totalmente feitos de ferro, basta colocar um robô tirando pedaço e enviando de volta. Alguns desses asteroides passam por nós. Então é basicamente o trabalho de buscar esses asteroides, colocá-los em órbita da Terra e em posições que não causem problema. Mas acredito que isso é para o futuro. No presente, o que a gente tem é um curso que envolve física e matemática, e isso dissuade boa parte dos estudantes, que olham para a astronomia com uma visão romântica. Gostar de astronomia não significa que você vai querer trabalhar com astronomia. Você pode continuar gostando de astronomia, não tem por que não, mas às vezes o trabalho na astronomia envolve pesquisa, com técnica bem mais próxima da física, que envolve matemática, programação etc. Então eu não estou toda hora olhando para o céu; raramente eu olho para o céu, eu olhava muito mais quando eu era calouro do que hoje em dia. Eu olho para o computador, desenvolvendo artigos, dando aula. Mas também temos a questão de que, nas universidades, mesmo sendo elas o nosso mercado de trabalho, em grande parte não há curso de Astronomia. No Observatório do Valongo, éramos o único curso de graduação por 50 anos; o único no Brasil todo — desde 1958 até 2009. A USP não considerava que deveria formar alunos na graduação, por questão de mercado de trabalho. Mas o pessoal da USP teve de encarar a dificuldade de justificar a contratação de novos professores para um instituto que não possuía graduação, apenas pós. Por isso eles abriram um curso de graduação em Astronomia. Também temos um outro em Sergipe, e no Rio Grande do Sul. Às vezes, um ou outro professor de Astronomia é contratado num departamento de Física, ou de Geografia, mas, devido à competição por verba, dentro da própria universidade, não há um interesse em que cada grande universidade tenha um corpo de astrônomos. Por exemplo, toda prefeitura de porte médio poderia ter um planetário, pois isso ajuda a estimular o interesse científico das crianças e da sociedade. O planetário não tem só coisas de astronomia, tem de outras áreas também — é um espaço de ciência —, e isso é um mercado de trabalho que não é explorado no Brasil, mas no exterior é. Então é difícil, é um tanto frustrante às vezes. Muitos dos nossos alunos se formam aqui, pois temos um curso de astronomia há muito tempo, e depois vão trabalhar no exterior, o que acaba sendo mais viável às vezes — mas poderia ser melhor.

AULA 13A

A LUMINESCÊNCIA E A FLUORESCÊNCIA NAS IMAGENS DA VIDA

**Palestrante: Isalira Peroba
Rezende Ramos** (CENABIO/UFRJ)

*(Transcrição: Evely de Oliveira Rodrigues,
Geovana Rodrigues de Almeida,
Larissa Melo Vasconcellos,
Rafael Anderson Banho
e Raïssa Tiezerin Costa)*

A luminescência é, em suma, a produção e emissão de luz por organismos vivos. É a luz gerada a partir de uma reação química que ocorre naturalmente em diversos seres vivos: bactérias, fungos, algas, crustáceos, peixes e insetos. Esse brilho decorrente da produção e emissão de luz serve como camuflagem para alguns seres vivos, como sinal de alerta ou até mesmo para fins reprodutivos na época do cortejo. Mas como encontrar esses eventos no dia a dia? Ao redor do mundo, podemos nos deparar com esse fenômeno sem ao menos saber identificá-lo. Ultimamente, tem sido comum encontrar esses fenômenos na mídia a partir de algas ou plânctons bioluminescentes, em praias na Austrália ou águas-vivas na Irlanda, cujo montante de milhões forma belas imagens. Além disso, há outros exemplos menos comuns, como os cogumelos bioluminescentes, que, embora não se saiba exatamente o motivo desse fenômeno, alguns pesquisadores o apontam como um sinal de toxicidade. É possível mencionar também outros exemplos bastante conhecidos pelo grande público, especialmente pelo público infantil, como o peixe-lanterna ou peixe-diabo, e o clássico vagalume, sendo não só o mais conhecido, mas também o mais usado em pesquisas. Ao longo da nossa exposição, retornaremos ao vagalume.

A fluorescência, por sua vez, é a capacidade de uma substância produzir luz quando excitada. Uma das diferenças entre a fluorescência e a luminescência é que a fluorescência precisa de um agente emissivo, ou seja, precisa sofrer excitação para que possa emitir energia em forma de luz. Esse fenômeno é encontrado na natureza assim como a luminescência. Em 2011, o American Museum of Natural History [Museu Americano de História Natural] fez um levantamento nas Ilhas Cayman e, como resultado, encontraram mais de 180 espécies de peixes fluorescentes só naquela região. Anos mais tarde, em 2017, um *paper* inédito foi publicado em uma colaboração entre Brasil e Argentina sobre a rã fluorescente *Hypsiboas punctatus*, haja vista que foi a primeira publicação a documentar um animal que apresenta esse tipo de capacidade. A rã e o peixe mostrados nas imagens emitem fluorescência verde, mas essa não é a única cor possível. Há também uma espécie de escorpião que emite fluorescência azul, servindo para mostrar a diversidade existente na natureza.

Rastreamento por bioluminescência e fluorescência

O rastreamento por bioluminescência e fluorescência ocorre quando trazemos esses fenômenos da natureza para a aplicabilidade em pesquisas. O rastreamento é feito por um sistema de detecção *in vivo* não invasivo, e o imageamento é feito utilizando o comprimento de onda. Assim, a partir de um comprimento de onda adequado, o imageamento pode acontecer, permitindo a visualização de células, partículas, moléculas, parasitas marcados com enzimas bioluminescentes; nesse caso, a luciferase, ou partículas fluorescentes como a *green fluorescent protein* [proteína verde fluorescente] (GFP).

O rastreamento permite o maior aproveitamento dos animais. Isso porque, antes da técnica, para visualizar uma célula ou molécula marcadas com GFP no interior de um animal, era necessário primeiro fazer a eutanásia desse animal, em seguida abri-lo para expor a região de interesse, e então levar ao microscópio ou fazer um PCR para luciferase, de modo a possibilitar a análise. Já com esse tipo de imageamento é possível obter o mesmo resultado com o animal vivo tirando simplesmente uma foto.

O rastreamento por bioluminescência foi feito pela primeira vez com a transdução lentiviral de células com o gene da luciferase 2, extraída de vagalumes. Ela funciona a partir de uma reação química na qual a luciferase na presença de oxigênio e ATP oxida a

luciferina, o substrato que será oxidado, e a energia resultante dessa reação é liberada em forma de luz. Essa reação química é parecida com a reação de combustão, mas, em vez de ter uma reação de energia com liberação de calor, na verdade, há liberação de luz. Essa luz é captada pelo sistema de rastreamento. Por isso a importância da luciferase e da luciferina. A enzima é importante, mas o substrato também, devido à sua correlação. Existem diversos tipos de luciferase e diversos tipos de animais que produzem esse tipo de energia, mas nem todos usam a luciferina. Dá-se destaque à luciferase e à luciferina do vagalume porque elas são as mais usadas na pesquisa, não só no Brasil, como também nos laboratórios ao redor do mundo.

A *firefly luciferase*, isto é, a luciferase do vagalume, tem um comprimento de onda próximo do infravermelho (520-630 nm), o que gera pouco ruído e a alta sensibilidade no imageamento. Assim, proporciona um alto rendimento e é a mais eficiente disponível atualmente. Ainda possui diferentes cores, o que permite a visualização de mais de um agente ao mesmo tempo. Como foi anteriormente mencionado, essa técnica necessita do substrato D-luciferina para que possa ser realizada.

A D-luciferina, ou simplesmente luciferina, é a molécula responsável pela luminescência propriamente dita, já que ela é oxidada pela enzima. Além disso, é o substrato mais utilizado *in vivo*. Isso porque a luciferase mais utilizada é a do vagalume, logo, como a enzima só funciona com o substrato, a luciferina é, por consequência, amplamente utilizada também. Ela pode ter diversas vias de administração (injeção intraperitoneal, intravenosa e subcutânea), o que facilita muito para a pesquisa, principalmente a pesquisa básica. A luciferina tem um platô de ação após ser injetada no animal, portanto há um tempo determinado para conseguirmos fazer esse imageamento. Ao observar o gráfico da intensidade máxima de luminescência pelo tempo após a injeção de substrato, o platô diminui lentamente entre 10 e 20 minutos, permitindo o aproveitamento da análise por um tempo consideravelmente bom. A excreção renal ocorre entre três e quatro horas após a injeção do substrato, o que também é muito benéfico, haja vista que ele é totalmente eliminado do corpo do animal poucas horas após a injeção. Então, após esse período, é possível repetir esse experimento de imageamento visando novos resultados com abordagens diferentes.

Há também o rastreamento por fluorescência, só que esse rastreamento, diferente da bioluminescência, utiliza agentes que podem ser orgânicos e inorgânicos, dependendo do contexto do projeto.

A faixa de imageamento se estende do ultravioleta ao infravermelho assim como a bioluminescência, mas basicamente há dois grandes grupos de agentes fluorescentes: os próximos do ultravioleta e os próximos do infravermelho. Os que brilham próximos ao ultravioleta, os chamados verdes — por exemplo, a GFP —, estão entre 475 nm e 509 nm e possuem péssima razão sinal-ruído, pois, ao brilhar muito próximo do ultravioleta, eles sofrem grande interferência do colágeno da pele, o qual é muito presente tanto nos seres humanos quanto nos animais.

O outro grande grupo, dos agentes fluorescentes que brilham próximo ao infravermelho, também conhecidos como *near-infrared* (NIR), tem uma baixa dispersão, muito menor quando comparado ao GFP. Estão entre 600 nm e 950 nm. Possuem absorção mínima, porque, mesmo que as hemoglobinas oxigenadas e desoxigenadas absorvam fótons, quanto mais alto o comprimento de onda — ou seja, mais próximo do infravermelho —, menor essa absorção do sinal, o que causa uma razão sinal-ruído muito melhor. Então, para os experimentos *in vivo* é o mais recomendado. Também é possível usar o GFP, porém é menos indicado, pelo grande ruído nas imagens.

Bioluminescência x fluorescência: diferenciação

A bioluminescência tem uma luz menos intensa e gera menos ruído, o que não significa que há menos brilho na hora da experimentação, mas que ela gera menos ruído e menos background na imagem. Ela necessita de uma transfecção com vetor lentiviral, isto é, uma alteração genética, que proporciona um substrato que tem alta degradação. Consequentemente, requerer manipulação genética faz com que a técnica seja de alto custo.

Já a fluorescência tem uma luz mais intensa, gerando também mais ruído e mais background. Ela também gera autofluorescência. Não requer alteração genética, mas necessita de um agente emissivo, e, por causa dessa autofluorescência, se houver ruído em excesso, pode ser necessária uma separação de sinal computadorizada do imageamento.

Falando agora da formação das imagens, nós temos dois grandes tipos: imagens 2D e imagens 3D.

Nas imagens do tipo 2D, primeiramente é feita uma imagem científica, que é uma matriz bidimensional pixelada, na qual cada elemento da imagem corresponde a um pixel, e esses pixels têm valores. Depois é feita a imagem gráfica, que é a fotografia em si, e em seguida é feita a imagem de pseudocor, isto é, a atribuição de uma cor diferente para cada pixel. Assim, há uma associação entre valores de pixels à cor e à intensidade desse brilho. Por último, as imagens sobrepostas são imagens da região com bioluminescência ou fluorescência sobrepostas à imagem gráfica.

As imagens 2D são importantes porque elas permitem visualizar tanto a diferença de intensidade de sinal como evidenciam a morfologia geral do objeto de estudo. Embora não tenham resolução anatômica, somente topográfica, podem ser úteis dependendo do projeto. Mas, em geral, a imagem 2D é mais que suficiente para obter uma boa resposta.

Nos equipamentos, em geral, o imageamento é feito por uma câmera de alta resolução geralmente na parte de cima do equipamento, e o animal é posicionado de acordo com o objetivo do projeto. Nesse equipamento, o tempo de exposição varia entre cerca de 30 segundos e 5 minutos. Na fluorescência, o sistema é muito parecido. A diferença é que há uma fonte de excitação, então esse agente precisa ser excitado antes de emitir brilho.

Como são essas imagens depois de começar a fazer os experimentos? É um sistema de imageamento *in vivo*, mas claro que também passamos por todas as etapas. A etapa inicial é, então, conferir se a alteração genética no caso da bioluminescência foi eficaz. Um exemplo seria uma placa com células-tronco mesenquimais transduzidas com luciferase 2 em uma diluição seriada que pode ser quantificada pelo programa. Sendo possível observar uma relação linear de quanto mais células, mais brilho, e, conseqüentemente, quanto mais material modificado presente no experimento, mais brilho, logo é possível fazer uma extrapolação de valores neste caso.

Em seguida, analisamos a imagem de uma placa fluorescente. Embora seja uma imagem diferente, ao apenas olhar imagem em si, essa placa poderia ser muito bem uma placa fluorescente. Sem a escala não é possível realizar a diferenciação.

Em relação às imagens *in vivo*, como eu já mostrei anteriormente, aqui são animais com tumores de mama. Só as células dos tumores são transduzidas, então só as células dos tumores brilham. Isso pode ser quantificado tanto na bioluminescência quanto na fluorescência.

E agora trazemos exemplos de imagens *ex vivo*. Principalmente no sistema 2D, no qual não temos a análise anatômica do animal, às vezes é preciso fazer a eutanásia dos animais e expor os órgãos para realizar o imageamento dos órgãos no equipamento. A imagem é um exemplo clássico de GFP; é um teste de uma molécula para tratar doenças neurológicas, e aqui era uma etapa mais anterior, na qual o intuito era saber na verdade se essa molécula ia conseguir ultrapassar a barreira hematoencefálica. No entanto, no animal vivo, não foi possível a visualização de sinal. Portanto, neste projeto foi preciso fazer eutanásia e retirar os órgãos para o imageamento, sendo claramente observável sinal no cérebro, pulmão, coração, baço e fígado. Como esperado, o cérebro captou bastante sinal.

Como dito anteriormente, o sinal bioluminescente/fluorescente pode ser quantificado pelas regiões de interesse (*region of interest* – ROI). A ROI é uma área especificada pelo usuário para um propósito específico daquele projeto, de acordo com seus objetivos. Na imagem 2D, seleciona-se um círculo ou um quadrado de acordo com o programa na área desejada, uma, duas, três ou quantas forem necessárias na mesma imagem, e o programa quantifica e dá um valor tanto de fluxo de fótons totais quanto a média, a máxima e a mínima. Na imagem 2D, a aquisição do sinal não é total, pois a imagem topográfica capta principalmente a superfície dos animais, porém para a maioria dos casos já é suficiente.

Voltando agora a falar sobre a autofluorescência, trago exemplo de imagens nas quais a autofluorescência do tecido era muito semelhante à do sinal, sendo impossível distinguir um do outro, por se tratar de agentes GFP, que brilham muito próximo do colágeno. Assim, era visualizado apenas um borrão vermelho por todo o animal, sendo necessário um tratamento computacional complexo para separar os sinais. Após o início desse tratamento para separá-los, um outro sinal que chama muito a atenção é o sinal da ração dos roedores. A ração dos nossos roedores tem alfafa, que é extremamente autofluorescente. Logo, ela brilha, fazendo com que a comida que o animal comeu antes do imageamento seja facilmente identificada. Após o tratamento computadorizado completo,

o pós-processamento da imagem permite a visualização da região dos dois tumores de forma bem delimitada.

Para resolver a interferência na imagem causada pela ração, basta substituir a ração, o que nem sempre é viável devido ao seu custo, ou ainda se pode manter o animal em jejum por algumas horas antes de realizar o exame, opção mais usada e bastante resolutiva, principalmente pelo custo-benefício.

Abordando um pouco as imagens 3D, ou seja, a associação de bioluminescência e fluorescência com o raio X e tomografia computadorizada (TC): as imagens 3D são, na verdade, as imagens 2D acopladas à TC, ou seja, raio X de 360°. A vantagem da imagem 3D é que ela consegue avaliar toda a superfície do animal; fornece um contexto anatômico tanto de ossos quanto de tecidos; promove uma reconstrução da imagem; possibilita a localização nos três eixos (coronal, sagital e axial), permitindo identificar a localização exata da fonte do sinal, independente de profundidade, porque, como ela é acoplada a uma tomografia, avalia o corpo como um todo, e não só a superfície, como nas imagens 2D.

Agora, um exemplo parecido com as imagens da técnica 2D. A diferença do imageamento no equipamento é que, além da câmara de alta resolução, há o tubo de tomografia e um detector de raio X.

Aqui, em um exemplo parecido com o trazido no outro slide do 2D, a diferença do imageamento no equipamento 3D é que, além da câmera de alta resolução, há o tubo de tomografia com um detector de raio X para que possamos ter essas duas técnicas acopladas. Para a fluorescência, muito parecida também com a outra, ela tem, além do que já foi mencionado, uma fonte de excitação desse agente fluorescente.

A imagem 3D permite a quantificação total do sinal, e a grande vantagem entre 2D e 3D é isso: permitir a quantificação total desse sinal. Aqui, com exemplos de imagens 3D, os três cortes: coronal, sagital e axial.

E aqui a reconstrução do animal inteiro. Vale lembrar que nas imagens 2D nós usamos pixels como um valor numérico para cor. Na imagem 3D, usa-se um voxel, que é um pixel em três dimensões; consequentemente, o ROI, a região de interesse que é feita na imagem 3D, também vai estar em 3D na reconstrução para poder captar esse sinal total. Isso acaba permitindo a quantificação de baixas concentrações de agentes, o que no imageamento 2D nem sempre é possível. Quando o agente está numa concentração muito baixa ou

está um pouco mais profundo no corpo do animal, mesmo fazendo a movimentação do animal e o girando em todas as posições, acaba-se perdendo um pouco de sinal.

Aqui um exemplo de imagens 3D; nesta primeira linha, a imagem 2D, e embaixo, a imagem 3D. Comparando, isso também foi quantificado, mas só pela imagem, por exemplo: nesta última coluna vê-se na 2D aparentemente um sinal bem pequeno. Avaliando no equipamento 3D, esse sinal é muito mais profundo; então, se nós fossemos avaliar por aqui, acabaríamos perdendo um pouco desse valor, desse sinal.

Comparando os dois imageamentos, 2D e 3D, não há localização anatômica no 2D, e no 3D, há. A quantificação do sinal do 2D é parcial e no 3D é total. O imageamento da imagem 2D depende da profundidade; quanto mais profundo, menor o sinal que se conseguirá detectar; enquanto o 3D não depende. O 3D tem a presença da radiação por causa da tomografia. Quanto ao valor do equipamento, isso acaba sendo um fator decisivo hoje em dia. No 2D, eu escrevi que o valor do equipamento é “baixo” com asterisco porque não é realmente baixo. Esse equipamento 2D atualmente custa cerca de 300 mil dólares, mas o 3D está custando 600 mil dólares. Assim, é mais baixo se em comparação com o outro.

Já que estamos falando em equipamentos, temos diversos tipos de equipamentos. No Rio de Janeiro, que eu saiba, há somente quatro equipamentos de rastreamento por bioluminescência: dois na UFRJ, um no Instituto Nacional de Câncer (INCA) e um na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). O da Fiocruz acabou de ser instalado. Um é o nosso do CENABIO, e o outro da UFRJ está no Biotério-NB3-ICB, então também não é de acesso a qualquer tipo de experimento. O equipamento do INCA ficou um tempo em manutenção e acabou de voltar a funcionar. Então, aos exemplos de equipamentos, podemos ver um equipamento IVIS Lumina, da Xenogen, sem tomografia e com tomografia. Aqui há outra marca de equipamento, Spectral Instruments Imaging. A Xenogen/PerkinElmer é a fabricante dos equipamentos que temos na UFRJ, e a grande diferença desses equipamentos para a prática do dia a dia, além de obviamente de ter ou não tomografia, é em relação à quantidade de animais analisados ao mesmo tempo. Esses equipamentos mais antigos, nosso equipamento, por exemplo, faz a imagem de três animais por vez. Esse novo da Spectral faz a imagem de dez. Então isso acaba agilizando muito o processo de imageamento. Apesar da bioluminescência não ser

uma técnica muito demorada, poder imagear mais animais por vez agiliza muito, e conseguimos ter um comparativo mais real entre os animais, porque eles estão sendo imageados ao mesmo tempo.

Para finalizar, gostaria de falar sobre o CENABIO e sobre o que fazemos no CENABIO em relação a bioluminescência e fluorescência. Eu trouxe alguns exemplos, não sendo possível abordar tudo o que fazemos lá.

O equipamento de bioluminescência fica localizado na Unidade de Imageamento de Pequenos Animais na Plataforma de Rastreamento por Bioluminescência e Fluorescência. O nosso equipamento é esse que eu já havia mostrado, o IVIS Lumina. Ele tem um sistema de anestesia com isoflurano acoplado, então todos os animais são anestesiados com isoflurano e oxigênio.

Trazendo exemplos de projetos que foram feitos lá no CENABIO, nesse projeto, que inclusive é meu projeto de mestrado, infectamos camundongos com *Trypanosoma cruzi*. Três dias depois da infecção, eles foram tratados com células-tronco derivadas de tecido adiposo transduzidas com a luciferase 2, a luciferase do vagalume. Queríamos ver primeiro se a transdução feita estava funcionando corretamente. Então, de novo, o resultado foi uma diluição seriada das células com uma regressão linear, comprovando que, quanto mais células, mais brilho. Aqui, a parte *in vivo* foi o acompanhamento dos animais. Levamos os mesmos animais todos os dias no CENABIO para tirar uma foto, para fazer o imageamento, que é muito rápido, e percebemos que, a partir do nono dia, já não havia mais nenhum sinal de célula. Não se sabe se as células morreram ou se só não tinham sinal suficiente para o equipamento detectar, mas um detalhe sobre esse trabalho: mesmo as células só ficando visíveis pelo equipamento por oito dias, após 30 dias da infecção conseguimos evitar a dilatação do ventrículo direito do coração, que é o lado que dilata no camundongo chagásico; então esse tratamento precoce — que não é tão realista assim, já que a doença de Chagas se pega sem perceber e muitas vezes sem diagnóstico preciso — conseguiu prevenir todas as alterações funcionais que o camundongo não tratado teve. Em alguns dias, escolhemos alguns animais e fizemos o imageamento *ex vivo* dos órgãos, para ter certeza de que o sinal estava só na região do abdômen, que ele não havia se espalhado por outros órgãos. Inclusive, a injeção dessas células foi feita via intraperitoneal, por isso faz sentido esse acúmulo de células aqui nesta região.

Outro projeto realizado no CENABIO também foi esse projeto com camundongos infartados que receberam células mesenquimais de placenta, guiado por ultrassom (Passipieri *et al.*, 2014). Então essas células foram injetadas direto no músculo cardíaco com o auxílio do ultrassom, também no CENABIO, assunto de outra palestra deste ciclo. Vê-se os animais do grupo *sham*, o grupo falso operado, que passaram pelo mesmo procedimento da cirurgia, mas não tiveram a oclusão da artéria realizada, e abaixo os animais realmente operados. Eu participei deste artigo, e o que o grupo queria ver neste caso era se haveria diferença do tempo de permanência das células no animal em que o coração realmente estava lesado, ou seja, que tinha passado pelo infarto, em relação ao animal falso operado. Pela imagem, até achamos que vai constar uma diferença, mas na hora da quantificação não houve diferença nenhuma. Então até essa informação é importante, pois a célula não se comportou de maneira diferente mediante a lesão ou a falsa cirurgia.

Aqui, outro trabalho também com infarto, mas dessa vez em ratos (Kasai-Brunswick *et al.*, 2017). Nele, as células também foram injetadas na borda da cicatriz, guiado por ultrassom, só que foram utilizadas células mesenquimais derivadas de cardioesfera de origem humana e de origem murina, pois nós queríamos também saber se haveria rejeição, se conseguiríamos manter essa célula por muito tempo de uma forma simples, não invasiva. Então, com cinco a sete dias tanto as células de origem humana quanto as células de origem animal não estavam mais presentes nos animais tratados, porém não houve diferença numérica desses valores. Os animais também se comportaram da mesma forma, aparentemente não houve rejeição.

Outro projeto feito lá no CENABIO foi sobre monitoramento da carga parasitária no trato digestivo do barbeiro, o *Rhodnius prolixus* (Dias *et al.*, 2015). O artigo mostra o acompanhamento do dia a dia da alimentação do animal, o quanto ele se alimentou neste dia e por quanto tempo esse *T. cruzi* ficou no organismo do animal, ressaltando que, nesse caso, o que era transduzido com a luciferase 2 era o parasita. Em seguida, o mesmo exemplo, mas em uma imagem *ex vivo*, na qual só é mostrado o intestino do inseto e demonstrando que, após 14 dias da alimentação, o animal quase não tem parasitas em seu intestino.

Mais um projeto feito lá na plataforma também foi sobre avaliação de cardiomiócitos derivados de células pluripotentes também em animais chagásicos, crônicos desta vez (Brasil *et al.*, 2020).

De novo essas células foram injetadas direto no músculo cardíaco guiado por ultrassom, porque assim acreditamos conseguir otimizar essas células. Já estávamos levando direto ao local de lesão, ao local em que aquele animal tem algum problema, para que essas células não se espalhem pelo organismo. Neste projeto, observamos que com oito dias o sinal já era praticamente inexistente. E, de novo, isso não quer dizer que essas células não tiveram efeito benéfico nesses animais, só que elas não ficaram por muito tempo, ou a intensidade do sinal dessas células neste momento já era fraca demais para o equipamento detectá-lo.

Outro projeto interessante foi uma terapia com células mononucleares de medula óssea e modelo de esclerose lateral amiotrófica (ELA), em que foram testadas vias de administração diferentes, para avaliações, no músculo lesado e não lesado, de por quanto tempo essa célula ficava no organismo (Gubert *et al.*, 2019).

Para exemplificar como essa plataforma atende a grupos e trabalhos diversos, outro projeto utilizou células-tronco embrionárias derivadas de cardiomiócitos para tratamento de cardiomiopatia induzida por doxorubicina (Santos *et al.*, 2018). Neste projeto, conferiu-se a luminescência das células e houve acompanhamento dos animais enquanto ainda havia sinal. Neste caso, para evitar o problema de captação do sinal, em somente uma superfície do animal foram testadas várias posições dele. Também foram avaliados os órgãos isolados, e é interessante ressaltar que as células foram injetadas guiadas diretamente no coração por ultrassom, e, no imageamento dos órgãos, só houve sinal no coração, ou seja, as células só foram encontradas no próprio coração, não se espalhando pelo resto do corpo.

Aqui, trago um exemplo de projeto não publicado ainda, mas que está em andamento no CENABIO e no INCA, e a pesquisadora autorizou mostrar as imagens. Animais com tumores de mama, com células transduzidas com luciferase-2, foram avaliados por essa técnica, na tentativa de melhorar a avaliação de metástases. Isso ocorre porque, sendo só as células cancerígenas transduzidas com a luciferase 2, só o tumor brilha. Além disso, nesse mesmo projeto, os animais foram operados e o tumor foi retirado com uma técnica bem conservadora, então os animais voltaram a serem avaliados na plataforma, mas infelizmente não foi possível arrancar todo o tumor e células tumorais ainda.

Também trouxe uma imagem diferente, de mexilhões dourados, espécie ameaçada de extinção, já que um dos projetos no CENABIO é com eles. A equipe do professor Mauro Rabelo está avaliando o sistema reprodutivo deles para tentar ajudar a evitar a extinção dessa espécie.

Agora, eu queria fazer vocês pensarem com esta pergunta: vocês acham que a bioluminescência pode ser uma alternativa sustentável para iluminar ambientes urbanos? Além dos microscópios e laboratórios?

A França está totalmente avançada nessa questão: a cidade de Rambouillet usa a luz proveniente da bioluminescência das bactérias, fazendo uso de tubos cheios de água salgada para iluminação. Não é uma luz tão intensa, mas, para esse tipo de espaço, é bastante útil. Isso está tão difundido lá, que o próximo passo é utilizar essa iluminação no aeroporto de Paris. Essa alternativa sustentável é muito interessante, pois, se comparada à produção de lâmpadas de LED, que é a melhor opção que temos, gasta-se menos água, libera-se menos gás carbônico, e o líquido é biodegradável. O maior limitador para a sua aplicação em grande escala, por enquanto, é o fato de ser um sistema vivo, dependente de bactérias que vivem apenas poucas semanas. Há também outro projeto internacional, envolvendo o Brasil, com a Universidade de São Paulo (USP), Rússia e Estados Unidos, por meio do qual foram criadas petúnias luminescentes que já estão em fases finais de testes. Quem sabe em breve teremos flores luminescentes disponíveis.

Por último, queria propor mais uma indagação para vocês, já bem conhecida: a vida imita a arte ou a arte imita a vida? Trago o lindo exemplo da franquia *Avatar*, cujo segundo filme se passa no fundo do oceano: suas cidades são iluminadas por seres luminescentes.

PERGUNTAS

MANOEL LUIS COSTA:

Então, Isalira, interessantíssima a apresentação. Eu entendi que há uma questão de saber se as células morreram ou se a luminescência foi “gasta”...

ISALIRA PEROBA REZENDE RAMOS:

A luminescência não se gasta, ela pode estar com sinal baixo demais para a sensibilidade no equipamento. As células

bioluminescentes passaram por uma inserção genética, passando a portar o gene da luciferase 2. Então, enquanto elas viverem e se reproduzirem, continuarão luminescentes. Na fluorescência, sim, esse sinal vai se gastando com o uso, até sumir de vez.

MANOEL LUIS COSTA:

Na bioluminescência, quando as células se dividem o sinal diminui, cai, ou algo assim?

ISALIRA PEROBA REZENDE RAMOS:

Não, o sinal se mantém o mesmo nas células originadas dessa célula que foi alterada inicialmente.

MANOEL LUIS COSTA:

Perfeito. O que eu gostaria de perguntar à professora é se há a possibilidade de se controlar a ativação da enzima luciferase para que não haja um desgaste prematuro dessa enzima e se tenha, portanto, a ativação do sinal somente em um dado momento de interesse?

ISALIRA PEROBA REZENDE RAMOS:

Sim. Na realidade não entrei muito nesses detalhes, mas nos animais, na natureza, isto é, nos organismos que produzem bioluminescência, há a presença da enzima e também do substrato. No laboratório, no entanto, as células, as moléculas, os parasitas só têm a enzima e o substrato é injetado somente no momento do imageamento. E, até por isso, há aquele platô que comentei anteriormente, que é justamente o platô do tempo de ação da injeção da luciferina.

MARCIUS ALMEIDA:

Parabéns pela apresentação, achei linda! Em relação ao equipamento de 3D, ele é capaz de realizar a bioluminescência/luminescência com tomografia computadorizada?

ISALIRA PEROBA REZENDE RAMOS:

Sim. Na verdade, o equipamento 3D possui a tomografia acoplada, isto é, uma câmera de alta resolução com filtros capazes de tirar fotos da bioluminescência ou da fluorescência conjugadas à tomografia e, com isso, passa a ser possível a obtenção de imagens de ossos e partes moles também.

REFERÊNCIAS

BRASIL, G. V.; SANTOS, D. S. dos; MENDONÇA, E. A.; MESQUITA, F. C. P.; KASAI-BRUNSWICK, T. H.; CUNHA, S. T. D.; PIMENTEL, C. F.; SANTOS, A. V. dos; MENDEZ-OTERO, R.; AZEVEDO FILHO, C. F.; GOLDENBERG, R. C. D. S.; CARVALHO, A. C. C. de. Therapy with Cardiomyocytes Derived from Pluripotent Cells in Chronic Chagasic Cardiomyopathy. *Cells*, [s. l.], v. 9, n. 7, 7 Jul. 2020.

DIAS, F. de A.; GUERRA, B.; VIEIRA, L. R.; PERDOMO, H. D.; GANDARRA, A. C. P.; AMARAL, R. J. V. do; VOLLÚ, R. E.; GOMES, S. A. O.; LARA, F. A.; SORGINE, M. H. F.; MEDEI, E.; OLIVEIRA, P. L. de; SALMON, D. Monitoring of the Parasite Load in the Digestive Tract of *Rhodnius prolixus* by Combined qPCR Analysis and Imaging Techniques Provides New Insights into the Trypanosome Life Cycle. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, [s. l.], v. 9, n. 10, 23 Oct. 2015.

GUBERT, F.; BONACOSSA-PEREIRA, I.; DECOTELLI, A. B.; FURTADO, M.; SANTOS, A. V. dos; MENDEZ-OTERO, R.; SANTIAGO, M. F. Bone-Marrow Mononuclear Cell Therapy in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis: Functional Outcomes from Different Administration Routes. *Brain Research*, [s. l.], v. 1712, p. 73-81, 1 Jun. 2019.

KASAI-BRUNSWICK, T. H.; COSTA, A. R.; BARBOSA, R. A.; FARJUN, B.; MESQUITA, F. C.; SANTOS, D. S. dos; RAMOS, I. P.; SUHETT, G.; BRASIL, G. V.; CUNHA, S. T.; BRITO, J. O.; PASSIPIERI, J. do A.; CARVALHO, A. B.; CARVALHO, A. C. C. de. Cardiosphere-Derived Cells Do Not Improve Cardiac Function in Rats with Cardiac Failure. *Stem Cell Research & Therapy*, [s. l.], v. 8, n. 1, 15 Feb. 2017.

PASSIPIERI, J. do A.; KASAI-BRUNSWICK, T. H.; SUHETT, G.; MARTINS, A. B.; BRASIL, G. V.; CAMPOS, D. B.; ROCHA, N. N.; RAMOS, I. P.; MELLO, D. B.; RODRIGUES, D. C.; CHRISTIE, B. B.; SILVA-MENDES, B. J.; BALDUÍNO, A.; SÁ, R. M.; LOPES, L. M.; GOLDENBERG, R. C.; CARVALHO, A. C. C. de; CARVALHO, A. B. Improvement of Cardiac Function by Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells Does Not Require Permanent Engraftment and Is Independent of the Insulin Signaling Pathway. *Stem Cell Research & Therapy*, [s. l.], v. 5, n. 4, 21 Aug. 2014.

SANTOS, D. S. dos; BRASIL, G. V.; RAMOS, I. P. R.; MESQUITA, F. C. P.; KASAI-BRUNSWICK, T. H.; CHRISTIE, M. L. A.; CAHLI, G. M.; BARBOSA, R. A. Q.; CUNHA, S. T. da; PEREIRA, J. X.; MEDEI, E.; CARVALHO, A. C. C. de; CARVALHO, A. B.; GOLDENBERG, R. C. D. S. Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes for the Treatment of Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. *Stem Cell Research & Therapy*, [s. l.], v. 9, n. 1, 5 Feb. 2018.

AULA 13B

IMAGEMAMENTO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Palestrante: Fernanda Tovar-Moll

(Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa)

(Transcrição: Juliana Chavantes Roldan)

O imageamento por ressonância magnética (RM) é uma área bastante abrangente, mas a abordagem aqui apresentada se concentrará no imageamento do cérebro. Esse tipo de abordagem propicia tanto a realização de diagnósticos quanto o estudo do órgão propriamente. Classicamente, entendemos o aprendizado do não clínico para o clínico, da bancada. Contudo, a questão da bancada para a beira do leito pode ser invertida, ficando do leito para a bancada. Essa perspectiva tem se tornado cada vez mais frequente, e podemos tomar proveito disso. Por fim, falaremos sobre a importância e o uso dessas técnicas na impressão 3D, e sobre o ensino, a exemplo do ensino da anatomia.

Falando de anatomia, muito do que sabemos do cérebro veio do estudo clássico das lesões anatômicas, no período *post mortem*. Percebeu-se, por exemplo, que a clínica do paciente podia se relacionar a uma lesão focal, a qual conferia sintomas típicos.

O nosso cérebro, essa estrutura comparável a uma caixa preta, sempre foi difícil de ser estudado por outros métodos de imagem. A RM traz, nesse sentido, uma verdadeira luz ao entendimento não apenas da anatomia, mas do funcionamento do cérebro *in vivo*. A primeira RM, feita na década de 1970, demorou cerca de sete horas para ser feita, com o uso de gadolínio como meio de contraste. Isso para se obter a imagem de apenas um corte do cérebro, um *slice*. Em oposição, hoje em dia, obtemos uma imagem 3D, em três planos cerebrais, em menos de um minuto, com cortes até mesmo submilimétricos.

Na imagem à esquerda, pode-se ver uma peça anatômica de um atlas construída em conjunto com imagens de RM. Podemos ver até com mais clareza na RM tanto estruturas corticais quanto subcorticais.

Hoje em dia, a RM não apenas é capaz de evidenciar o aspecto morfológico do cérebro, como também o funcional. Essa foi uma revolução que se estendeu pela medicina, desde a psiquiatria até a neurologia, no que tange à identificação de doenças e malformações.

Essas técnicas estão no dia a dia. Hoje, qualquer alteração neurológica é abordada por ressonância magnética, embora a tomografia computadorizada ainda tenha o seu papel na identificação de estruturas ósseas e sangue. Com essas reconstruções 3D, pode-se obter, inclusive, informações quantitativas acerca dos sulcos e giros cerebrais. Essa quantificação tem sido fundamental no entendimento do cérebro do ponto de vista estrutural e funcional.

A RM permite medir indiretamente a atividade neuronal por meio da irrigação de um tecido cerebral específico. Então, quando há um estímulo visual dentro da RM, é possível mapear com técnicas específicas a área do córtex visual, por exemplo. Ainda, com o entendimento da correlação anatômico-funcional do homúnculo de Wilder Penfield (1891-1976), é possível ao neurologista planejar a ressecção de um tumor, de maneira a preservar as áreas identificadas com cada conjunto muscular, responsável por determinado movimento. A RM funcional também pode ser aplicada ao estado de repouso (*resting state*), quando o cérebro está sem receber nenhum estímulo específico. Sabe-se que o órgão permanece funcionando a todo tempo e, por conta de um acoplamento de redes motoras inter-hemisféricas, é possível captar o sinal funcional por RM. Esse conjunto neuronal é extremamente comum a todos os seres humanos, de forma que foi desenvolvido o conceito de mapeamento de estrutura e função cerebral, com alta capacidade de resolução em termos de imagem.

O estudo do cérebro se desenvolveu muito em reflexo à evolução da RM. Se a RM funcional teve uma revolução nos últimos 30 anos, o estudo da estrutura do cérebro teve um avanço absurdo nos últimos 20 anos. A técnica foi baseada principalmente no movimento das moléculas de água no tecido nervoso, em que sequências específicas de deslocamentos difusionais expressam como está a atividade no corte analisado. Nesse sentido, o estudo anatômico de comissuras ou feixes específicos, como o corpo caloso, pode ser substituído

pelo mapeamento digital de toda a circuitaria de substância branca e grandes feixes. Inclusive, o corpo caloso aparece na cor vermelha em razão da inclinação transversal de sua comissura, ao conectar um hemisfério ao outro. Já os nossos feixes em distribuição anteroposterior aparecem na cor verde, ao passo que os craniocaudais ficam na cor azul.

O conceito de mapas de feixes cerebrais também está acoplado à rotina médica. Nesta imagem pré-operatória de um tumor cerebral, esse tumor é de crescimento lento, e não costuma invadir os feixes neuronais. De fato, a lesão expansiva, de conteúdo aquoso, está apenas deslocando o feixe corticoespinhal, o qual se mantém completamente viável, com sinal preservado. Logo, com a retirada do tumor, ele voltará à posição anatômica.

As técnicas de reconstrução 3D, de mapeamento funcional e dos feixes podem ser associadas durante o planejamento pré-operatório. Aqui, temos o exemplo do meningioma, em que se pode observar a área motora, a reconstrução dos feixes e a relação entre a lesão e os dados funcionais e anatômicos obtidos.

As técnicas de RM foram evoluindo não só do ponto de vista de aquisição da imagem, como também do seu processamento: mapas cada vez mais quantitativos podem ser processados por softwares apropriados, para que a informação seja registrada do ponto de vista temporal e espacial, com o intuito de gerar um mapa funcional de conexões cerebrais, de resolução submilimétrica. Sendo assim, o avanço da tecnologia dos mapas estruturais-funcionais produziu a ideia de um conectoma humano, o *brain connectome*, em referência ao Projeto do Genoma Humano. Então, mapear as estruturas morfológicas e funcionais comuns torna possível a reconstrução do mapa humano estrutural-funcional chamado de “esperado” ou “típico”. A importância de se obter essa referência é a possibilidade de compará-la ao cérebro de indivíduos que carregam alguma alteração. Aqui, pode-se comparar as imagens de um grupo controle de pacientes com conectoma típico a outro grupo de pacientes com demência fronto-temporal. Percebe-se que a atividade funcional captada especialmente nos lobos frontais está reduzida, o que se pode concluir pela cor azulada, e isso se relaciona diretamente aos sintomas de disfunção executiva desses pacientes. Por outro lado, em vermelho, está evidenciada a área mais afetada por outro tipo de demência, que é a demência de degeneração corticobasal. Diferentemente da demência fronto-temporal, esses pacientes manifestam

alterações motoras, e não de comportamento. A conectividade estrutural deles está alterada tanto na região do córtex motor quanto do sensitivo. Essa quantificação auxilia no entendimento da fisiopatologia dessas doenças.

Esses mapas comparativos não apenas servem às doenças eminentemente neurológicas, como também às psiquiátricas. Um exemplo interessante é o do transtorno obsessivo compulsivo (TOC). Quais são os circuitos que estariam envolvidos nessa condição? Ainda há muitas dúvidas acerca de qual é a correlação anatômica das doenças psiquiátricas. Nesse sentido, esses mapas buscam auxiliar na compreensão de qual o mecanismo fisiopatológico desses transtornos.

Todavia, é importante salientar que as técnicas utilizadas na RM para estudos científicos são limitadas. Quando se fala de uma reconstrução indireta, proveniente de imagens de RM, o que se está obtendo são circuitos do ponto de vista macroscópico, os quais representam circuitos do ponto de vista microscópico. Tendo isso em vista, as informações obtidas não satisfazem todos os dados necessários a um diagnóstico. Ademais, a RM para fins científicos tem como foco uma compreensão fisiopatológica de qual o mecanismo envolvido nas doenças, no intuito de produzir hipóteses. Esse aspecto se diferencia do uso cotidiano da RM na medicina de imagem, cujo principal propósito é a investigação de alterações condizentes com uma síndrome, ou seja, para complementação diagnóstica, assim como para acompanhamento de resposta terapêutica. O limite entre esses dois universos deve ser sempre entendido, e as técnicas, questionadas.

Em se falando de estudos científicos, hoje há muitos pacientes sobreviventes da pandemia de covid-19. Nosso grupo trouxe um estudo de fase final, ainda não publicado, em que se estabeleceu uma coorte prospectiva de 300 pacientes recuperados após três meses de alta hospitalar. Exames de RM foram feitos em todos, de forma a se analisar como estariam as funções cognitivas. Os dados preliminares evidenciam que, embora nenhum desses pacientes tenha sofrido acometimento direto do sistema nervoso central (SNC) durante a internação, houve alteração qualitativa da memória de trabalho e da memória operacional, assim como alteração quantitativa da substância branca. Portanto, na covid-19, o SNC deve ser uma área observada tanto quanto o coração e os pulmões.

A RM também tem sido utilizada no estudo da reorganização da circuitaria cerebral em diversos momentos da vida, tanto do ponto de

vista estrutural quanto funcional. Essas alterações podem ser acompanhadas desde o período intraútero. Na imagem, observa-se um mapa de ressonância magnética de um feto com 28 semanas de gestação.

Eu falei que, conforme mencionado, é possível comparar em diversas condições o que é esperado no mapa de conectividade normal com o mapa de conectividade alterado. Entretanto, deve-se sempre levar em consideração as mudanças cerebrais constantes, especialmente com o aprendizado: desde o nascimento até a vida adulta, ou quando se é desafiado, ou quando há alterações anatômicas que forcem uma reorganização do cérebro.

O nosso grupo tem se dedicado bastante a mapear essa reorganização do cérebro, tanto do ponto de vista estrutural quanto do funcional, em diversos momentos da vida. É importante lembrar que já é possível acompanhar as alterações dessa circuitaria no período gestacional. Na imagem, observa-se um mapa de RM intraútero partindo das 28 semanas de gestação até quatro semanas após o nascimento.

Já na próxima imagem, observa-se um mapa da maturação típica da substância branca associada à girificação do cérebro.

Alterações no exame também podem ser mapeadas. Hoje, técnicas cada vez mais dinâmicas podem ser aplicadas, até mesmo com reconstrução em 3D. Elas também propiciam a investigação de alterações do desenvolvimento em doenças, como foi o caso da síndrome congênita do vírus da Zika, em que foi possível estudar alterações encefálicas e microcefálicas. Na imagem, os cortes indicam a ausência das alterações na girificação esperadas para essa idade gestacional, associada ao alargamento dos ventrículos, com perda importante do desenvolvimento cortical como um todo. Nas tomografias, podem ser vistas as calcificações, as quais mapeiam a morte neuronal de outras células à medida que a doença progride.

Do ponto de vista intraútero, outras alterações também são possíveis. Por exemplo, uma comparação entre uma RM fetal normal e outras três com alteração na imagem, em que se percebe uma anatomia ventricular deficitária, com paralelismo entre as bolsas. Essas crianças têm alteração da formação do corpo caloso, a principal comissura entre os dois hemisférios.

Já na próxima imagem pode-se enxergar que tudo o que se vê por meio da RM no nível macro representa uma alteração do ponto de vista microscópico, como: alteração celular, vascular, mielinização etc.

Todavia, como já colocado, as várias incertezas acerca da sensibilidade das técnicas de RM preconizam que a correlação entre macro e micro seja constantemente assegurada.

O CENABIO/UFRJ tinha a divisão de estudos com pequenos animais. Lá foram geradas diversas imagens do cérebro de ratos, camundongos, cobras, peixes, caranguejos e até lagostim. Foram várias aventuras bastante produtivas. O que se tenta fazer é obter, através da RM, as sequências correspondentes àquelas adquiridas em humanos.

Uma sequência de RM de 3 tesla em um cérebro humano mostra a reconstrução dos feixes de substância branca, comparada às mesmas estruturas mapeadas no córtex motor de um camundongo. Em seguida, mais uma sucessão de imagens reconstruindo a microestrutura da substância branca humana confrontada com a de um camundongo. Ou seja, as mesmas técnicas de reconstrução por facegrafia (reconstrução dos feixes de substância branca) podem ser aplicadas ao estudo de pequenos animais.

Na próxima imagem, é mostrado um projeto antigo, uma colaboração entre o Instituto de Física (IF) e o Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da UFRJ, em que foi realizado o estudo da girificação do cérebro baseado em teorias físicas, sob uma perspectiva evolutiva. Na época, as análises eram feitas a partir de peças histológicas, medidas à mão, mas o CENABIO conseguiu validar sequências de RM capazes de substituí-las, de forma a promover maior acuidade de mensuração do córtex e dos giros cerebrais de pequenos animais de diversas espécies. Esse é um projeto em que diferentes amostras foram imageadas por RM e reconstruídas, incluindo um cérebro de baleia, que obviamente não cabia na ressonância do CENABIO e, portanto, teve de ser escaneado na máquina de RM de humanos de 3 tesla do Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino (IDOR). Vemos aqui imagens *post mortem* e a mesma reconstrução de feixes de substância branca vistos anteriormente.

Voltando aos seres humanos, o que estaria acontecendo com a girificação do cérebro de crianças, por exemplo, que nascem com malformação do SNC? Atualmente, utiliza-se a reconstrução a partir da RM com o propósito de se medir a girificação. Isso vem sendo feito em colaboração com o pesquisador Bruno Mota, da Física, juntamente a um consórcio internacional cuja matéria de estudo é a disgenesia do corpo caloso, assim como outras malformações,

tentando não só entender como é a girificação dessas crianças, mas também utilizar esse conhecimento para compreender as leis da física que governam esse processo.

Outro grupo de pacientes que vem sendo estudado há muitos anos é constituído por pessoas que nasceram sem o corpo caloso. Devido à sua robustez, essa comissura é alvo de um grande número de estudos via RM. Aqui, pode-se observar um corte sagital de um cérebro normal e o cérebro de um paciente que não tem o corpo caloso.

Pacientes sem essa comissura perdem a principal comunicação entre os dois hemisférios, mas essa ausência se manifesta de formas diferentes dependendo de qual momento da vida ocorre essa separação. Quando a conexão é perdida ao longo da vida, surge uma síndrome chamada “desconexão inter-hemisférica”. Em contraste, as crianças que nascem sem o corpo caloso não desenvolvem o mesmo quadro: de alguma maneira, durante o desenvolvimento, o cérebro compensa essa ausência. Esta contradição foi um paradoxo na neurologia e na neurociência desde quando foi descrita pelo pesquisador Roger Sperry, que ganhou o Prêmio Nobel em 1983. Por outro lado, essa clínica sinaliza uma notória neuroplasticidade de compensação.

Essa problemática vem sendo bastante estudada. Um tempo atrás, o nosso grupo descreveu um feixe paralelo, que é o feixe de Probst, que também foi descrito em peças anatômicas desde 1901. Trata-se de um feixe intra-hemisférico, formado somente quando há ausência do corpo caloso, por neurônios que não cruzaram a linha média. Logo, por estar restrito a cada hemisfério, ele não explica a comunicação entre os dois lados. Tempos depois, em 2007, descrevemos um outro feixe, chamado de feixe sigmoide. Quando foi descrito pela primeira vez em humanos, ele nunca tinha sido descrito antes em peças anatômicas, tampouco em animais. Então, de início, sua existência factual era uma incógnita, pois nunca se pode perder de vista a limitação da técnica. Poderia ser um artefato, por exemplo.

Felizmente, logo depois da nossa publicação, o grupo da pesquisadora Lynn K. Paul, que hoje é nossa colaboradora, publicou também uma imagem de RM mostrando que na coorte deles havia um paciente com o mesmo feixe sigmoide. Hoje em dia, isso já foi reproduzido por vários grupos de pesquisa, entrando nos diagnósticos desse tipo de paciente. De qualquer modo, até recentemente, não havia uma evidência microscópica da existência desse feixe.

Em 2020, com a ajuda das imagens de RM de pequenos animais do CENABIO, mais um avanço foi feito. O BALB/c é um camundongo que espontaneamente faz disgenesia do corpo caloso. Historicamente, era descrito que a taxa de disgenesia na espécie era de 20%. Contudo, observamos que esse índice, na verdade, atinge quase 50% dos casos.

As imagens reconstruídas foram geradas em colaboração com o professor Afonso Silva e com nosso aluno de doutorado Diego. Estão representadas duas RM de quantificação da conectividade geral de dois camundongos. O da esquerda possui o corpo caloso, enquanto o da direita, não. O gradiente na cor vermelha mostra as conexões inter-hemisféricas. Logo, percebe-se facilmente a falta dessa conectividade na RM no camundongo com agenesia espontânea do corpo caloso.

Pode-se ver, em rosa, o feixe de Probst humano de um paciente com agenesia do corpo caloso. Também se vê o mesmo feixe reconstruído em um camundongo, cuja aquisição foi feita no CENABIO e depois no National Institutes of Health (NIH). No mesmo estudo, conseguimos demonstrar também que o feixe sigmoide existe nos camundongos BALB/c, ao ser evidenciado por ressonância magnética de maneira semelhante ao que foi observado em humanos. Entretanto, ainda assim, não é possível comprovar que o feixe realmente existe. Afinal, a aferição ainda é por RM. Não obstante, é aí que está a beleza da pesquisa translacional: o estudo com animais propicia a eutanásia e o estudo histológico daquilo que foi captado por uma máquina. Sendo assim, esta foi a primeira vez em que o feixe sigmoide foi mostrado em uma peça anatômica em si.

Também estamos estudando uma outra condição que impõe plasticidade ao cérebro: a amputação e perda de membros. Quando um bebê nasce com todos os membros normais e funcionais, seu cérebro aprende que o corpo em que habita possui dois braços e duas pernas. Ao ocorrer a perda de um membro, há uma ruptura abrupta dessa sinalização, de modo que 90% dos pacientes que perdem algum membro após os seis anos de idade acabam relatando a síndrome do membro fantasma, a sensação de que a estrutura perdida ainda está presente. Hoje já se tem o conhecimento de que o quadro é consequência de uma neuroplasticidade mal-adaptativa, pois a compensação dessa circuitaria causa uma invasão da área correspondente à parte do corpo perdida. Ocorre uma espécie de “curto-circuito”.

A explicação funcional desse fenômeno vem sendo bastante estudada. Neste artigo, que compõe uma parte do doutorado do pesquisador Elington Simões, pacientes com amputação do membro inferior foram estudados com o objetivo de entender como estava a reorganização funcional e estrutural do cérebro desses pacientes, isto é, qual seria a explicação anatômica para essa adaptação inadequada (Simões *et al.*, 2012).

Na imagem, o mesmo estímulo sensorial na região da coxa é comparado entre um paciente controle e outro paciente com a perna amputada. Para o indivíduo que sofreu amputação, o estímulo ativa uma extensão muito maior do córtex. Essa alteração também pode ser constatada do ponto de vista estrutural. Pacientes amputados também passam por uma desorganização do corpo caloso, associada a outras modificações na circuitaria, que podem explicar a gênese dos sintomas funcionais. Porém, como já colocado anteriormente, a RM representa uma amostra indireta, que ainda requer a análise histológica direta para que a alteração seja atestada do ponto de vista anatômico.

Sendo assim, o pesquisador Rodrigo Jorge Vianna Barbosa, então no seu doutorado, investigou, por meio de RM, camundongos e ratos amputados. Nos experimentos, foi determinado que as alterações estruturais presentes no cérebro dos roedores eram semelhantes às dos humanos. Assim, com colaboração de outro membro do CENABIO, o professor Kildare Miranda, foi possível mostrar que essas diferenças vistas no cérebro por RM eram condizentes com uma menor mielinização local, associada a uma modificação em nível de microscopia eletrônica (ME) dos neurônios situados nessa região. Mais uma vez, uma correlação entre macroscopia, ultra-estrutura e bioquímica. Além disso, essa história também exemplifica as várias conexões investigativas capazes de ser realizadas no CENABIO.

Agora será abordada uma técnica de RM mais recente, mas que vem sendo bastante explorada para conhecer melhor a dinâmica cerebral. Hoje em dia, por meio de uma técnica de processamento ultrarrápido de aquisição de imagens, é possível captar alterações na conectividade cerebral em tempo real. Nesse meio, a máquina de RM é a mesma que a utilizada em outros estudos, com 3 tesla de potência, mas com o adicional de contar com uma grande velocidade de tratamento dos dados e resposta: no momento em que é captado o sinal de uma determinada região do cérebro, essa informação retorna rapidamente ao voluntário dentro da máquina de RM. Ela

é representada na forma de um gradiente, cuja intensidade varia com a atividade da área analisada. Assim, se o sujeito desejar obter uma maior resposta do campo cerebral escaneado, ele mesmo poderá controlar esse *feedback*. O sinal do córtex motor pode ser reforçado mediante a imaginação, por exemplo. Basta que se imagine o movimento da mão. Essa técnica, inclusive, parte do conhecimento acerca da recuperação de pacientes pós-AVC (acidente vascular cerebral), em que se nota uma importante correlação entre mentalização de movimentos e reabilitação motora. Para fins de regulação, os sinais captados são comparados aos de um grupo controle.

Neste trabalho (Marins *et al.*, 2019), começamos nos perguntando se conseguiríamos induzir plasticidade funcional apenas com a imagética motora. O objetivo era tentar entender quais eram as áreas que poderiam estar correlacionadas a esse exercício, as quais poderiam melhorar a reabilitação. O que concluímos foi que com somente 30 minutos de treino com imagética motora foi possível aumentar a conectividade estrutural e funcional em regiões do corpo caloso.

Essa técnica de imageamento com *neurofeedback*, chamada de *neurofeedback* por ressonância magnética, guia pistas de como se pode otimizar a recuperação de pacientes fora da sala de RM. Afinal, embora a RM forneça uma detalhada informação quantitativa, estrutural e anatômica, uma reabilitação não se dará dentro da máquina. Ou seja, o importante é entender que a plasticidade cerebral ocorre a todo momento, e essa reorganização provavelmente denota alterações em nível microscópico, as quais podem ser abordadas através de uma terapêutica.

Salienta-se também que a RM não é o único meio de análise utilizado nos estudos. Estes se acoplam com outras ferramentas, de maneira a fomentar as melhores oportunidades para a criação de novas técnicas. Ademais, esse recurso não se destina apenas à pesquisa. Sua aplicação inclui uma miríade de possibilidades, passando pelo ensino e até mesmo pelas impressoras 3D, podendo facilitar o planejamento de cirurgias de prótese, por exemplo, ao se fazer a combinação com tomógrafos no pré-operatório.

Nos dias atuais, é possível estudar com softwares de anatomia humana. Há, inclusive, técnicas de imersão ou de realidade aumentada que podem ser utilizadas. Esse cenário do século XXI remonta a um passado recente. Em 1986, o Visible Human Project [Projeto

Ser Humano Visível] foi idealizado pela National Library of Medicine (NLM), dos Estados Unidos da América. O projeto se propõe a criar uma base de imagens digitais de dois cadáveres, um masculino e um feminino, partindo de cortes anatômicos transversais e imagens criadas por tomografia computadorizada e RM. Esses bancos de imagem são abertos, e os alunos podem estudar essa anatomia do ponto de vista dinâmico, ao acoplarem as técnicas de RM estrutural e funcional mencionadas neste texto. Essas conquistas vêm revolucionando o estudo da anatomia humana, por vezes provendo um acesso a pessoas que não têm condição de obter uma peça plastinada, como aquelas que há na UFRJ.

REFERÊNCIAS

MARINS, T.; RODRIGUES, E. C.; BORTOLINI, T.; MELO, B.; MOLL, J.; TOVAR-MOLL, F. Structural and Functional Connectivity Changes in Response to Short-Term Neurofeedback Training with Motor Imagery. *NeuroImage*, [s. l.], v. 194, p. 283-290, 2019.

SIMÕES, E. L.; BRAMATI, I.; RODRIGUES, E.; FRANZOI, A.; MOLL, J.; LENT, R.; TOVAR-MOLL, F. Functional Expansion of Sensorimotor Representation and Structural Reorganization of Callosal Connections in Lower Limb Amputees. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, [s. l.], v. 32, n. 9, p. 3211-3220, 29 Feb. 2012.

ORGANIZAÇÃO

ADALBERTO VIEYRA

Formado em Medicina pela Universidad Nacional de Rosario (1970), tem mestrado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) (1979) e doutorado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ (1982). Na UFRJ, foi professor adjunto de Bioquímica de 1982 a 1994, professor titular de Bioquímica Médica de 1994 a 1999, professor titular de Biofísica e Fisiologia de 1999 a 2014 e professor emérito desde junho de 2015. Coordenou a área de Ciências Biológicas II da CAPES (2005-2011) e desempenhou novamente essa função de setembro de 2014 até fevereiro de 2018. Foi diretor científico do Programa de Oncobiologia do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis (IBqM) da UFRJ entre 2003 e 2016 e desde 2013 é diretor do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem da UFRJ (CENABIO/UFRJ). Seu campo de interesse científico encontra-se na área de Biofísica e Fisiologia, com ênfase em Biofísica de Processos e Sistemas, centrado no estudo de fenômenos de transporte iônico através de membranas biológicas e de sua regulação em condições fisiológicas e patológicas. Seu laboratório investiga a potencialidade de terapias celulares em modelos experimentais de nefropatias agudas e crônicas. É Cientista do Nosso Estado da FAPERJ, Comendador da Ordem Nacional do Mérito Científico, e membro titular da Academia Brasileira de Ciências desde 2000.

CLÁUDIA MERMELSTEIN

Formada em Ciências Biológicas (Modalidade Genética) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (1985), tem mestrado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ (1989) e doutorado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ (1992). É professora titular do

Instituto de Ciências Biomédicas (ICB/UFRJ) desde 2015. Bolsista de produtividade científica do CNPq e Cientista do Nosso Estado da FAPERJ, tem experiência na área de Biologia Celular, atuando principalmente na área de citoesqueleto e diferenciação muscular. Sua principal linha de pesquisa é sobre o papel de diferentes vias de sinalização celular no controle da diferenciação muscular esquelética. Orienta alunos de mestrado e doutorado desde a criação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfológicas (PCM) do ICB/UFRJ, de nota máxima da CAPES. Chefia o Laboratório de Diferenciação Muscular e Citoesqueleto do ICB/UFRJ, foi coordenadora do Programa de Pesquisa em Diferenciação Celular do ICB/UFRJ e é coordenadora de projeto de pesquisa do Programa de Oncobiologia do IBqM/UFRJ. Fez parte da diretoria da Sociedade Brasileira de Biologia Celular (SBBC), é parte da comissão de criação do Instituto de Futuros da UFRJ e, desde 2019, da coordenação da Cátedra Fronteiras da Biologia e da Medicina do Colégio Brasileiro de Altos Estudos (CBAE/UFRJ), junto ao prof. Manoel Luis Costa, como também, desde 2022, da coordenação da Cátedra Fernando de Souza Barros do CBAE, junto aos profs. Adalberto Vieyra e Manoel Luis Costa.

MANOEL LUIS COSTA

Formado em Ciências Biológicas (Modalidade Genética) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (1984), tem mestrado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ (1986) e doutorado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ (1991), sob orientação dos profs. Carlos Chagas Filho e Howard Holtzer (University of Pennsylvania). É professor titular do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB/UFRJ) desde 2016. Bolsista de produtividade científica do CNPq e Cientista do Nosso Estado da FAPERJ, fez pós-doutorado no Instituto Oswaldo Cruz e na University of Pennsylvania, EUA. É especialista em processamento de imagem e em microscopia óptica, tendo feito o Curso de Microscopia Óptica de Woods Hole Marine Biological Laboratory, EUA. Além de lecionar Biologia Celular para os cursos de graduação de Medicina e Biomedicina na UFRJ desde 1993, pertence também ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfológicas (PCM) do ICB/UFRJ, de nota máxima da CAPES. Tem pesquisado sobre o ensino de biologia celular, produzindo artigos e conferências. Publicou o livro *Manual de biologia celular* e artigos sobre ciência e educação no jornal de grande circulação *O Globo*. Desde 1997, mantém um site para divulgação científica com imagens de histologia.

Durante a pandemia, começou uma linha produtiva de pesquisa em bibliometria aplicada a ciências biomédicas. Sua linha de pesquisa básica, que inclui diferenciação celular em geral, foca a miogênese no peixe-zebra, modelo em que é pioneiro no Brasil. Organizou em 2020 e em 2022 as duas edições da Cátedra Fronteiras da Biologia e da Medicina do Colégio Brasileiro de Altos Estudos (CBAE/UFRJ), e também faz parte, desde 2022, da coordenação da Cátedra Fernando de Souza Barros do CBAE, junto aos profs. Adalberto Vieyra e Cláudia Mermelstein.

TRANSCRIÇÃO

As transcrições deste livro foram feitas pelos seguintes acadêmicos de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro:

- Evely de Oliveira Rodrigues
- Gabriel Isaac Correia
- Geovana Rodrigues de Almeida
- Guilherme Caumo Tanure
- Iara Louise
- Juliana Chavantes Roldan
- Karine Larrat de Oliveira
- Karoline Horsai Manhães
- Lara Leal Carneiro Sampaio
- Lara Sales dos Santos
- Larissa Melo Vasconcellos
- Mabilly Zaias
- Maria de Lourdes Soares do Nascimento
- Maria Eduarda Fionda
- Mariana Soares de Alencar
- Marianna Reis Seixas
- Murilo Nespolo Spineli
- Nathan Siqueira Muniz do Amaral
- Pedro Barbosa
- Pedro Henrique Souza de Castro
- Rafael Anderson Banho
- Raíssa Tiezerin Costa
- Sarah Azevedo
- Victor Silva Lopes
- Wanessa Jiaxin Su Wu

Copyright © 2024

Editora ACASO CULTURAL

Coordenação:

Catarina Amaral

Pedro Sasse

Organização:

Adalberto Vieyra

Cláudia Mermelstein

Manoel Luis Costa

Projeto gráfico e capa:

Pedro Sasse

Revisão:

Laura Cardoso

Conselho consultivo:

Alexander Meireles da Silva (UFG)

Ananda Machado (UFRR)

André C. de Almeida Cardoso (UFF)

Anita Moraes (UFF)

Júlio França (UERJ)

Marcelo Diniz (UFRJ)

Marcio Markendorf (UFSC)

Marcio Tavares d'Amaral (UFRJ)

Paulo da Costa e Silva (UFRJ)

Silvio Renato Jorge (UFF)

Stefania Chiarelli (UFF)

Susana Kampff Lages (UFF)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Imagens dos mundos reais e imaginários [livro eletrônico] : Conferências da Cátedra Fernando de Souza Barros do Colégio Brasileiro de Altos Estudos da Universidade Federal do Rio de Janeiro / organização Cláudia Mermelstein, Manoel Luis Costa ; catedrático Adalberto Vieyra. -- Rio de Janeiro : Luzerna, 2024. PDF

ISBN 978-65-981704-2-4

1. Arte 2. Ciências 3. Conhecimento humano
4. Imagem (Artes) 5. Textos - Coletâneas
I. Mermelstein, Cláudia. II. Costa, Manoel Luis.
III. Vieyra, Adalberto.

24-217091

CDD-701

Índices para catálogo sistemático:

1. Imagem : Arte : Teoria 701

Tábata Alves da Silva - Bibliotecária - CRB-8/9253

Esta publicação contou com o apoio do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Políticas Públicas, Estratégias e Desenvolvimento (INCT/PPED).



CNPJ: 33.980.292/0001-25

acasocultural.com

Este livro é fruto do Ciclo de Conferências e Exposição “Imagens dos Mundos Reais e Imaginários: dos Átomos às Catedrais Passando pela Mente”, realizados no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) e no Colégio Brasileiro de Altos Estudos (CBAE), captando a essência da proposta original interdisciplinar e transversal — da ciência, a medicina, a psicologia, até a arte, a arquitetura, a sociologia e a política —, e ilustrando o impacto transformativo das imagens e sons na percepção humana e na exploração dos seus múltiplos campos do conhecimento.

