

J. PINTO PEIXOTO * F. R. DIAS AGUDO * J. TIAGO DE OLIVEIRA * J. CAMPOS FERREIRA
MARGARITA RAMALHO * A. RIBEIRO GOMES * ARMANDO POLICARPO * F. DUARTE SANTOS
J. GOMES FERREIRA * L. A. MENDES VICTOR * MANUEL LARANJEIRA * M. GOMES GUERREIRO
J. CÂNDIDO DE OLIVEIRA * ROBALO CORDEIRO * J. CELESTINO DA COSTA * A. CASTRO CALDAS
BARAHONA FERNANDES * ARANTES E OLIVEIRA * A. F. CARVALHO QUINTELA * A. BARBOSA
DE ABREU * GOUVÊA PORTELA * L. BRAGA CAMPOS * J. J. DELGADO DOMINGOS * A. F.
OLIVEIRA FALCÃO * DOMINGOS MOURA * H. CAMPOS NETO * A. LARCHER BRINCA * J. F.
QUINTINO ROGADO * M. AMARAL FORTES * M. BAPTISTA BRAZ * M. PEREIRA COUTINHO
FERNANDO ESTÁCIO * P. O. PEREIRA SANTOS * A. A. MONTEIRO ALVES * BRITALDO RODRI-
GUES * L. AIRES DE BARROS * MATOS ALVES * M. PORTUGAL FERREIRA * ANTÓNIO RIBEIRO
FRANCISCO GONÇALVES * TELLES ANTUNES * LUÍS ARCHER * J. MONTEZUMA DE CARVALHO
J. FIRMINO MESQUITA * ABÍLIO FERNANDES * J. MALATO-BELIZ * ARSÉNIO PATO DE
CARVALHO * A. XAVIER DA CUNHA * ALLEN DEBUS * J. SIMÕES REDINHA * SEBASTIÃO
J. FORMOSINHO * A. M. A. ROCHA GONSALVES * L. ALMEIDA ALVES * OLIVEIRA CABRAL
FRAÚSTO DA SILVA * JOSÉ V. PINA MARTINS * AMÉRICO COSTA RAMALHO * FERNANDO
REBELO * C. ALBERTO MEDEIROS * ILÍDIO DO AMARAL * MANUEL GARRIDO ARAÚJO
MANUEL VIEGAS GUERREIRO * A. SIMÕES LOPES * A. SOUSA FRANCO * ONÉSIMO T. ALMEIDA
JUSTINO MENDES DE ALMEIDA * FRANCISCO GAMA CAEIRO * RÓMULO DE CARVALHO

HISTÓRIA E DESENVOLVIMENTO DA CIÊNCIA EM PORTUGAL NO SÉC. XX

II VOLUME



PUBLICAÇÕES DO II CENTENÁRIO DA ACADEMIA DAS CIÊNCIAS DE LISBOA
LISBOA • 1992

- SILVA, A. R. PINTO DA; A. ROZEIRA E F. FONTES
 1952 Os carvalhais da Serra do Gerês. Esboço fitossociológico. *Agron. Lusit.*, 12 (3): 433-448.
- SILVA, A. R. PINTO DA e A. N. TELES
 1972 *Excursion au Portugal de la Association Internationale de Phytosociologie*. Lisboa (Mimeo.).
 1980 *A flora e a vegetação da Serra da Estrela*. Col. Parques Naturais 7. S.N.P.R.P.P. Lisboa (2.ª ed. 1986).
- TELES, A. N.
 1953 As ervagens de anafe dos arredores de Lisboa. (Subsídios para o seu estudo fitossociológico e químico). *Agron. Lusit.*, 15 (4): 259-313.
 1970 Os lameiros de montanha do norte de Portugal. Subsídios para a sua caracterização fitossociológica e química. *Agron. Lusit.*, 31 (1-2): 5-132.
- VASCONCELLOS, J. DE CARVALHO E
 1929 Vantagens das herborizações regionais. *Bol. Est. Agr. Nac.*, Sér. C, 4: 3-16.
 1940 As determinações florísticas como subsídio para o estudo dos solos. *Rev. Agron.*, 28: 113-121.
 1942 Acerca da carta fitogeográfica. *Rep. Est. Inf. Prop. Dir. Ger. Serv. Agr.*, Sér. Est. Inf. Tecn., 20: 5-19.
 1943 O ressurgimento florestal do País sob o ponto de vista fitogeográfico. *An. Inst. Sup. Agron.*, 14: 65-72.
- WILLKOMM, M.
 1852 *Die Strand- und Steppengebiete der Iberischen Halbinsel und deren Vegetation*. Leipzig.
 1896 Grundzüge der Pflanzenverbreitung auf der Iberischen Halbinsel. In A. ENGLER u. O. DRUDE: *Die Vegetation der Erde*. Leipzig.

FRONTEIRAS DA FISILOGIA CELULAR : ALGUMAS CONTRIBUIÇÕES PARA O DESENVOLVIMENTO DA FISILOGIA CELULAR EM PORTUGAL

ARSELIO PATO DE CARVALHO *

Introdução

A minha contribuição para este colóquio é uma contribuição restrita no âmbito das ciências fisiológicas, e restrita no tempo. Esta contribuição baseia-se principalmente numa vivência pessoal, durante os últimos 20 anos, em que acompanhei o desenvolvimento da Fisiologia Celular, a par da Bioquímica, nas universidades e em alguns dos Institutos Portugueses, como investigador e como membro da direcção de duas sociedades científicas, a Sociedade Portuguesa de Bioquímica e a Sociedade Portuguesa de Neuroquímica, de que são membros quase todos os investigadores da área das ciências fisiológicas não médicas. Esta distinção entre ciências fisiológicas médicas e não médicas não tem significado. No entanto, eu referir-me-ei principalmente ao desenvolvimento da Fisiologia Celular nas Faculdades de Ciências e institutos não médicos porque creio que esta foi a intenção do convite que me foi dirigido. Também não farei referência à parte de Fisiologia Vegetal.

A área da Fisiologia, cujo desenvolvimento acompanhei em Portugal de perto, pode designar-se Fisiologia Celular, mas também se poderia designar Bioquímica. De facto, o desenvolvimento moderno da Bioquímica tornou-se possível a partir de 1946, quando Claude implementou técnicas que permitiram fragmentar as células e estudar os seus compo-

* Departamento de Zoologia da Universidade de Coimbra.

nentes (1, 2). Foi com grande surpresa, que a partir deste momento, os acontecimentos só vieram a ter eco em Portugal nos anos 60, e não de funcionamento da célula, isto é, toda a bioquímica da célula, podia ser estudada nos seus organelos isolados, num tubo de ensaio. Estes fisiologistas celulares verificaram que praticamente todos os mecanismos podem, portanto, ser vistos numa perspectiva histórica por serem demasiado recentes. Eu limitar-me-ei a narrar alguns factos para serem considerados numa futura História da Ciência em Portugal.

A Fisiologia Celular em Portugal

O meu primeiro contacto com a universidade Portuguesa foi em Junho de 1963, após uma ausência de 13 anos nos Estados Unidos. Visitei as Universidades do Porto e de Coimbra. Na Universidade do Porto visitei o Professor F. Carvalho Guerra na Faculdade de Farmácia que me falou das grandes dificuldades que estava a ter para montar o laboratório. Tinha acabado de adquirir uma ultracentrífuga, creio que a única que existia no País, e o seu laboratório começava a funcionar, lançando algumas técnicas modernas de Bioquímica e Fisiologia Celular para continuar os estudos que tinha iniciado nos Estados Unidos, onde tinha feito um estágio prolongado. Fiz esta visita depois de ter visitado as faculdades de Coimbra, onde não encontrei qualquer tendência de desenvolvimento de trabalho científico na área da Fisiologia Celular ou Bioquímica.

Regressei aos Estados Unidos em Outubro de 1963, sem visitar as faculdades de Lisboa, mas a impressão que me ficou, da informação que colhi, era de que não havia aí qualquer grupo dinâmico nas áreas da Fisiologia Celular ou Bioquímica. Conhecia já o trabalho do Professor José Antunes Serra e a sua grande contribuição individual no campo da Genética. Poucos sabem, no entanto, que o Professor Serra foi também um pioneiro na Fisiologia e Bioquímica em Portugal, como iremos referir mais adiante.

No período que vai de 1963 a 1968 equiparam-se em Portugal dois núcleos que tiveram continuidade e têm contribuído muito para o desenvolvimento da Fisiologia e Bioquímica Celular em Portugal. Um dos núcleos é hoje o Centro de Citologia Experimental da Universidade do Porto. O outro núcleo centra-se, presentemente, no Instituto Gulbenkian de Ciência, em Oeiras.

Núcleo do Professor Serra

Os trabalhos publicados pelo Professor José Antunes Serra dizem respeito à Genética, Biologia Molecular, Bioquímica, Fisiologia, Biologia Celular, Zoologia, Neurociência, Antropologia, Estatística, Genética Aplicada de Ovinos, etc.

Consideramos aqui apenas os trabalhos mais fisiológicos que foram realizados pelo Professor Serra no fim dos anos 40 e princípios dos anos 50, embora não seja possível divorciá-los das suas implicações bioquímicas e genéticas. O seu trabalho nestes domínios teve por finalidade esclarecer a natureza das melaninas e da melanogénese, tendo publicado 16 trabalhos sobre esta matéria (ver, por exemplo, 4-10). O Professor Serra demonstrou que os pigmentos isolados dos pêlos e dos cabelos dos mamíferos são melanoproteínas. Depois analisou as melaninas purificadas que são formadas de diferentes partes pigmentadas, e verificou que a parte proteica é diferente nas diferentes melaninas, contendo diferentes aminoácidos. Deve notar-se que este trabalho necessitou de métodos de separação e determinação de aminoácidos por técnicas que, em muitos casos, teve que improvisar ou melhorar.

A contribuição do Professor Serra foi mais extensa nas áreas da Citologia, da Genética e da Teoria do Gene. Estas áreas serão com certeza incluídas noutros temas deste colóquio sobre a História da Ciência em Portugal no Século XX. A contribuição do Professor Serra abrange também áreas como o Cancro e a Carcinogénese, a Diferenciação Celular, a Gerontologia, a Genética Aplicada à Zootecnia, a Evolução, etc. O Professor Serra deu uma contribuição extraordinariamente vasta e profunda no campo das Ciências Biológicas em Portugal.

Centro de Citologia Experimental do Porto

O núcleo liderado pelo Professor Carvalho Guerra, inicialmente designado Centro de Estudos de Bioquímica do IAC, funcionou na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto desde os anos 60, até à construção do Centro de Citologia Experimental, no princípio dos anos 80. Houve um pequeno interregno na actividade deste núcleo após o fogo que destruiu, parcialmente, o edifício da Faculdade de Farmácia, em meados dos anos 70. As principais contribuições deste grupo foram, inicialmente, o lançamento dos primeiros laboratórios equipados para realizar estudos de Bioquímica e Fisiologia Celular, especialmente estudos

em fracções subcelulares isoladas. Foi mesmo publicado, no princípio dos anos 70, um método novo de isolamento de mitocôndrias funcionais, desenvolvido por este grupo (11). Os primeiros estudos foram directamente orientados pelo Professor Carvalho Guerra nos anos 60 e princípios dos anos 70, sobre o funcionamento da mitocôndria, nomeadamente os mecanismos de tumefacção (12). Estes trabalhos foram realizados na sequência de outros trabalhos sobre o efeito de vários agentes que causam tumefacção, na função e na composição fosfolipídica das membranas mitocôndriais (13, 14), trabalho de índole mais bioquímica e que com certeza serão referidos na comunicação a este Colóquio sobre Bioquímica.

Paralelamente a este trabalho, com a mitocôndria, desenvolveu-se no Centro de Citologia Experimental trabalho, na área da Fisiologia Vegetal, sob a orientação do Professor Roberto Salema, e sobre a Morfologia, Fisiologia e Bioquímica das Bactérias sob orientação do Doutor Manuel Teixeira da Silva, mas só o trabalho deste último, e apenas em parte, será aqui brevemente referido, uma vez que a parte vegetal será tratada em separado neste colóquio.

O grupo de investigadores do Centro de Estudos de Bioquímica do IAC, em colaboração com os investigadores do Centro de Microscopia Electrónica, realizaram trabalhos sobre a estrutura membranar de *Streptococcus faecalis* (15-17) que, embora morfológicos, têm uma perspectiva funcional. Estudos sobre alterações ultraestruturais da membrana foram continuados no Centro de Citologia Experimental ao longo dos anos 70 e 80, utilizando técnicas bioquímicas e de microscopia electrónica para estudar a lise de bactérias causada por lisosima e por vários factores que induzem a autólise (18-20). Mais recentemente, este grupo de investigadores liderado pelo investigador Manuel Teixeira da Silva estendeu o estudo sobre a ultraestrutura das membranas bacterianas a outros grupos de bactérias, incluindo *Mycobacterium leprae* (21). Destes trabalhos foi concluído que a membrana citoplasmática de bactérias gram-positivas em crescimento *in vitro* tem um perfil assimétrico, embora a membrana de *Mycobacterium leprae* se apresente assimétrica em algumas condições. O significado fisiológico desta diferença foi explorado, e, aparentemente, as células normais de *M. leprae* que possuem uma membrana simétrica são células que não crescem. Os autores concluem, portanto, que a *Mycobacterium leprae* não constitui uma excepção à sua conclusão geral; isto é, que a membrana citoplasmática de bactérias gram-positivas em crescimento tem um perfil assimétrico.

Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC)

O Instituto Gulbenkian de Ciência tem dado uma grande contribuição para o desenvolvimento da Fisiologia Celular em Portugal desde a sua criação em fins dos anos 60. A sua contribuição tem sido feita pelos vários laboratórios do Instituto que têm produzido trabalho científico de reconhecido mérito na comunidade científica internacional, mas deve-se também à acção do programa de ensino de pós-graduação dos Estudos Avançados que foi lançado no IGC, em fins dos anos 60.

O trabalho desenvolvido no IGC nas décadas de 70 e 80 tem tido grande impacto na actividade científica na área da Fisiologia Celular (e noutras áreas) nas universidades Portuguesas porque os investigadores principais do IGC têm também ocupado cargos de docência nas universidades, transferindo, assim, um ensino de qualidade para a Universidade. Além disso, muitos dos actuais docentes das universidades fizeram o seu trabalho de dissertação no IGC sob a orientação científica de investigadores do IGC e continuaram, posteriormente, a sua actividade científica em colaboração com esses investigadores.

Laboratório de Fisiologia do Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC)

O Laboratório de Fisiologia do IGC começou a funcionar logo no início do lançamento do IGC, em fins dos anos 60, e nos primeiros anos publicou vários trabalhos sobre o transporte de iões através de epitélios (22, 23). O trabalho científico foi realizado principalmente sob a orientação do investigador H. G. Ferreira que, com os seus colaboradores têm mantido um laboratório activo onde trabalharam vários jovens investigadores sobre o transporte de Na^+ e outros iões através da pele da rã.

Este laboratório deu uma contribuição muito significativa no campo do transporte de iões através de epitélios e através da membrana plasmática, e são vários os trabalhos que este grupo publicou nesta área nas melhores revistas da especialidade (22-24). O Professor H. G. Ferreira colaborou também com a Professora Teresa Moura da Universidade Nova que vem lançando a investigação em Fisiologia Celular na Faculdade de Ciências e Tecnologia desta Universidade, na área da fisiologia dos eritrócitos.

Após alguns anos de ausência na Universidade de Cambridge, os Doutores H. G. Ferreira e K. Ferreira regressaram ao laboratório de

Fisiologia do IGC onde continuaram o seu trabalho. Nos últimos anos, têm feito estudos 1) sobre a aplicação da teoria de modelos dinâmicos à construção de um modelo matemático aplicável a epitélios de alta-resistência (25, 26), 2) sobre a regulação do volume celular por sistemas de co-transporte de iões (27) e 3) sobre o processo espontâneo de formação da concha dos bivalves que concluíram ser regulado pelo transporte iónico através do epitélio externo (28).

Laboratório de Farmacologia do IGC

O Laboratório de Farmacologia do Instituto Gulbenkian de Ciência iniciou, no princípio dos anos 70, os primeiros estudos sobre Neurobiologia das purinas a nível celular, sob a orientação do investigador Professor J. A. Ribeiro. Esta área de investigação passou a interessar praticamente todo o Laboratório, tendo sido publicados mais de duas dezenas de artigos originais em revistas da especialidade.

Destas publicações emergem como contribuições científicas mais significativas: 1) a observação de que a adenosina reduz a captação de ^{45}Ca e ^{22}Na pelos terminais nervosos (29, 32); 2) a proposta de um novo receptor para explicar a acção da adenosina na junção neuromuscular (30); 3) a evidência experimental de que ao nível da junção neuromuscular além do neurotransmissor acetilcolina, está presente um neuromodulador, a adenosina, que exerce uma acção tónica inibitória na transmissão neuromuscular (31) e a hipótese de que adenosina é um modulador universal (33)

Laboratório de Microbiologia do IGC

O Laboratório de Microbiologia do IGC, sob a orientação do Professor N. van Uden desde o início do IGC, deu uma contribuição extensa na área da Fisiologia das leveduras. As principais áreas de investigação em que este grupo tem contribuído são: 1) efeito da temperatura no crescimento e morte de leveduras; 2) mecanismos de transporte de nutrientes; 3) efeito do etanol no crescimento das leveduras. Mais de uma centena de trabalhos foram publicados por este grupo nas principais revistas da especialidade (e.g., 34-40). Estabeleceram os perfis de temperatura para crescimento e morte dum grande número de leveduras e inferiram, em alguns casos, quais os locais na célula afectados pela temperatura. Estudaram o efeito de metabolitos, principalmente o etanol,

nesses perfis e, a partir da alteração dos perfis, puderam deduzir informação sobre os locais da célula afectados pelos metabolitos. Por exemplo, o etanol afecta profundamente a relação entre a temperatura e o crescimento e morte das leveduras, e decresce as temperaturas máximas e as temperaturas óptimas para o crescimento, mas aumenta a temperatura mínima de crescimento. Consequentemente, estas leveduras são muito mais tolerantes ao álcool.

Outras previsões de ordem prática e de interesse biotecnológico são possíveis analisando o modo como são afectados os perfis de temperatura pelos metabolitos ou por fármacos. Portanto, a contribuição deste grupo tem implicações práticas, além de ser um trabalho de índole fundamental sobre a fisiologia das leveduras.

Os trabalhos sobre os mecanismos de transporte de açúcares em leveduras, realizados por este grupo, esclareceram alguns aspectos importantes sobre os mecanismos moleculares de transporte dependente dum gradiente electroquímico de protões; por exemplo, 1) concluíram que há conversão do sistema de transporte de glicose por difusão facilitada em transporte activo quando as leveduras são cultivadas em baixas concentrações de glicose, e que esta interconversão envolve a síntese de novas proteínas (41, 42); 2) verificaram que o transporte activo de glicose por *Candida wickerhamii* é inactivado por glicose exógena (43) e que 3) o simporte do transporte da glicose que resulta da hidrólise da celobiose é reprimido e inactivado por glicose. Nestas condições, a glicose é transportada por difusão facilitada (44).

Outros Grupos do IGC

Pode dizer-se que todos os grupos do IGC, além dos laboratórios de Fisiologia, Farmacologia e Microbiologia que foram aqui destacados, têm feito contribuições significativas em áreas, que de algum modo, se podem considerar relacionadas com a Fisiologia Celular, mas que provavelmente serão consideradas dentro doutros âmbitos neste Colóquio. Nomeadamente, poderiam aqui ser considerados os grupos liderados por José David Ferreira, Artur Geraldês, J. V. Costa, Luís Archer, Celeste Lechner, e Tristão Mello Sampaio, nas áreas, respectivamente, de Biologia Celular - Microscopia Electrónica, Virologia, Genética Molecular, Bioquímica e Citogenética. Trabalhos doutros investigadores do IGC (Claudina Pousada, Maria Duque-Magalhães, etc.) poderiam aqui ser incluídos, mas não se incluem pela mesma razão.

Estudos Avançados do IGC

Os Estudos Avançados do IGC foram instituídos em 1969, e surgiram em complemento da actividade científica do IGC. Após alguns anos de funcionamento do IGC, reconheceu-se que uma instituição de investigação como o IGC precisa de assegurar um fluxo de jovens pelos seus laboratórios. Nessa altura, a preparação dos recém licenciados na área da Fisiologia Celular era muito deficiente, e mesmo deformada pelo ensino antiquado da Universidade, e por uma imagem da investigação científica pouco inspiradora para o jovem inteligente, ávido de realizar trabalho científico, coerente, com significado.

Os Estudos Avançados do IGC foram concebidos principalmente pelo investigador do IGC, N. van Uden, que teve a visão de transformar o IGC numa Universidade dedicada aos estudos graduados, possivelmente à imagem duma Universidade como a Universidade Rockefeller, de Nova Iorque, que também tinha tido, durante muitos anos, o estatuto de instituto de investigação. Este sonho não chegou a materializar-se, embora na altura da Revolução de 1974, estivesse a haver negociações sérias com o Ministério da Educação que, provavelmente, teriam levado, a curto prazo, à transformação do IGC numa escola de pós-graduação, como van Uden tinha em mente.

O programa do primeiro curso teórico e prático dos Estudos Avançados do IGC consistiu em 1-2 horas de aulas teóricas diárias, e em trabalhos práticos durante o resto do dia. Segundo a minha memória, este curso incluía as seguintes matérias: Estrutura e Função das Biomembranas; Funções da Mitocôndria e dos Cloroplastos; Transporte Activo; Bioelectricidade; Contractilidade; e outros aspectos sobre Fisiologia Celular a nível molecular.

Os alunos eram licenciados em Biologia, Medicina, Veterinária, Agronomia, e creio que, sem excepção, estes licenciados, à partida tinham uma ignorância quase completa dos conceitos moleculares mais elementares dos assuntos versados no curso. No entanto, ao fim de seis semanas, tinham adquirido um novo vocabulário e alguma concepção do que era a investigação científica nas várias áreas da Fisiologia Celular.

Seguiram-se outros cursos avançados mais especializados por onde passaram centenas de jovens, licenciados portugueses e espanhóis, muitos dos quais ocupam hoje posições de destaque nas universidades e nos ministérios dos respectivos países. Pode dizer-se, sem exagero, que na maior parte dos casos, os conceitos modernos da Fisiologia Celular,

da Biologia Molecular, e de várias outras áreas da Bioquímica e da Biofísica, entraram nas nossas instituições de ensino e de investigação via Estudos Avançados do IGC. Alguns dos cursos ministrados nos EA, referentes a Fisiologia Celular, entre 1969 e 1982, foram: Fisiologia Celular, Enzimologia, Diferenciação Celular, Fotossíntese, Bioquímica Microbiana, Cinética e Energética Celulares, Biomembranas, Mitocôndria, Ultraestrutura Celular, Cultura Contínua de Microrganismos, Neuroquímica, Halobactéria, Biologia Celular, Citogenética Humana.

Centro de Biologia Celular da Universidade de Coimbra

Em 1968, Pato de Carvalho foi convidado pela Faculdade de Ciências da Universidade de Coimbra, para leccionar duas disciplinas de Fisiologia que tinham sido introduzidas na reforma do curso de Biologia em 1964. A Fisiologia Animal era uma disciplina do segundo semestre do terceiro ano, e a Fisiologia Animal Complementar era uma disciplina, creio que anual, do quarto ano. Portanto, a necessidade de leccionar estas disciplinas surgiu pela primeira vez nas Universidades Portuguesas nos anos lectivos de 1967/1968 e 1968/1969.

A disciplina de Fisiologia Animal do novo curso de Biologia da Universidade de Coimbra em 1967/1968 foi uma disciplina que melhor se podia designar Fisiologia Humana, porque esse programa parecia mais atractivo para os alunos, e não havia espaço para dar a Fisiologia Animal dum ponto de vista comparativo num só semestre. Não havia qualquer equipamento ou animais experimentais em Coimbra para as aulas práticas, mas foi possível improvisar várias experiências utilizando os alunos como «cobaias». Assim, foi possível fazer experiências sobre a circulação e a respiração, fazendo exercitar os alunos, e pedindo-lhes que registassem todos os parâmetros possíveis relativos ao efeito do exercício na circulação e na respiração.

A Fisiologia Animal Complementar só viria a funcionar no ano lectivo de 1968/1969, com apenas uma disciplina do quinto ano do Curso de Biologia. A disciplina de Fisiologia Animal complementar era de facto uma disciplina de Fisiologia Celular, incidindo sobretudo sobre a estrutura bioquímica e função dos organelos da célula.

Foi durante o ensino desta disciplina que começou a primeira investigação em fracções subcelulares em Coimbra. Depois das aulas práticas que realizávamos em conjunto com a aluna do quinto ano, o Dr. Vítor Madeira, assistente da cadeira, e Pato de Carvalho ficavam com tempo

livre para a investigação. Nessa altura, tinham sido publicados os resultados das primeiras tentativas de isolamento do sarcolema das células do músculo esquelético, que constitui uma fracção que sedimenta facilmente. Isto encorajou-nos a tentar isolar e estudar algumas propriedades físico-químicas do sarcolema, utilizando a centrifuga rudimentar a que tínhamos acesso.

O equipamento que tínhamos ao nosso dispor era: um espectrofótopmetro simples (Spectronic 20), uma centrífuga não refrigerada que permitia uma rotação máxima de 5000 rpm, um microscópio de contraste de fase e alguns tubos de ensaio e pipetas que eu tinha trazido de Nova Iorque. Para nosso espanto, a técnica de isolamento do sarcolema funcionou logo da primeira vez. Foi possível isolar fragmentos de túbulos do sarcolema que, quando vistos ao microscópio de contraste de fase, eram muito semelhantes aos que estavam descritos na literatura. Como não se sabia nada das suas propriedades físico-químicas ou fisiológicas, planeamos algumas experiências dentro das limitações que nos impunha o equipamento que tínhamos ao nosso dispor. Ao fim dum mês de trabalho, foi enviado para a revista *Biochimica et Biophysica Acta* o primeiro trabalho, que pouco depois era aceite para publicação (45), em que descreviamos, entre outras propriedades, as características de contractilidade do sarcolema em resposta a várias substâncias potenciadoras da contracção muscular.

A primeira dissertação de doutoramento nesta área foi apresentada em 1972 pelo Dr. Vítor Madeira precisamente sobre «Propriedades do Sarcolema Isolado do Músculo Esquelético do Coelho».

Durante os últimos 20 anos, vários investigadores do Centro de Biologia Celular têm continuado os estudos com fracções subcelulares isoladas. Foram publicados mais de meia centena de trabalhos em revistas de Fisiologia Celular e Bioquímica (e.g. 46-57), e foram realizadas 10 dissertações em áreas tão diversas como 1) Bioquímica da contracção celular muscular, 2) Microbiologia, 3) Neuroquímica e 4) Diferenciação Celular.

Conclusões

Na forma de conclusões gerais, podemos dizer que as técnicas que permitiram o desenvolvimento moderno da Bioquímica e da Fisiologia Celular, nomeadamente, o fraccionamento celular e o uso de radioisótopos, e que foram introduzidas nos anos 40, principalmente nos Estados

Unidos e na Inglaterra, só seriam aplicadas em Portugal 20 anos mais tarde. Mas durante os últimos 20 anos, evoluíram em Portugal grupos fortes de investigadores na área da Fisiologia Celular e da Bioquímica.

Os grupos aqui considerados estão localizados em Lisboa, no Centro de Genética e Biologia Molecular, no Instituto Gulbenkian de Ciência, em Oeiras, no Centro de Citologia Experimental da Universidade do Porto, e no Centro de Biologia Celular da Universidade de Coimbra. Outros Institutos, como o Instituto Abel Salazar, Faculdade de Medicina, o Instituto Rocha Cabral, o Centro de Tecnologia Química e Biológica não são aqui considerados por se presumir que sejam incluídos nas secções de Ciências Médicas e/ou da Bioquímica, Genética, etc. deste Colóquio. Não são também consideradas áreas de Fisiologia Celular Vegetal por saírem fora do âmbito definido para esta comunicação.

Referências

1. Claude, A. (1946) Fractionation of Mammalian Liver Cells by Differential Centrifugation. *J. Exptl. Therap.* **84**: 61.
2. De Duve, C. (1964) Principles of Tissue Fractionation. *J. Theor. Biol.* **6**: 33.
3. Claude, A. (1943) The 1974 Nobel Prize for Physiology or Medicine. *Science* **186**: 516.
4. Serra, J.A. (1939) Estudos sobre a pigmentação melânica. A determinação da pigmentação e escurecimento com a idade. Composição dos pigmentos. *Rev. Fac. Ciênc. Univ. Coimbra* **7**: 235.
5. Serra, J.A. (1943) Sur la nature des mélanines et la mélanogenèse. *Genetica* **23**: 300.
6. Serra, J.A. (1945) Fenogénese e constituição das melaninas de Mamíferos. *Bol. Escola Farmácia* **4**: 188.
7. Serra, J.A. (1951) Constitution of hair melanins. *Chem. Prods. & Chem. News* **10**: 31; e *Science To-day* **29**.
8. Serra, J.A. (1951) Fisiologia dos pigmentos dos Vertebrados e em especial das melaninas. *Mem. Est. Museu Zool. Univ. Coimbra* **208**: 1.
9. Serra, J.A. and A. Pereira (1951) Quantitative microdetermination of amino acids after paper chromatography. *Science* **113**: 387.
10. Serra, J.A. (1954) Natural melanins. III. Internal conditions necessary for melanogenesis. *Port. Acta Biol.* **4**: 43.

11. Guerra, F. C.; A. A. Albuquerque; J. M. Santos Mota and L. M. G. van Golde (1971) A Rapid Procedure for the Isolation of Rat Liver Mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta* **234**: 222.
12. Guerra, F. C. (1965) Alguns Aspectos Metabólicos da Regulação da Tumefação Mitochondrial. *Oitavas Jornadas Bioquímicas Latinas*: 137.
13. Santiago, E.; F. Guerra and J. M. Macarulla (1968) Effect of Ascorbate on Phospholipids During Mitochondrial Swelling and Lysis. *R. esp. Fisiol.* **24**: 25.
14. Guerra, F. C.; M. C. Magalhães and I. M. Cruz (1966) Acção dos Iões Ferrosos e do Ascorbato na Morfologia das Mitocôndrias Isoladas do Fígado de Rato. *Anais da Fac. Farmácia do Porto* **26**.
15. Silva, M. T.; J. M. S. Mota; J. V. C. Melo and F. C. Guerra (1971) Uranyl Salts as Fixatives for Electron Microscopy. Study of the Membrane Ultrastructure and Phospholipid Loss in Bacilli. *Biochim. Biophys. Acta* **233**: 513.
16. Mota, J. M. S.; M. T. Silva and F. C. Guerra (1971) Ultrastructural and Chemical Alterations Induced by Dicumarol in *Streptococcus faecalis*. *Biochim. Biophys. Acta* **249**: 114.
17. Silva, M. T.; J. C. F. Sousa; M. A. E. Macedo; J. Polónia and A. M. Parente (1976) Effects of Phenethyl Alcohol on *Bacillus* and *Streptococcus*. *J. Bacteriol.* **127**: 1359.
18. Parente, A. M. and M. T. Silva (1984) Ultrastructural Aspects of Autolysis of *Pseudomonas fluorescens* Induced by Osmotic Shock. *J. Gen. Microbiol.* **130**: 1459.
19. Carvalho, M. E.; M. H. Gonçalves and M. T. Silva (1984) A Turbidimetric and Electron Microscopic study of the effects of several parameters on the lysis of *Streptococcus faecalis* by Lysozyme. *Can. J. Microbiol.* **30**: 905.
20. Carvalho, M. E.; M. H. Gonçalves and M. T. Silva (1987) Induction of Autolysis in *Streptococcus faecium*. *J. Gen. Microbiol.* **133**: 985.
21. Silva, M. T. and P. M. Macedo (1984) Ultrastructural Characterization of Normal and Damaged Membranes of *Mycobacterium leprae* and of Cultivable Mycobacteria. *J. Gen. Microbiol.* **13**: 369.
22. Ferreira, K. T.; M. M. Guerreiro and H. G. Ferreira (1973) Kinetic Characterization of the Chloride Dependence of Sodium Transport in the Frog Skin. *Biochim. Biophys. Acta* **269**: 373.
23. Emilio, M. G. and H. G. Ferreira (1972) The effect of vasopression on the permeability of frog skin to cations. *Biochim. Biophys. Acta* **282**: 453.
24. Ferreira, K. T.; H. G. Ferreira and V. L. Lew (1976) On the Amount of Na⁺ + K⁺)-ATPase Available Transepithelial Sodium Ion Transport in the Amphibian Skin. *Biochim. Biophys. Acta* **448**: 185.

25. Lew, V. L.; H. G. Ferreira and T. Moura (1979) The behaviour of transportation epithelial cells. I. Computer analysis of a basic model. *Proc. R. Soc. Lond. B* **206**: 53.
26. Ferreira, H. G. and K. T. G. Ferreira (1983) *Proc. R. Soc. Lond.* **218**: 308.
27. Ferreira, K. T. G. and H. G. Ferreira (1981) The regulation of Volume and Ion Composition in Frog Skin. *Biochim. Biophys. Acta* **646**: 193.
28. Coimbra, J. and J. Machado (1988) Electrophysiology of the Maitle of *Odontocygnus*. *J. exp. Biol.* **140**: 65.
29. Ribeiro, J. A.; A. M. Sá-Almeida and J. M. Namorado (1979) Adenosine and Adenosine Triphosphate Decrease ⁴⁵Ca Uptake by Synaptosomes Stimulated by Potassium. *Biochem. Pharmac.* **28**: 1297.
30. Ribeiro, J. A. and A. M. Sebastião (1985) On the type of receptor involved in the inhibitory action of adenosine at the neuromuscular junction. *Br. J. Pharmac.* **84**: 911.
31. Ribeiro, J. A. and A. M. Sebastião (1987) On the role, Inactivation and Origin of Endogenous Adenosine at the Frog Neuromuscular Junction. *J. Physiol.* **384**: 571.
32. Simões, A. P.; P. C. Oliveira, A. M. Sebastião and A. J. Ribeiro (1988) N⁶-Cyclohexyladenosine Inhibits Venetridine-Stimulated ²²Na Uptake by Rat Brain Synaptosomes. *J. of Neuroch.* **50**: 899.
33. Ribeiro, J. (1979) *J. Theoret. Biol.* **80**: 259.
34. van Uden, N. (1985) Ethanol Toxicity and Ethanol Tolerance in Yeasts. *Ann. Rep. on Fermentation Processes* **8**: 11.
35. van Uden, N. (1984) Temperature Profiles of Yeasts. *Adv. in Microbial Physiol.* **25**: 195.
36. Cabeça-Silva, C.; A. Madeira-Lopes and N. van Uden (1982) Temperature relations of ethanol-enriched petite mutation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Lett.* **15**: 149.
37. Leão, C. and N. van Uden (1982a) Effects of ethanol and other alkanols on the kinetics and the activation parameters of thermal death in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotech. and Bioengineering* **24**: 1581.
38. Madeira-Lopes, A. and N. van Uden (1979) Thermal association and dissociation in thermosensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie* **19**: 303.
39. Spencer-Martins, I. and N. van Uden (1982) The temperature profile of growth, death and yield of the starch-converting yeast *Lipomyces kononenkoae*. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie* **7**: 503.

40. van Uden, N. and M. Vidal-Leiria (1970) In: *The Yeasts* (J. Lodder, ed.), pp. 1235, North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
41. Spencer-Martins, I. and N. van Uden (1985) Catabolite interconversion of glucose transport systems in the yeast *Candida wickerhamii*. *Biochim. Biophys. Acta* **812**: 168.
42. Verma, R. S.; Spencer-Martins and N. van Uden (1987) Role of «de novo» proteins synthesis in the interconversion of glucose transport systems in the yeast *Pichia ohmeri*. *Biochim. Biophys. Acta* **900**: 139.
43. Spencer-Martins, I. and N. van Uden (1985) Inactivation of active glucose transport in *Candida wickerhamii* is triggered by exocellular glucose. *FEMS Microbiol. Lett.* **28**: 277.
44. Spencer-Martins, I. and N. van Uden (1986) Substrate and endproduct regulation of cellobiose uptake by *Candida wickerhamii*. *Appl. Microb. Biotechnol.* **25**: 272.
45. Madeira, V.; M. C. Antunes-Madeira and A. P. Carvalho (1971) Effect of Potentiators of muscular contractions on contractile and enzymatic activities of carcolema. *Biochim. Biophys. Acta* **234**: 210.
46. Madeira, V. M. C.; M. C. Antunes-Madeira and A. P. Carvalho (1974) Activation energies of the ATPases on the ATPase activity of sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **58**: 897.
47. Vale, M. G. P. and A. P. Carvalho (1975) Utilization of X-537A to distinguish between intravesicular and membrane bound calcium ions in sarcoplasmic reticulum. *Biochim. Biophys. Acta* **413**: 202.
48. Madeira, V. M. C. and M. C. Antunes-Madeira (1976) Comparative study of lipid composition of rabbit and lobster sarcoplasmic reticulum. *Can. J. Biochem.*
49. Carvalho, C. A. M. and A. P. Carvalho (1977) Fluorimetric monitoring et calcium binding to sarcoplasmic reticulum membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **468**: 21.
50. Antunes-Madeira M. C. and V. M. C. Madeira (1979) Interaction of insecticides with lipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **550**: 384.
51. Madeira, V. M. C. (1980) Proton movements across the membranes of sarcoplasmic reticulum during the uptake of calcium ions. *Arch. Biochim. Biophys.* **200**: 319.
52. Vale, M. G. P. (1980) Molecular arrangements of phosphatidycholine and sphingomyelín in sarcoplasmic reticulum membranes. *Arch. Biochim. Biophys.* **204**: 148.
53. Carvalho, A. P. (1981) In: *Handbook of Neurochemistry*, 2nd edition, A. Lajtha, editor, Plenum Press, New York, p. 69.

54. Almeida, L. M.; W. L. C. Vaz; K. A. Zachariasse and V. M. C. Madeira (1984) Modulation of Sarcoplasmic Reticulum Ca^{++} - Pump Activity by Membrane Fluidity. *Biochemistry* **23**: 4714.
55. Madeira, V. M. C. (1984) State of Translocated Ca^{++} - by Sarcoplasmic Reticulum Inferred from Kinetic Analysis of Calcium Oxalate Precipitation. *Biochim. Biophys. Acta* **769**: 284.
56. Vale, M. G. P. (1985) Effects of phenothiazine drugs on the active Ca^{2+} transport by sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Pharmacol.* **34**: 4245.
57. Nobre, M. F. and M. S. Costa (1985) Factors favouring the accumulation of arabinitol in the yest *Debaryomyces hansenii*. *Can. J. Microbiol.* **37**: 467.